



Universidade Federal de Uberlândia
Instituto de Ciências Agrárias
Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental
Mestrado em Meio Ambiente e Qualidade Ambiental

JORDANA STEIN RABELO

**TOLERÂNCIA DE MICRORGANISMOS A HERBICIDAS
RESIDUAIS UTILIZADOS NA CULTURA DO EUCALIPTO**

UBERLÂNDIA - MG,

2022

JORDANA STEIN RABELO

**TOLERÂNCIA DE MICRORGANISMOS A HERBICIDAS
RESIDUAIS UTILIZADOS NA CULTURA DO EUCALIPTO**

Dissertação de Mestrado apresentado ao
colegiado do Programa de Pós-
Graduação em Qualidade Ambiental do
Instituto de Ciências Agrárias da
Universidade Federal de Uberlândia.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto de Oliveira Mendes

Coorientador: Prof. Dr. Edson Aparecido dos Santos

UBERLÂNDIA - MG,

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

R114t Rabelo, Jordana Stein, 1998-
2022 Tolerância de microrganismos a herbicidas residuais utilizados na cultura do eucalipto [recurso eletrônico] / Jordana Stein Rabelo. - 2022.

Orientador: Gilberto de Oliveira Mendes.

Coorientador: Edson Aparecido dos Santos

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia.
Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2022.5361>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Qualidade ambiental. I. Mendes, Gilberto de Oliveira, 1983-, (Orient.). II. Santos, Edson Aparecido dos, 1983-, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental. IV. Título.

CDU: 574

Glória Aparecida
Bibliotecária - CRB-6/2047



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Qualidade Ambiental (PPGMQ)				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 11/2022, PPGMQ				
Data:	28 de setembro de 2022	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	16:30
Matrícula da Discente:	12012MQA006				
Nome da Discente:	JORDANA STEIN RABELO				
Título do Trabalho:	Tolerância de microrganismos a herbicidas residuais utilizados na cultura do eucalipto				
Área de concentração:	Meio Ambiente e Qualidade Ambiental				
Linha de pesquisa:	Processos Ambientais				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Biorremediação microbiana de herbicidas com efeito residual na cultura do eucalipto				

Reuniu-se por meio de web conferência, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Qualidade Ambiental (PPGMQ), assim composta: Prof. Dr. Gilberto de Oliveira Mendes (orientador); Prof. Dr. Edmar Isaias de Melo (UFU); e Prof. Dr. Bruno Coutinho Moreira (UNIVASF).

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa Prof. Dr. Gilberto de Oliveira Mendes apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu a Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos examinadores, que passaram a arguir a candidata. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando a candidata:

Aprovada.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Gilberto de Oliveira Mendes, Professor(a) do Magistério Superior**, em 28/09/2022, às 16:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Edmar Isaias de Melo, Professor(a) do Magistério Superior**, em 28/09/2022, às 16:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Bruno Coutinho Moreira, Usuário Externo**, em 29/09/2022, às 11:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3936130** e o código CRC **92E8E99D**.

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, autor de meu destino, meu guia, meu socorro presente na hora da angústia e dos desafios; aos meus pais, às minhas irmãs, aos meus sobrinhos, ao meu avô e ao meu namorado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que esteve ao meu lado e me deu força, ânimo e crença para não desistir e continuar lutando por este meu sonho e objetivo de vida. A Ele eu devo minha gratidão.

Agradeço à Universidade Federal de Uberlândia - UFU, por me proporcionar o espaço onde pude me transformar em uma pessoa mais capacitada, profissional e pessoalmente.

Agradeço aos meus pais Arnaldo e Vanesca, às minhas irmãs Larissa e Mellanie, aos meus sobrinhos Stella, Theodoro e Arthur, a meu avô Zulim, ao meu namorado Miguel e aos meus cunhados, que confiaram em mim, incentivaram-me e me apoiaram, sem medir esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida.

Agradeço ao meu orientador Gilberto de Oliveira Mendes e ao meu coorientador Edson Aparecido dos Santos por seus ensinamentos, paciência, incentivo e confiança ao longo das supervisões das minhas atividades. Ao professor Edmar Isaías de Melo pela colaboração e pelo incentivo que tornaram possível a conclusão deste trabalho e ao Túlio, técnico do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da UFU – LAMIF, que me deu todo o suporte para desempenhar minhas atividades experimentais no laboratório.

Agradeço também aos membros do grupo de pesquisa de Microbiologia Agrícola da UFU que, de alguma forma, contribuíram para execução deste trabalho.

E por fim, agradeço aos amigos e aos colegas pelo apoio e companheirismo, a todos os professores que contribuíram para o meu aprendizado e a todos aqueles que de, alguma forma, estiveram e estão próximos de mim, fazendo esta vida valer cada vez mais a pena.

RESUMO

RABELO, JORDANA STEIN. **Tolerância de microrganismos a herbicidas residuais utilizados na cultura do eucalipto**. 2022. 60 p. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e Qualidade Ambiental) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia – MG.

A competição com plantas daninhas é um dos principais fatores que limitam o desenvolvimento da maioria das espécies florestais. Alguns herbicidas, utilizados para controle dessas plantas, apresentam efeito residual no solo e acarretam danos ambientais. A biorremediação surge como alternativa para descontaminação dessas áreas. Sendo assim, o objetivo do trabalho foi avaliar a tolerância e o potencial degradador de herbicidas que apresentam efeito residual na cultura do eucalipto pelos fungos *Aspergillus niger*, *Penicillium pinophilum* e *Trichoderma* sp. e avaliar a tolerância das bactérias *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* sp. e *Azospirillum brasilense* na presença desses herbicidas. Os herbicidas utilizados foram: indaziflam, sulfentrazone, sulfentrazone +diuron, clomazona, glifosato+s-metolachlor. A análise da tolerância dos microrganismos aos herbicidas e do potencial degradador foi realizada no meio Czapek Dox, sendo que, na segunda, foi retirada as fontes de carbono e de nitrogênio. A avaliação do crescimento fúngico foi feita pela determinação da biomassa. A análise da tolerância das bactérias aos herbicidas foi feita em meio Luria Bertani, em placas de ELISA a 620 nm. Os dados foram aplicados ao modelo de Gompertz, para avaliação do comportamento das bactérias, em função do tempo, na presença dos herbicidas. Na análise de tolerância dos microrganismos aos herbicidas, observou-se que todos os fungos são tolerantes aos herbicidas estudados, havendo aumento do crescimento do *Trichoderma* sp. na presença do glyphosate+s-metolachlor. Dessa forma, a análise do potencial degradador foi realizada apenas para o *Trichoderma* sp., na presença da mistura dos herbicidas que potencializaram seu crescimento. Nessa análise, não houve efeito dos herbicidas sob o crescimento fúngico; o fungo não conseguiu utilizar o carbono presente no herbicida para potencializar seu crescimento; e não houve efeito significativo do nitrogênio na presença do herbicida. Ao observar a análise de tolerância das bactérias, através dos parâmetros do modelo utilizado, conclui-se que o crescimento de *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas* sp. não foi influenciado, na presença dos herbicidas, demonstrando, portanto, que os produtos avaliados não afetam o crescimento das bactérias. Conclui-se, pois, que os herbicidas residuais testados não interferem no desenvolvimento dos microrganismos benéficos avaliados.

Palavras-chave: agroquímicos, crescimento, degradação, florestas plantadas

Comitê Orientador: Gilberto de Oliveira Mendes – UFU e Edson Aparecido dos Santos - UFU

ABSTRACT

RABELO, JORDANA STEIN. **Tolerance of microorganisms to residual herbicides used in eucalyptus cultivation.** 2022. 60 p. Dissertation (Master in Environment and Environmental Quality) – Federal University of Uberlândia, Uberlândia – MG.

Competition with weeds is one of the main factors that limit the development of most forest species. Some herbicides used to control these plants have a residual effect in soil and cause environmental damage. Bioremediation appears as an alternative to decontaminate these areas. Therefore, the objective of this study was to evaluate the tolerance and degrading potential of herbicides that have a residual effect on eucalyptus crops by *Aspergillus niger*, *Penicillium pinophilum* and *Trichoderma* sp. and to evaluate the tolerance of bacteria *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* sp. and *Azospirillum brasilense* to these herbicides. The herbicides used were indaziflam, sulfentrazone, sulfentrazone + diuron, clomazone, glyphosate+s-metolachlor. The analysis of the tolerance of microorganisms to herbicides and the degrading potential was carried out in Czapek Dox medium, and in the second experiment the sources of carbon and nitrogen were removed. The evaluation of fungal growth was made by determining the biomass. The analysis of bacterial tolerance to herbicides was carried out in Luria Bertani medium in ELISA plates with evaluation of growth by optical density at 620 nm. The data was applied to the Gompertz model for evaluating the bacterial growth as a function of time in the presence of herbicides. In the tolerance analysis of microorganisms to herbicides, it was observed that all fungi are tolerant to the herbicides studied, with an increase in the growth of *Trichoderma* sp. in the presence of glyphosate+s-metolachlor. Thus, the analysis of the degrading potential was carried out only for *Trichoderma* sp. in the presence of the mixture of herbicides that potentiated its growth. In this analysis, there was no effect of herbicides on fungal growth; the fungus was unable to use the carbon present in the herbicide to enhance its growth; and there was no significant effect of nitrogen in the presence of the herbicide. By observing the tolerance analysis of the bacteria, through the parameters of the model used, it was concluded that the growth of *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas* sp. was not influenced by the presence of herbicides, thus demonstrating that the evaluated products do not affect the growth of bacteria. It is concluded, therefore, that the tested residual herbicides do not interfere with the development of the evaluated beneficial microorganisms

