UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA
MESTRADO EM FITOTECNIA

VICTÓRIA KÉSSIA SILVA ARAÚJO

BACTÉRIAS NATIVAS DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO TOLERANTES AO SULFENTRAZONE COMO AGENTES DE BIORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS

MOSSORÓ
2025

VICTÓRIA KÉSSIA SILVA ARAÚJO

BACTÉRIAS NATIVAS DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO TOLERANTES AO SULFENTRAZONE COMO AGENTES DE BIORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS

Dissertação apresentada ao Mestrado em Fitotecnia do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Proteção de plantas

Orientador: Prof. Dr. Daniel Valadão Silva

Co-orientadora: Márcia Michelle de Queiroz Ambrósio, Profa. Dra.

MOSSORÓ

2025

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei n° 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei n° 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

AA78b Araújo, Victória Késsia Silva.
BACTÉRIAS NATIVAS DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO TOLERANTES AO SULFENTRAZONE COMO AGENTES DE BIORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS / Victória Késsia Silva Araújo. - 2025.
75 f. : il.

Orientador: Daniel Valadão Silva.
Coorientador: Marcia Michelle de Queiroz Ambrósio.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, 2025.

1. Pesticida. 2. Microrganismos. 3. Descontaminação. 4. Biotecnologia. I. Silva, Daniel Valadão, orient. II. Ambrósio, Marcia Michelle de Queiroz, co-orient. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automáto em conformidade com AACR2 e os dados fornecidos pelo) autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC´s) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

BACTÉRIAS NATIVAS DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO TOLERANTES AO SULFENTRAZONE COMO AGENTES DE BIORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS

Dissertação apresentada ao Mestrado em Fitotecnia do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Proteção de plantas

Defendida em:28 / 07/ 2025.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
gov.br
DANIEL VALADAO SILVA
Data: 13/08/2025 11:44:07-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Daniel Valadão Silva, Prof. Dr. (UFERSA)
Presidente

Documento assinado digitalmente
gov.br
MARCIA MICHELLE DE QUEIROZ AMBROSIO
Data: 13/08/2025 20:27:30-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Márcia Michelle de Queiroz Ambrósio, Profa. Dra. (UFERSA)
Membro Examinador

Documento assinado digitalmente
gov.br
JOSE BARBOSA DOS SANTOS
Data: 13/08/2025 13:03:27-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

José Barbosa dos Santos, Prof. Dr. (UFVJM)
Membro Examinador

Documento assinado digitalmente
gov.br
CAMILA FERREIRA DE PINHO
Data: 13/08/2025 19:33:33-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Camila Ferreira de Pinho, Profa. Dra. (UFRRJ)
Membro Examinador

Documento assinado digitalmente
gov.br
CHRISTIANO DA CONCEICAO DE MATOS
Data: 13/08/2025 18:57:29-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Christiano da Conceiçao De Matos, Prof. Dr. (UEMG)
Membro Examinador

Dedico aos meus avós, Ivan e Sandra,
agricultores, que sob o sol fizeram com que
duas gerações pudessem chegar aqui, na sombra.

AGRADECIMENTOS

A Deus, fonte de toda vida e do meu propósito, por iluminar meus caminhos, conceder discernimento, coragem e serenidade para enfrentar os desafios, além de renovar minha força a cada passo desta caminhada.

À toda minha família, que sempre torceu pelo meu sucesso e serviu de alicerce firme para todas as minhas conquistas, especialmente aos meus pais, Andréa Araújo e Marcus Araújo, por serem meus maiores exemplos de dedicação e resiliência, e por acreditarem no poder transformador da educação.

À minha irmã, Vívyna Araújo, por ser luz que ilumina minha vida nos momentos difíceis.

Aos meus avós maternos Ivan e Sandra, que me ensinaram lições preciosas sobre humildade, trabalho e sabedoria. E aos meus avós paternos, José Maria e Raimunda, pelo carinho constante que sempre me acolheu.

À Romontieso Silva, Vanusa Lima e Graça Araújo, por todo incentivo.

Ao meu companheiro Gabriel Moreira, meu ombro amigo, fonte inesgotável de amor, cuidado e apoio, por acreditar no meu potencial sempre me incentivando a ser minha melhor versão.

Aos professores que passaram pela minha vida, desde os primeiros anos escolares até hoje, que tiveram um papel fundamental na minha formação acadêmica e pessoal. Especialmente ao prof. Daniel Valadão por toda confiança, orientação e oportunidade de realizar esse trabalho, prof. Caio Aires por sua zelosa orientação e paciência, prof. Marcia Michelle por todo auxílio e orientação.

Aos colegas de laboratório, Carolina, Jesley, Caio e Bianca em especial Sérvulo Carvalho e Kadidja Ianne por toda ajuda, amizade e apoio incondicional.

Aos doutores Paulo Sérgio e Bruno Caio, por toda ajuda, paciência e momentos de descontração.

A UFERSA e aos laboratórios: NOMATO, LABMIC e de microbiologia e fitopatologia por toda estrutura e espaço cedido.

A CAPES pela concessão da bolsa para que essa pesquisa pudesse ser realizada da melhor forma.

E, por fim, a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para que eu chegasse até aqui. Essa conquista também é de vocês.

Os lábios da sabedoria estão fechados, exceto aos ouvidos do entendimento.

Hermes Trismesgisto

RESUMO

O sulfentrazone é um herbicida amplamente empregado no manejo em pré-emergência de plantas daninhas em culturas como soja, cana-de-açúcar e citros. Seu uso contínuo tem gerado preocupações ambientais devido à alta persistência no solo, alto potencial de lixiviação e efeitos fitotóxicos sobre culturas subsequentes. Nesse contexto, a biodegradação mediada por microrganismos surge como uma alternativa para a atenuação desses impactos, uma vez que bactérias e fungos possuem vias metabólicas e enzimas capazes de transformar ou mineralizar compostos xenobióticos, reduzindo sua toxicidade e tempo de permanência no ambiente. Desta forma, este estudo teve como objetivos: i) Identificar e selecionar isolados microbianos provenientes de áreas agrícolas com histórico de aplicação do herbicida sulfentrazone, determinando sua tolerância ao herbicida; ii) Investigar, *in vitro*, a capacidade de degradação do herbicida pelos isolados resistentes; iii) Caracterizar bioquimicamente os isolados promissores, com identificação em nível de gênero e/ou espécie; iv) Testar os isolados mais eficientes em condições de ambiente protegido, verificando seu potencial para aplicação em processos de biorremediação. O solo utilizado no estudo foi coletado em empresa agrícola de plantio de cana-de-açúcar e com histórico de aplicação de sulfentrazone. No solo foram isolados 43 microrganismos, no qual 21 cepas cresceram na presença do herbicida. Quando testados quanto a sua capacidade de degradação do herbicida in vitro, 11 microrganismos mostraram maior percentual e velocidade de degradação, degradando de 20 a 40% a mais que o controle. Os testes bioquímicos, de coloração de Gram e a identificação por espectrometria de massa MALDI-TOF MS, revelaram predominância de bactérias das espécies *Bacillus cereus*, *Priestia megaterium e Alacaligenes feacalis*. No teste de degradação em solo, alguns isolados aceleraram o processo de degradação do herbicida em até 10% além de reduzir sua meia-vida em até 10 dias. Os resultados obtidos demonstram que microrganismos nativos do semiárido brasileiro, adaptados a ambientes contaminados, constituem ferramentas biotecnológicas promissoras para o desenvolvimento de agentes biológicos eficientes em programas de remediação de áreas impactadas pelo sulfentrazone.

Palavras-chave: Pesticida; microrganismos; descontaminação; biotecnologia.

ABSTRACT

Sulfentrazone is a herbicide widely employed in the pre-emergence management of weeds in crops such as soybean, sugarcane, and citrus. Its continuous use has raised environmental concerns due to its high persistence in the soil, high leaching potential, and phytotoxic effects on subsequent crops. In this context, biodegradation mediated by microorganisms emerges as an alternative for mitigating these impacts, since bacteria and fungi possess metabolic pathways and enzymes capable of transforming or mineralizing xenobiotic compounds, thereby reducing their toxicity and persistence in the environment. Accordingly, this study aimed to: (i) identify and select microbial isolates from agricultural areas with a history of sulfentrazone application, determining their tolerance to the herbicide; (ii) investigate, in vitro, the herbicide degradation capacity of the resistant isolates; (iii) biochemically characterize the promising isolates, identifying them at the genus and/or species level; and (iv) test the most efficient isolates under controlled environment conditions, assessing their potential for application in bioremediation processes. The soil used in the study was collected from a sugarcane plantation with a history of sulfentrazone application. From the soil, 43 microorganisms were isolated, of which 21 strains grew in the presence of the herbicide. When tested for their in vitro degradation capacity, 11 microorganisms showed higher degradation rates and percentages, degrading 20% to 40% more than the control. Biochemical tests, Gram staining, and identification by MALDI-TOF MS mass spectrometry revealed a predominance of bacteria belonging to the species *Bacillus cereus*, *Priestia megaterium*, and *Alcaligenes faecalis*. In the soil degradation test, some isolates accelerated the herbicide degradation process by up to 10% and reduced its half-life by up to 10 days. The results demonstrate that native microorganisms from the Brazilian semi-arid region, adapted to contaminated environments, constitute promising biotechnological tools for the development of efficient biological agents in remediation programs for areas impacted by sulfentrazone.

Keywords: Pesticide; microorganisms; decontamination; biotechnology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Porcentagem de degradação do herbicida ao longo de 10 dias pela influência dos isolados resistentes em relação ao controle .....…… 44

Figura 2 – Velocidade média de degradação do herbicida ao longo de 10 dias pela influência dos isolados resistentes em relação ao controle …...…… 45

Figura 3 – Análise de agrupamento (Método de Ward).....……... 46

Figura 4 – Modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem (PPO) e pseudo-segunda ordem (PSO) aplicados aos tratamentos .....…….. 53

Figura 5 – Porcentagem de degradação do herbicida ao longo de 42 dias pela influência do tratamento com os isolados no solo.....…….. 56

Figura 6 – Tempo de meia-vida do herbicida ao longo de 42 dias na presença de isolados bacterianos …….....……... 57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros cromatográficos e de espectrometria de massas 32
Tabela 2 – Parâmetros dos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem (PPO) e pseudo-segunda ordem (PSO) obtidos a partir dos dados de degradação do sulfentrazone in vitro .....……..……..……..... 42
Tabela 3 – Resultados dos testes bioquímicos e coloração de Gram dos isolados bacterianos.....……..……..... 48
Tabela 4 – Resultados da identificação dos isolados por meio de MALD-TOF MS.....……..... 51
Tabela 5 – Parâmetros dos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem (PPO) e pseudo-segunda ordem (PSO) obtidos a partir dos dados de degradação do sulfentrazone no solo.....…..... 55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BOD	Biochemical Oxygen Demand
C0	Concentração inicial
DAD	Detector arranjo de diodo
ISO	Isolado
k	Constante da taxa de declínio
Lia	Lisina
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
NA	Nutriente Ágar
pH	Potencial hidrogeniônico
PPO	Pseudo Primeira Ordem
PPS	Pseudo Segunda Ordem
SIM	Sulfeto Indol Motilidade
TSI	Tryple Sugar Iron
VP	Voges-Proskauer
VM	Vermelho de metila
UHPLC/EM	Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência/ Espectrômetro de massas

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Graus Celsius
cm	Centímetro
$CaCl_2$	Cloreto de cálcio
dm^3	Decimetro cúbico
g	Grama
g. ha^{-1}	Gramas por hectare
g. L^{-1}	Grama por litro
h	Horas
H	Hidrogênio
K	Potássio
Kd	Coeficiente de sorção
Kf	Constante de capacidade de adsorção de Freundlich
Kow	Coeficiente de partição octanol-água
µg L^{-1}	Micrograma por litro
mg L^{-1}	Miligrama por litro
µL	Microlitros
mL	Mililitro
pKa	Constante de dissociação ácido/base
ppm	Partes por milhão
®	Marca registrada
%	Porcentagem

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL 15

REFERÊNCIAS 20

RESUMO 27

ABSTRACT 28

1. INTRODUÇÃO 29

2. MATERIAL E MÉTODOS 31

2.1 Coleta do solo 31

2.2 Reagentes 31

2.3 Condições cromatográficas e de espectrometria de massa 31

2.4 Isolamento dos microrganismos do solo e seleção de microrganismos tolerantes ao sulfentrazone 32

2.5 Capacidade de degradação do sulfentrazone comercial *in vitro* 33

2.5 Caracterização morfológica e bioquímica dos microrganismos degradadores de sulfentrazone 34

2.7 Análise dos isolados em MALDTOF-MS 37

2.8 Capacidade de degradação do sulfentrazone comercial em solo 38

2.9 Análises estatísticas 39

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 40

3.1 Isolamento dos microrganismos e teste de tolerância ao herbicida 40

3.2 Capacidade de degradação do herbicida in vitro 41

3.3 Caracterização bioquímica dos isolados promissores *in vitro* 46

3.4 Identificação dos isolados promissores in vitro por meio do MALD-TOFMS 50

3.6 Capacidade dos isolados em degradar o herbicida no solo 52

4. CONCLUSÕES 62

5. REFERÊNCIAS 63

CONSIDERAÇÕES FINAIS 70

INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil consolidou-se como um dos maiores produtores e exportadores agrícolas do mundo, com a safra nacional de cereais, leguminosas e oleaginosas estimada em 325,3 milhões de toneladas para o ano de 2025, representando um aumento de 11,1% em relação à produção de 2024 (IBGE, 2025). Esse desempenho expressivo pode ser atribuído não apenas à localização geográfica privilegiada e às condições climáticas favoráveis, mas também a mudanças significativas no uso e manejo da terra, aliadas à ampliação da quantidade e variedade de insumos agrícolas empregados, como fertilizantes e defensivos químicos (SILVA *et al.,* 2023). O uso desses insumos visa suprir as necessidades nutricionais das plantas, bem como controlar pragas, doenças e plantas daninhas, promovendo o aumento da produtividade e contribuindo para a segurança alimentar.

Entre os fatores bióticos que impactam negativamente o rendimento das lavouras, as plantas daninhas têm se destacado pela elevada capacidade competitiva com as culturas agrícolas. Em escala global, as perdas causadas por essas espécies são estimadas em 34%, em casos em que não é adotado nenhuma estratégia de controle pode chegar a 100% enquanto doenças, pragas e vírus ocupam papel secundário das perdas, respectivamente (ALMEIDA; FERRÃO, 2022; EMBRAPA, 2025). Nesse cenário, observou-se uma intensificação no uso de defensivos agrícolas como estratégia para minimizar perdas e maximizar a produtividade das lavouras. No Brasil, o consumo anual de agrotóxicos ultrapassa 300 mil toneladas de produtos comerciais. Quando considerado em termos de ingrediente ativo (i.a.), esse número corresponde a aproximadamente 130 mil toneladas por ano. Esse aumento representa uma elevação de cerca de 700% no uso de agrotóxicos nas últimas quatro décadas (EMBRAPA, 2021).

Os herbicidas, dentre os diferentes grupos de defensivos, se destacam por sua ampla aplicação, especialmente em culturas de grande expressão econômica, como soja, milho e cana-de-açúcar (SOUZA *et al.,* 2023). Esses compostos são fundamentais para o controle eficaz das plantas daninhas, que competem diretamente com as culturas por luz, água e nutrientes, reduzindo significativamente a produtividade (SALOMÃO; FERRO; RUAS, 2020). No entanto, embora essenciais no sistema produtivo atual, o uso intensivo de herbicidas tem gerado crescente preocupação quanto aos seus impactos ambientais. A persistência e mobilidade desses produtos no ambiente podem resultar na contaminação do

solo e da água, afetar organismos não-alvo e comprometer a biodiversidade, colocando em risco a qualidade dos ecossistemas agrícolas (PEROBELLI, 2025).

O sulfentrazone N-{2,4-dicloro-5-[4-(difluorometil)-3-metil-5-oxo-4,5-di-hidro-1H-1,2,4-triazol-1-il]fenil}metanossulfonamida é um herbicida utilizado no Brasil nas culturas de abacaxi, café, cana-de-açúcar, citros, tabaco e soja. Ele apresenta excelente atividade quando aplicado em pré-emergência no controle de plantas daninhas eudicotiledôneas e diversas espécies monocotiledôneas (SILVA *et al*., 2025). Assim como outros herbicidas do grupo das triazolinonas, atua inibindo a enzima protoporfirinogênio oxidase (Protox), um alvo crítico por estar diretamente envolvido na biossíntese de moléculas essenciais como de heme e clorofila, fundamentais para os processos de fotossíntese e respiração celular nas plantas. A inibição dessa enzima interrompe a via da porfirina, provocando o acúmulo de protoporfirinogênio nas células vegetais. Quando exposto à luz, esse composto gera espécies reativas de oxigênio (ROS), que causam danos oxidativos severos, levando à ruptura das membranas celulares e, consequentemente, à morte da planta (GEHRKE; CAMARGO; ÁVILA, 2020).

O comportamento do sulfentrazone no solo depende das interações entre a molécula do herbicida e os constituintes do solo, bem como das condições climáticas. Por apresentar solubilidade moderada a alta em água (780 mg L^{-1}), baixo coeficiente de partição octanol-água (Kow = 9,8 em pH 7) e ser classificado como um ácido fraco (pKa = 6,56), o sulfentrazone exibe baixa capacidade de sorção no solo (Kd < 1,0 mL g^{-1} e Koc de 43 mL g^{-1}). Esses fatores contribuem para um maior risco de lixiviação, sendo o herbicida classificado como altamente lixiviável segundo o índice GUS (6,16), especialmente em solos arenosos ou com baixo teor de matéria orgânica (LANGARO *et al*., 2019; MATOS *et al*., 2020; PPDB, 2024). Todavia, a magnitude desses processos depende de propriedades específicas do solo, como pH, composição mineralógica, tipo de argila e teor de matéria orgânica.

Embora a lixiviação seja importante para o deslocamento do herbicida no perfil do solo, permitindo que atinja sementes e plântulas de plantas daninhas, quando excessiva, pode reduzir sua eficácia agronômica e elevar o risco de contaminação das águas subterrâneas. Além disso, o acúmulo em camadas mais profundas pode prolongar a permanência do produto no ambiente, devido à menor atividade microbiológica nessas regiões (TEIXEIRA *et al*., 2017; FAUSTINO *et al*., 2015).

Em determinados tipos de solo, como neossolos quartzarênicos e latossolos vermelho-amarelos, o sulfentrazone tem sido detectado em profundidades consideráveis. evidenciando seu alto potencial de mobilidade e risco de contaminação de águas subterrâneas (BRAGA *et al.*, 2016; JUNIOR *et al*., 2022). Esse comportamento tem sido observado especialmente em áreas agrícolas dedicadas ao cultivo de café e cana-de-açúcar, onde o herbicida figura entre os ingredientes ativos com maior índice de lixiviação e risco para os recursos hídricos (SANTOS *et al*., 2023). Além disso, práticas como a aplicação combinada com outros herbicidas, a exemplo do glifosato, podem alterar significativamente sua dinâmica no solo, reduzindo a sorção e aumentando a dessorção, o que intensifica seu deslocamento e eleva o risco de atingir os lençóis freáticos (LANGARO *et al*., 2019).

Outra propriedade importante do sulfentrazone é sua elevada persistência no solo, com uma meia-vida que pode variar de 121 a 302 dias em condições de campo, dependendo das condições ambientais e do tipo de solo (FERREIRA *et al*., 2024). Em ambientes secos, sua atividade fitotóxica pode perdurar por mais de 182 dias (LOURENÇO; CARVALHO, 2021), sendo ainda mais prolongada em solos esterilizados, onde a ausência de atividade microbiana limita os processos de degradação (BRUM; FRANCO; SCORZA JÚNIOR, 2013; DAMIN; CARRIJO; COSTA, 2021).

A persistência do sulfentrazone no solo é um fator preocupante, pois favorece o fenômeno conhecido como *carryover*, caracterizado pela presença de resíduos fitotóxicos que permanecem ativos por longos períodos e podem comprometer o desenvolvimento de culturas sensíveis cultivadas em sucessão. Estudos demonstram que a aplicação desse herbicida, especialmente de forma isolada, pode resultar em reduções significativas na produtividade de espécies como milho e sorgo plantadas após a soja (SILVA *et al*., 2024). Esse efeito residual é ainda mais acentuado em solos com baixo teor de matéria orgânica e limitada atividade microbiológica, o que dificulta a degradação natural do composto e aumenta o risco de danos a culturas subsequentes (JANAKI *et al*., 2016). Diante disso, estratégias que visem acelerar a degradação do herbicida no solo tornam-se essenciais, especialmente para produtores que desejam cultivar espécies sensíveis em sucessão, como o sorgo e o algodão, contribuindo para a mitigação dos efeitos negativos do *carryover* e para a sustentabilidade dos sistemas agrícolas.

Compreender os mecanismos envolvidos na degradação do sulfentrazone é essencial não apenas para o sucesso de estratégias de remediação, mas também para mitigar os

impactos ambientais causados por sua persistência no solo. Um dos principais riscos associados ao uso do sulfentrazone é seu potencial de contaminação dos recursos hídricos, especialmente por meio da lixiviação e do escoamento superficial. Estudos de monitoramento em campo já identificaram a presença de resíduos desse herbicida tanto em águas superficiais quanto em aquíferos subterrâneos. Embora as concentrações detectadas geralmente estejam abaixo dos limites considerados críticos, o sulfentrazone pode exercer efeitos tóxicos mesmo em baixos níveis, especialmente sobre organismos aquáticos. Entre os impactos observados, destacam-se a toxicidade para plantas aquáticas e alterações comportamentais e metabólicas em peixes, o que reforça a preocupação com sua presença no ambiente e a necessidade de estratégias eficazes para controlar sua persistência no solo. (THORNGREN *et al*., 2017; GOMES *et al.,* 2024; WANG *et al*.,2025; SCHEDENFFELDT *et al*., 2024).

Nesse contexto, o entendimento dos processos de degradação do sulfentrazone, especialmente os mediadas por microrganismos, torna-se fundamental para reduzir o risco de contaminação e promover práticas agrícolas mais seguras e sustentáveis. No solo, a degradação do sulfentrazone ocorre predominantemente por meio da atividade microbiana — processo conhecido como biodegradação — enquanto os processos abióticos, como hidrólise e fotodegradação, desempenham papel secundário (MELO *et al.,* 2017). A biodegradação consiste em um processo natural realizado por microrganismos capazes de transformar ou mineralizar compostos tóxicos por meio de vias metabólicas específicas, mediadas por enzimas que atuam sobre a estrutura química do herbicida (BOSE *et al*., 2021). Dessa forma, o estímulo à atividade microbiana no solo apresenta-se como uma abordagem eficaz para reduzir a persistência do sulfentrazone e seus impactos indesejáveis.

Inicialmente, o contato com o herbicida provoca um impacto negativo na comunidade microbiana, no entanto, parte dessa comunidade apresenta resistência e capacidade de adaptação, passando a utilizar os nutrientes presentes no herbicida, como carbono, enxofre e nitrogênio, bem como a energia química liberada durante sua degradação, para manter suas atividades metabólicas e crescimento (CORREIA, 2018), o que lhes permitem metabolizar a molécula, resultando na formação de metabólitos menos tóxicos e com menor impacto ambiental (MARTINEZ *et al.,* 2010). Os principais mecanismos envolvem reações de hidrólise, descloração, desmetilação, oxidação e clivagem de anéis, catalisadas por enzimas específicas, cujas rotas variam de acordo com a estrutura química do herbicida (CHEN *et al*., 2023; BRAMBILA *et al*., 2024; MALLA *et al*., 2022).

Os principais microrganismos envolvidos na biodegradação de herbicidas no solo pertencem a diferentes grupos de bactérias e fungos, com destaque para bactérias dos gêneros *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Alcaligenes* e *Bacillus*, que desempenham um papel importante na transformação de diversos herbicidas (SINGH *et al*., 2020; MAUFFREY *et al*., 2017; ORTIZ-HERNÁNDEZ *et al.,* 2013; LOPES *et al*., 2022). A eficiência desses processos microbiológicos, no entanto, depende de uma série de fatores ambientais, como umidade, temperatura, pH do solo e disponibilidade de matéria orgânica e nutrientes. Condições ideais — como solos com umidade adequada, temperatura amena e alto teor de matéria orgânica — favorecem a atividade microbiana, estimulando a produção de enzimas envolvidas na degradação dos herbicidas (SEHRAWAT *et al.*, 2021). Práticas agrícolas que aumentam a atividade microbiana, como a adição de matéria orgânica ou o manejo adequado das condições físico-químicas do solo, também podem acelerar significativamente a taxa de degradação de herbicidas (MENDES *et al*., 2023).

Nesse cenário, a biorremediação destaca-se como uma estratégia aplicada para potencializar ou otimizar os processos naturais de biodegradação, esta técnica engloba o uso intencional e controlado de organismos vivos como bactérias, fungos ou plantas para remover, transformar ou neutralizar poluentes. Sua aplicação tem se mostrado particularmente vantajosa em áreas agrícolas submetidas à aplicação contínua de herbicidas, promovendo a destoxificação do solo e a mitigação dos impactos ambientais decorrentes da presença desses compostos (MELO, 2017). Em comparação aos métodos físicos e químicos de remediação, a biorremediação tem demonstrado, maior eficiência, menor custo operacional e melhor compatibilidade com práticas agrícolas sustentáveis. A biorremediação pode envolver abordagens como a bioestimulação (estimular microrganismos já presentes por meio da adição de nutrientes ou ajustes ambientais), a bioaumentação (introdução de microrganismos específicos com alta capacidade degradadora) e a fitorremediação (uso de plantas para absorver ou degradar contaminantes) (LOPES *et.al*, 2022; RAJENDRA *et al.,* 2021).

Entre essas estratégias de descontaminação ambiental a bioaumentação apresenta vantagens em termos de velocidade, especificidade e replicabilidade. Enquanto a fitorremediação apresenta um espectro de ação mais restrito, atuando principalmente em contaminantes que as plantas conseguem absorver ou metabolizar, a bioaumentação pode selecionar microrganismos para degradar poluentes específicos (CAO *et al*., 2021; WOJTOWICZ; STELIGA; KAPUSTA, 2023; AMMERI *et al.*, 2023). Outro fator limitante é o tempo, uma vez que a fitorremediação baseia-se no crescimento de plantas que removem ou

estabilizam contaminantes, porém de forma geralmente mais lenta, limitada pela biomassa vegetal e pelo tempo necessário para o desenvolvimento das plantas (DEHNAVI; EBRAHIMIPOUR, 2022). No entanto, quando essas duas abordagens são combinadas, pode ocorrer uma sinergia positiva: a bioaumentação pode estimular o crescimento das plantas e aumentar sua tolerância ao estresse tóxico, enquanto a presença vegetal favorece a atividade microbiana, potencializando a degradação dos poluentes e tornando o processo mais eficiente e sustentável (SIMMER; SCHNOOR, 2022; CHETTRI; VERMA, 2023).

Diante dos impactos ambientais provocados pelo uso contínuo do herbicida sulfentrazone, torna-se essencial buscar estratégias sustentáveis para mitigar esses efeitos. Nesse contexto, a biorremediação microbiana surge como uma alternativa promissora, especialmente, utilizando microrganismos nativos adaptados a ambientes contaminados para promover a degradação do composto. Desta forma, este estudo teve como objetivos: i) Identificar e selecionar isolados microbianos provenientes de áreas agrícolas com histórico de aplicação do herbicida sulfentrazone, determinando sua tolerância ao herbicida; ii) Investigar, in vitro, a capacidade de degradação do herbicida pelos isolados resistentes; iii) Caracterizar bioquimicamente os isolados promissores, com identificação em nível de gênero e/ou espécie; iv) Testar os isolados mais eficientes em condições de ambiente protegido, verificando seu potencial para aplicação em processos de biorremediação.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Edmilson Igor Bernardo; FERRÃO, Gregori da Encarnação (Orgs.). **Fundamentos em biologia e manejo de plantas daninhas.** São Luís: EDUFMA, 2022. 215 p. ISBN 978-65-5363-152-6.

AMMERI, W. et al. Effectiveness of Combined Tools: Adsorption, Bioaugmentation, and Phytoremediation for the Removal of Pesticides from Wastewater. **International Journal of Phytoremediation**, v. 25, p. 1474-1487, 2023. DOI: https://doi.org/10.1080/15226514.2022.2164249.

BOSE, S. et al. Microbial Degradation of Recalcitrant Pesticides: A Review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 19, p. 3209-3228, 2021. DOI: https://doi.org/10.1007/s10311-021-01236-5.

BRAGA, D. et al. Leaching of Sulfentrazone in Soils from the Sugarcane-Growing Region of Northeastern Brazil. **Planta Daninha**, v. 34, p. 161-169, 2016. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-83582016340100017.

BRAMBILA, M. et al. Biodegradation of Atrazine: A Review of Its Metabolic Pathways. **International Journal of Chemical Reactor Engineering**, v. 22, p. 1265-1288, 2024. DOI: https://doi.org/10.1515/ijcre-2024-0241.

BRUM, Camila S.; FRANCO, André A.; SCORZA JÚNIOR, Rômulo P. Degradação do herbicida sulfentrazone em dois solos de Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 5, maio 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1415-43662013000500014>. Acesso em: 22 jun. 2025.

CAO, X. et al. Amendments and bioaugmentation enhanced phytoremediation and micro-ecology for PAHs and heavy metals co-contaminated soils. **Journal of Hazard Materials**, v. 426, p. 128096, 2021. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.128096.

CHEN, S. et al. Insights into the Metabolic Pathways and Biodegradation Mechanisms of Chloroacetamide Herbicides. **Environmental Research**, n. 115918, 2023. DOI: https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.115918.

CHETTRI, D.; VERMA, A.; VERMA, A. Bioaugmentation: An Approach for the Biological Treatment of Pollutants. **Biodegradation**, 2023. DOI: https://doi.org/10.1007/s10532-023-10050-5.

CORREIA, Nubia Maria. *Comportamento dos herbicidas no ambiente.* Brasília: **Embrapa**, 2018. ISSN 1415-2312.

DAMIN, Virginia; CARRIJO, Bruno da Silva; COSTA, Nathalia Almeida. Residual activity of sulfentrazone and its impacts on microbial activity and biomass of Brazilian Savanna soils. **Ciência Rural**, v. 51, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1983-40632021v51e68340>. Acesso em: 3 jun. 2025.

DAYAN, Franck E.; ARMSTRONG, Brian M.; WEETE, John D. Inhibitory activity of sulfentrazone and its metabolic derivatives on soybean (*Glycine max*) protoporphyrinogen oxidase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 5, p. 2020–2024, 1998. DOI: https://doi.org/10.1021/jf9708167.

DEHNAVI, S.; EBRAHIMIPOUR, G. Comparative Remediation Rate of Biostimulation, Bioaugmentation, and Phytoremediation in Hydrocarbon Contaminants. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 19, p. 11561-11586, 2022. DOI: https://doi.org/10.1007/s13762-022-04343-0.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Plantas daninhas: sobre o tema. Disponível em: <https://www.embrapa.br/tema-plantas-daninhas/sobre-o-tema>. Acesso em: 3 jun. 2025.

FAUSTINO, L. A. et al. Mobilidade do sulfentrazone em solos com diferentes características físicas e químicas. **Planta Daninha**, v. 33, n. 4, p. 761-770, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582015000400018>. Acesso em: 3 jun. 2025.

FERREIRA, A. S. et al. Sorption of Diuron and Sulfentrazone in Different Substrates**.** **Scientia Plena**, v. 20, n. 12, p. 120202-1–120202-9, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2024.120202>. Acesso em: 3 jun. 2025.

GEHRKE, V. R.; CAMARGO, E. R.; ÁVILA, L. A. Sulfentrazone: environmental dynamics and selectivity. **Planta Daninha**, v. 38, e020215663, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582020380100032>. Acesso em: 5 jun. 2025.

GOMES, S. et al. Behavioral Effects of the Mixture and the Single Compounds Carbendazim, Fipronil, and Sulfentrazone on Zebrafish (*Danio rerio*) Larvae. **Biomedicines**, v. 12, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.3390/biomedicines12061176. Acesso em: 4 ago. 2025.

IBGE. Estimativa de janeiro prevê alta de 11,1% e safra recorde de 325,3 milhões de toneladas em 2025. Agência de Notícias IBGE, 13 fev. 2025. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-noticias/noticias/42684-estimativa-de-janeiro-preve-alta-de-11-1-e-safra-recorde-de-325-3-milhoes-de-toneladas-em-2025>. Acesso em: 3 jun. 2025.

JÚNIOR, L. et al. Mobilidade sulfentrazone em colunas preenchidas com horizontes de ultisol e oxisol. **Ciências da Terra Ambiental**, v. 81, p. 1-24, 2022. DOI: https://doi.org/10.1007/s12665-021-10165-z.

LANGARO, A. et al. Estimation of sulfentrazone leaching in isolated application and in mixture with glyphosate. **Planta Daninha**, 2019. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-83582019370100017.

LANGARO, Ana Claudia et al. Estimation of sulfentrazone leaching in isolated application and in mixture with glyphosate. **Planta Daninha**, v. 37, e019215017, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582019370100017>. Acesso em: 3 jun. 2025.

LOPES, Carla Vanessa Alves; ALBUQUERQUE, Guilherme Souza Cavalcanti de. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde em Debate**, v. 42, n. 117, abr./jun. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-1104201811714>. Acesso em: 3 jun. 2025.

LOURENÇO, Renato Coradello; CARVALHO, Saul Jorge Pinto de. Bioindicator demonstrates high persistence of sulfentrazone in dry soil. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.14307021>. Acesso em: 22 jun. 2025.

MALLA, M. et al. Metagenomic analysis reveals the potential predictive biodegradation pathways of persistent pesticides in agricultural soils with a long history of pesticide use. **Microbiological Research**, v. 261, n. 127081, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127081>. Acesso em: 3 jun. 2025.

MAPA – MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Agrofit: Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 11 jun. 2025.

MARTINEZ, Camila Ortiz; et al. Microbial degradation of sulfentrazone in a Brazilian Rhodic Haplustox soil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, n. 1, p. 164–172, 2010. <DOI: https://doi.org/10.1590/S1517-83822010000100030>. Acesso em: 3 jun. 2025.

MATOS, Ana Karollyna Alves de et al. Dynamics of diuron and sulfentrazone formulations in soils with different textures. **Planta Daninha**, v. 38, e020215663, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582020380100068>. Acesso em: 3 jun. 2025.

MAUFFREY, F.; BACCARA, P. Y.; GRUFFAZ, C.; et al. Bacterial community composition and genes for herbicide degradation in a stormwater wetland collecting herbicide runoff. ***Water, Air, and Soil Pollution*****,** v. 228, n. 452, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11270-017-3625-9>. Acesso em: 9 jul. 2024.

MELO, Christiane Augusta Diniz; SOUZA, Wendel Magno de; CARVALHO, Felipe Paolinelli de; MASSENSSINI, André Marcos; SILVA, Antonio Alberto da; FERREIRA, Lino Roberto; COSTA, Maurício Dutra. Atividade microbiana do solo com sulfentrazone associado a espécies fitorremediadoras e inoculação com consórcio bacteriano. ***Bragantia*****,** v. 76, n. 2, p. 277–287, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1590/1678-4499.203. Acesso em: 3 jun. 2025.

MENDES, Kassio Ferreira; SOUSA, Rodrigo Nogueira de; LIMA, Alessandro da Costa; GODOI JUNIOR, Márcio Antônio. Understanding the environmental behavior of herbicides: a systematic review of practical insights. In: MENDES, Kassio Ferreira (org.). ***Pesticides: agronomic application and environmental impact.*** **IntechOpen**, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.5772/intechopen.1002280. Acesso em: 9 jul. 2024.

NALINI, R.; JANAKI, P.; BALUSAMY, M.; CHINNUSAMY, C. Persistence of Sulfentrazone in Soil Cultivated with Soybean and Its Residual Effect on Bioindicators. Acta Agriculturae Scandinavica, Seção B — **Soil & Plant Science**, v. 67, p. 217-222, 2017. DOI: https://doi.org/10.1080/09064710.2016.1246670.

ORTIZ-HERNÁNDEZ, Ma. Laura; SÁNCHEZ-SALINAS, Enrique; DANTÁN-GONZÁLEZ, Edgar; CASTREJÓN-GODÍNEZ, María Luisa. Pesticide biodegradation: mechanisms, genetics and strategies to enhance the process. In: CHAMY, Rolando;

ROSENKRANZ, Francisca (eds.). ***Biodegradation - Life of Science.*** **IntechOpen**, 2013. Disponível em: https://doi.org/10.5772/56098. Acesso em: 9 jul. 2024.

PARVEN, A.; MEFTAUL, I. Md; VENKATESWARLU, K.; MEGHARAJ, M. Herbicides in Modern Sustainable Agriculture: Environmental Fate, Ecological Implications, and Human Health Concerns**. International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 22, p. 1181–1202, 2025. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s13762-024-05818-y. Acesso em: 3 jun. 2025.

PEROBELLI, J. E. Pesticides and public health: discussing risks in Brazilian agro-industrial growth. **Frontiers in Toxicology**, v. 7, p. 1442801, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/ftox.2025.1442801>. Acesso em: 3 jun. 2025.

PPDB – Pesticide Properties DataBase. Sulfentrazone. University of Hertfordshire, 2024. Disponível em: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/601.htm>. Acesso em: 25 jun. 2025.

RAJENDRA, S. V. et al. Bioremediation: modes, techniques and applications. International Journal of Biology, **Pharmacy and Allied Sciences**, Gujarat, v. 10, n. 4, p. 375, abr. 2021. DOI: https://doi.org/10.31032/IJBPAS/2021/10.4.1042. Acesso em: 17 jul. 2025.

SALOMÃO, Pedro Emílio Amador; FERRO, Antônio Max Souza; RUAS, Wilson Ferreira. Herbicides in Brazil: A Brief Review. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 2, e32921990, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i2.1990>. Acesso em: 3 jun. 2025.

SANTOS, G. et al. Potential risk of agrochemical leaching in areas of edaphoclimatic suitability for coffee cultivation. **Water**, 2022. DOI: https://doi.org/10.3390/w14091515.

SCHEDENFFELDT, B.; SIQUEIRA, B.; DA SILVA, R.; MONQUERO, P. Evaluation of herbicide toxicity to *Lemna minor* L. and *Azolla caroliniana* Willd. **Ecotoxicology**, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s10646-024-02829-w. Acesso em: 4 ago. 2025.

SEHRAWAT, Anju; PHOUR, Manisha; KUMAR, Rakesh; SINDHU, Satyavir S. Bioremediation of pesticides: an eco-friendly approach for environment sustainability. In: SEHRAWAT, Anju; PHOUR, Manisha; KUMAR, Rakesh; SINDHU, Satyavir S. (ed.). **Microbial rejuvenation of polluted environment**. [S.l.]: Springer, 2021. p. 23–84.

Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-15-8701-0_2. Acesso em: 20 jul. 2025.

SILVA, M. R. F. da et al. Potential of sugarcane biomass-derived biochars for the controlled release of sulfentrazone in soil solutions. **Processes**, v. 13, n. 7, p. 1965, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pr13071965>. Acesso em: 3 jun. 2025.

SILVA, P. et al. Efficacy of Weed Control and Selectivity in Soybean with Pre-Emergence Herbicide Application and Its Drift in Sorghum and Corn.**Journal of Environmental Science and Health**, Parte B, v. 59, p. 792-802, 2024. DOI: https://doi.org/10.1080/03601234.2024.2432167.

SIMMER, R.; SCHNOOR, J. Phytoremediation, Bioaugmentation, and the Plant Microbiome. **Environmental Science & Technology**, v. 56, p. 16602-16610, 2022. DOI: https://doi.org/10.1021/acs.est.2c05970.

SINGH, M. K.; SINGH, N. K.; SINGH, S. P. Impact of herbicide use on soil microorganisms. In: SINGH, P.; SINGH, S. K.; PRASAD, S. M. (eds.). *Plant responses to soil pollution.* Singapore: **Springe**r, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-981-15-4964-9_11. Acesso em: 9 jul. 2025.

SOUZA, M. C. O. et al. Recent trends in pesticides in crops: a critical review of the duality of risks-benefits and the Brazilian legislation issue. **Environmental Research**, v. 228, p. 115811, jul. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.115811>. Acesso em: 3 jun. 2025.

SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F. Agrotóxicos no Brasil. Brasília, DF: **Embrapa**, 2021. Disponível em: https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/agricultura-e-meio-ambiente/qualidade/dinamica/agrotoxicos-no-brasil. Acesso em: 17 jul. 2025.

TEIXEIRA, Matheus Ferreira França et al. Lixiviação do sulfentrazone em solos do Norte de Minas Gerais cultivado com cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 16, n. 3, p. 246-255, jul./set. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.7824/rbh.v16i3.549>. Acesso em: 3 jun. 2025.

THORNGREN, J. et al. Fate and Risk of Atrazine and Sulfentrazone to Non-Target Species in an Agricultural Area. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 36, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1002/etc.3664. Acesso em: 4 ago. 2025.

WANG, F. et al. Metabolic perturbations in zebrafish (*Danio rerio*) larvae exposed to sulfentrazone and imidacloprid. **Science of the Total Environment**, 2024. Art. 173150. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.173150. Acesso em: 4 ago. 2025.

WOJTOWICZ, K.; STELIGA, T.; KAPUSTA, P. Evaluation of the Effectiveness of Bioaugmentation-Assisted Phytoremediation of Soils Contaminated with Petroleum Hydrocarbons Using *Echinacea purpurea*. **Applied Sciencs** 2023. DOI: https://doi.org/10.3390/app132413077.