Keywords: *agrochemicals, growth, degradation, planted forests*

Steering Committee: Gilberto de Oliveira Mendes – UFU and Edson Aparecido dos Santos - UFU

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fórmula química dos herbicidas	20
Figura 2 - Valoração dos serviços ecossistêmicos desempenhados pela diversidade microbiana dos solos. As porcentagens entre parênteses indicam a contribuição de cada um desses serviços ecossistêmicos	21
Figura 3 - Morfologia representativa de espécies do gênero <i>Aspergillus</i>	25
Figura 4 - Observação microscópica de <i>Aspergillus niger</i>	25
Figura 5 - Fotografia de colônias de <i>Penicillium pinophilum</i> cultivadas em ágar de extrato de levedura Czapek (CYA) após 7 dias.....	26
Figura 6 - Fotografia de colônias de <i>Trichoderma</i> sp. cultivadas em BDA após 96 horas	27
Figura 7 - Biomassa relativa média de <i>Trichoderma</i> sp. na presença de glyphosate+s-metolachlor. A descrição dos tratamentos de acordo com seus respectivos códigos está descrita na Tabela 3. Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si de acordo o teste de Scott- Knott a 5% de significância; as barras indicam o desvio padrão (n=4)..	36
Figura 8 - Curva sigmóide obtida através do modelo de Gompertz para o tratamento <i>Pseudomonas</i> sp. sem herbicida	37
Figura 9 - Valor do parâmetro A obtido através da modelagem de Gompertz para (A) <i>Azospirillum brasilense</i> ; (B) <i>Bacillus subtilis</i> ; (C) <i>Pseudomonas</i> sp. A descrição dos tratamentos de acordo com seus respectivos códigos está descrita na Tabela 5. Os tratamentos não diferem entre si, $p > 0,05$; as barras indicam o desvio padrão (n=5)..	38
Figura 10 - Valor do parâmetro B obtido através da modelagem de Gompertz para (A) <i>Azospirillum brasilense</i> ; (B) <i>Bacillus subtilis</i> ; (C) <i>Pseudomonas</i> sp. A descrição dos tratamentos de acordo com seus respectivos códigos está descrita na Tabela 5. Os tratamentos não diferem entre si, $p > 0,05$; as barras indicam o desvio padrão (n=5)..	41
Figura 11 - Valor do parâmetro μ obtido através da modelagem de Gompertz para (A) <i>Azospirillum brasilense</i> ; (B) <i>Bacillus subtilis</i> ; (C) <i>Pseudomonas</i> sp. A descrição dos tratamentos de acordo com seus respectivos códigos está descrita na Tabela 5. Os tratamentos não diferem entre si, $p > 0,05$; as barras indicam o desvio padrão (n=5). .	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Microrganismos capazes de degradar herbicidas.....	22
Tabela 2. Herbicidas residuais utilizados para montagem do experimento.....	31
Tabela 3. Disposição dos tratamentos utilizados para análise do potencial degradador	32
Tabela 4. Biomassa relativa média fúngica na presença dos herbicidas.	35
Tabela 5. Parâmetros obtidos através do modelo de Gompertz para o tratamento Pseudomonas sp. sem herbicida	37
Tabela 6. Codificação dos tratamentos utilizados na análise para tolerância das bactérias na presença de herbicidas	38

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	12
2.REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 PRODUÇÃO FLORESTAL NO BRASIL	13
2.2 PLANTAS DANINHAS	14
2.3 CONTROLE QUÍMICO	15
2.3.1 EFEITO RESIDUAL	17
2.4 ATIVIDADE MICROBIANA NO SOLO	20
2.5 BIORREMEDIAÇÃO	21
2.6 PERSPECTIVAS	29
3. HIPÓTESE	30
4. OBJETIVOS	30
4. MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1 EXPERIMENTO COM FUNGOS	31
4.1.1 ANÁLISE DA TOLERÂNCIA DOS FUNGOS AOS HERBICIDAS	31
4.1.2 ANÁLISE DO POTENCIAL DEGRADADOR	32
4.1.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	33
4.2 EXPERIMENTO COM BACTÉRIAS	33
4.2.1 ANÁLISE DA TOLERÂNCIA DE CRESCIMENTO BACTERIANO	33
5. RESULTADOS	35
5.1 ANÁLISE DA TOLERÂNCIA DOS FUNGOS AOS HERBICIDAS	35
5.2 ANÁLISE DO POTENCIAL DEGRADADOR	35
5.3 CRESCIMENTO BACTERIANO	37
6. DISCUSSÃO	44
7. CONCLUSÃO	46
REFERÊNCIAS	47

1.INTRODUÇÃO

As áreas destinadas à produção florestal no país assumem um papel altamente significativo no suprimento de madeira para os mais diversos fins. A formação de plantios com espécies de rápido crescimento como as do gênero *Eucalyptus* são muito importantes para diminuir a pressão da extração de madeira sobre as florestas nativas.

A competição com plantas daninhas é um fator limitante ao desenvolvimento e à sobrevivência da maioria das espécies florestais (CARON et al.,2012). Essas plantas competem principalmente por luz, água, nutrientes e espaço, o que acarreta sérios prejuízos ao estabelecimento, ao desenvolvimento e à produtividade da cultura.

Com o desenvolvimento do setor florestal, as áreas plantadas são, cada vez mais, extensas. A escassez de mão de obra e a busca pela máxima produtividade têm acarretado aumento no uso do controle químico, uma vez que ele apresenta baixo custo e grande eficácia (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011).

O controle pode ser realizado à cultura com herbicidas seletivos ou não à cultura, em pré ou pós-emergência. A deriva do produto e a intoxicação causada pela aplicação inadequada de herbicidas estão entre os principais problemas relatados, quando se utiliza o controle químico (TAKAHASHI et al. 2009).

Alguns herbicidas apresentam característica de permanecer no solo, mais conhecido como “efeito residual” e podem se tornar indesejáveis, já que podem gerar danos às culturas seguintes, contaminação de fontes de água por lixiviação e mortalidade para organismos não-alvo (BRAGA et al. 2016).

De acordo com o Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários – AGROFIT, para as plantações de Eucalipto, alguns dos herbicidas indicados, para controle de plantas daninhas, que apresentam efeito residual no solo, são: clomazone, indaziflur, sulfentrazone, diuron, glyphosate, dentre outros (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, 2022).

A fim de encontrar alternativas e técnicas para descontaminação de áreas, opta-se por estratégias eficientes, de fácil execução, que demandem menor tempo no processo e que tenham menores custos (PIRES et al., 2003). Dessa forma, tem sido crescente o interesse em se utilizar a biorremediação, técnica esta que consiste na utilização de agentes biológicos, os quais auxiliam na eliminação ou na redução da concentração de poluentes ambientais.

Uma forma de minimizar o risco de contaminação ambiental, por resíduos de herbicidas no solo, é reduzir sua dissipação. Dessa maneira, agentes biorremediadores podem absorver e degradar herbicidas (CAO et al., 2018) ou estimular a microbiota do solo para que haja a transformação desses contaminantes em compostos menos tóxicos ao meio ambiente (MELO et al., 2017).

A utilização de microrganismos apresenta grande potencial em estudos referentes à qualidade do solo, pois apresentam características muito importantes como alta sensibilidade a perturbações (PANKHURST; DOUBE; GUPTA, 1997); relação com inúmeras funções benéficas do solo, como a decomposição de resíduos, armazenamento e disponibilidade de água, transformação e ciclagem de nutrientes e outros (SILVEIRA; FREITAS, 2007); exercem funções diretas em muitos processos no ecossistema, como a conversão de nutrientes em formas previamente disponíveis para as plantas (DRINKWATER et al., 1996) e para a formação da estrutura do solo (GILLER, 1996).

Os microrganismos podem ser capazes de tolerar e degradar herbicidas, melhorando também a fertilidade dos solos e as condições de desenvolvimento das plantas. Dentre o grupo das bactérias, as pertencentes aos gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Azospirillum*, são capazes de liberar fitormônios como o ácido indolacético (AIA), giberelinas ou citocianinas, exercendo efeito estimulador do crescimento da planta (LUGTENBERG; KAMILOVA, 2009), sendo que, as do gênero *Azospirillum* apresentam também a capacidade de fixação de nitrogênio (HUNGRIA, 2011). Já, no grupo dos fungos, destacam-se os dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Trichoderma*, que são interessantes, devido a sua capacidade de solubilização de fosfato (SESHADRI et al., 2004; WAKELIN et al., 2004; GOMEZJURADO, 2011), promoção de crescimento vegetal e biocontrole de patógenos (MENDES et al., 2014).

2.REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 PRODUÇÃO FLORESTAL NO BRASIL

Os plantios florestais os quais utilizam espécies de rápido crescimento, principalmente as dos gêneros de *Pinus* e *Eucalyptus*, a partir dos anos 60, tiveram significativa expansão, principalmente no período de vigência dos incentivos fiscais, de 1996 a 1988 (KENGEN, 2001).

A formação de plantios florestais, com espécies de crescimento rápido, é uma eficiente estratégia para aumentar a oferta de madeira e de outros produtos florestais, reduzindo assim a pressão sobre as florestas nativas. Como consequência da expansão, as florestas plantadas passaram a suprir inicialmente a demanda da indústria de celulose e papel, e em seguida, segmentos importantes para a economia, tais como siderurgia, produção de chapas e de painéis e a secagem de grãos (ÁVILA; SIMIONI; BATISTA, 2017).

De acordo com o levantamento Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura – PEVS (IBGE, 2020), o Brasil tem 9,6 milhões de hectares de florestas plantadas, ou seja, 77,3% de eucalipto e 19 % de pinus.

O Brasil registra os maiores índices de produtividade de biomassa florestal com origem, em áreas de florestas plantadas, destacando-se, internacionalmente, principalmente no mercado de papel e celulose (IBGE, 2020).

O setor florestal é um importante contribuinte da balança comercial do país. Segundo o relatório anual da Ibá, em 2020, o setor atingiu, pela primeira vez, uma receita bruta total, na casa de R\$ 100 bilhões. Logo, sua contribuição na balança comercial foi de US\$ 10,3 bilhões em 2019, o segundo melhor resultado dos últimos 10 anos. Essa cadeia industrial representa 1,2 % do PIB Nacional (IBÁ, 2020).

Os custos de produção, relacionados a plantios florestais, são influenciados por diversas variáveis, por exemplo, o nível tecnológico utilizado, o objetivo e a escala de produção das técnicas de manejo, da densidade de plantas por hectare e da necessidade de controle fitossanitários, incluindo de pragas, de doenças (MOREIRA; OLIVEIRA, 2017) e de plantas daninhas.

2.2 PLANTAS DANINHAS

Dentre as características relacionadas aos cultivos de eucalipto no Brasil estão o longo período de cultivo; pequeno número de intervenções, a partir do fechamento da cultura; cultivo em áreas marginais ou pouco mecanizáveis; solos de baixa fertilidade e crescimento lento das plantas (SHUMACHER; VIERA, 2016), haja vista que tais características propiciam o estabelecimento de plantas daninhas.

A interferência com plantas daninhas é um fator limitante ao desenvolvimento e à sobrevivência da maioria das espécies florestais (CARON et al., 2012), provocando grandes prejuízos ao estabelecimento, ao desenvolvimento e à produtividade do plantio. Porém, essa interferência causada pela matocompetição é mais severa na fase inicial do desenvolvimento das espécies florestais (PITELLI; MARCHI, 1991).

A interferência causada por essas plantas pode ser direta e, ou indireta. A interferência direta mais conhecida é a competição por nutrientes, água, luz e por espaço, mas também ocorre a interferência na qualidade do produto obtido. As plantas daninhas atuam como hospedeiras alternativas de pragas, nematoides e plantas parasitas, ademais, prejudicam as práticas culturais e a colheita, sendo essas, as principais interferências indiretas causadas por elas (PITELLI, 1987) .

De acordo com Marchi et al. (1995), as árvores que se desenvolvem sob a interferência das plantas daninhas podem apresentar déficit dos nutrientes essenciais, prejudicando assim o desenvolvimento delas. Tarouco et al. (2009) relatam que, após 90 dias do transplante de mudas de Eucalipto, onde há presença de plantas daninhas, houve redução de 60% do diâmetro do caule, acarretando assim uma queda significativa no incremento final de madeira dessa espécie.

No setor das florestas plantadas, estima-se que cerca de US\$ 95 bilhões sejam perdidos anualmente, em virtude da interferência dessas plantas (FAO, 2009), mesmo após adotadas medidas de controle. A interferência causada por estas plantas acarretam perdas de 50% no incremento de madeira pelas árvores e prejuízos de 90% na lucratividade dos produtores (HAKAMADA et al, 2010).

2.3 CONTROLE QUÍMICO

Para que seja possível obter produtividade elevada e sem prejuízos à cultura, deve ser realizado o manejo das plantas daninhas (CANTARELLI et al., 2006). Esse manejo é indispensável na fase de estabelecimento de plantios florestais e tem como finalidade a eliminação da matocompetição (AMBIENTE BRASIL, 2021).

O objetivo inicial de qualquer sistema de manejo de plantas daninhas é a manutenção de um ambiente onde as plantas não consigam se desenvolver, por meio do

emprego específico ou combinado de métodos de controle biológicos, culturais, físicos e químicos.

Atualmente, o método de controle mais utilizado, em plantios florestais, para limitar o desenvolvimento das plantas daninhas, é o químico, com a utilização de herbicidas. Esses produtos fitossanitários os mais consumidos no mundo, inclusive o Brasil é o maior usuário dessa classe de agrotóxicos (GIANESSI, 2013; LIEBMAN et al., 2016; PATEL; KUMBHAR, 2016).

As classificações mais importantes dos herbicidas são quanto a sua seletividade, a sua translocação, a época de aplicação e ao seu mecanismo de ação. Quanto a sua seletividade, os herbicidas são classificados à cultura como seletivos ou não à cultura. Herbicidas seletivos eliminam ou minimizam o crescimento de plantas daninhas em uma determinada cultura, sem prejudicar a espécie de interesse, além de um nível aceitável de recuperação, e os herbicidas não seletivos são os que apresentam um amplo espectro de ação, e que são capazes de eliminar e danificar severamente a maioria das plantas (OLIVEIRA JUNIOR; CONSTANTIN; INOUE; 2011).

Quanto à translocação, podem ser herbicidas de contato, ou seja, que não se translocam ou se translocam de forma limitada, causando danos nas partes que entram em contato direto no tecido da planta; e herbicidas sistêmicos que são translocados pelo xilema e/ou pelo floema da planta e apresentam efeito mais demorado (OLIVEIRA JUNIOR; CONSTANTIN; INOUE; 2011).

Quanto à época de plantio, os herbicidas são classificados como sendo de pré-emergência, sua aplicação é feita após a semeadura ou plantio- mas antes da emergência das plantas daninhas; e pós-emergência o controle é feito após a emergência das plantas daninhas (OLIVEIRA JUNIOR; CONSTANTIN; INOUE; 2011).

Quanto aos mecanismos de ação, os herbicidas podem ser classificados como inibidores da aceil CoAcarboxilase (ACCCase) ; inibidores da acetolactato sintase (ALS); inibição da fotossíntese no fotossistema I;); inibição da fotossíntese no fotossistema II; inibição da protoporfirinogênio oxidase (PPO); inibição da biossíntese de carotenoides na fitoen desaturase (PDS); inibição da biossíntese de carotenoides na-hidroxifenil-piruvato-dioxigenase (4-HPPD); inibição da biossíntese de carotenoides (alvo desconhecido); inibição da EPSP sintase; inibição da glutamina sintase; inibição da DHP (dihidropteroato sintase); inibição da formação de microtúbulos; inibição da mitose;

inibição da divisão celular; inibição da síntese de parede celular; inibição da síntese de lipídios; mimetizadores da auxina; inibidores do transporte de auxinas; desconhecidos (OLIVEIRA JUNIOR; CONSTANTIN; INOUE; 2011).

2.3.1 EFEITO RESIDUAL

O solo é o destino final dos herbicidas, sejam eles aplicados diretamente no solo, na parte aérea das plantas (MANCUSO; NEGRISOLI; PERIM, 2011). De acordo com Oliveira (2001), o efeito residual de um herbicida é a predisposição que ele tem para manter suas características físicas, químicas e funcionais no ambiente por um certo tempo. Esse efeito presente em alguns herbicidas, pode acarretar danos às culturas seguintes, contaminação de fontes de água por lixiviação e mortalidade para organismos não-alvo (BRAGA et al. 2016).

A deriva do produto e a intoxicação causada pela aplicação inadequada de herbicidas residuais estão entre os principais problemas relatados quando se utiliza o controle químico (TAKAHASHI et al. 2009).

De acordo com o Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários – AGROFIT, no Brasil, há 185 herbicidas registrados para pulverização em florestas de eucalipto (BRASIL, 2022a). Dentre tais produtos, alguns dos mais utilizados que apresentam efeito residual no solo são: clomazone, indaziflam, sulfentrazone, a mistura de diuron e sulfentrazone e a mistura do S-metolaclo e glyphosato (BRASIL, 2022a).

O indaziflam [C₁₆H₂₀FN₅] (Figura 1A) é um herbicida sistêmico de pré-emergência, recomendado para o controle de plantas infestantes nas culturas de pinus e de eucalipto. Possui amplo espectro de ação e duradoura eficácia (GUERRA et al.,2013). O herbicida pertence à nova classe química "alkylazine" e atua na inibição da biossíntese da parede celular (KAAPRO; HALL, 2012). O produto evita que novas células da parede celular sejam formadas, paralisa o crescimento da planta e inibe a deposição de cristais na parede celular; afeta a formação, a divisão e o alongamento das células (GUERRA et al.,2013).

A solubilidade em água do indaziflam é baixa, sendo esse considerado moderadamente ou pouco móvel no solo (JHALA; SINGH, 2012). Dependendo das

condições locais, a meia-vida do produto no solo pode ser maior que 150 dias (KAAPRO; HALL, 2012).

O sulfentrazone [$C_{11}H_{10}Cl_2F_2N_4O_3S$] (Figura 1B) é um herbicida de ação sistêmica, aplicado em pré-emergência e é seletivo condicional. O mesmo controla várias espécies de plantas daninhas mono e dicotiledôneas, das culturas da cana-de-açúcar, de soja, de café e de eucalipto (ROSSI; ALVES; MARQUES JUNIOR, 2005). Esse produto, no solo, tem mobilidade moderada, de baixa adsorção, sendo sua degradação realizada principalmente por microrganismos. Sua meia-vida é, em média, de 180 dias (RODRIGUES; ALMEIDA, 2005).