BACTÉRIAS NATIVAS DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO TOLERANTES AO SULFENTRAZONE COMO AGENTES DE BIORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS

RESUMO

A aplicação frequente de um mesmo herbicida no solo pode selecionar microrganismos tolerantes, capazes de degradar o composto. Essa adaptação microbiana pode ser explorada em programas de biorremediação voltados à mitigação de herbicidas com longa persistência, cujos efeitos residuais acarretam impactos ambientais e agronômicos. Nesta pesquisa, avaliou-se o potencial de bactérias isoladas de solos com histórico de aplicação de sulfentrazone na redução da persistência desse herbicida no ambiente. Incialmente foi realizado o isolamento de microrganismos de um solo com histórico de uso do sulfentrazone em cultivo de cana-de-açúcar, sendo isolados 43 microrganismos de solos com histórico de aplicação do herbicida, dos quais 21 apresentaram capacidade de crescer em meio com o herbicida. No ensaio in vitro foi avaliado as taxas de degradação do composto por cada bactéria. De modo geral, todos os isolados demonstraram capacidade de degradar o herbicida, com destaque para 11 bactérias que apresentaram taxas de degradação superiores a 50%, além de elevada velocidade de transformação do composto. A caracterização bioquímica, aliada à identificação por MALDI-TOF MS, evidenciou a predominância de bacilos Gram-positivos, com destaque para as espécies *Bacillus cereus, Priestia megaterium* e *Alcaligenes faecalis*. Quando avaliados em solo, esses microrganismos reduziram em até 10 dias a meia-vida do sulfentrazone, acelerando sua degradação em mais de 10% e contribuindo para diminuir a persistência do herbicida no ambiente. Os resultados demonstram que isolados nativos previamente expostos ao sulfentrazone apresentam potencial para aplicação em estratégias de biorremediação. No entanto, para que possam ser utilizados de forma viável em campo, é necessário avançar em estudos que avaliem a estabilidade, a eficácia em diferentes tipos de solo e condições ambientais, bem como o desenvolvimento de formulações microbianas seguras e eficientes. Dessa forma, a utilização desses microrganismos como ferramenta biotecnológica pode se consolidar como uma alternativa sustentável no manejo de solos contaminados, contribuindo para reduzir os impactos ambientais associados ao uso contínuo do sulfentrazone.

Palavras-chave: Bactéria. Pesticida. Descontaminação. Biotecnologia.

NATIVE BACTERIA FROM THE BRAZILIAN SEMI-ARID REGION TOLERANT TO SULFENTRAZONE AS AGENTS FOR BIOREMEDIATION OF CONTAMINATED SOILS

ABSTRACT

The frequent application of the same herbicide in soil can select tolerant microorganisms capable of degrading the compound. This microbial adaptation can be exploited in bioremediation programs aimed at mitigating herbicides with long persistence, whose residual effects cause environmental and agronomic impacts. This study evaluated the potential of bacteria isolated from soils with a history of sulfentrazone application to reduce the persistence of this herbicide in the environment. Initially, microorganisms were isolated from soil with a history of sulfentrazone use in sugarcane cultivation; 43 microorganisms were isolated from soils with a history of herbicide application, of which 21 demonstrated the ability to grow in media containing the herbicide. In the in vitro assay, the degradation rates of the compound by each bacterium were evaluated. Overall, all isolates demonstrated the capacity to degrade the herbicide, with emphasis on 11 bacteria that exhibited degradation rates exceeding 50%, in addition to a high rate of compound transformation. Biochemical characterization, combined with identification by MALDI-TOF MS, revealed a predominance of Gram-positive bacilli, highlighting the species *Bacillus cereus*, *Priestia megaterium*, and *Alcaligenes faecalis*. When evaluated in soil, these microorganisms reduced the half-life of sulfentrazone by up to 10 days, accelerating its degradation by more than 10% and contributing to decrease the herbicide's persistence in the environment. The results demonstrate that native isolates previously exposed to sulfentrazone have potential for application in bioremediation strategies. However, for their viable use in the field, further studies are necessary to evaluate their stability, efficacy in different soil types and environmental conditions, as well as the development of safe and efficient microbial formulations. Thus, the use of these microorganisms as a biotechnological tool may be consolidated as a sustainable alternative in the management of contaminated soils, helping to reduce the environmental impacts associated with the continuous use of sulfentrazone.

Keywords: Bacteria; pesticide; decontamination; biotechnology.

1. INTRODUÇÃO

O sulfentrazone é um herbicida de ação pré-emergente amplamente utilizado na agricultura brasileira, com registro para o controle de diversas espécies de plantas daninhas em culturas de elevada importância econômica, como cana-de-açúcar, soja, citros e café (SILVA et al., 2025). Pertencente ao grupo químico das triazolinonas, é um herbicida sistêmico que se destaca por sua alta solubilidade em água (780 mg L^{-1}) e baixa capacidade de sorção ao solo (43 mL g^{-1}), sendo classificado como de sorção moderada a fraca (PPDB,2024). Essas propriedades, associadas à sua elevada persistência no solo, favorecem um controle prolongado das infestantes, mas também aumentam o risco de efeitos ambientais indesejáveis, como a lixiviação para camadas mais profundas do solo e a contaminação de águas subterrâneas (GEHRKE; CAMARGO; ÁVILA, 2020).

A meia-vida do sulfentrazone varia significativamente conforme as características edáficas, com valores de aproximadamente 121 dias em solos arenosos e até 302 dias em solos argilosos, devido à maior capacidade de sorção destes últimos (FERREIRA et al., 2024). Essa persistência prolongada não apenas compromete a implantação de culturas sucessoras sensíveis, como também eleva o risco de contaminação de águas subterrâneas, especialmente em solos com baixa retenção, como os arenosos ou com reduzido teor de matéria orgânica (SANCHES, 2021; SILVA, 2017; VASSÃO, 2019). A mobilidade vertical do sulfentrazone no perfil do solo intensifica esses riscos, como evidenciado em estudos que relatam lixiviação para profundidades de até 30 cm o que aumenta o risco de contaminação do lençol freático e da água subterrânea, especialmente após chuvas intensas ou irrigação excessiva (JUNIOR *et al.,* 2022; BRAGA *et al*., 2016; MATOS *et al*., 2020).

A aplicação repetida de herbicidas pode alterar a estrutura da comunidade microbiana, favorecendo microrganismos adaptados à degradação do princípio ativo — um fenômeno conhecido como degradação acelerada, já observado para moléculas como atrazine, diuron e imazethapyr (MORETTO *et al.,* 2017; RUUSKANEN *et al*., 2022; PERTILE *et al.,* 2021). Esse processo adaptativo, ao mesmo tempo que reduz a persistência dos herbicidas, representa uma oportunidade para a seleção de microrganismos nativos com potencial para uso em estratégias biotecnológicas de remediação.

Nesse contexto, a biodegradação mediada por microrganismos do solo tem se consolidado como uma estratégia eficaz e ambientalmente segura para a remediação de áreas contaminadas por herbicidas persistentes. Diversas bactérias e fungos possuem rotas metabólicas específicas que lhes permitem transformar compostos xenobióticos em substâncias menos tóxicas ou até mesmo completamente mineralizadas, contribuindo para a redução de sua persistência e toxicidade no ambiente (MIGLANI *el al*., 2022). A atuação de enzimas como oxigenases e hidrolases, também são fundamentais na quebra de estruturas químicas complexas. Além disso, adaptações genéticas, como a presença de genes catabólicos específicos, potencializam a capacidade dos microrganismos de metabolizar xenobióticos de forma mais eficiente (BHATT *et al.,* 2019; AURORA, 2020; MISHRA *et al.,* 2021). A eficácia desse processo, no entanto, é fortemente influenciada por fatores ambientais, incluindo pH, temperatura e disponibilidade de nutrientes, os quais podem favorecer ou limitar a atividade microbiana e a degradação dos contaminantes (KUMAR, 2023).

A biodegradação do sulfentrazone é realizada por microrganismos, como bactérias do gênero *Pseudomonas* e fungos do gênero *Penicillium*, que utilizam o herbicida como fonte de carbono e energia. Fatores como temperatura, tipo de solo e nível de atividade microbiana, influenciam diretamente na taxa de degradação e eficiência da remoção do composto no ambiente (MELO *et al.,* 2017; MARTINEZ *et al*., 2010). A identificação e caracterização desses microrganismos, especialmente aqueles naturalmente adaptados a ambientes contaminados, constituem etapas fundamentais para o desenvolvimento de tecnologias de biorremediação aplicáveis em condições de campo.

Diante da complexidade do cenário agrícola brasileiro e mundial e dos desafios apresentados pela utilização do herbicida sulfentrazone, torna-se necessário buscar soluções inovadoras e sustentáveis para a gestão ambiental de áreas cultiváveis. Dessa forma, levantamos a hipótese de que comunidades microbianas edáficas expostas ao sulfentrazone podem desenvolver mecanismos de adaptação que favorecem sua degradação. Assim, este estudo teve como objetivos: i) Identificar e selecionar isolados microbianos provenientes de áreas agrícolas com histórico de aplicação do herbicida sulfentrazone, determinando sua resistência ao herbicida; ii) Investigar, in vitro, a capacidade de degradação do herbicida pelos isolados resistentes; iii) Caracterizar bioquimicamente os isolados promissores, com identificação em nível de gênero e/ou espécie; iv) Testar os isolados mais eficientes em casa de vegetação, verificando seu potencial para aplicação em processos de biorremediação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos nos Laboratórios de Microbiologia e Fitopatologia, Laboratório de Manejo de Plantas Daninhas, e Laboratório de Microbiologia Clínica, situados na Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), campus de Mossoró-RN, Brasil.

2.1 Caracterização da área de coleta do solo

O solo foi coletado em Natal-RN, na Fazenda Muriaé (6,18881°S,35,18800°0), da Indústria Agrocana, no talhão 76, uma área com histórico de aplicação recorrente do herbicida sulfentrazone. Para a coleta das amostras, foram retiradas aleatoriamente vinte amostras simples de toda a área, com profundidade de 0 a 10 cm. As amostras foram acondicionadas em caixa térmica refrigerada e transportadas para o laboratório. As amostras simples foram combinadas e homogeneizadas para formar uma amostra composta, representativa da área de estudo. Esta amostra foi utilizada nas análises laboratoriais destinadas à avaliação da microbiota presente no solo e sua capacidade de degradação do herbicida.

2.2 Reagentes

Os reagentes utilizados nos ensaios foram de grau analítico e HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência). O padrão de sulfentrazone ($C_{11}H_{10}Cl_2F_2N_4O_3S$, 99%) e o ácido fórmico (HCOOH, 50% em água) foi obtido da Sigma-Aldrich. A acetonitrila (CH_3CN, 99,9%) foi adquirida da J. T. Baker®. A água ultrapura foi produzida por osmose reversa da Gehaka. Foram utilizado para os ensaios in vitro e testes bioquímicos os respectivos meio de cultura e reagentes: Ágar Nutriente, Extrato de carne, Extrato de levedura, Peptona, Cristal violeta, lugol, álcool ou acetona, safranina, água destilada, meio Simmons Citrate com azul de bromotimol, meio SIM, reagente de Kovac's, meio TSI com fenol vermelho e ferro férrico, meio de fermentação com lactose e indicador de pH (como vermelho de fenol ou vermelho de metila), meio com ureia e fenol vermelho, meio decarboxilase de lisina com bromcresol púrpura, meio MR-VP broth, alfa-naftol, hidróxido de potássio (KOH) 40%, reagente vermelho de metila, peróxido de hidrogênio 3%, reagentes para nitrito: sulfanilamida, N-(1-naftil) etilendiamina di-hidroclorídrico, e zinco em pó.

2.3 Condições cromatográficas e de espectrometria de massa

O UHPLC é equipado com um detector Nexera X2 (Shimadzu, Tóquio, Japão), duas bombas LC - 30AD, um desgaseificador DGU – 20A5R, um auto - sampler Sil - 30AC, um

forno de coluna CTO - 30AC e um CBM −20A controlador e uma coluna Restek (Pinnacle DB AQ C18 de tamanho 50 x 2,1 mm, com partículas de 1,9 μm). As condições cromatográficas aplicadas consistiram de um fluxo de 0,20 mL min^{-1}, volume de injeção de 5 μL e as temperaturas do amostrador e do forno da coluna foram de 15 e 45 °C, respectivamente. A fase móvel A (água ultrapura com 0,1% de ácido fórmico) e fase móvel B (acetonitrila grau HPLC). A eluição ocorreu de forma isocrática com 80% de B. O espectrômetro de massa triplo quadrupolo da série LCMS-8040 (Shimadzu, Tóquio, Japão) com fonte de ionização por eletrospray (ESI), foi operado em modo de ionização negativo. Os parâmetros para o monitoramento de reações múltiplas (MRM) estão resumidos na Tabela 1. A tensão de interface foi ajustada para 4,5 kV, temperatura da linha de dessolvatação foi de 250°C, fluxo de gás nitrogênio de nebulização com 3 L min^{-1}; temperatura do bloco de 400°C, fluxo de gás nitrogênio de secagem com 15 L min^{-1} e gás argônio de colisão com pressão de 230 kPa.

Tabela 1. Parâmetros cromatográficos e de espectrometria de massas otimizados.

Herbicida	Tempo de retenção (min)	Quantificação			Confirmação		
		MRM transição m/z	DP (V)	CE (V)	MRM transição m/z	D (V)	CE (V)
Sulfentrazone	3,45	385,00>307,10	20,00	24,00	385,00>199,00	19,00	40,00

Monitoramento por reações múltiplas (MRM), potencial de decomposição (DP) e Energia de colisão (CE).

2.4 Isolamento dos microrganismos do solo e seleção de microrganismos tolerantes ao sulfentrazone

A fim de preparar uma suspensão homogênea para posterior análise foi pesado 1 g da amostra de solo seco e adicionado a um tubo de ensaio contendo 9ml de água destilada e esterilizada. Para garantir a distribuição uniforme das partículas no líquido, essa mistura foi submetida a agitação em vórtex por 1 minuto. Ao fim da agitação, com auxílio de uma pipeta automática foi transferido 1 ml deste líquido para um novo tubo de ensaio e realizado uma diluição seriada, com intuito de viabilizar o isolamento dos microrganismos presentes na amostra (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

Foram realizadas quatro diluições sucessivas, sendo escolhidas as diluições dois e três para análise, pois apresentaram um equilíbrio adequado entre a densidade celular e a

visualização das colônias. Com o auxílio de uma pipeta automática, 100 μL das suspensões dessas diluições foram depositados em placas de Petri contendo meio Nutriente Ágar (NA). Em seguida, o material foi distribuído uniformemente sobre a superfície do ágar com o uso de uma alça de Drigalski, garantindo uma dispersão homogênea. As placas foram incubadas em estufa do tipo BOD (Biochemical Oxygen Demand), a 30 ± 2°C, por 48 horas. Após este período, os microrganismos crescidos foram isolados.

Com o objetivo de avaliar a capacidade de resistência dos isolados ao sulfentrazone, com auxílio de uma alça de platina circunflexa, os microrganismos foram repicados em placas de Petri contendo meio NA, suplementados com o herbicida nas concentrações de 100ppm e 1000ppm. As placas foram então incubadas em estufa do tipo BOD, a 30 ± 2°C, por um período de 48 horas.

As concentrações do herbicida a serem utilizadas foram definidas com base na área da placa de Petri (0,00785 m^2) em proporção à quantidade de herbicida recomendada para um hectare (10.000m^2), conforme a dose indicada na bula do Boral, que é de 750g. A partir desse cálculo, obteve-se um valor aproximado de 0,59 mg. Ao levar em consideração o volume de 25ml de meio de cultura, quantidade utilizada para preencher as placas, obtemos aproximadamente 23 mg L^{-1} i.a (≅25ppm). Para esta etapa, foi trabalhado, com as concentrações concentrações de 100 ppm e 1.000 ppm, correspondendo a 4 vezes e 40 vezes as doses de bula. Dessa forma, foi possível avaliar o comportamento dos microrganismos quando expostos a concentrações extremas do herbicida em comparação às aplicadas em campo, permitindo a seleção daqueles isolados microbianos com maior tolerância ao sulfentrazone.

As placas de Petri foram novamente incubadas em estufa do tipo BOD, a uma temperatura de 30 ± 2°C, por mais 48 horas. Após esse período, os isolados que apresentaram crescimento foram selecionados para o isolamento de culturas puras, realizado pela técnica de esgotamento de inóculo em superfície, utilizando meio NA. Isso permitiu a obtenção de culturas puras, que foram preservadas em tubos Eppendorf contendo 5 mL de caldo BHI (Brain Heart Infusion), suplementado com 20% de glicerol e armazenados em freezer, garantindo sua viabilidade e disponibilidade para investigações futuras.

2.5 Capacidade de degradação do sulfentrazone comercial *in vitro*

Os microrganismos tolerantes ao herbicida foram testados quanto à capacidade de degradação do sulfentrazone na formulação comercial Boral BR®. O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os tratamentos foram compostos pelos

isolados selecionados na etapa descrita pela secção 2.2. Vinte e um isolados foram selecionados, totalizando 21 tratamentos e um controle sem a presença de isolados.

Os microrganismos foram repicados em placas de Petri contendo meio Nutriente Ágar (NA) e incubados em estufa do tipo BOD a 30 ± 2°C por um período de 48 horas. Após esse período, foi realizada a padronização dos inóculos para garantir a uniformidade das suspensões microbianas utilizadas nos testes subsequentes.

Com o auxílio de um bisturi estéril, as colônias microbianas foram cuidadosamente raspadas das placas e transferidas para tubos de ensaio contendo 9 mL de água destilada esterilizada. Em seguida, as suspensões foram homogeneizadas em vórtex por 1 minuto, visando a dispersão uniforme das células, facilitando a padronização da concentração microbiana. Com auxílio de uma pipeta automática, foi transferido 2ml de cada solução para as cubetas e observadas a concentração de células bacterianas em espectrofotômetro em um comprimento de onda de 600 nm, todos os isolados foram padronizados para a densidade óptica (OD) de 0,9.

Frascos Erlenmeyer de 250 mL foram preenchidos com 100 mL de meio caldo nutriente, suplementado com 25 ppm da formulação comercial do herbicida Boral BR®, essa concentração foi definida levando em consideração o volume de 500 ml do meio de cultura em proporção a dose de bula. Em seguida, adicionou-se 100 µL de inóculo, e os frascos foram incubados a 28°C em estufa do tipo BOD por períodos de 1, 2, 4, 6, 8 e 10 dias.

Após cada período de incubação, alíquotas de 10 mL de cada isolado foram coletadas em triplicata e acondicionadas em tubos Falcon. Para a extração do herbicida das amostras, adicionou-se 10 mL de acetonitrila a cada tubo, que, em seguida, foram agitados (12 rpm) por 30 minutos em agitador tipo Wagner, após esse processo, as amostras foram submetidas a ultrassonicação por 5 minutos. Posteriormente, acrescentaram-se 1 g de NaCl e 2 g de $MgSO_4$, e os tubos foram agitados em vórtex até completa homogeneização. As amostras foram então centrifugadas a 5.000 rpm por 5 minutos, filtradas em membranas de 0,22 µm e armazenadas em frascos (vials) de 1,5 mL para posterior análise.

2.5 Caracterização morfológica e bioquímica dos microrganismos degradadores de sulfentrazone

Os isolados que demonstraram maior resistência ao sulfentrazone e selecionados na etapa anterior foram submetidos a testes bioquímicos com o objetivo de caracterizá-los morfológica e bioquimicamente segundo os protocolos descritos por Benson (2002), Tortora, Funke e Case (2017) e Procop et al. (2018). A identificação foi baseada, principalmente, na

presença ou ausência de determinadas enzimas, além da avaliação de suas capacidades metabólicas, utilizando uma série de meios de cultura específicos para cada teste conforme descrito na seção 2.2.

As colônias isoladas foram examinadas utilizando um microscópio estereoscópico (Carl Zeiss, Brasil), para avaliar sua morfologia, seguindo os critérios de avaliação descritos por Benson (2002). Foram observadas características como tipo, coloração, elevação e formato das bordas, aspectos essenciais para a identificação preliminar de microrganismos em culturas microbiológicas.

O teste de Gram foi realizado utilizando uma alça bacteriológica para transferir colônias isoladas de cada bactéria para lâminas de vidro. As amostras foram fixadas pelo calor e submetidas ao processo de coloração diferencial, seguindo a sequência: cristal violeta (1 minuto), lugol (1 minuto), álcool acetonado (10 segundos) e safranina (30 segundos), conforme descrito por Benson (2002). Após a secagem, as lâminas foram analisadas em microscópio óptico (Olympus CX31) com aumento de 1000x e uso de óleo de imersão. As bactérias foram classificadas com base na coloração observada: Gram-positivas (roxas) ou Gram-negativas (vermelhas). Além disso, verificou-se a presença ou ausência de endósporos, característica relevante para a identificação microbiológica.