A mistura do sulfentrazone [$C_{11}H_{10}Cl_2F_2N_4O_3S$] e diuron [$C_9H_{10}Cl_2N_2O$] (Figura 1C) é utilizada em pós-emergência das plantas daninhas presentes na cana-de-açúcar, café, eucalipto, citros e soja. O produto originário dessa mistura é de ação sistêmica, seletivo condicional (BRASIL, 2022c). Esses produtos apresentam mecanismos de ação dos inibidores da Protox e dos inibidores da fotossíntese, no fotossistema II respectivamente. Ressalta-se que o diuron é altamente persistente no meio ambiente, varia de um mês a um ano (OKAMURA et al., 2003).

O clomazone [$C_{12}H_{14}ClNO_2$] (Figura 1D) é um herbicida seletivo e sistêmico de pré-emergência, recomendado para o controle de plantas infestantes nas culturas de algodão, arroz, batata, cana de açúcar, eucalipto, fumo e mandioca (BRASIL, 2022b). Esse herbicida pertence ao grupo químico das isoxazolidinonas, atua no processo da fotossíntese, onde inibe a enzima deoxixilulose fosfato sintase (DXP sintase), responsável pela síntese de isoterpenoides, que são precursores dos carotenoides (FERHATOGLU; BARRET, 2006), os quais exercem função de proteção da clorofila à foto-oxidação (SCHREIBER et al., 2013).

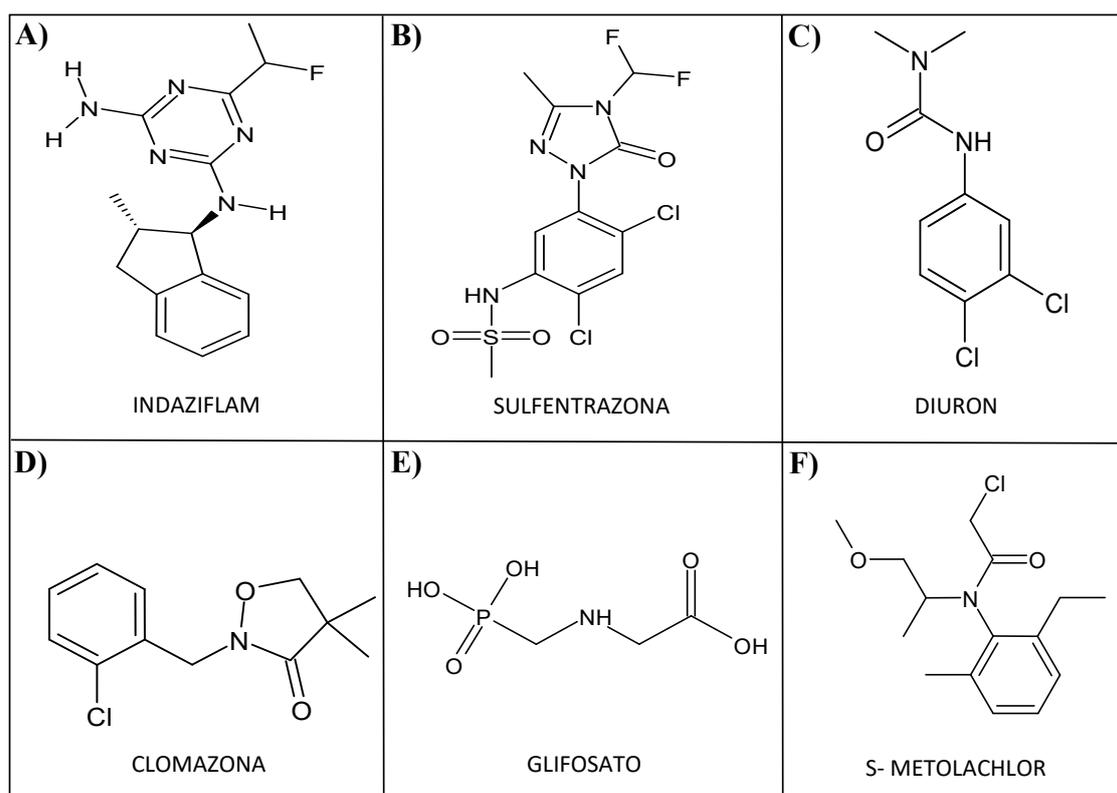
Esse herbicida tem a sua funcionalidade influenciada diretamente pela textura e pela matéria orgânica do solo (LOUX; SLIFE, 1989). Dependendo das condições ambientais e da estrutura do solo, a meia-vida do clomazone no solo pode ser variável (CURRAN et al., 1992; KIRKSEY et al., 1996). Estudo realizado por Senseman (2007) demonstra que a degradação do clomazone é mais rápida em condições anaeróbicas e a meia-vida média do produto é de 60 dias, enquanto em condições aeróbicas, varia de 90 a 276 dias (CALIFORNIA, 2003).

Algumas propriedades da molécula de clomazone indicam seu potencial deslocamento, no ambiente, por volatilização ou por carreamento junto à lâmina de água, podendo acarretar toxicidade às plantas sensíveis. A redução da fitotoxicidade sobre organismos não-alvos pode ocorrer pela incorporação do herbicida ao solo ou pela aplicação do produto em distâncias mínimas seguras indesejável (NOLDIN et al., 2001).

A mistura do glifosato [$C_3H_8NO_5P$] (Figura 1E) e s-metaclo-ro [$C_{15}H_{22}ClNO_2$] (Figura 1F) é utilizada em pós-emergência das plantas daninhas, presentes na cultura de algodão, milho, soja e eucalipto. O produto originário dessa mistura é de ação sistêmica, e é seletivo condicional, ou seja, seletivo para as culturas de algodão, milho e soja geneticamente modificadas, com resistência ao glifosato, porém não seletivo para as demais variedades dessas culturas (BRASIL, 2022d). Por conter S-metolacloro em sua formulação, possui também ação residual sobre a germinação e a emergência de novos fluxos de plantas daninhas.

Esses produtos apresentam mecanismos de ação dos inibidores da divisão celular e dos inibidores da EPSPs, respectivamente (BRASIL, 2022d). Sob condições de campo, trabalhos evidenciaram que a meia-vida do S-metolacloro varia entre 8 e 85 dias (DINELLI et al., 2000; LAABS et al., 2002), e a meia-vida do glifosato no solo varia de dias até alguns meses, sendo influenciada pelos teores de argila e pela matéria orgânica presentes no solo e também pelo nível da atividade microbiana (TONI et al., 2006).

Figura 1 - Fórmula química dos herbicidas



Fonte: A autora

2.4 ATIVIDADE MICROBIANA NO SOLO

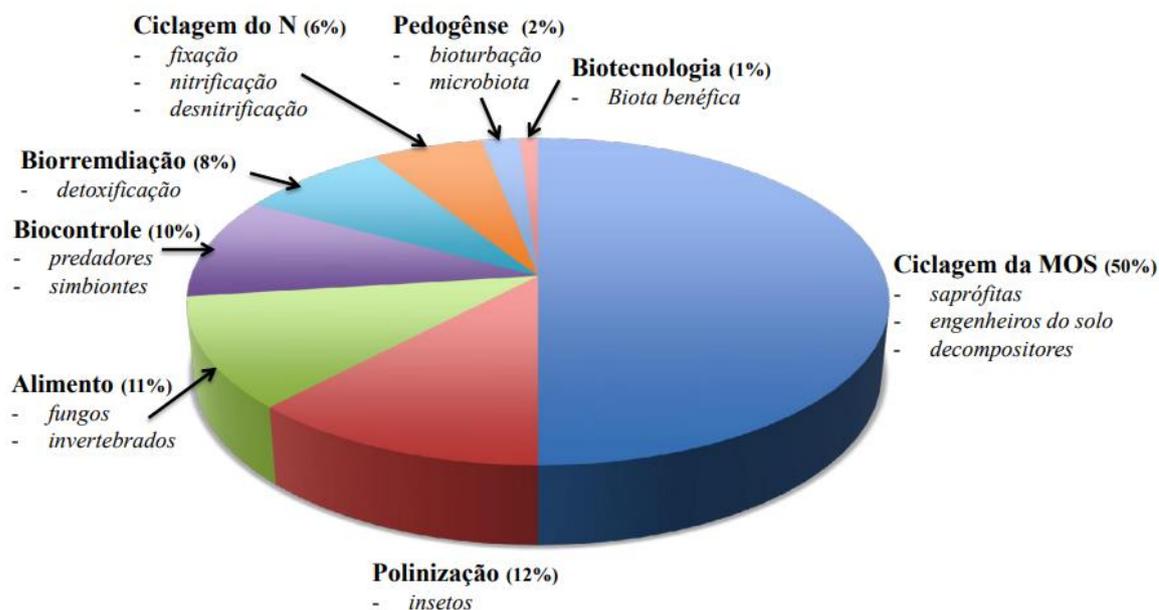
Os microrganismos constituem parte essencial no solo, pois desempenham funções importantes e fundamentais para o ecossistema. São inúmeras as funções desempenhadas por estes, sendo algumas mais conhecidas como a degradação de compostos e ciclagem de nutrientes (GILLER, 1996), outras mais específicas, como o auxílio às plantas na absorção de nutrientes (MIRANSARI, 2013; CHAGNON et al., 2013) e na fixação biológica de nitrogênio (BALDANI et al., 1997).

Em áreas agrícolas, os microrganismos atuam com base da seleção para plantas, atuando diretamente contra a invasão do solo por outros organismos; já em ambientes naturais, esses microrganismos são extremamente fundamentais para ciclagem de nutrientes e para equilíbrio do ecossistema (CARDOSO; ANDREOTE, 2016).