A fim de verificar a motilidade bacteriana, produção de sulfeto de hidrogênio e indol, utilizou-se o meio de cultura Sulfeto-Indol-Motilidade (SIM). Os microrganismos foram inoculados em tubos de ensaio contendo o ágar e incubados em estufa bacteriológica a 35°C por 24 horas. Após esse período, a motilidade foi avaliada pela turvação do meio, indicativo que a bactéria se deslocava por meio de flagelos. A produção de sulfeto de hidrogênio (H_2S) foi determinada pelo escurecimento do meio, sendo considerado positivo quando havia escurecimento e negativo quando permanecia inalterado. Para a detecção de indol, foi adicionado o reagente de Kovac; a coloração vermelha indicava um resultado positivo, enquanto a ausência dessa coloração indicava um resultado negativo.

A capacidade dos microrganismos de fermentar glicose, sacarose e lactose foi avaliada utilizando o meio de cultura diferencial TSI (Triple Sugar Iron Agar). Os microrganismos foram inoculados em tubos de ensaio contendo o ágar inclinado e incubados em estufa bacteriológica a 35°C por 24 horas. Após esse período, a fermentação dos açúcares foi analisada com base na coloração do meio. A fermentação apenas da glicose foi indicada pelo fundo do meio amarelo e a superfície vermelha; A fermentação de lactose e/ou sacarose foi evidenciada pelo meio completamente amarelo. A ausência de fermentação foi caracterizada

pelo meio totalmente vermelho, sugerindo que os microrganismos não metabolizaram os açúcares presentes.

A presença da enzima catalase foi testada transferindo-se uma ou duas colônias para uma lâmina de vidro, seguida da adição de uma gota de peróxido de hidrogênio a 2%. A formação de bolhas indicou um resultado positivo para catalase.

A capacidade dos microrganismos de metabolizar citrato foi testada inoculando-se os isolados em tubos inclinados contendo o meio Simmons Citrato, que foram incubados em estufa bacteriológica a 35°C por 24 horas. Após esse período, a coloração do meio foi analisada. A permanência da cor verde indica um resultado negativo, sugerindo que o microrganismo não metabolizou o citrato. Já a mudança de cor de verde para azul indica um resultado positivo, confirmando a capacidade do microrganismo de utilizar citrato como fonte de carbono.

A descarboxilação ou desaminação da lisina foi testada utilizando o meio de cultura Lysine Iron Agar (LIA). O meio foi distribuído em tubos estéreis e, em seguida, os microrganismos foram inoculados com o auxílio de uma alça bacteriológica. Os tubos foram incubados em estufa bacteriológica a 35°C por 24 horas. Após o período de incubação, a coloração do meio foi analisada para interpretação dos resultados.

Para analisar se os microrganismos são capazes de reduzir o nitrato (NO_3^-) a nitrito (NO_2^-), colônias foram inoculadas em tubos contendo caldo Nitrato e incubadas em BOD a 30 ± 2°C por 48 horas. Após o período de incubação, foram adicionadas três gotas das soluções A (ácido sulfanílico, ácido acético e água destilada) e B (α-naftilamina, ácido acético e água destilada) do reagente de Griess-Ilosvay. A formação de coloração rósea a vermelha indicou a presença de nitrito, sendo considerado um resultado positivo para a redução de nitrato.

Nos tubos sem mudança de cor, foi adicionada uma pitada de zinco em pó como contraprova. O aparecimento da cor vermelha indicou a presença de nitrato não reduzido, caracterizando um resultado negativo. Já a ausência de coloração indicou que o nitrato foi completamente reduzido a gás nitrogênio livre, sendo considerado um resultado positivo para desnitrificação.

Os testes de Vermelho de Metila (VM) e Voges-Proskauer (VP) foram utilizados para caracterizar a capacidade de um microrganismo em fermentar a glicose, identificando os produtos finais do metabolismo. Para tal, os microrganismos foram transferidos para tubos de ensaio contendo caldo Clark-Lubz, posteriormente incubados em BOD a 30 ± 2°C, por 48 horas, dado este período, transferiu-se 3 mL de inóculo para tubos de ensaio em duplicata.

Em um dos tubos, foram adicionadas três gotas da solução hidroalcóolica de vermelho de metila. O resultado foi considerado positivo quando a coloração vermelha surgiu e negativo caso a solução permanecesse amarela. No outro tubo, adicionaram-se três gotas da solução de NaOH a 40% e três gotas do reativo de Barrit. O teste foi considerado positivo se a coloração vermelha aparecesse em até 15 minutos e negativo caso não houvesse alteração na cor dentro desse período.

O metabolismo da glicose foi avaliado utilizando o meio O/F, que permite distinguir entre microrganismos fermentativos, oxidativos ou assacarolíticos. Para isso, cada isolado bacteriano foi transferido para dois tubos de ensaio contendo meio O/F, em seguida, um dos tubos foi coberto com uma camada de óleo mineral para criar uma condição anaeróbica, enquanto o outro permaneceu exposto ao oxigênio. Após 48 horas de incubação em BOD a 30 ± 2 °C, a atividade metabólica foi determinada pela mudança de pH, indicada pela alteração da coloração do meio de verde (neutro) para amarelo (ácido).

Os isolados foram classificados da seguinte forma: aqueles que apresentaram mudança de coloração em ambos os tubos foram considerados fermentadores; os que mostraram alteração apenas no tubo sem óleo mineral foram classificados como oxidativos; e os que não apresentaram mudança de cor em nenhum dos tubos foram considerados assacarolíticos.

A capacidade hemolítica dos isolados foi avaliada por meio do cultivo em meio ágar sangue. Para a preparação do meio, utilizou-se ágar nutriente previamente autoclavado, após o resfriamento do meio para aproximadamente 50 °C foi adicionado 5% de sangue desfibrinado de carneiro, a fim de evitar a lise térmica das hemácias. A mistura foi então homogeneizada, vertida em placas de Petri estéreis e deixada em repouso até a solidificação. Em seguida, os isolados bacterianos foram inoculados superficialmente e incubados em estufa tipo BOD a 30 ± 2 °C por 24 horas. Após esse período, a presença de hemólise foi avaliada pela formação de halos ao redor das colônias, quando positivo, a presença de hemólise pode estar relacionada à produção de hemolisinas.

2.7 Análise dos isolados em MALDTOF-MS

Os isolados foram cultivados em placas de petri com NA através da técnica de esgotamento de inóculo e incubados em estufa tipo BOD a 30 ± 2 °C por 18 horas, para que as amostras estivessem frescas. Com auxílio de um palito de madeira, foi transferido uma colônia isolada de cada amostra para um *spot* na placa alvo do MALDI-TOF-MS. Logo após, aplicou-se 1 µL de matriz HCCA (ácido α-ciano-4-hidroxicinâmico) sobre a amostra. Após secar, o *spot* foi inserido no espectrômetro. As proteínas presentes nas amostras foram

ionizadas pelo feixe de laser, aceleradas no tubo de voo e separadas com base na razão massa/carga (m/z). Os perfis espectrais gerados foram processados pelo software MALDI Biotyper, comparando os dados obtidos com o banco de dados de referência da Bruker. Os resultados foram expressos em forma de *score*, sendo considerados: identificação confiável em nível de espécie (≥2,0), identificação provável em nível de gênero (1,7–1,99) e não confiável (<1,7), conforme os critérios recomendados pelo fabricante.

As análises foram realizadas em um espectrômetro de massas modelo MALDI Biotyper® (Bruker Daltonics) segundo os procedimentos descritos no manual *Standard operating procedures of MALDI-TOF Biotyper*, equipado com fonte de ionização por laser UV (λ=337 nm) e operando em modo linear positivo. O intervalo de detecção foi ajustado para 2–20 kDa, faixa adequada para identificação baseada no perfil de proteínas ribossomais bacterianas.

2.8 Capacidade de degradação do sulfentrazone comercial em solo

Os microrganismos que demonstraram maior eficiência na degradação do herbicida *in vitro* foram submetidos aos testes em solo, com o objetivo de avaliar sua eficiência na degradação do herbicida em condições que simulam o ambiente natural. Os tratamentos foram compostos por 11 isolados selecionados na etapa 2.4e um controle, esses microrganismos foram crescidos em 350ml de Caldo Nutriente e incubados em BOD a 30 ± 2°C por um período de 24 horas. Dado este período foi realizado a padronização dos inóculos, com auxílio de uma pipeta automática, foi transferido 2ml de cada solução para as cubetas e observadas a concentração de células bacterianas em espectrofotômetro em um comprimento de onda de 600 nm, todos os isolados foram padronizados para a densidade óptica (OD) de 0,1.

A concentração do herbicida a ser utilizada foi determinada com base na área do vaso (0,00785 m²), proporcional à dose recomendada para um hectare (10.000 m²), conforme especificado na bula do produto para a cultura da cana-de-açúcar, que é de 600 gramas de ingrediente ativo por hectare. A partir desse cálculo, obteve-se um valor aproximado de 0,471 mg\l.

O solo utilizado para a realização do experimento foi coletado na Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), campus Leste. Após a coleta, o solo foi acondicionado em sacos de polipropileno e submetido à autoclavagem a 1 atm por 1 hora e 30 minutos. Após um intervalo de 24 horas, o processo foi repetido, totalizando duas autoclavagens consecutivas. Esse procedimento teve como objetivo eliminar a microbiota

nativa do solo, possibilitando a avaliação da capacidade de degradação do herbicida pelos microrganismos isolados do estudo, de forma controlada e sem interferência de outros organismos presentes no solo original.

O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado em triplicata e conduzidos em casa de vegetação. Vasos com capacidade de 0,3 dm^3 foram revestidos com sacos plásticos e preenchidos com 300 g de solo previamente autoclavado. A cada vaso foram adicionados 10 mL da solução do herbicida e 10 mL de cada um dos 11 inóculos microbianos em triplicata. Também foi incluído um vaso controle, sem a presença de microrganismos. Todos os tratamentos foram realizados em triplicata. Todos os tratamentos foram mantidos em casa de vegetação em temperatura ambiente ao longo de 42 dias. Foram coletadas amostras dos tratamentos no período de 24h, 7 dias, 14 dias, 21 dias, 28 dias, 35 dias e 42 dias.

Foram pesados 5g de solo de cada tratamento, em triplicata, e acondicionadas em tubos Falcon. Para a extração do herbicida das amostras, adicionou-se 10 mL de acetonitrila e 2 ml de água destilada a cada tubo, que, em seguida, foram agitados (12 rpm) por 30 minutos em agitador tipo Wagner, após esse processo, as amostras foram submetidas a ultrassonicação por 5 minutos. Posteriormente, acrescentaram-se 1 g de NaCl e 2 g de $MgSO_4$, e os tubos foram agitados em vórtex até completa homogeneização. As amostras foram então centrifugadas a 5.000 rpm por 5 minutos, filtradas em membranas de 0,22 µm e armazenadas em frascos (vials) de 1,5 mL para posterior análise.

2.9 Análises estatísticas

Os resultados obtidos experimentalmente submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, em seguida, os modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem (PPO, Eq. 1) e pseudo-segunda ordem (PSO, Eq. 2) foram ajustados aos dados experimentais obtidos nas análises *in vitro* e no solo. O tempo de meia-vida estimado pelos modelos de PPO e PSO, foram calculados pelas equações 3 e 4, respectivamente. A fim de verificar qual modelo melhor se ajusta ao fenômeno da cinética de degradação do herbicida, os modelos foram comparados quanto ao seu ajuste aos dados considerando o coeficiente de terminação (R^2, Eq. 5) e o critério informativo de Akaike corrigido (AICc, Eq. 6).

Modelo cinético pseudo-primeira ordem (PPO)

$$[C]_t = [C]_o e^{-K_1 t} \quad \text{(Eq. 01)}$$

Modelo cinético pseudo-segunda ordem (PSO)

$$[C]_t = \frac{[C]_o}{1+[C]_o K_2 t} \quad \text{(Eq. 02)}$$

Tempo de meia-vida estimado pelo PPO

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{K_1} \quad \text{(Eq. 03)}$$

Tempo de meia-vida estimado pelo PSO

$$t_{1/2} = \frac{1}{K_2[C]_o} \quad \text{(Eq. 04)}$$

Coeficiente de determinação

$$R^2 = 1 - \frac{RSS}{TSS} \quad \text{(Eq. 05)}$$

Critério informativo de akaike

$$AICc = N\ln\frac{(SSE)}{N} + 2N_p + \frac{2Np(Np+1)}{N-Np-1} \quad \text{(Eq. 06)}$$

Nas quais, $[C]_o$ (µg L^{-1}) é a concentração inicial, $[C]_0$ (mg L^{-1}) é a concentração incial, $[C]_t$ (mg L^{-1}) é a concentração no tempo , t (min) é o tempo, K_1 (Dia^{-1}) e K_2 (L mg^{-1} min^{-1}) são, respectivamente, as constantes cinéticas para os modelos PPO e PSO e $t_{1/2}$ (Dia) é o tempo de meia-vida. RSS corresponde a Soma dos quadrados dos resíduos e TSS a Soma total dos quadrados. Np é o número de parâmetros do modelo e N o tamanho da amostra, SSE corresponde a soma dos desvios ao quadrado.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Isolamento dos microrganismos e teste de tolerância ao herbicida

Na primeira etapa experimental, foi realizado o isolamento de 43 microrganismos a partir de amostras de solo coletadas em área previamente exposta ao herbicida sulfentrazone. A capacidade de tolerância desses isolados foi avaliada em diferentes concentrações do

herbicida, sendo observada uma resposta diferencial frente aos níveis de estresse químico. Na concentração de 100 ppm, ainda que superior à dose recomendada em campo, todos os isolados apresentaram desenvolvimento satisfatório, sugerindo uma exposição prévia ao herbicida e possível seleção adaptativa da microbiota local, entretanto, foi na concentração de 1000 ppm que se observou maior seletividade: apenas 21 microrganismos demonstraram crescimento viável sob essa condição, indicando alta tolerância ao composto e, portanto, potencial biotecnológico para aplicações em processos de biorremediação (anexo I). Esses resultados reforçam a hipótese de que áreas com histórico de aplicação contínua de herbicidas exerce uma pressão seletiva na microrbiota nativa, favorecendo a seleção de isolados com maior capacidade metabólica para sobrevivência e, possivelmente, degradar o princípio ativo (SANTOS *et al*., 2024; SOUZA *et al*., 2023).

3.2 Capacidade de degradação do herbicida *in vitro*

Após a seleção dos 21 isolados com maior tolerância ao sulfentrazone, procedeu-se à avaliação da capacidade de degradação do herbicida em meio líquido, ao longo de 10 dias. A concentração utilizada (25 $mg\,L^{-1}$) foi escolhida de forma a simular um ambiente com acúmulo residual do composto no solo. Os resultados obtidos evidenciaram variações significativas entre os isolados quanto à eficiência de degradação e à velocidade do processo.

A análise cinética dos dados experimentais foi realizada com base nos modelos de pseudo-primeira ordem (PPO) e pseudo-segunda ordem (PSO), a fim de identificar qual equação apresentava o melhor ajuste estatístico para a degradação do sulfentrazone. Para essa avaliação, consideraram-se os coeficientes de determinação (R^2) e os valores do Critério de Informação de Akaike corrigido (AICc), buscando os maiores valores de R^2 e os menores de AICc. O modelo de PPO apresentou melhor ajuste para os isolados 3, 15, 18, 19, 20, 21, 25, 32, 34 e 43. Já o modelo de PSO foi mais adequado para os isolados 1, 4, 5, 7, 8, 11, 14, 23, 29, 30 e 41, evidenciando diferenças no comportamento cinético entre os microrganismos avaliados (Tabela 2).

Tabela 02. Parâmetros dos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem (PPO) e pseudo-segunda ordem (PSO) obtidos a partir dos dados de degradação do sulfentrazone in vitro

Tratamento	PPO				PSO			
	Co (mg L^{-1})	K_1 x10^{-2} (dia $^{-1}$)	R^2	AICc	Co (mg L^{-1})	K_2 x 10^{-4} (L mg^{-1}dia $^{-1}$)	R^2	AICc
Controle	26,13±0,55	4,40±0,35	0,97	-2,06	26,67±0,47	21,30±1,26	0,98	-5,91
Isolado 1	23,21±0,25	7,50±0,11	0,99	-6,83	24,56±0,32	50,30±0,67	0,99	-8,02
Isolado 3	27,59±3,54	11,51±1,61	0,90	10,99	30,61±8,35	73,60±11,8	0,79	11,23
Isolado 4	26,02±0,28	7,98±0,60	0,98	1,06	26,73±0,21	41,00±2,00	0,99	-7,88
Isolado 5	24,37±1,02	7,60±1,02	0,93	7,11	25,72±0,93	44,40±4,25	0,96	2,82
Isolado 7	26,17±0,31	6,64±0,40	0,98	-1,98	26,85±0,28	33,90±1,72	0,99	-6,06
Isolado 8	22,78±1,60	7,47±0,92	0,92	9,88	25,13±1,41	51,60±3,58	0,96	3,84
Isolado 11	26,43±0,47	8,49±0,55	0,98	9,47	27,45±0,34	45,10±1,92	0,99	3,15
Isolado 14	23,89±0,26	6,32±0,26	0,99	-8,01	24,94±0,26	36,20±1,19	0,99	-9,12
Isolado 15	24,76±0,16	9,05±0,07	0,99	-13,50	27,02±0,55	62,70±0,97	0,99	2,33
Isolado 18	27,55±1,08	11,02±0,66	0,98	7,98	32,09±1,99	70,70±4,64	0,98	11,35
Isolado 19	24,74±0,76	4,14±0,50	0,94	-3,31	25,58±0,87	21,60±2,32	0,95	-2,88
Isolado 20	24,95±0,20	6,24±0,22	0,99	-7,66	25,75±0,40	33,10±1,98	0,99	-3,96
Isolado 21	26,06±0,81	8,88±0,56	0,98	5,02	28,85±1,10	56,30±3,53	0,98	5,68
Isolado 23	23,34±1,04	7,39±0,56	0,97	4,01	25,85±0,97	50,40±2,21	0,98	-2,62
Isolado 25	26,83±0,34	9,75±0,25	0,99	3,72	30,90±0,64	64,70±2,07	0,99	6,20
Isolado 29	25,46±0,42	6,34±0,52	0,97	0,28	26,47±0,46	34,10±2,46	0,98	-2,74
Isolado 30	25,13±0,65	8,41±0,30	0,99	0,76	28,14±0,50	56,20±0,96	0,99	-5,91
Isolado 32	25,33±0,06	6,51±0,10	0,99	-13,25	25,93±0,10	35,10±0,88	0,99	-12,45
Isolado 34	25,23±0,37	6,82±0,16	0,99	5,65	26,94±0,44	41,20±0,75	0,99	4,37
Isolado 41	25,24±0,58	8,03±0,34	0,99	2,17	26,75±0,58	47,40±1,47	0,99	-1,35
Isolado 43	24,80±0,23	8,06±0,10	0,99	-13,91	26,85±1,04	52,60±1,80	0,98	-0,09

Concentração inicial (Co), Constante cinética do modelo Pseudo-primeira ordem (K_1), Constante cinética do modelo Pseudo-segunda ordem (K_2), Coeficiente de determinação (R^2), Critério de Informação de Akaike corrigido (AICc).

A constante de velocidade é um indicativo direto da velocidade com que o herbicida foi transformado, permitindo identificar quais isolados têm maior capacidade de metabolizar o sulfentrazone em menor intervalo de tempo. Comparados ao controle, os isolados 3, 15, 18, 21, 25 e 43 apresentaram os maiores valores de K_1, sendo, respectivamente, 2,6; 2,05; 2,5; 2,01; 2,21 e 1,83 vezes superiores, evidenciando desempenho cinético expressivamente elevado. Esses resultados indicam alta eficiência na transformação do herbicida, tornando esses microrganismos promissores para aplicações em biorremediação. Por outro lado, os isolados 19, 20, 32 e 34 apresentaram valores mais próximos ao do controle, com K_1 apenas 0,94; 1,4; 1,47 e 1,55 vezes maiores, respectivamente. Embora ainda apresentem alguma atividade degradativa, sua eficiência foi consideravelmente inferior à dos isolados com melhores desempenhos, demonstrando menor potencial para estratégias de remediação acelerada.

De forma complementar, ao se avaliar os isolados que apresentaram melhor ajuste ao modelo de pseudo-segunda ordem (PSO), observou-se também um desempenho cinético superior ao do controle. Os isolados 1, 4, 5, 8, 11, 23, 30 e 41 apresentaram valores da constante cinética (K_2) 2,36; 1,92; 2,08; 2,42; 2,11; 2,36; 2,63 e 2,22 vezes maiores, respectivamente, quando comparados ao controle, indicando alta eficiência na transformação do sulfentrazone. Por outro lado, os isolados 7, 14 e 29 apresentaram valores mais modestos de K_2, sendo 1,59; 1,69 e 1,60 vezes maiores que o controle, respectivamente, sugerindo menor capacidade degradativa em relação aos demais. A análise conjunta dos modelos PPO e PSO revela que, embora a maioria dos isolados tenha demonstrado eficiência superior ao controle, alguns destacam-se não apenas pela velocidade de degradação, mas também pela constância desse processo, características desejáveis para aplicações em estratégias sustentáveis de biorremediação.

Ao avaliar a eficiência degradação do sulfentrazone pelos diferentes isolados bacterianos, verificou-se que o Isolado 3 foi o mais eficiente, apresentando uma taxa de remoção de aproximadamente 67% do herbicida ao final de 10 dias de incubação (Figura 1). Esse valor representa o dobro da degradação observada no controle, que não recebeu inoculação microbiana e apresentou média próxima a 30% evidenciando o impacto positivo do microrganismo no processo de transformação do composto. Além disso, outros nove isolados — 1, 8, 15, 18, 21, 23, 25, 30 e 43 — também se destacaram, com porcentagens de degradação superiores a 55%.

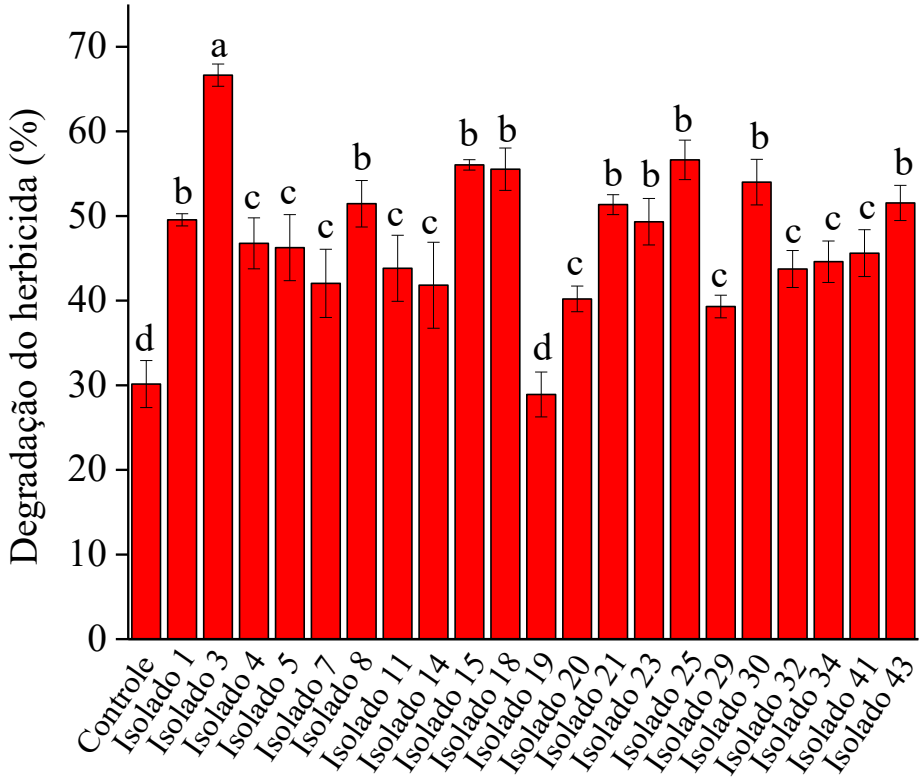


Figura 1. Porcentagem de degradação do herbicida ao longo de 10 dias pela influência dos isolados resistentes em relação ao controle (sem isolados). Barras indicam o erro padrão das médias. Barras sobrepostas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Scott-knott ao p-valor < 0,05.

A análise da velocidade de degradação pelos isolados bacterianos ao longo de 10 dias revelou diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. Os isolados 3, 8, 15, 18, 21, 23, 25, 30 e 43 apresentaram velocidade média de degradação do sulfentrazone *in vitro* superior em relação ao controle, destacando-se como os mais eficientes na taxa de transformação do herbicida (Figura 2). Dentre esses, os isolados 3, 18, 25 e 15 apresentaram as maiores velocidades de degradação, estando estatisticamente agrupados no mesmo grupo, refletindo uma elevada capacidade metabólica na conversão do composto. Esse desempenho é particularmente relevante, pois combina dois critérios essenciais para a eficácia de um agente biorremediador: alta taxa de remoção e rapidez no processo. A sinergia entre eficiência de degradação e velocidade de transformação nesses isolados os torna particularmente promissores para aplicações práticas, em cenários onde a resposta rápida à contaminação por sulfentrazone é desejável.

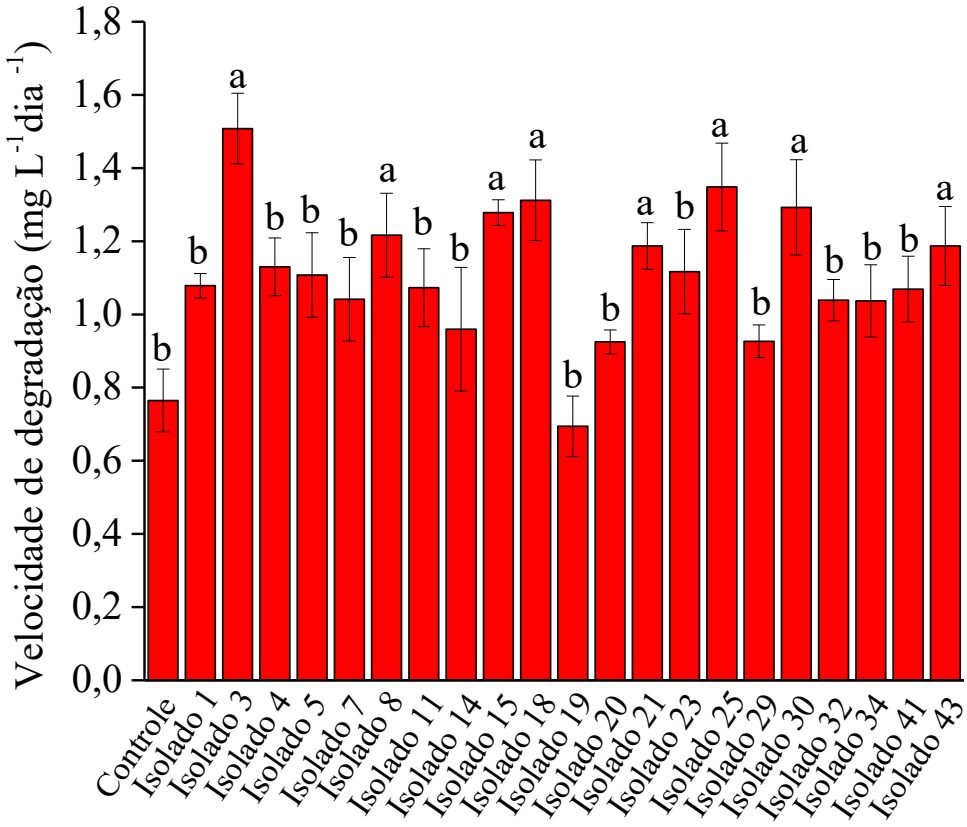


Figura 2. Velocidade média de degradação do herbicida ao longo de 10 dias pela influência dos isolados resistentes em relação ao controle (sem isolados). Barras indicam o erro padrão das médias. Barras sobrepostas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo Scott-knott ao p-valor < 0,05.

O uso desses parâmetros cinéticos e de degradação é importante para selecionar microrganismos que não somente degradam o composto, mas que o fazem no menor tempo. A convergência desses dados apresentadas por esses isolados é essencial para aplicações em campo, onde não apenas a eficiência final, mas também a rapidez do processo é determinante para evitar a lixiviação, contaminação de águas subterrâneas e efeitos fitotóxicos residuais em culturas subsequentes o que corrobora com a hipótese de que esses isolados são promissores para aplicação em técnicas de biorremediação.

Com base no dendrograma resultante da análise de agrupamento hierárquico, foi possível classificar os 21 isolados microbianos em dois grupos principais, por meio da análise do desempenho de três parâmetros: degradação, velocidade e constante (Figura 3). O primeiro grupo, em laranja, agrega os isolados que apresentaram menos desempenho quando considerados os três parâmetros analisados, sendo os isolados 7, 19, 29, 5, 20, 32, 34, 41, 4 e 14. Esses microrganismos, embora tenham demonstrado tolerância ao herbicida em uma etapa inicial, tratando-se da degradação do composto não se mostraram eficientes, este fato aliado

aos baixos valores de velocidade e constante cinética sugere que estes microrganismos possuem uma capacidade limitada no que diz respeito a transformação efetiva da molécula do herbicida. Desta forma, seu uso em estratégias de biorremediação pode ser menos vantajoso, a menos que associados a consórcios com cepas mais ativas.

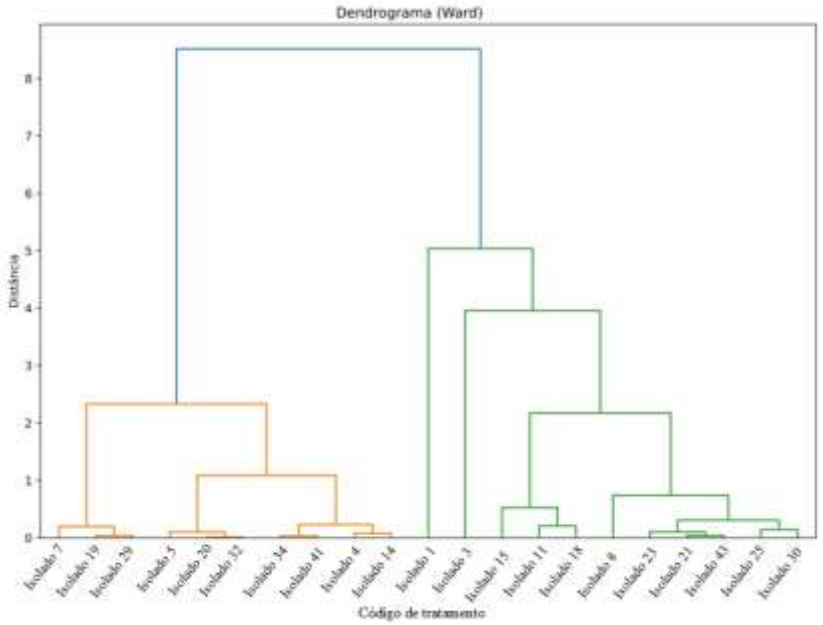


Figura 3. Análise de agrupamento (Método de Ward), foram consideradas as variáveis de degradação, velocidade e constante, analisando esses três parâmetros os isolados foram agrupados e selecionados quanto aos grupos mais promissores.

O segundo grupo, destacado em verde na análise de agrupamento, reuniu os microrganismos que apresentaram maior eficiência na degradação do sulfentrazone. Com base nos valores obtidos para porcentagem de degradação, velocidade de degradação e constante cinética, foi possível identificar que os isolados 1, 3, 15, 11, 18, 8, 23, 21 ,43, 25 e 30 exibiram desempenho superior e constante em todos os parâmetros avaliados. Esses resultados indicam que tais isolados possuem um perfil metabólico adaptado, não apenas com elevada capacidade de degradação do composto, mas também com rapidez no processo, característica essencial para aplicações práticas em biorremediação. Assim, esses 11 isolados foram selecionados para a continuidade dos ensaios de degradação do herbicida no solo.

3.3 Caracterização bioquímica dos isolados promissores *in vitro*

A caracterização bioquímica dos isolados bacterianos permitiu inferências preliminares sobre seus grupos fisiológicos e potenciais funções ambientais (Tabela 3). Ao

analisar a morfologia celular, todos os isolados apresentaram forma de bacilos. Com base na coloração de Gram, observou-se o predomínio de bactérias Gram-positivos, na qual dez dos onze isolados (ISO-1, 3, 8, 11, 18, 21, 23, 25, 30 e 43) se enquadraram nessa categoria. A única exceção foi o isolado ISO-15, identificado como bacilo Gram-negativo. As bactérias Gram-positivas apresentam parede celular espessa composta por peptidioglicanos, o que as torna mais resistentes a condições ambientais adversas, como secas, mudança de pH e presença de metais pesados. Além disso, muitas espécies desse grupo são capazes de formar esporos, o que favorece sua sobrevivência em ambientes hostis e sua permanência em solos agrícolas (KUPPUSAMY et al., 2016; QI et al., 2022; ANWAR, 2025). Essas características podem estar relacionadas à maior tolerância ao herbicida e à sua persistência no ambiente edáfico.

Quanto ao metabolismo fermentativo avaliado pelo teste TSI, observou-se que a maioria dos isolados apresentou o perfil K/A, indicando fermentação apenas da glicose. Essa característica é típica de gêneros como *Bacillus* e *Paenibacillus*, descritos na literatura por sua participação na ciclagem de nutrientes e na degradação de compostos orgânicos (SHAMBHAVI et al., 2020). Os isolados ISO-11, 18 e 21 apresentaram o perfil K/K, indicando ausência de fermentação dos carboidratos testados (Tabela 3).

Tabela 03. Resultados dos testes bioquímicos e coloração de Gram dos isolados bacterianos

Isolado	TSI	SIM	Urease	LIA	CIT	Formato	Gram	VP	VM	FL	CAT	NIT	HEM
ISO-1	K/A	H_2S– / Ind– / M+	-	+	+	Bacilo	GP	-	-	+	+	-	-
ISO-3	K/A	H_2S– / Ind– / M+	-	+	+	Bacilo	GP	-	+	-	+	-	+
ISO-8	K/A	H_2S– / Ind– / M+	-	+	+	Bacilo	GP	-	-	+	+	-	-
ISO-11	K/K	H_2S– / Ind– / M+	-	+	+	Bacilo	GP	-	-	-	+	-	-
ISO-15	K/A	H_2S– / Ind– / M+	-	+	+	Bacilo	GN	-	-	-	+	-	+
ISO-18	K/K	H_2S– / Ind– / M+	-	+	+	Bacilo	GP	-	-	-	+	-	+
ISO-21	K/K	H_2S– / Ind– / M+	-	-	+	Bacilo	GP	-	-	-	+	-	-
ISO-23	K/A	H_2S– / Ind– / M+	-	-	+	Bacilo	GP	-	+	-	+	-	+
ISO-25	K/A	H_2S– / Ind– / M+	-	+	+	Bacilo	GP	-	+	-	+	-	+
ISO-30	K/A	H_2S– / Ind– / M+	-	+	+	Bacilo	GP	-	+	+	+	-	+
ISO-43	K/A	H_2S– / Ind– / M+	-	+	+	Bacilo	GP	-	-	-	+	-	-

[1]

[1] Resultados dos testes bioquímicos e coloração de Gram realizados com os isolados bacterianos obtidos. TSI: meio Triple Sugar Iron, sendo os resultados representados como K/A (inclinação alcalina e fundo ácido), indicando fermentação apenas da glicose; K/K (inclinação e fundo alcalinos), indicando ausência de fermentação de carboidratos. SIM: teste de produção de sulfeto de hidrogênio (H_2S), produção de indol (Ind) e motilidade (M), sendo H_2S– resultado negativo para produção de sulfeto de hidrogênio, Ind– negativo para produção de indol, e M+ indicando microrganismo móvel. Urease, sendo os resultados expressos como positivo (+) ou negativo (-). LIA: teste de lisina descarboxilase, CIT: teste de utilização de citrato como única fonte de carbono, Gram: classificação morfológica dos isolados, sendo GP correspondente a Gram-positivo e GN a Gram-negativo. VP para teste de Vogues-Proskauer, VM Vermelho de metila, FL fermentação da lactose, CAT produção da enzima catalase, NIT redução de nitrito a nitrato, HEM hemolise em ágar-sange.

Nos testes de produção de sulfeto de hidrogênio (H_2S) e indol (Ind), todos os isolados foram negativos, resultado esperado para espécies dos gêneros mencionados. Bem como para os testes de motilidade, onde, todos apresentaram motilidade positiva (M+) (Tabela 3). A ausência de produção de H_2S e indol nos isolados é compatível com o perfil bioquímico de muitas bactérias do solo envolvidas na degradação de herbicidas, como espécies de *Bacillus* e *Pseudomonas*, que frequentemente não produzem esses compostos, mas apresentam motilidade positiva, característica importante para colonização e acesso a contaminantes no solo, facilitando a busca ativa por substratos como herbicidas, aumentando a eficiência da degradação e a adaptação em ambientes contaminados (KORSHUNOVA et al., 2024; MEHTA et al., 2021; LUONG et al., 2023; INTHAMA et al., 2021; CHEN et al., 2023). Portanto, o perfil observado (H_2S–, Ind–, M+) é típico de isolados do solo com potencial para degradar herbicidas e promover a saúde do solo, sendo promissores em estratégias de biorremediação agrícola.

A avaliação da utilização de citrato (CIT) como única fonte de carbono demonstrou resultados positivos em todos os isolados, indicando versatilidade metabólica para assimilação de diferentes fontes de carbono. Em relação à lisina descarboxilase (LIA), todos os isolados foram positivos, com exceção de ISO-21 e ISO-23 (Tabela 3), sugerindo uma boa capacidade de utilização de fontes nitrogenadas alternativas, o que pode ser vantajoso em solos expostos a estresse químico, como a presença de herbicidas (KRYSENKO; WOHLLEBEN, 2022).

O teste de urease apresentou resultado negativo em todos os isolados, evidenciando a ausência dessa via metabólica específica, o que não é incomum em algumas linhagens de *Bacillus* e *Paenibacillus* (SHAMBHAVI et al., 2020). Nos testes de fermentação de lactose (FL), apenas os isolados ISO-1, ISO-8 e ISO-30 apresentaram resultado positivo, indicando capacidade de metabolização de açúcares como a lactose. Os testes de vermelho de metila (VM) foram positivos para os isolados ISO-3, ISO-23, ISO-25 e ISO-30, enquanto nenhum isolado foi positivo para o teste de Voges-Proskauer (VP), sugerindo diversidade nas rotas fermentativas desses microrganismos (Tabela 3).

Todos os isolados apresentaram atividade catalase (CAT+) (Tabela 3). Esse tipo de atividade é comumente encontrado entre bactérias do solo e pode estar associado à capacidade de resistência ao estresse oxidativo, conferindo vantagens em ambientes com elevada produção de espécies reativas de oxigênio (SAEED *et al.,* 2023). Nenhum dos isolados apresentou resultado

positivo no teste de redução de nitrato (NIT), indicando ausência de atividade desnitrificante sob as condições avaliadas. Quanto à atividade hemolítica (HEM), os isolados ISO-3, ISO-15, ISO-18, ISO-23, ISO-25 e ISO-30 foram positivos, demonstrando capacidade de hemólise, potencialmente associada à produção de hemolisina.

Esses resultados, avaliados em conjunto, reforçam a identificação dos isolados como pertencentes majoritariamente aos gêneros *Bacillus*. A divergência de resultados entre alguns isolados sugere que alguns microrganismos possuem diferenças funcionais. As características observadas — motilidade, capacidade fermentativa diversificada, resistência ao estresse oxidativo e flexibilidade na utilização de fontes de carbono e nitrogênio — sugerem que esses microrganismos possuem potencial para aplicações biotecnológicas, incluindo processos de biorremediação em solos contaminados por herbicidas, como relatado por diversos autores (SHAMBHAVI *et al*., 2020; SAEED *et al*., 2023).

3.4 Identificação dos isolados promissores in vitro por meio do MALD-TOFMS

Complementarmente à caracterização bioquímica, os isolados foram submetidos à identificação por espectrometria de massas via MALDI-TOF MS, a fim de confirmar sua classificação taxonômica e aprofundar a caracterização microbiana com base nos perfis proteicos gerados.

Dentre os onze isolados analisados, seis apresentaram escores superiores a 2,0, valor que, segundo os critérios do sistema MALDI Biotyper®, permite a identificação confiável em nível de espécie (Tabela 4). Os demais apresentaram escores entre 1,7 e 1,99, compatíveis com uma identificação segura em nível de gênero. A maioria dos isolados capazes de degradar o sulfentrazone foi identificada, com alta confiabilidade, como pertencentes às espécies *Bacillus cereus*, *Priestia megateirum* e *Alcaligenes feacalis*. Três dos onze microrganismos não apresentaram escores suficientemente altos para classificação segura em nível de gênero/espécie, sendo necessários mais testes para confirmar a identidade sugerida pela análise via MALF-TOF MS. Esse fato pode ser atribuído a falta de informações no banco de dados ou ao preparo da amostra, que deve estar fresca e pura, caso contrário pode comprometer a qualidade do espectro gerado.

A espectrometria MALDI-TOF (MALDI-TOF MS) se mostrou um método eficaz para a identificação dos isolados bacterianos. Além de sua precisão, o MALDI-TOF MS apresenta vantagens operacionais, como baixo custo por análise (após aquisição do equipamento), preparo mínimo das amostras e rapidez na obtenção dos resultados, que podem ser obtidos em poucos minutos. Essas características tornam o método promissor para substituir, total ou parcialmente, os testes fenotípicos convencionais, especialmente em laboratórios de microbiologia clínica, onde há bancos de dados mais robustos (ALMEIDA et al., 2022; BEER et al., 2017).