A diversidade microbiana dos solos é responsável pelos serviços ecossistêmicos, os quais são definidos pelas funções do ecossistema e dos recursos biotecnológicos fornecidos pela microbiota do solo. Dentre esses, destacam-se alguns que apresentam características essenciais ao solo, como a ciclagem do nitrogênio; pedogênese;

transformação da matéria orgânica; processos biotecnológicos com a utilização dos microrganismos como alimento; biorremediação; biocontrole; e promoção do processo de polinização (PIMENTEL et al., 1997).

Figura 2 - Valoração dos serviços ecossistêmicos desempenhados pela diversidade microbiana dos solos. As percentagens entre parênteses indicam a contribuição de cada um desses serviços ecossistêmicos



Fonte: Pimentel et al. (1997)

2.5 BIORREMEDIAÇÃO

Tecnologias que utilizam processos físicos e/ou químicos, ainda são bastante utilizadas para descontaminação de ambientes poluídos. Porém, a biorremediação surge como alternativa ecologicamente mais eficaz para desempenhar tal atividade, uma vez que potencializam processos que já ocorrem naturalmente (CAIRES, 2018).

A biorremediação é um processo no qual organismos vivos, normalmente plantas ou microrganismos, são utilizados para remover ou reduzir poluentes no meio ambiente. Atualmente, tem sido recomendada como uma alternativa viável ao tratamento de ambientes contaminados (GAYLARDE et al., 2005).

No que diz respeito aos tipos de utilização da técnica de biorremediação, quanto ao local de tratamento, elas podem ser realizadas de duas formas: *ex situ* (ou *off site*), quando realizada fora do local onde ocorreu a contaminação; *in situ* (ou *on site*), quando

o tratamento é realizado no próprio local da contaminação. Os tratamentos *in situ* tornam o processo mais atrativo e economicamente viável, comparado aos tratamentos *ex situ*, além de acarretarem menores impactos ambientais (NANO et. al., 2003).

Devido à grande importância dos processos de biorremediação e da necessidade de encontrar novas metodologias que reduzam o impacto ao meio ambiente, estudos nessa área são importantes para a identificação de novos microrganismos que possuam a capacidade de utilizar seus mecanismos de adaptações, em processos de biorremediação, auxiliando, assim, na recuperação de áreas contaminadas com componentes tóxicos (SILVA, 2020).

Trabalhos que envolvem a degradação de compostos químicos têm mostrado diferentes microrganismos eficientes em catabolizar moléculas recalcitrantes (Tabela 1) (PEREIRA; FREITAS; 2012). Vários organismos podem ser utilizados na degradação, como fungos, bactérias e plantas, sendo que a eficiência de cada um vai depender da estrutura da molécula a ser degradada e das enzimas capazes de degradar o produto (MEYER, 1978).

A estrutura química dos poluentes influencia sua metabolização pelos microrganismos, principalmente, considerando-se a extensão da biodegradação (PEREIRA; FREITAS; 2012). Alguns compostos podem ser rapidamente biodegradados, enquanto outros são recalcitrantes(ATLAS, 1981).

Se as enzimas que catabolizam a degradação de compostos naturais apresentam pouca especificidade pelo seu substrato, os xenobióticos com estrutura química similar a esses compostos podem ser identificadas e, assim, serem aproveitados e utilizados como fonte de energia e nutrientes pelos microrganismos (GAYLARDE et al.,2005). Dessa forma, a degradação da molécula do poluente é baseada em processos em que ocorrem reações químicas realizadas por microrganismos (PEREIRA; FREITAS; 2012).

Tabela 1. Microrganismos capazes de degradar herbicidas

Tipo	Herbicidas	Microorganismos	Fonte
Bactérias	Atrazina	<i>Arthrobacter</i> sp.	GAO et al, 2018
		<i>Agrobacterium rhizogenes</i>	AGUIAR et al., 2020
		<i>Micromonospora</i> sp.	
	Glifosate	<i>Microbacterium</i> sp. <i>Pseudomonas</i> sp.	ANDRIGHETTI, 2011

		<i>Serratia</i> sp.	
		<i>Arthrobacter</i> sp.	
		<i>Cochliobolus heterostrophus</i>	MATTOS, et al., 2010
Diuron		<i>Bacillus cereus</i>	EGEA et al., 2017
		<i>Stenotrophomonas acidaminiphila</i>	
Clorimurum etil		<i>Arthrobacter</i> sp.	WANG et al., 2018
		<i>Chenggangzhangella methanolivorans</i>	SCHRIJVER; MOT, 1999
		<i>Pseudomonas</i> sp.	MELO et al., 2019
		<i>Nocardia brasiliensis</i>	
Sulfentrazone		<i>Rhizobium radiobacter</i>	MARTINEZ; SILVA; FAY, 2007
		<i>Ralstonia pickettii</i>	
		<i>Methylobacterium radiotolerans</i>	
Atrazina		<i>Aspergillus</i> sp.	COLLA et al., 2008
		<i>Penicillium</i> sp.	
Fungos	Sulfentrazone	<i>Cladosporium</i> sp.	MARTINEZ; SILVA; FAY, 2007
		<i>Eupenicillium</i> sp.	
		<i>Metarrhizium</i> sp.	
		<i>Paecilomyces</i> sp.	
		<i>Penicillium</i> sp.	
	Glifosate	<i>Fusarium anthophilum</i>	MATTOS et al., 2010
		<i>Penicillium</i> sp.	BARBOSA et al., 2013

Fonte: A autora.

Muitos fungos e bactérias têm sido utilizados na remoção de poluentes do ambiente. Além da descontaminação do solo, alguns microrganismos apresentam características muito importantes para o ecossistema, como a transformação e ciclagem de nutrientes; decomposição de resíduos; armazenamento e disponibilidade de água (SILVEIRA; FREITAS, 2007); conversão de nutrientes em formas disponíveis para as plantas (DRINKWATER et al., 1996); e formação da estrutura do solo (GILLER, 1996).

Os microrganismos presentes nas áreas contaminadas são tolerantes às condições impostas pelos poluentes e muitas das espécies apresentam mecanismos para transformar e/ou incorporar o contaminante (CAIRES, 2018).

Ressalta-se que os termos resistência e tolerância são atualmente dispostos como sinônimos. Resistência é a habilidade de sobrevivência a xenobióticos por mecanismos de detoxificação produzidos em resposta direta a contaminante. A tolerância, por outro lado, é a habilidade de sobreviver à toxicidade desses produtos, por meio de propriedades intrínsecas do organismo (GADD, 1992).

2.5.1.1 FUNGOS

Devido ao alto potencial degradativo e aos diferentes mecanismos de resistência em condições ambientais diversas, os fungos têm sido utilizados em grande escala em processos de biorremediação (CONCEIÇÃO et al., 2005).

De acordo com Chander, Arora e Bath (2004) os fungos apresentam algumas características que favorecem a sua utilização em sistemas de biorremediação, como a capacidade de crescer em condições de estresse ambiental; o modo de crescimento, através do alongamento e da ramificação das hifas, permitindo assim a colonização de grandes áreas e de sistema de biodegradação fúngico, que é realizado por enzimas extracelulares. Além dessas características, os fungos podem absorver esses contaminantes, e bioacumulá-los em organelas ou ligá-los a proteínas de seu interior (MELO; AZEVEDO, 2008).

Os microrganismos podem ser capazes de degradar compostos tóxicos ao meio ambiente, melhorando também a fertilidade dos solos e as condições de desenvolvimento das plantas. Dentre o grupo dos fungos, alguns se destacam por apresentar grandes benefícios ao ecossistema por apresentarem tolerância a diversos compostos, como os do gênero *Aspergillus*, *Penicillium* e *Trichoderma* (COLLA et al., 2008; ROCHA et al., 2018; EGEA, 2010; GUEDES, 2010; CECHINEL, 2018; DEMICHELLI et al., 2020).

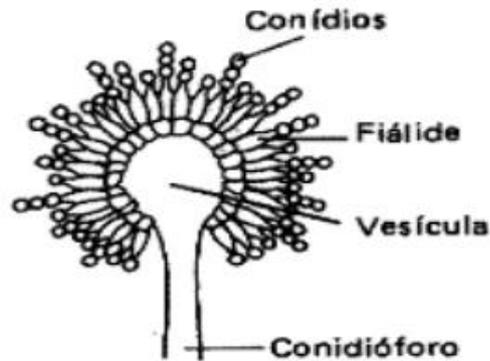
As espécies do gênero *Aspergillus* têm ampla distribuição, estão presentes no ar e na água, em organismos vegetais e animais, além de estarem associadas a deterioração de alimentos e materiais vegetais. Muitas das espécies desse gênero são utilizadas para obtenção de enzimas, na biossíntese química e na transformação de compostos (ALVES, 2012).

As colônias do fungo geralmente têm crescimento rápido e exuberante, sendo inicialmente brancas/ amareladas, passando para marrom/preto. A mesma é composta por micélio aéreo com conidióforos bem distribuídos sobre o meio, com abundante produção de conídios (SANTOS, 2007).

Em *Aspergillus niger* há a produção da “cabeça aspergillar”, que é formada por uma haste (estipe) asseptado que finaliza em uma vesícula, sobre a qual se desenvolve as células conidiogênicas (fiálides de métulas), sendo que as fiálides produzem os conídios com suas respectivas características (Figura 3). Uma cabeça aspergillar unisseriada é constituída por uma vesícula, a qual é coberta por fiálides que produzem os conídios. Já, na cabeça aspergillar bisseriada, antes das fiálides, há a presença de uma

camada de células que a geram, a qual é chamada de métula. A estrutura inteira, considerando a cabeça aspergillar, a haste e a célula pé, é denominada conidióforo (SANTOS, 2007).

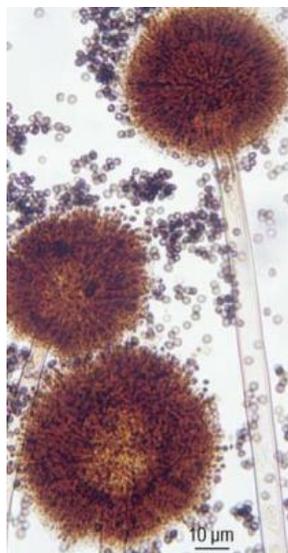
Figura 3 - Morfologia representativa de espécies do gênero *Aspergillus*



Fonte: ROSA et al., 2002

Em espécies de *Aspergillus niger*, os conídios se desenvolvem com uma coloração castanha escura a preta, a vesícula é esférica, contendo fiálide unisseriadas ou bisseriadas (Figura 4) (SIMÕES; SANTOS; LIMA, 2013). Essa espécie consegue se desenvolver em locais secos e quentes, sendo sua temperatura ótima de crescimento entre 35-37 °C, mas, consegue ainda se multiplicar em um grande intervalo de temperaturas, entre os 6 e 47 °C (KRIJGSHELD et al., 2013).

Figura 4 - Observação microscópica de *Aspergillus niger*



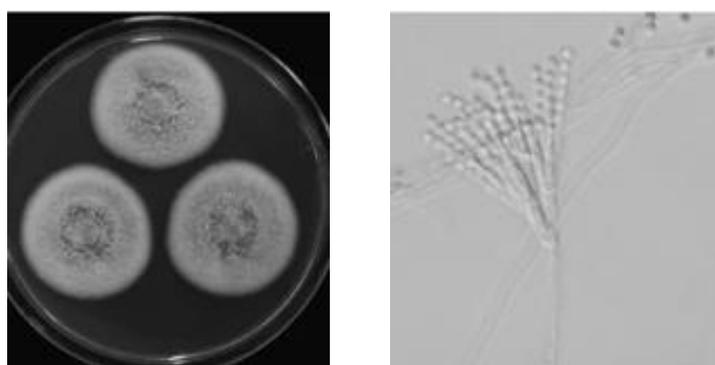
Fonte: ELLIS et al., 2007

A capacidade de liberar, glicosidar e sintetizar compostos é um dos argumentos para a utilização desse fungo (BENNETT, 2010). Essa espécie é capaz de utilizar uma grande variedade de produtos como fonte de carbono, consegue efetuar uma elevada conversão de substrato em ácido, é tolerante a altas concentrações de glicose (GOLDBERG; ROKEM; PINES, 2006) e é eficiente na solubilização de compostos portadores de fósforo (MENDES et al., 2014).

Penicillium pinophilum é conhecido por se desenvolver em diferentes substratos e podem ser encontrados no solo, na vegetação, em madeira, em especiaria, em alimentos, no ar e na água. São sapróbios oportunistas e importantes para a indústria devido a sua produção de metabólitos secundários e de enzimas (CARDOSO, 2007).

Suas colônias possuem crescimento rápido e sua cor varia entre verde ou branco. Esse gênero caracteriza-se por ramificações de conidióforos, também denominadas fiálides (Figura 5) (GARVIL et al, 2014) . Os conídios que são produzidos são redondos, unicelulares e hialinos, de coloração verde ou cinza (Figura 5), as características de sua parede, por variar de acordo com a espécie, são lisa ou áspera (CARDOSO, 2007).

Figura 5 - Fotografia de colônias de *Penicillium pinophilum* cultivadas em ágar de extrato de levedura Czapek (CYA) após 7 dias



Fonte: NONAKA et al., 2011.

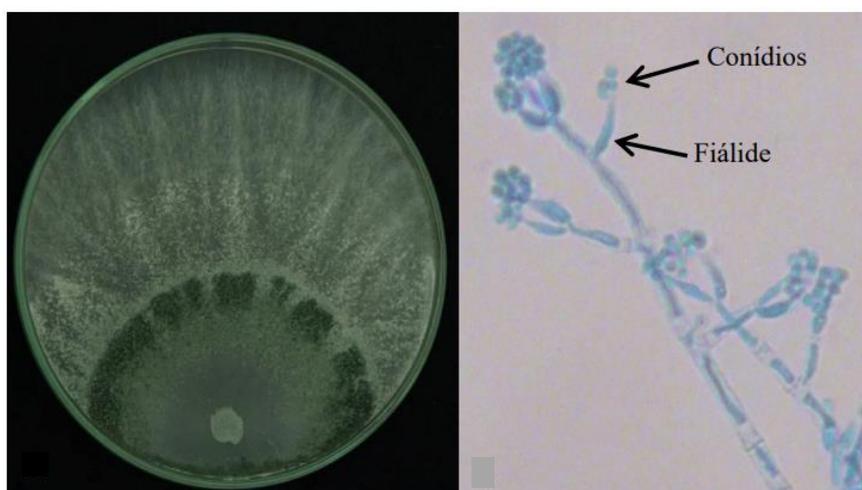
Algumas espécies do gênero *Penicillium* têm a capacidade de causar danos a diversos vegetais. Porém, outras espécies têm grande importância na indústria, como a produção de antibióticos e de enzimas, além de serem aplicadas na indústria alimentar, na maturação de queijos, dentre outros (DONATI, 2008). Várias espécies desse gênero são utilizadas em diversas pesquisas, as quais têm demonstrado seu potencial para biocontrole, micoparasitismo, secreção de metabólitos secundários, fonte de enzimas para diversos interesses (SOUZA, 2010) e solubilização de fósforo (ILLMER et al. 1995) .

O gênero *Trichoderma* possui grande variedade de espécies, que são cosmopolitas, encontradas em diferentes habitats, principalmente em locais ricos em matéria orgânica (ZAFRA; CORTÉS-ESPINOSA, 2015).

Esse gênero é caracterizado por culturas de rápido crescimento a 25-30 °C. Caracteriza-se por ramificações de conidióforos, com o ápice finalizando com uma ou poucas fiálides, as quais são hialinas e tipicamente ampliadas no meio (Figura 6) (BISSETT, 1984; JAKLITSCH, 2009).

A maioria das espécies apresentam conídios de coloração verde. Quanto à forma, os conídios variam em elipsoidais, globosos ou subglobosos, em geral, formados em tufos compactos ou soltos (Figura 6) (BISSETT, 1984).

Figura 6 - Fotografia de colônias de *Trichoderma* sp. cultivadas em BDA após 96 horas



Fonte: LISBOA, 2017.

Muitas espécies do gênero têm sido estudadas em relação às suas características fisiológicas e em aplicações biotecnológicas, pois apresentam mecanismos enzimáticos importantes que consistem em quitinases, celulases, glucanases e proteases, etc, para a decomposição e a utilização de substratos presentes nos solos (ZAFRA; CORTÉS-ESPINOSA, 2015).

Espécies desse gênero são comumente encontradas nos solos e nas raízes das plantas. Possuem resistência à maioria dos agroquímicos. Além disso, eles são altamente resistentes a uma variedade de substâncias tóxicas como metais pesados, compostos organometálicos, efluentes de curtume e produtos químicos nocivos, como o cianeto (TRIPATHI et al., 2013).

2.5.1.2 BACTÉRIAS

Considerando o menor tempo de reprodução e a maior versatilidade metabólica e enzimática, as bactérias, quando comparadas aos demais grupos microbianos, são utilizadas na maioria dos estudos sobre biorremediação. Pode-se destacar *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Acinetobacter* spp., *Alcaligenes* spp., *Achromobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus*, spp, *Serratia* spp, *Azospirillum* spp., *Klebsiella* spp., entre outras (MARTINS; MARTINS, 2013; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Essas bactérias auxiliam os vegetais na aquisição de nutrientes, uma das funções mais importantes do ecossistema (CARDOSO; ANDREOTE, 2016).

O gênero *Pseudomonas* é conhecido por ser bastante heterogêneo. Atualmente, reconhece-se como *Pseudomonas (stricto sensu)* apenas as espécies que se agrupam com *P. aeruginosa* e *P. fluorescens* no grupo I de homologia DNA-rRNA (PALLERONI et al., 1973) e subclasse γ das Proteobacteria (WOESE, 1987), com pelo menos 30 espécies validadas (ZAGO et al., 2000).

Espécies do grupo I DNA-rRNA são divididas em dois grupos de acordo com as suas propriedades de produzir ou não pigmentos fluorescentes (pioverdinas) ou de acumular nas células inclusões de poli-a-hidroxitirato (não fluorescentes) (KIMURA; RIBEIRO, 1994).

As espécies do gênero apresentam mecanismos de ação importantes para auxiliar o desenvolvimento de espécies vegetais como: produção de antibióticos que podem auxiliar no controle de outros organismos indesejáveis (FRAVEL, 1988); produção de sideróforos que são queladores de ferro (ZAGO et al, 2000); produção de reguladores de crescimento; mineralização de nutrientes; indução de resistência etc. (ZAGO et al, 2000). Estudos demonstram também que espécies de *Pseudomonas* apresentam características importantes em processos degradativos de alguns compostos como triazinas, derivados do petróleo, entre outros (MANDELBAUM, ALLAN, WACKETT, 1995; PINHO et al. 2018).

Entre os gêneros de bactérias antagonistas de mais prevalência destacam-se as do grupo *Bacillus* (SILVA et al., 2008). Esse gênero se destaca por formar endósporo e por apresentar muitos mecanismos antagônicos, os quais possibilitam a sua longa manutenção e sua sobrevivência em nichos ecológicos específicos, com grande versatilidade nos

mecanismos de ação para driblar as defesas dos fitopatógenos (LANNA FILHO; FERRO; PINHO, 2010).