Tabela 04. Resultados da identificação dos isolados por meio de MALD-TOF MS

Isolado	Gênero Identificado	Espécie Identificada	Score	Nível de Confiança	Padrão de correspondência	Código NCBI
ISO-1	*Priestia*	*megaterium*	1,98	Gênero (1,7–1,99)	DSM 32T DSM	1404
ISO-3	*Bacillus*	*cereus*	2,20	Espécie (≥2,0)	DSM 31T DSM	1396
ISO-8	*Bacillus*	*cereus*	2,06	Espécie (≥2,0)	DSM 31T DSM	1396
ISO-11	*Alcaligenes*	*feacalis*	1,62	Gênero (1,7–1,99)	DSM 13975T HAM	511
ISO-15	*Bacillus*	*pumilus*	1,51	Não confiável (<1,7)	DSM 1794 DSM	1408
ISO-18	*Alcaligenes*	*feacalis*	2,13	Espécie (≥2,0)	DSM 30030T HAM	511
ISO-21	*Lysinibacillus*	*sphaericus*	1,67	Gênero (1,7–1,99)	B323 UFL	1421
ISO-23	*Bacillus*	*cereus*	2,17	Espécie (≥2,0)	994000168LBR	1396
ISO-25	*Bacillus*	*cereus*	1,93	Gênero (1,7–1,99)	DSM 31TDSM	1396
ISO-30	*Bacillus*	*cereus*	1,87	Gênero (1,7–1,99)	CICC 23949 CICC	1396
ISO-43	*Priestia*	*megaterium*	2,19	Espécie (≥2,0)	DSM 1668 DSM	1404

[2]

[22] Os valores de "score" indicam o nível de confiança da identificação: scores ≥ 2,0 correspondem a identificação segura em nível de espécie; valores entre 1,7 e 1,99 indicam identificação provável em nível de gênero; scores abaixo de 1,7 são considerados como identificação não confiável. A coluna padrão de correspondência apresenta a cepa de referência na base de dados que apresentou maior similaridade espectral com o isolado analisado. Código de Referência NCBI: ID ou código do organismo na base NCBI Taxonomy Database.

A caracterização bioquímica foi útil para descrever o perfil metabólico dos isolados, mas mostrou-se limitada para a identificação precisa em nível de gênero e, especialmente, de espécie. Isso se deve ao fato de que microrganismos com características metabólicas semelhantes podem apresentar respostas bioquímicas idênticas, dificultando a diferenciação entre táxons próximos. Além disso, esse método exige múltiplos testes, é mais demorado e, em alguns casos, sujeito a interpretações ambíguas.

Por outro lado, a tecnologia MALDI-TOF MS representou um avanço significativo na identificação microbiana por oferecer rapidez, alta precisão e menor custo por análise. No entanto, seu desempenho está diretamente relacionado à abrangência e qualidade do banco de dados espectral utilizado. A identificação só é possível quando o perfil de massa do isolado encontra correspondência com cepas-tipo registradas no banco de dados (RYCHERT, 2019; HAYDER et al., 2023). Essa limitação se torna evidente ao lidar com bactérias ambientais e fungos, menos representados nesses bancos, o que explica a impossibilidade de identificar todos os isolados deste estudo por essa técnica.

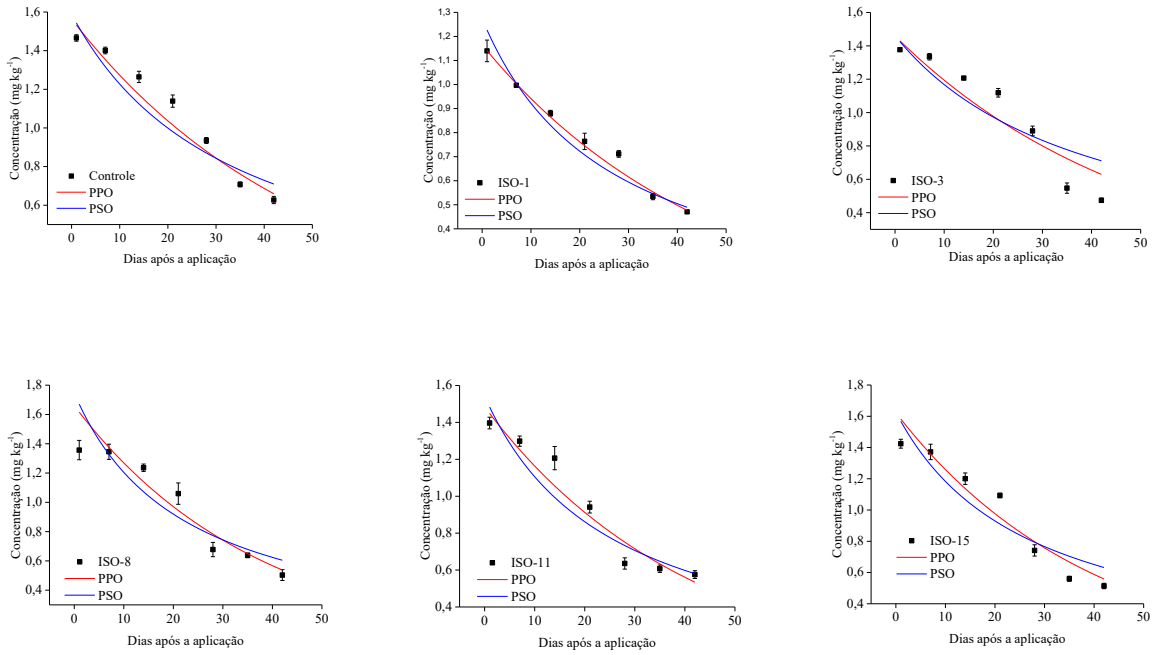
Assim, enquanto a bioquímica isoladamente não foi suficiente para garantir uma identificação confiável a nível de gênero e/ou espécie, o MALDI-TOF MS apresentou maior precisão, mas ainda depende da constante atualização e expansão dos bancos de dados para ampliar sua aplicabilidade. Quando utilizadas de forma complementar, essas abordagens se tornam mais robustas, unindo o detalhamento fenotípico da bioquímica com a rapidez e especificidade da espectrometria de massas.

3.6 Capacidade dos isolados em degradar o herbicida no solo

Com base nos resultados obtidos nos ensaios *in vitro*, foram selecionados 11 isolados com melhor desempenho para a avaliação da degradação do sulfentrazone em solo (Figura 3, Tabela 3 e 4). Os dados experimentais foram ajustados aos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem (PPO) e pseudo-segunda ordem (PSO) (Figura 4), com o objetivo de descrever a dinâmica da degradação ao longo de 42 dias. A contante cinética de degradação dos isolados foi avaliada, considerando os coeficientes de determinação (R^2) mais elevados e os menores valores do critério de informação de Akaike corrigido (AICc), verificou-se que o modelo PPO apresentou melhor ajuste aos dados para os 11 isolados, indicando maior adequação para descrever a cinética de degradação nas condições avaliadas (Tabela 5).

A análise da constante de velocidade de degradação (K1), baseada no modelo de pseudo-primeira ordem, demonstrou variações expressivas entre os isolados testados quanto à eficiência na transformação do sulfentrazone. Os isolados 8, 11, 15, 18, 21 e 43 apresentaram os melhores desempenhos, promovendo um aumento na velocidade de degradação em 23%, 15%, 18%, 17%, 15% e 19%, respectivamente, em comparação ao controle. Esses resultados evidenciam a elevada atividade metabólica desses microrganismos, capazes de acelerar significativamente a transformação do herbicida.

Em contrapartida, os isolados 23 e 30 apresentaram incrementos mais modestos na velocidade de degradação, com 12% e 10%, respectivamente, indicando um desempenho intermediário. Por outro lado, os isolados 1, 3 e 25 não influenciaram a constante de velocidade (K_1), sugerindo que, embora possam ter capacidade de remoção do herbicida, não atuam de forma eficiente no aspecto cinético da degradação. Esses dados reforçam a importância de considerar não apenas a taxa de remoção final, mas também a velocidade de transformação aspecto importante a ser considerado ao selecionar microrganismos com potencial para aplicação em estratégias de biorremediação.



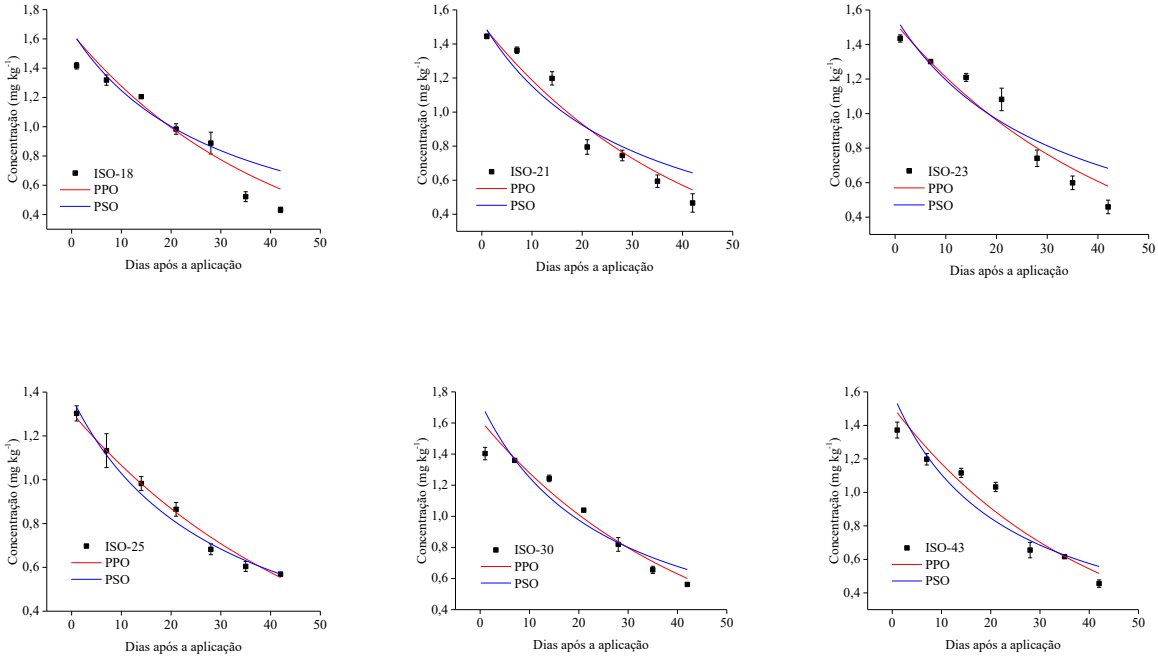


Figura 4. Modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem (PPO) e pseudo-segunda ordem (PSO) aplicados aos tratamentos com base nos dados obtidos sobre a cinética de degradação do sulfentrazone ao longo de 42 dias no solo.

Os maiores valores da constante de velocidade de degradação do sulfentrazone foram observados nos tratamentos com os isolados 8, 43, 15 e 18, indicando maior capacidade de transformar rapidamente o herbicida (Tabela 5). O isolado 8, identificado como *Bacillus cereus*, apresentou o maior valor registrado, com 2,68 × 10^{-2} dia^{-1}, seguido pelo isolado 43 (*Priestia megaterium*) com 2,56 × 10^{-2} dia^{-1}, ISO-15 com 2,53 × 10^{-2} dia^{-1}, e isolado 18, identificado como *Alcaligenes faecalis*, com 2,49 × 10^{-2} dia^{-1} (Tabela 4). Embora o isolado 15 não tenha sido identificado com confiança a nível de espécie, seu desempenho cinético evidencia um alto potencial metabólico.

Esses isolados se destacam por sua habilidade de promover a degradação do sulfentrazone em um intervalo de tempo reduzido, o que é especialmente relevante em cenários onde a contaminação ambiental exige intervenções rápidas e eficazes. Além disso, o fato de pertencerem a gêneros reconhecidos por seu papel em processos de biorremediação reforça sua aplicabilidade como agentes estratégicos em tecnologias sustentáveis de descontaminação de solos impactados por herbicidas persistentes.

Tabela 05. Parâmetros dos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem (PPO) e pseudo-segunda ordem (PSO) obtidos a partir dos dados de degradação do sulfentrazone no solo.

Tratamento	PPO				PSO			
	Co (mg L^{-1})	K_1 x10^{-2} (Dia $^{-1}$)	R^2	AICc	Co (mg L^{-1})	K_2 x 10^{-2} (L mg^{-1} dia $^{-1}$)	R^2	AICc
Controle	1,56±0,06	2,06±0,18	0,96	-29,65	1,58±0,09	1,85±0,26	0,93	-24,85
Isolado 1	1,16±0,02	2,12±0,01	0,99	-42,68	1,27±0,05	2,99±0,23	0,98	-32,97
Isolado 3	1,45±0,06	2,00±0,37	0,89	-22,56	1,46±0,09	1,71±0,49	0,83	-19,30
Isolado 8	1,65±0,11	2,68±0,29	0,94	-22,54	1,74±0,24	2,57±0,45	0,86	-18,91
Isolado 11	1,48±0,06	2,43±0,20	0,96	-28,21	1,54±0,09	2,55±0,31	0,94	-24,16
Isolado 15	1,62±0,15	2,53±0,40	0,88	-25,69	1,62±0,23	2,30±0,54	0,79	-21,69
Isolado 18	1,63±0,11	2,49±0,45	0,90	-23,38	1,65±0,19	1,96±0,56	0,76	-18,84
Isolado 21	1,51±0,04	2,44±0,29	0,95	-28,40	1,53±0,06	2,15±0,43	0,91	-22,91
Isolado 23	1,52±0,04	2,30±0,31	0,94	-26,44	1,56±0,08	1,95±0,44	0,89	-21,38
Isolado 25	1,30±0,04	2,04±0,10	0,98	-43,49	1,37±0,04	2,45±0,11	0,98	-40,07
Isolado 30	1,61±0,05	2,36±0,18	0,97	-28,19	1,73±0,13	2,25±0,35	0,93	-22,06
Isolado 43	1,51±0,09	2,56±0,22	0,94	-27,39	1,59±0,19	2,78±0,03	0,89	-22,82

Concentração inicial (Co), Constante cinética do modelo Pseudo-primeira ordem (K_1), Constante cinética do modelo Pseudo-segunda ordem (K_2), Coeficiente de determinação (R^2), Critério de Informação de Akaike corrigido (AICc).

A análise da porcentagem de degradação do sulfentrazone ao longo de 42 dias de incubação no solo revelou diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos com inoculação microbiana e o controle sem microrganismos (Figura 5). O controle apresentou uma taxa média de degradação de 57,21%, enquanto diversos isolados superaram esse valor.

Os isolados ISO-3 (*Bacillus cereus*, 65,54%), ISO-8 (*B. cereus*, 62,60%), ISO-15 (63,95%), ISO-18 (*Alcaligenes faecalis*, 69,49%), ISO-21 (67,78%), ISO-23 (*B. cereus*, 67,88%) e ISO-43 (*Priestia megaterium*, 66,71%) compuseram o grupo de maior eficiência, com taxas de degradação superiores ao controle em até 12 pontos percentuais. Tais resultados evidenciam a capacidade desses microrganismos em promover a remoção acelerada do herbicida, possivelmente por meio de mecanismos enzimáticos de biotransformação ou mineralização bem estabelecidos.

O desempenho dos isolados ISO-18, ISO-21 e ISO-23 foi particularmente relevante, com aumento superior a 10% na taxa de degradação em relação ao controle. A elevada eficiência desses microrganismos, aliada aos altos valores de constante cinética e às elevadas velocidades de degradação previamente observadas, reforça a consistência do seu potencial degradador. Esses achados sustentam a viabilidade do uso desses isolados em estratégias de biorremediação voltadas à mitigação da persistência do sulfentrazone em ambientes agrícolas.

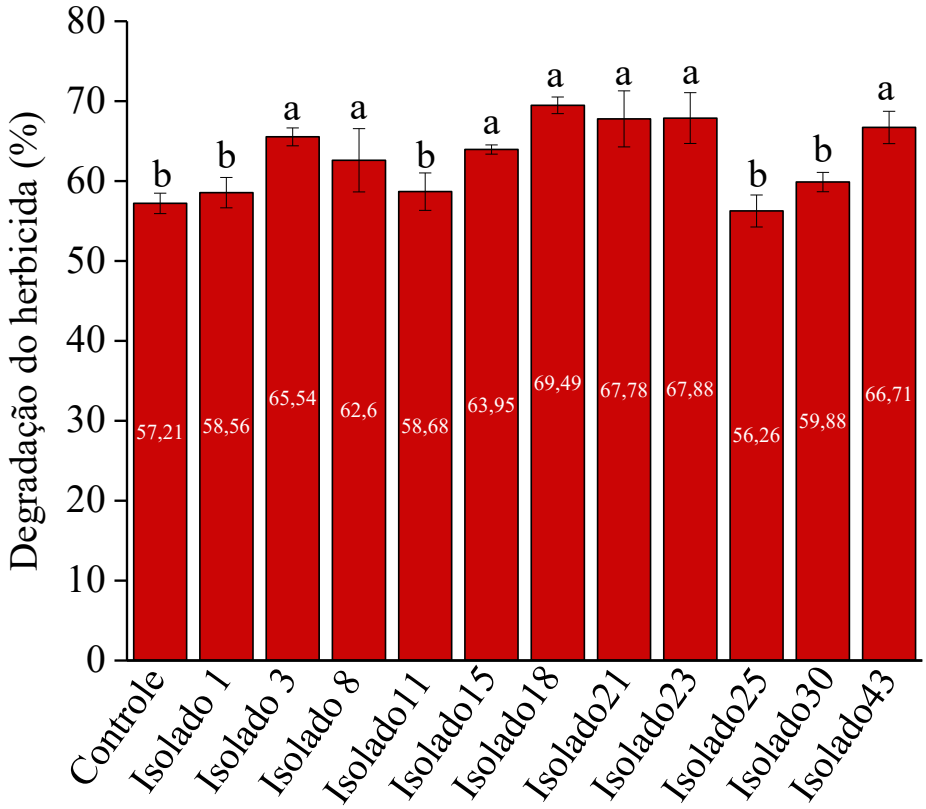


Figura 5. Porcentagem de degradação do herbicida ao longo de 42 dias pela influência do tratamento com os isolados no solo. Barras indicam o erro padrão das médias. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatística entre os grupos pelo teste Scott-knott ao p-valor < 0,05.

Com o objetivo de fornecer uma análise mais completa sobre o comportamento do sulfentrazone frente aos microrganismos isolados, foi determinada a meia-vida do herbicida no solo. Essa abordagem permitiu estimar o tempo necessário para que 50% da molécula do herbicida fosse degradada no sistema, fornecendo um parâmetro adicional de eficiência microbiana na degradação do composto (Figura 6).

A avaliação do tempo de meia-vida do sulfentrazone no solo evidenciou que os tratamentos com inoculação bacteriana promoveram reduções significativas nesse parâmetro em relação ao controle, que apresentou valor médio de 35,96 dias (Figura 6). Os isolados ISO-8 (*Bacillus cereus*, 29,88 dias), ISO-11 (28,57 dias), ISO-15 (28,25 dias), ISO-18 (*Alcaligenes faecalis*, 27,85 dias), ISO-21 (25,57 dias), ISO-23 (*B. cereus*, 28,30 dias) e ISO-43 (*Priestia megaterium*, 28,80 dias) foram os que mais contribuíram para a aceleração do processo de degradação do herbicida, reduzindo o tempo necessário para que 50% da molécula fosse transformada.

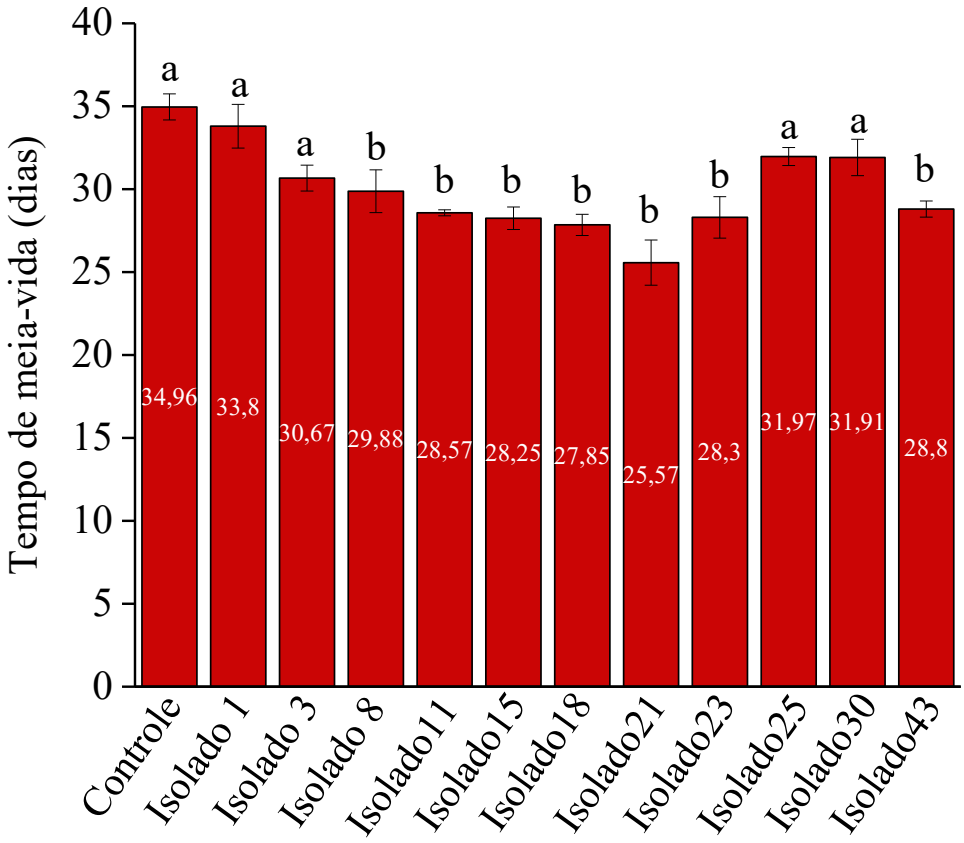


Figura 6. Tempo de meia-vida do herbicida ao longo de 42 dias na presença de isolados bacterianos. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatística entre os grupos pelo teste Scott-knott ao p-valor < 0,05.