Bacillus subtilis é conhecido por ser um dos mais eficientes agentes de biocontrole, pois apresenta características como estar presente nos solos, tolerar altas temperaturas, apresentar rápido crescimento, formação de esporos resistentes etc. (SHODA, 2000). Devido ao seu potencial biodegradador da espécie, estudos foram realizados e relatam a sua eficiência para biorremediar hidrocarbonetos (BISOGNIN et al., 2018; FRANÇA, GONÇALVES, 2011).

As espécies do gênero *Azospirillum* são capazes de promover o crescimento vegetal através da produção de fitormônios, da fixação biológica do nitrogênio e da inibição de patógenos, além de atuarem na metabolização de xenobióticos, no qual tem se destacado seu papel na biorremediação (CECAGNO, 2013).

A espécie mais bem caracterizada desse gênero é *Azospirillum brasilense*. Essa espécie promove o crescimento vegetal de forma direta, por intermédio da fixação de nitrogênio, da síntese de fitormônios como a auxina ácido indol acético (AIA) e giberelinas e indireta pela inibição de patógenos presentes na rizosfera (CECAGNO, 2013). Além de auxinas, giberelinas e citocininas, *A. brasilense* é capaz de produzir ácido abscísico (ABA), hormônio sintetizado pelos vegetais, quando submetidos a condições de estresse (CECAGNO, 2013).

Alguns trabalhos sobre as respostas fisiológicas induzidas por *Azospirillum* relatam melhoria em parâmetros fotossintéticos das folhas, como o teor de clorofila e de condutância estomática; aumento do teor de prolina na parte aérea e nas raízes; melhoria no potencial hídrico, aumento no teor de água do apoplasto; aumento da elasticidade da parede celular; aumento da produção de biomassa; aumento da altura das plantas (BARASSI et al., 2008; BASHAN et al., 2006).

2.6 PERSPECTIVAS

Devido expansão de florestas plantadas e da necessidade de aumento de sua produtividade, tem-se utilizado herbicidas, em grande quantidade. Esses herbicidas podem ter efeito residual no solo, efeito esse que pode ser prejudicial a outros seres vivos, principalmente a microbiota do solo (BARROSO; MURATA; 2021). Portanto, fazem-se

necessários estudos que possibilitem conhecer a tolerância de microrganismos a agroquímicos, para assim identificar seu potencial para descontaminação de áreas, de forma que potencialize a biodiversidade do solo.

3. HIPÓTESE

Microrganismos que apresentam funções benéficas no solo e nas plantas podem tolerar herbicidas que exprimem efeito residual na cultura do eucalipto, podendo degradar estes produtos, utilizando as fontes de carbono e nitrogênio de sua molécula.

4. OBJETIVOS

Objetivo geral:

Avaliar a tolerância e o potencial degradador de microrganismos a herbicidas que apresentam efeito residual na cultura do eucalipto.

Objetivos específicos:

1. Avaliar a tolerância e o potencial degradador dos fungos *Aspergillus niger*, *Penicillium pinophilum* e *Trichoderma* sp aos herbicidas indaziflam, sulfentrazone, sulfentrazone + diuron, clomazona, glifosato+s-metolachlor
2. Avaliar a tolerância das bactérias *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* sp. e *Azospirillum brasilense* na presença dos herbicidas indaziflam, sulfentrazone, sulfentrazone + diuron, clomazona, glifosato + s-metolachlor

4. MATERIAL E MÉTODOS

Os microrganismos utilizados foram obtidos através de coleções do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da Universidade Federal de Uberlândia – UFU. Os códigos das cepas utilizadas foram respectivamente: *Aspergillus niger* – FS1, *Penicillium pinophilum* – FS24, *Trichoderma* sp. – Caatinga, *Bacillus subtilis* – Lamif 18, *Pseudomonas* sp. – 548 e *Azospirillum brasilense* – Ab-V5.

Os fungos foram cultivados no meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) e incubados em BOD por 10 dias. Já as bactérias foram cultivadas no meio Luria Bertani -

LB composto por 10 g de peptona, 5 g de extrato de levedura e 5 g de NaCl, 15 g de ágar, em um pH final de $7,0 \pm 0,2$ e foram incubadas em BOD por 10 dias.

As soluções herbicidas utilizadas para suplementar o meio de cultura foram preparadas em ambiente asséptico, com a diluição dos produtos comerciais em água deionizada, em concentrações correspondentes às doses recomendadas (Tabela 2), de forma a abranger uma camada superficial de 5 cm de solo, de acordo com a profundidade de ocorrência da maior parte das sementes de plantas daninhas e da população microbiana do solo. As soluções foram esterilizadas por filtração com auxílio de seringa estéril através de membrana com poros de $0,22 \mu\text{m}$.

Tabela 2. Herbicidas residuais utilizados para montagem do experimento.

Herbicida	Composição	D.R (L/ha)	Método de ação
Indaziflam	Indaziflam 500 g/L; Outros ingredientes: 600 g/L	0,15	Inibição da biossíntese de celulose
Sulfentrazona	Sulfentrazona: 500 g/L Outros ingredientes: 721,6 g/L	1,2	Inibição da enzima protoporfirina oxidase (PROTOX)
Diuron + sulfentrazona	Sulfentrazona: 175 g/L Diuron: 350 g/L 1,2-ethanediol: 65,70 g/L Outros ingredientes: 619,30 g/L	2,2	Inibição da fotossíntese (FSII) + Inibição da enzima protoporfirina oxidase (PROTOX)
Clomazona	Clomazona: 360 g/L Outros ingredientes: 798 g/L	2,5	Inibição da síntese de carotenoides
S- Metolachlor + Glifosato	S-Metolachlor: 353,8 g/L Glifosato: 265,7 g/L Outros ingredientes: 600,5 g/L	5,4	Inibição da divisão celular + Inibição da enzima enol-piruvil-shiquimato-fosfato sintase (Epsps)

Legenda: DR= Dose recomendada na bula de cada produto.

Fonte: A autora

4.1 EXPERIMENTO COM FUNGOS

4.1.1 ANÁLISE DA TOLERÂNCIA DOS FUNGOS AOS HERBICIDAS

Inicialmente foi preparado o meio de cultura Czapek Dox composto de 30 g de sacarose, 3 g de NaNO_3 , 1 g de K_2HPO_4 , 0,5 g de KCl, 0,5 de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e 0,01 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, para 1 litro do meio, em um pH final de $7,3 \pm 0,2$. Foram colocados 30 ml do meio em erlenmeyers de capacidade de 125 ml e posteriormente esses foram autoclavados a $121 \text{ }^\circ\text{C}$ por 20 min. Nesse experimento, foram utilizadas 4 repetições de cada tratamento.

Em seguida, foram adicionados aos erlenmeyers 12 µl da solução com herbicida e 1 ml do inóculo na concentração de 10⁶ conídios por frasco. Os frascos inoculados foram incubados em um agitador orbital a 150 rpm, 28 °C, por 10 dias.

Após esse período, o meio líquido foi filtrado e a biomassa fúngica disposta em cadinhos de porcelana, os quais foram levados para estufa a 60± 5 °C até atingirem peso constante (± 36 horas). Após tomado o peso da biomassa, foi calculada a biomassa relativa média (%) (Equação 01).

$$Biomassa\ relativa\ média = \frac{\text{Peso (g) de cada tratamento} \times 100}{\text{média do peso do tratamento controle para o fungo}} \quad (1)$$

4.1.2 ANÁLISE DO POTENCIAL DEGRADADOR

O teste de degradação do herbicida foi realizado removendo as fontes de carbono (sacarose) e nitrogênio (NaNO₃) do meio de cultura Czapek Dox na presença ou ausência do herbicida. O experimento foi organizado em esquema fatorial 2³ (Tabela 3). Nesse experimento foram utilizados apenas os microrganismos, que apresentaram mudança significativa na taxa de crescimento, na presença do herbicida, sendo utilizado também apenas o produto que proporcionou tal mudança, utilizando-se sua dose comercial, considerando abranger 5 cm de solo. O tratamento controle foi o crescimento microbiano em meio de cultura Czapek Dox com todas as fontes e sem herbicidas.

Tabela 3. Disposição dos tratamentos utilizados para análise do potencial degradador

Tratamentos/ Códigos	N	C	Herbicida
T1	+	+	+
T2 (controle)	+	+	-
T3	-	+	+
T4	-	+	-
T5	+	-	+
T6	+	-	-
T7	-	-	+
T8	-	-	-

* Para o tratamento controle foi considerado o meio Czapek com todas as fontes de nutrientes e sem a presença do herbicida

Fonte: A autora

Caso houvesse o crescimento dos microrganismos no meio sem fontes de carbono ou de nitrogênio e com herbicidas, seria caracterizada a degradação dos herbicidas (BARROSO et al., 2020).

A incubação foi realizada em erlenmeyers de capacidade de 125 ml, contendo 30 ml do meio de cultura já autoclavado a 121 °C a 20 min, 12 µl da solução com herbicida e 1 ml do inóculo na concentração de 10⁶ conídios por frasco. Os frascos inoculados foram incubados em um agitador orbital a 150 rpm, 28 °C, por 10 dias.

Após esse período, o meio líquido foi filtrado e a biomassa fúngica disposta em cadinhos de porcelana, os quais foram levados para estufa a 60± 5 °C até atingirem peso constante (± 36 horas). Após tomado o peso da biomassa, foi calculada a biomassa relativa média (%) (Equação 01).