Esses resultados reforçam a eficácia desses microrganismos na biorremediação de solos contaminados, visto que a diminuição da meia-vida do herbicida implica menor persistência no ambiente e, consequentemente, redução dos riscos de lixiviação e efeitos fitotóxicos em culturas subsequentes. No entanto, é importante destacar que a aplicação dos microrganismos foi realizada apenas uma vez durante o experimento. O tempo de sobrevivência desses isolados no solo não foi monitorado, o que limita a interpretação mais precisa sobre a necessidade de reinoculações. É possível que reaplicações periódicas ou estratégias para aumentar a permanência microbiana no ambiente pudessem melhorar ainda mais os resultados obtidos. Além disso, na ausência de atividade microbiana, a degradação do sulfentrazone passa a depender exclusivamente de processos abióticos, como hidrólise, fotodegradação e oxidação, que tendem a ser mais lentos e menos eficientes (KAUR et al., 2021; HUSSAIN et al., 2015).

A redução expressiva no tempo de meia-vida do sulfentrazone observada na presença de determinados isolados bacterianos confirma o potencial biorremediador desses microrganismos, evidenciando sua capacidade de acelerar a degradação do composto no solo. Essa eficiência provavelmente está associada à produção de enzimas específicas ou à ativação de rotas metabólicas adaptadas à transformação de xenobióticos. Resultados semelhantes foram relatados por Liu et al. (2025), que demonstraram o desenvolvimento de uma cepa bacteriana com capacidade de degradar atrazina e acetocloro simultaneamente, promovendo uma redução acentuada na meia-vida desses herbicidas.

Estudos prévios indicam que, em solos esterilizados — ou seja, desprovidos de atividade microbiana —, o tempo de meia-vida de herbicidas pode ser de duas a seis vezes superior em comparação a solos biologicamente ativos, destacando a biodegradação como principal via de remoção desses compostos do ambiente (KAUR; RANI; BHULLAR, 2022; HUSSAIN et al., 2015). Nesse contexto, a consistência dos resultados obtidos para os isolados 18, 15, 21, 23 e 43 — os quais apresentaram simultaneamente elevadas taxas de degradação, altas constantes cinéticas e as menores meias-vidas — reforça seu desempenho superior.

Considerando que a eficácia desses microrganismos foi comprovada em condições de solo, seu uso pode ser estrategicamente explorado não apenas em áreas agrícolas diretamente manejadas, mas também em zonas de contenção e proteção ambiental, como as *buffer strips* (BORIN *et al*., 2010). Nessas áreas, a introdução ou estímulo de populações microbianas

degradadoras poderia potencializar a retenção e a detoxificação de herbicidas antes que atinjam corpos hídricos, ampliando a função dessas faixas para além da barreira física e transformando-as em verdadeiras zonas ativas de biorremediação (PROSSER *et al*.,2020).

Os resultados obtidos demonstraram que os microrganismos identificados como pertencentes ao gênero *Bacillus*, especialmente *Bacillus cereus*, apresentaram elevada eficiência e consistência na degradação do sulfentrazone. Esse gênero bacteriano é amplamente reconhecido por seu papel na biodegradação de compostos orgânicos recalcitrantes, incluindo herbicidas, pesticidas e outros poluentes ambientais, promovendo sua conversão em metabólitos menos tóxicos ou mesmo sua completa mineralização.. A ação de *B. cereus* na degradação de xenobióticos tem sido atribuída à presença de um conjunto de enzimas oxidativas e hidrolíticas capazes de romper estruturas químicas complexas, utilizando os compostos resultantes como fontes de carbono, nitrogênio e energia. Estudos prévios também indicam que o uso de consórcios bacterianos contendo *B. cereus* pode potencializar ainda mais a eficiência da biorremediação, por meio de interações sinérgicas entre diferentes espécies, ampliando a faixa de substratos degradados e aumentando a resiliência frente a variações ambientais (MUTHUKUMARAVEL et al., 2025; RODRÍGUEZ-OROZCO; JARAMILLO-COLORADO; DUARTE-RESTREPO, 2025; HUR et al., 2016; LU et al., 2023; SHAHID et al., 2023).

Além do seu potencial biorremediador, microrganismos do gênero *Bacillus* já estão amplamente inseridos na agricultura brasileira, sendo bem aceitos pelos produtores rurais devido aos múltiplos benefícios agronômicos que oferecem. Esses microrganismos atuam como biofertilizantes e promotores do crescimento vegetal, contribuindo para a solubilização de fósforo e potássio, além da produção de fitohormônios como auxinas, citocininas e giberelinas, que estimulam o desenvolvimento das plantas e aumentam sua tolerância a estresses abióticos. Adicionalmente, *Bacillus spp.* são reconhecidos pelo seu papel no biocontrole de fitopatógenos, funcionando como agentes naturais de proteção das culturas agrícolas. Essas características multifuncionais, quando associadas à capacidade comprovada de degradar compostos tóxicos como o sulfentrazone, tornam esses microrganismos particularmente promissores para estratégias integradas de manejo agrícola sustentável. Seu uso pode, portanto, alinhar práticas de aumento da produtividade com ações de mitigação de impactos ambientais, ampliando a aceitação e viabilidade de sua aplicação em sistemas de produção (VASQUES; HUNGRIA; NOGUEIRA, 2024; GLICK; ETESAMI; JEONG, 2023; RAZA et al., 2022; POVEDA; GONZÁLEZ-ANDRÉS, 2021).

Bactérias da espécie *Priestia megaterium* (antigamente *Bacillus megaterium*) também se mostraram eficientes na degradação do sulfentrazone *in vitro*. Estudos demonstram que cepas edáficas possuem capacidade significativa de degradar herbicidas e compostos tóxicos, incluindo glifosato e mesotriona, utilizando-os como fonte de carbono e fósforo, com taxas de manipulação que podem chegar a 70% em condições laboratoriais após dois meses de incubação. Além disso, cepas de *P. megaterium* podem adaptar seu metabolismo e mecanismos de defesa para resistir e degradar herbicidas como a mesotriona, produzindo diferentes metabólitos dependendo do ambiente de origem (solo ou água), o que pode influenciar a toxicidade residual desses compostos (MOUSA; ALI; HUSSEIN, 2019; BARDOT *et al.,* 2015).

Alcaligenes faecalis é uma espécie bacteriana amplamente reconhecida por sua capacidade de sobreviver em ambientes adversos, como solos contaminados e sistemas aquáticos. Esses microrganismos possuem potencial para degradar diversos compostos orgânicos tóxicos, incluindo fenóis e cianetos, reduzindo significativamente sua toxicidade. Além disso, apresentam habilidade para metabolizar compostos organofosforados, como o pesticida clorpirifós, e desempenham papel relevante na biorremediação de metais pesados, contribuindo para a recuperação de ambientes contaminados. (MANDAL *et al*., 2021; KUMAR *et al*., 2020). Embora não seja muito elucidado na literatura acerca da sua capacidade em degradar herbicidas, os resultados evidenciaram que *A. feacalis* é capaz de degradar herbicida, sugerindo um potencial promissor para aplicação em processos de biorremediação de herbicidas como o sulfentrazone.

Embora *A. feacalis* seja comummente encontrado em solo, água e na microbiota intestinal pode ser um patógeno oportunista, especialmente em indivíduos imunocomprometidos (GARCIA *et al*.,2022). Essa característica levanta questões importantes sobre sua utilização direta como inóculo em campo, uma vez que a liberação de microrganismos com potencial patogênico no ambiente deve seguir rigorosos critérios de biossegurança. Nesse sentido, a aplicação de *A. faecalis* como agente de biorremediação exigiria avaliações adicionais de risco, incluindo estudos de segurança ambiental e sanitária, além da consideração de alternativas como o uso de consórcios microbianos balanceados ou a aplicação de enzimas extracelulares isoladas do microrganismo. Essas estratégias podem permitir o aproveitamento de sua capacidade degradadora minimizando riscos à saúde humana e animal.

É importante considerar também que os ensaios de degradação foram conduzidos em solo autoclavado, uma condição que, embora útil para isolar os efeitos da inoculação, elimina completamente a microbiota nativa. Esse processo pode destruir não apenas microrganismos benéficos, mas também enzimas naturalmente presentes no solo que participam dos processos de degradação. Com o tempo, pode ocorrer a recolonização do solo autoclavado por microrganismos ambientais, porém, essa nova comunidade tende a apresentar composição e diversidade distintas da microbiota original, e a recuperação das funções ecológicas pode ser parcial e limitada (BAKER et al., 2020; DAMIN; CARRIJO; COSTA, 2021).

Essa limitação experimental implica que os microrganismos inoculados atuaram em um ambiente menos competitivo, porém também menos funcional, o que pode restringir seu desempenho em condições reais de campo. Além disso, o contato direto com o sulfentrazone em um solo esterilizado representa um desafio adicional para os microrganismos, uma vez que não há comunidades nativas com as quais possam estabelecer relações sinérgicas. Assim, torna-se pertinente, em estudos futuros, avaliar a capacidade de degradação desses isolados em solos não autoclavados, que apresentem microbiota ativa e maior complexidade ecológica, de modo a validar sua eficácia sob condições mais próximas da realidade agrícola.

Diante das limitações impostas pelo uso de solo autoclavado, recomenda-se a realização de novos estudos em solos não esterilizados, que preservem a microbiota nativa e reflitam de forma mais fiel as condições encontradas em ambientes agrícolas reais. Essa abordagem permitirá validar a eficácia dos isolados selecionados em contextos ecológicos mais complexos e competitivos. Adicionalmente, a análise da dinâmica da comunidade microbiana ao longo do tempo poderá viabilizar a construção de curvas de crescimento e a definição de estratégias de reinoculação, caso necessário, para manter a eficiência do processo de degradação. A utilização de consórcios microbianos também se apresenta como alternativa promissora, especialmente considerando que isolados do mesmo gênero, como *Bacillus spp.*, apresentaram desempenhos distintos quanto às variáveis avaliadas — taxa de degradação, constante cinética e velocidade de transformação. A combinação estratégica dessas linhagens pode favorecer interações sinérgicas entre os microrganismos, ampliando a robustez do sistema e aumentando a eficiência global dos processos de biorremediação.

4. CONCLUSÕES

Microrganismos como *B. cereus*, *P. megaterium* e *A. feacalis* apresentaram potencial para aplicação em técnicas de biorremediação de solos contaminados com sulfentrazone. Ao testar a capacidade de tolerância dos 43 microrganismos isolados do solo, 22 se mostraram capazes de desenvolver na presença do herbicida. Quando submetidos as análises de degradação do composto *in vitro* ao avaliar de maneira detalhada a taxa de degradação, a velocidade e os parâmetros cinéticos associados a cada tratamento, 11 isolados foram classificados como promissores para uso no solo, apresentando taxas de degradação varinado entre 50% a 67%, além de boa velocidade e constante.

O desempenho desses isolados quando aplicado em técnicas de infestação no solo foi diverso, em geral, *B. cereus* apresentaram melhor desempenho quando levado em consideração a taxa de degradação, velocidade e redução do tempo de meia vida. A caracterização bioquímica e por espectrometria via MALD-TOF MS permitiu uma identificação dos microrganismos fornecendo uma melhor compreensão de quais estratégias são empregadas por eles para mineralizar compostos tóxicos. Dessa forma, conclui-se que os isolados 15, 18, 21, 23 e 43 são os mais promissores para aplicação em estratégias de remediação de solos contaminados com sulfentrazone, devido à sua tolerância, perfil bioquímico favorável, desempenho cinético e capacidade de reduzir a persistência do herbicida no meio. Estudos futuros devem focar na aplicação desses microrganismos isolado e em consórcios nas condições de solo natural, avaliando sua eficácia em ambientes reais e sua interação com a microbiota nativa e culturas agrícolas.

5. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Ariela Leal P. de; TOTOLA, Gabriela Oliveira Hezer; PIMENTEL, Jhully; ALMEIDA JR, Pedro Sousa de. MALDI-TOF: importância e aplicabilidade na microbiologia hospitalar. Vitória: **Faculdade Multivix**, 2022.

ALMEIDA, Edmilson Igor Bernardo; FERRÃO, Gregori da Encarnação (orgs.). Fundamentos em biologia e manejo de plantas daninhas. São Luís: **EDUFMA**, 2022. 215 p. ISBN 978-65-5363-152-6.

ANWAR, S. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Actinomycetes Pada Rhizosfer Tanaman Jagung (Zea Mays) di Provinsi Gorontalo Isolamento e caracterização de bactérias actinomicetas na rizosfera de plantas de milho (Zea mays) na província de Gorontalo. CHEMVIRO: **Jornal Kimia dan Ilmu Lingkungan (JKIL**), v. 3, n. 1, 2025. Disponível em: https://doi.org/10.56071/chemviro.v3i1.1196. Acesso em: 25 jun. 2025.

ARORA, P. Bacilli-Mediated Degradation of Xenobiotic Compounds and Heavy Metals Degradação mediada por bacilos de compostos xenobióticos e metais pesados. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 8, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.570307. Acesso em: 21 jul. 2025.

BAKER, Christopher A.; LEE, Shinyoung; DE, Jaysankar; JEONG, Kwangcheol C.; SCHNEIDER, Keith R. Survival of Escherichia coli O157 in autoclaved and natural sandy soil mesocosms Sobrevivência de Escherichia coli O157 em mesocosmos de solo arenoso natural e autoclavado. **PLoS ONE**, v. 15, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234562. Acesso em: 30 jun. 2025.

BARDOT, C. et al. How the edaphic Bacillus megaterium strain Mes11 adapts its metabolism to the herbicide mesotrione pressure Como a cepa edáfica Mes11 de Bacillus megaterium adapta seu metabolismo à pressão do herbicida mesotriona. **Environmental Pollution**, v. 199, p. 198–208, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.01.029. Acesso em: 06 jun. 2025.

BEER, Daniel et al. Identificação por espectrometria de massa MALDI-TOF de Salmonella spp. e Escherichia coli isoladas de carcaças bovinas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 12, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017001200003. Acesso em: 06 jun. 2025.

BENSON, H. J. **Microbiological applications: laboratory manual in general microbiology**. 8th ed. Boston: McGraw-Hill, 2002.

BHATT, P. et al. Major metabolites after degradation of xenobiotics and enzymes involved in these pathways. In: SINGH, S. N. (ed.). **Microbial bioremediation of xenobiotic compounds**. London: Academic Press, 2019. p. 205–215. Disponível em: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818307-6.00012-3. Acesso em: 21 jul. 2025.

BORIN, M.; PASSONI, M.; THIENE, M.; TEMPESTA, T. Multiple functions of buffer strips in farming areas. **European Journal of Agronomy**, v. 32, p. 103-111, 2010. DOI: https://doi.org/10.1016/J.EJA.2009.05.003.

BRAGA, D. et al. Leaching of sulfentrazone in soils from the sugarcane region in the Northeast Region of Brazil. **Planta Daninha**, v. 34, p. 161–169, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0100-83582016340100017. Acesso em: 20 jul. 2025.

BRUKER DALTONICS. **Standard operating procedures of MALDI-TOF Biotyper**. [S.l.]: Bruker Daltonics, [s.d.]. Disponível em: https://www.bruker.com/fileadmin/user_upload/8-PDF-Docs/Microbiology/MALDI_Biotyper_SOP.pdf. Acesso em: 26 jun. 2025.

CHEN, S. et al. Insights sobre as vias metabólicas e mecanismos de biodegradação de herbicidas de cloroacetamida. **Environmental Research**, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.115918. Acesso em: 10 jun. 2025.

DA SILVA GOMES, S.; DA SILVA, J.; PADILHA, R.; DE VASCONCELOS, J.; DE NEGREIROS NETO, L.; MARRS, J.; CADENA, P. Efeitos comportamentais da mistura e dos compostos únicos carbendazim, fipronil e sulfentrazone em zebrafish (Danio rerio) larvae**.** **Biomedicina**, v. 12, 2024. DOI: https://doi.org/10.3390/biomedicines12061176.

DAMIN, Virginia; CARRIJO, Bruno da Silva; COSTA, Nathalia Almeida. Residual activity of sulfentrazone and its impacts on microbial activity and biomass of Brazilian Savanna soils. **Ciência Rural**, v. 51, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1590/1983-40632021v51e68340. Acesso em: 05 jun. 2025.

DE SOUZA, A.; SANTOS, E.; RIBEIRO, F.; DE ARAÚJO PEREIRA, A.; VIANA, D.; DA SILVA COELHO, I.; FILHO, F.; SANTAREN, K. Crotalaria juncea L. enhances the bioremediation of sulfentrazone-contaminated soil and promotes changes in the soil bacterial community. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 54, p. 2319-2331, 2023. DOI: https://doi.org/10.1007/s42770-023-01064-5.

FERREIRA, A. S. et al. Sorção de diuron e sulfentrazone em diferentes substratos. **Scientia Plena**, Aracaju, v. 20, n. 12, p. 120202-1–120202-9, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.14808/sci.plena.2024.120202. Acesso em: 30 jun. 2025.

GARCÍA, K.; DURAN, O.; PÉREZ, T.; JIMÉNEZ, Á.; PÉREZ, E.; MARTÍNEZ-ÁVILA, M.; YANEZ, T.; ALMANZA-HURTADO, A. A rare case of meningitis caused by Alcaligenes faecalis in an immunocompetent patient. **Case Reports in Medicine**, 2022. DOI: https://doi.org/10.1155/2022/1559360.

GEHRKE, V. R.; CAMARGO, E. R.; ÁVILA, L. A. Sulfentrazone: environmental dynamics and selectivity. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 38, e020215663, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0100-83582020380100032. Acesso em: 5 jun. 2025.

GLICK, B.; ETESAMI, H.; JEONG, B. Potential use of Bacillus spp. as an effective biostimulant against abiotic stresses in crops—a review. **Current Research in Biotechnology**, v. 5, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2023.100128. Acesso em: 5 jun. 2025.

HAIDER, A. et al. O nível atual de aplicações de MALDI-TOF MS na detecção de microrganismos: uma breve revisão de benefícios e limitações. **Microbiology Research**, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.3390/microbiolres14010008. Acesso em 10 jun. 2025.

HUR, J. et al. Biodegradação de clorpirifós, malatião e dimetoato por três cepas de bactérias isoladas de solos poluídos no Sudão. **Journal of Agricultural and Food Chemistry,** v. 64, n. 45, p. 8491–8498, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b03334. Acesso em: 2 jun. 2025.

HUSSAIN, S. et al. Abiotic and biotic processes governing the fate of phenylurea herbicides in soils: a review**. Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 45, p. 1947–1998, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1080/10643389.2014.1001141. Acesso em: 04 jun. 2025.

INTHAMA, P. et al. Crescimento de plantas e bactérias promotoras de tolerância à seca para biorremediação de resíduos de pesticidas paraquate em solos agrícolas. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.604662. Acesso em: 10 jun. 2025.

JUNIOR, L. et al. Sulfentrazone mobility in columns filled with ultisol and oxisol horizons. **Environmental Earth Sciences**, v. 81, p. 1–24, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s12665-021-10165-z. Acesso em: 20 jul. 2025.

KAUR, P.; RANI, G.; BHULLAR, M. Persistence of metribuzin in aridisols as affected by various abiotic factors and its effect on soil enzymes. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry,** v. 104, p. 847–866, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1080/03067319.2022.2026938. Acesso em: 30 jun. 2025.

KAUR, R. et al. Pesticide residues degradation strategies in soil and water: a review. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 20, p. 3537–3560, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s13762-021-03696-2. Acesso em: 20 jun. 2025.

KORSHUNOVA, T. et al. Efeito de bactérias degradadoras de óleo resistentes a herbicidas em plantas em solo contaminado com óleo e herbicidas. **Plants,** v. 13, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.3390/plants13243560. Acesso em: 15 mar. 2025.

KRYSENKO, Sergii; WOHLLEBEN, Wolfgang. Polyamine and ethanolamine metabolism in bacteria as an important component of nitrogen assimilation for survival and pathogenicity.

Medical Sciences, v. 10, n. 3, p. 40, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3390/medsci10030040. Acesso em: 3 jul. 2025.

KUMAR, P. Degradation of xenobiotics by bacteria and fungi: an overview**. Biopesticides International,** 2023. Disponível em: https://doi.org/10.59467/bi.2023.19.117. Acesso em: 21 jul. 2025.

KUMAR, S. et al. Degradação de clorpirifós por bactérias Alcaligenes faecalis, promotoras do crescimento de plantas, isoladas de solo contaminado com óleo. **Bioremediation Journal,** v. 25, p. 80–88, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1080/10889868.2020.1837066. Acesso em: 8 abril 2025.

KUPPUSAMY, Subramanian et al. Análise de pirossequenciamento da diversidade bacteriana em solos contaminados a longo prazo com HAPs e metais pesados: implicações para a biorremediação. **Journal of Hazardous Materials**, v. 317, p. 169–179, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.05.066. Acesso em: 5 mai 2025.

LIU, Y.; ZHAI, Q.; LV, J.; WU, Y.; LIU, X.; ZHANG, H.; WU, X. Construção de uma cepa bacteriana fusante que degrada simultaneamente atrazina e acetocloro e sua aplicação na biorremediação do solo. **The Science of the Total Environment**, v. 962, 2025. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2025.178478. Acesso em: 9 jun 2025

LUONG, T. et al. Degradação de fungicidas triazólicos por bactérias promotoras do crescimento de plantas em solo agrícola contaminado. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 34, p. 56–64, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.4014/jmb.2308.08037. Acesso em: 2 mai 2025.

MANDAL, D. et al. Eficácia da biodegradação de novas espécies cocultivadas inerentes a águas residuais de fornos de coque: Alcaligenes faecalis JF339228 e Klebsiella oxytoca KF303807 em fenol e cianeto — análise cinética e de toxicidade. **Biomass Conversion and Biorefinery,** v. 13, p. 2687–2702, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s13399-021-01323-1. Acesso em: 7 mai. 2025.

MARTINEZ, C. et al. Microbial degradation of sulfentrazone in a Brazilian Rhodic Hapludox soil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, p. 209–217, 2010. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S1517-838220100001000030. Acesso em: 21 jul. 2025.

MATOS, A. et al. Dynamics of diuron and sulfentrazone formulations in soils with different textures. **Planta Daninha**, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1590/s0100-83582020380100068. Acesso em: 20 jul. 2025.

MEHTA, A. et al. Isolamento, caracterização e identificação de bactérias degradadoras de pesticidas de solo contaminado para biorremediação. **Biologia Futura**, v. 72, p. 317–323, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s42977-021-00080-6. Acesso em: 8 mai 2025..

MELO, C. et al. Isolation and characteristics of sulfentrazone-degrading bacteria. **Journal of Environmental Science and Health**, Part B, v. 52, p. 115–121, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1080/03601234.2016.1248136. Acesso em: 21 jul. 2025.

MELO, Christiane Augusta Diniz et al. Atividade microbiana do solo com sulfentrazone associado a espécies fitorremediadoras e inoculação com consórcio bacteriano. **Bragantia**, v. 76, n. 2, p. 277–287, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1590/1678-4499.203. Acesso em: 3 jun. 2025.

MIGLANI, R. et al. Degradation of xenobiotic pollutants: an environmentally sustainable approach. **Metabolites,** v. 12, n. 9, p. 818, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3390/metabo12090818. Acesso em: 21 jul. 2025.

MISHRA, S. et al. Tecnologias avançadas recentes para a caracterização de microrganismos e comunidades microbianas que degradam xenobióticos. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.632059. Acesso em: 21 jul. 2025.

MORETTO, J. et al. Alterações na comunidade bacteriana após aplicação de três herbicidas diferentes. FEMS **Microbiology Letters,** v. 364, n. 13, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1093/femsle/fnx113. Acesso em: 21 jul. 2025.

MOUSA, N.; ALI, A.; HUSSEIN, M. Bacillus megaterium biodegradation glyphosate. Iraqi **Journal of Agricultural Scie**nces, v. 50, n. 6, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.36103/ijas.v50i6.859. Acesso em: 7 jun. 2025

MUTHUKUMARAVEL, Subramanian et al. Biodegradation of organophosphorus insecticides by Bacillus species isolated from soil. **Journal of Basic Microbiology**, v. 65, n. 4, e2400597, abr. 2025. Disponível em: https://doi.org/10.1002/jobm.202400597. Acesso em: 3 jul. 2025.

PERTILE, M. et al. Resposta das comunidades bacterianas do solo à aplicação dos herbicidas imazetapir e flumicina. **European Journal of Soil Biology**, v. 102, p. 103252, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2020.103252. Acesso em: 21 jul. 2025.

POVEDA, J.; GONZÁLEZ-ANDRÉS, F. Bacillus as a source of phytohormones for use in agriculture. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 105, p. 8629–8645, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s00253-021-11492-8. Acesso em: 4 jun. 2025

PROCOP, G. W. et al. **Diagnóstico microbiológico: texto e atlas.** 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

PROSSER, R.; HOEKSTRA, P.; GENE, S.; TRUMAN, C.; WHITE, M.; HANSON, M. A review of the effectiveness of vegetated buffers to mitigate pesticide and nutrient transport into surface waters from agricultural areas. **Journal of Environmental Management**, v. 261, 110210, 2020. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110210.

QI, J. et al. O excesso de cobre promove a atividade catabólica de bactérias gram-positivas e a resistência de bactérias gram-negativas, mas inibe a comunidade fúngica no solo. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, p. 22602–22612, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s11356-021-17510-6. Acesso em: 25 jun. 2025.

RAZA, A. et al. Bacillus amyloliquefaciens as an excellent agent for biofertilizer and biocontrol in agriculture: an overview for its mechanisms. **Microbiological Research,** v. 259, p. 127016, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127016. Acesso em: 6 jun 2025.

RODRÍGUEZ-OROZCO, V.; JARAMILLO-COLORADO, B.; DUARTE-RESTREPO, E. Isolamento de bactérias de solos agrícolas e avaliação de sua capacidade de degradação para pesticidas organoclorados e organofosforados. **Agronomy**, v. 15, n. 4, 2025. Disponível em: https://doi.org/10.3390/agronomy15040814. Acesso em: 12 jun. 2025.

RUUSKANEN, S. et al. Consequências ecossistêmicas dos herbicidas: o papel do microbioma. **Trends in Ecology & Evolution**, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.tree.2022.09.009. Acesso em: 21 jul. 2025.

RYCHERT, J. Benefícios e limitações da espectrometria de massas MALDI-TOF para a identificação de microrganismos. **Journal of Infectiology**, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.29245/2689-9981/2019/4.1142. Acesso em: 6 jun. 2025

SAEED, S. W. Z. et al. Bacillus strains with catalase enzyme improve the physiology and growth of rice (Oryza sativa L.). **Stresses,** v. 3, n. 4, p. 736–748, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.3390/stresses3040049. Acesso em: 15 mai 2025

SANCHES-NETO, Flávio O. Degradação aquosa do picloram por radicais hidroxila: revelando mecanismo, cinética e ecotoxicidade através de experimentos e abordagens teóricas. **Chemosphere,** v. 278, p. 130401, 2021. Disponível em: www.elsevier.com/locate/chemosphere. Acesso em: 5 jul. 2024.

SANCHES-NETO, Flávio O. Degradação aquosa do picloram por radicais hidroxila: revelando mecanismo, cinética e ecotoxicidade através de experimentos e abordagens teóricas. **Chemosphere**, v. 278, p. 130401, 2021. Disponível em: https://www.elsevier.com/locate/chemosphere. Acesso em: 5 jul. 2024.

SANTOS, E.; PIRES, F.; SOUZA, I.; DUQUE, T.; DA SILVA COELHO, I.; SANTAREN, K.; FILHO, F.; BONOMO, R.; FERREIRA, A.; VIANA, D.; SANTOS, J. Rhizosphere-associated microbiota of Canavalia ensiformis in sulfentrazone bioremediation. International **Journal of Phytoremediation**, v. 26, p. 2175-2182, 2024. DOI: https://doi.org/10.1080/15226514.2024.2379603.

SCHEDENFFELDT, B.; SIQUEIRA, B.; DA SILVA, R.; MONQUERO, P. Evaluation of herbicide toxicity to Lemna minor L. and Azolla caroliniana Willd. **Ecotoxicology,** 2024. DOI: https://doi.org/10.1007/s10646-024-02829-w.

SHAHID, Mohammad et al. Bacillus-mediated degradation of recalcitrant agricultural pesticides: a cutting-edge approach towards the clean-up of environmental contaminants. In:

Microorganisms for Sustainability. Singapore: **Springer Nature**, 2023. p. 213–251. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-981-99-8195-3_10. Acesso em: 7 mai 2025.

SHAMBHAVI, S. et al. Characterization and screening of Bacillus species isolated from soil for plant growth promoting traits and biocontrol potential. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 9, n. 5, p. 415–426, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.905.046. Acesso em: 7 jun 2025.

SILVA, Jéssica Paloma Pinheiro da. Fitorremediação de solo contaminado com 2,4-D + picloram na Amazônia Oriental. 2017. 45 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Agronômica) – Universidade Federal do Pará, Altamira, PA, 2017.

SILVA, Marcos R. F. da et al. Potential of sugarcane biomass-derived biochars for the controlled release of sulfentrazone in soil solutions. **Processes**, v. 13, p. 1965, 2025. Disponível em: https://doi.org/10.3390/pr13071965. Acesso em: 3 jul. 2025.

THIOUR-MAUPRIVEZ, Clémence et al. Efeitos do herbicida em microrganismos não alvo: rumo a uma nova classe de biomarcadores? **Science of the Total Environment**, v. 684, p. 314–325, 2019.

THORNGREN, J.; HARWOOD, A.; MURPHY, T.; HARTZ, K.; FUNG, C.; LYDY, M. Fate and risk of atrazine and sulfentrazone to nontarget species at an agriculture site. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 36, 2017. DOI: https://doi.org/10.1002/etc.3664.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

VASQUES, N.; HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. Increasing application of multifunctional Bacillus for biocontrol of pests and diseases and plant growth promotion: lessons from Brazil. **Agronomy,** v. 14, n. 8, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.3390/agronomy14081654. Acesso em: 7 jun 2025

VASSÃO, Catharina Bertollini. Potencial de gramíneas (Poaceae) como fitorremediadoras em solo contaminado com herbicida. 2019. 47 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Norte do Paraná, Campus Luiz Meneghel, Bandeirantes, PR, 2019.

VIEIRA FILHO, José Eustáquio Ribeiro; VIEIRA, Adriana Carvalho Pinto (orgs.). Diagnóstico e desafios da agricultura brasileira. Rio de Janeiro: **IPEA**, 2019. 340 p.: il., gráfs., mapas color. ISBN 978-85-7811-360-5.

WANG, F.; CHEN, S.; LV, L.; WU, S.; ZHAO, Y.; LIU, X.; GENG, N.; TANG, T. Metabolic perturbations in zebrafish (Danio rerio) larvae exposed to sulfentrazone and imidacloprid. **The Science of the Total Environment**, 173150, 2024. DOI: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.173150.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A crescente preocupação com os impactos ambientais causados pelo uso contínuo de herbicidas, como o sulfentrazone, reforça a necessidade de estratégias sustentáveis para mitigar seus efeitos negativos, especialmente aqueles relacionados à sua persistência no solo, potencial de lixiviação e fitotoxicidade em culturas subsequentes. Nesse contexto, esta pesquisa demonstrou que microrganismos edáficos nativos, adaptados a ambientes contaminados, podem ser aliados promissores na biorremediação de áreas agrícolas afetadas por esse herbicida.

Ao longo do estudo, foram isolados 43 microrganismos de solos com histórico de aplicação de sulfentrazone, dos quais 21 apresentaram resistência ao composto. Mais de 50% desses isolados demonstraram, em testes *in vitro*, potencial de degradação, com taxas superiores a 50% e velocidades aumentadas em comparação ao controle, no qual 11 isolados se destacaram entre os demais quando levado em consideração variáveis como velocidade, degradação e constante cinética. A identificação dos 11 isolados mais promissores por MALDI-TOF MS permitiu agrupá-los majoritariamente no gênero *Bacillus*, com identificação em nível de espécie como *Bacillus cereus*, *Priestia megaterium* e *Alcaligenes faecalis*. Esses microrganismos também se destacaram nas análises em solo, contribuindo significativamente para a redução do tempo de meia-vida do sulfentrazone e acelerando sua taxa de degradação, o que reforça seu potencial na biorremediação de ambientes contaminados pelo herbicida.

Embora os testes bioquímicos tenham auxiliado na descrição do perfil metabólico dos isolados, mostraram-se limitados na diferenciação daqueles com maior eficiência degradativa. Já a técnica MALDI-TOF MS foi eficaz na identificação de aproximadamente 80% dos isolados em nível de gênero e 50% em nível de espécie. Contudo, sua aplicabilidade foi parcialmente restringida pela escassez de dados sobre microrganismos edáficos no banco de dados utilizado, revelando uma importante limitação metodológica.

Levando em consideração o conjunto de fatores analisados, no solo, os isolados 23 (*Bacillus cereus*), 43 (*Priestia megaterium*) e 18 (*Alcaligenes faecalis*) apresentaram os melhores resultados, sendo capazes de reduzir significativamente a meia-vida do sulfentrazone e aumentar a velocidade de sua degradação. No entanto, é importante destacar que a inoculação dos microrganismos foi feita apenas uma vez e o tempo de permanência no

solo não foi monitorado, o que limita a compreensão sobre a necessidade de reaplicações ou sobre a estabilidade da degradação ao longo do tempo.

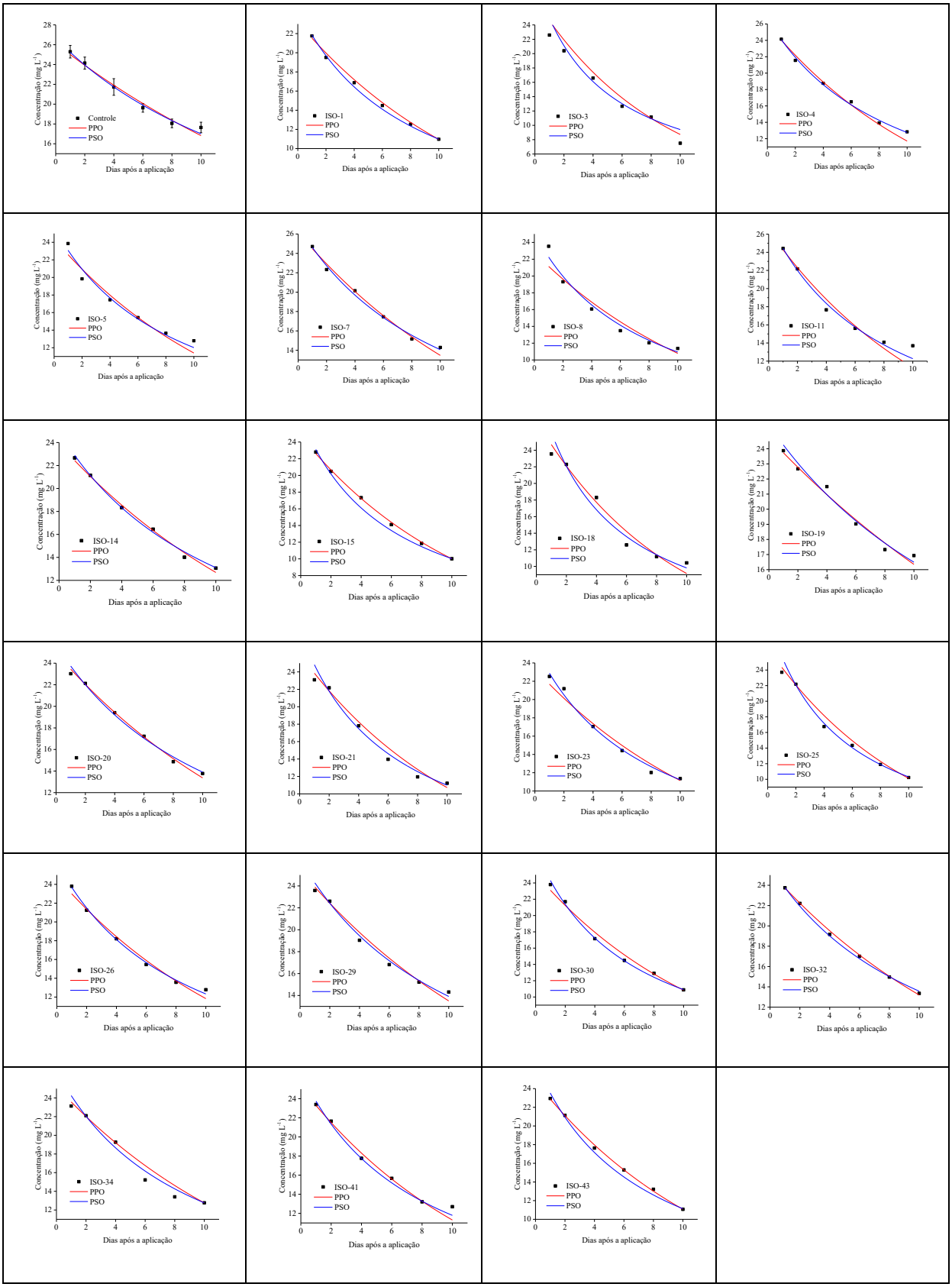
De modo geral, esta pesquisa contribui para o avanço do conhecimento sobre o uso de microrganismos nativos na biorremediação de herbicidas, fornecendo subsídios para o desenvolvimento de bioinoculantes e tecnologias agrícolas mais sustentáveis. Os resultados obtidos demonstram que consórcios microbianos com isolados previamente adaptados à presença de sulfentrazone possuem potencial para mitigar seus impactos ambientais e promover maior segurança nos sistemas produtivos. Como próximos passos, recomenda-se a realização de estudos em maior escala, testes com consórcios microbianos, monitoramento da sobrevivência dos isolados no solo e investigações mais aprofundadas sobre os mecanismos moleculares envolvidos na degradação do herbicida. Essas abordagens poderão consolidar o uso da biorremediação microbiana como uma ferramenta eficaz, economicamente viável e ambientalmente segura no manejo de solos contaminados.

ANEXOS

MICRORGANISMOS	CONCENTRAÇÃO DO HERBICIDA TESTADA	
	100 PPM	**1000 PPM**
Isolado 1	Tolerante	Tolerante
Isolado 2	Tolerante	Sem crescimento
Isolado 3	Tolerante	Tolerante
Isolado 4	Tolerante	Tolerante
Isolado 5	Tolerante	Tolerante
Isolado 6	Tolerante	Sem crescimento
Isolado 7	Tolerante	Tolerante
Isolado 8	Tolerante	Tolerante
Isolado 9	Tolerante	Sem crescimento
Isolado 10	Tolerante	Sem crescimento
Isolado 11	Tolerante	Tolerante
Isolado 12	Tolerante	Sem crescimento
Isolado 13	Tolerante	Sem crescimento
Isolado 14	Tolerante	Tolerante
Isolado 15	Tolerante	Sem crescimento
Isolado 16	Tolerante	Sem crescimento
Isolado 17	Tolerante	Sem crescimento
Isolado 18	Tolerante	Tolerante
Isoado 19	Tolerante	Tolerante
Isolado 20	Tolerante	Tolerante
Isolado 21	Tolerante	Tolerante
Isolado 22	Tolerante	Sem crescimento
Isolado 23	Tolerante	Tolerante
Isolado 24	Tolerante	Sem crescimento
Isolado 25	Tolerante	Tolerante
Isolado 26	Tolerante	Tolerante
Isolado 27	Tolerante	Sem crescimento
Isolado 28	Tolerante	Sem crescimento
Isolado 29	Tolerante	Tolerante
Isolado 30	Tolerante	Tolerante
Isolado 31	Tolerante	Sem crescimento
Isolado 32	Tolerante	Tolerante
Isolado 33	Tolerante	Sem crescimento
Isolado 34	Tolerante	Tolerante
Isolado 35	Tolerante	Sem crescimento

Isolado 36	Tolerante	Sem crescimento
Isolado 37	Tolerante	Sem crescimento
Isolado 38	Tolerante	Sem crescimento
Isolado 39	Tolerante	Sem crescimento
Isolado 40	Tolerante	Sem crescimento
Isolado 41	Tolerante	Tolerante
Isolado 42	Tolerante	Sem crescimento
Isolado 43	Tolerante	Tolerante

Anexo I. Resultados dos testes de tolerância ao sulfentrazone nas concentrações de 100ppm e 1000ppm



Anexo II. Curva de concentração do sulfentrazone ao longo de 10 dias quando aplicados aos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem e pseudo-segundo ordem.