4.1.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados de crescimento dos microrganismos foram submetidos a análise de variância ($p \leq 0,05$) utilizando o software R (CORE TEAM, 2022). Posteriormente os dados foram submetidos ao teste de Dunnet a 5% de significância.

4.2 EXPERIMENTO COM BACTÉRIAS

4.2.1 ANÁLISE DA TOLERÂNCIA DE CRESCIMENTO BACTERIANO

O método utilizado para avaliação da curva de crescimento bacteriano foi o cultivo em meio líquido, com avaliações ao longo do tempo. A incubação e a leitura do crescimento bacteriano foram realizadas em placas de ELISA, contendo o meio de cultura Luria Bertani – LB composto por 10 g de peptona, 5 g de extrato de levedura e 5 g de NaCl, em um pH final de 7,0 ± 0,2 já autoclavado a 121 °C por 20 min.

Foi preparado um pré-inóculo de cada microrganismo, os quais foram inoculados em erlenmeyers, contendo 50 mL do meio LB. O pré inóculo foi mantido a 150 rpm e 28 °C por 36 h. Depois desse período, uma alíquota de 1 ml do pré-inóculo foi inoculada, assepticamente, em um segundo erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de meio LB. Outra alíquota de 1 mL foi analisada em espectrofotômetro de absorção para determinação da densidade ótica (DO) em 620 nm.

Posteriormente, por diluições sucessivas da alíquota do pré-inóculo, foi ajustada a concentração bacteriana necessária para inocular em cada poço da placa de ELISA, determinando-se uma DO inicial entre 0,1 e 0,2 por poço. Foram adicionadas em cada

poço da placa de ELISA 250 µl do meio de cultura autoclavado, 1 µl das soluções dos herbicidas e 10 µl do inóculo. As placas foram colocadas em *shaker* a 28°C e 150 rpm.

O crescimento bacteriano (densidade microbiana) foi avaliado por 30 h por leitura da absorbância com auxílio de um leitor de placas de ELISA Multiskan, em comprimento de onda de 620 nm. As primeiras leituras foram feitas de hora em hora durante as 5 primeiras horas; a sexta leitura foi feita após 7 h de incubação; a sétima após 10 h; e as demais foram feitas de 4 em 4 horas até às 30 horas após incubação.

Para avaliar o comportamento das bactérias em função do tempo na presença dos herbicidas foi aplicado o modelo de Gompertz (ZHOU et al., 2012) (Equação 02) que é uma função exponencial dupla e descreve uma curva sigmóide assimétrica, onde $Y(t)$ é o logaritmo decimal da densidade microbiana no tempo t . A ideia de utilização desse modelo é representar a limitação de espaço e/ou de nutrientes, com a velocidade de crescimento até um máximo e não reduzindo depois, assemelhando-se às três fases do crescimento microbiano (ZHOU et al., 2012).

$$Y(t) = A. \exp \{- \exp[-B(t - \mu)]\} \quad (2)$$

Em que:

A: é a quantidade limite de colônias (assíntota superior);

B: é a velocidade de crescimento relativa no tempo μ

μ : é o tempo em que o crescimento tem sua taxa máxima;

t: é um instante de tempo qualquer

$Y(t)$: $\log N/N_0$; onde, N é a densidade microbiana no tempo e N_0 é a densidade microbiana inicial

Posteriormente, o modelo foi ajustado através do software MicroFit (SIQUEIRA et al., 2014), e com o software R (CORE TEAM, 2022), os valores correspondentes aos parâmetros A, B e μ foram submetidos a análise de variância ($p \leq 0,05$) e suas médias quando significantes comparadas pelo teste de Scott- Knott a 5% de significância.

5. RESULTADOS

5.1 ANÁLISE DA TOLERÂNCIA DOS FUNGOS AOS HERBICIDAS

Ao avaliar a tolerância dos microrganismos aos herbicidas residuais, observou-se que todos os fungos analisados são tolerantes aos herbicidas estudados. Analisando os resultados do *Aspergillus niger* (Tabela 4), observou-se que não houve alteração do crescimento fúngico na presença dos herbicidas, quando se compara ao tratamento controle. Para o *Penicillium pinophilum* (Tabela 4), não foi observada diferença significativa de crescimento na presença dos herbicidas.

Para o *Trichoderma* sp. (Tabela 4), observou-se que na presença da mistura de glyphosate+s-metolachlor a taxa de crescimento foi maior em relação ao tratamento controle. Arfarita et al. (2014) relata que esse fungo apresenta crescimento considerável na presença de glyphosate, utilizando com excelência o nitrogênio presente em sua molécula para promoção de seu crescimento.

Tabela 4. Biomassa relativa média fúngica na presença dos herbicidas.

Herbicida	Microrganismos		
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium pinophilum</i>	<i>Trichoderma</i> sp.
Controle	100	101,5	100
Indaziflam	62,99	91,44	130,71
Clomazone	88,18	73,52	106,01
Glyphosate+s-metolachlor	114,81	104,44	200,73 *
Sulfentrazone	106,49	79,41	109,62
Sulfentrazone+diuron	90,19	82,23	133,02

Colunas que contêm * apresentaram diferença significativa em relação ao controle de acordo com Dunnet a 5% de significância.

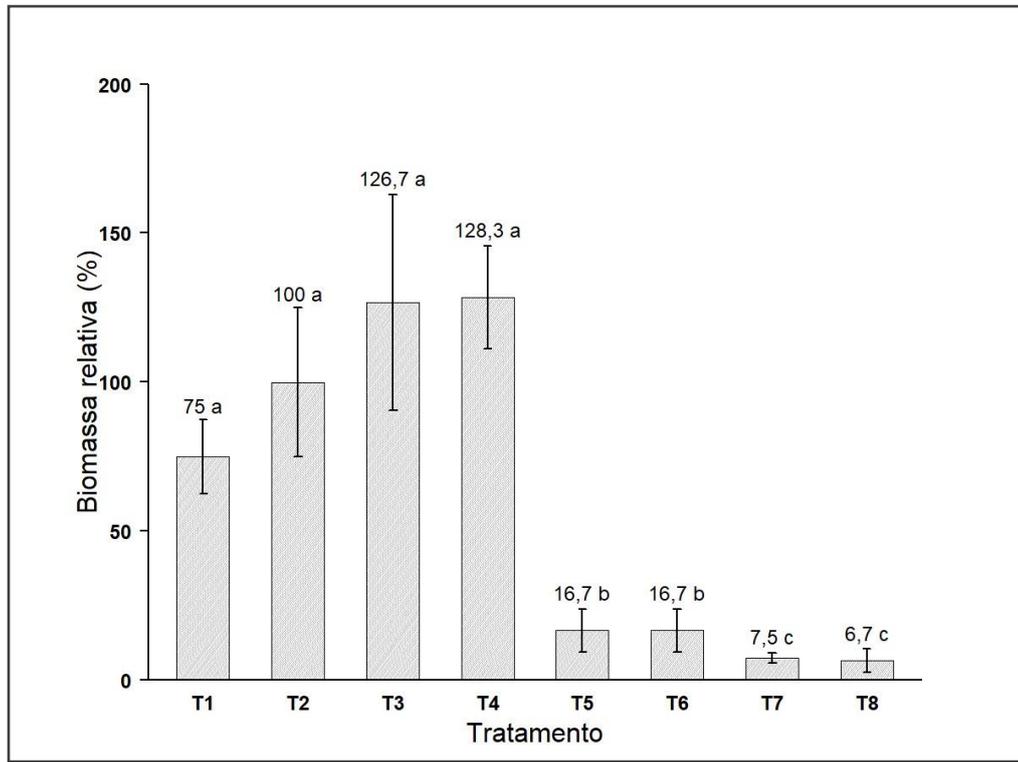
Fonte: A autora

5.2 ANÁLISE DO POTENCIAL DEGRADADOR

Ao analisar o experimento anterior, observou-se que na presença da mistura dos herbicidas glyphosate+s-metolachlor o *Trichoderma* sp. teve a sua taxa de crescimento elevada, quando comparado ao tratamento controle. Portanto, a análise do potencial degradador foi realizada para o *Trichoderma* sp., na presença da mistura dos herbicidas citados acima. Para tanto, foram os tratamentos apresentados na tabela 3.

Depois de analisados os dados dos experimentos, confirmou-se que os herbicidas não têm qualquer efeito sob o crescimento do *Trichoderma* sp., ou seja, o fungo cresceu na presença e ausência dos produtos, sem nenhuma diferença significativa (Figura 7).

Figura 7- Biomassa relativa média de *Trichoderma* sp. na presença de glyphosate+s-metolachlor. A descrição dos tratamentos de acordo com seus respectivos códigos está descrita na Tabela 3. Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si de acordo o teste de Scott- Knott a 5% de significância; as barras indicam o desvio padrão (n=4).



Fonte: A autora

Para o nitrogênio (T3 e T4), observa-se que não houve efeito significativo no experimento com e sem o elemento para o herbicida avaliado (Figura 7). Tal fato pode ser explicado pela baixa demanda desse nutriente, no período avaliado, ou pelo nitrogênio contaminante de outros ingredientes do meio de cultura.

Observou-se também que o *Trichoderma* sp. não conseguiu utilizar, de forma satisfatória, o herbicida como fonte de carbono, ou seja, nos tratamentos nos quais há a falta de uma fonte de carbono mais biodisponível, o crescimento foi afetado (Figura 7). O carbono é requerido pelos organismos vivos como importante constituinte da estrutura celular e é responsável pelo suprimento de energia para o fungo, portanto, sem o nutriente, o fungo não consegue se desenvolver satisfatoriamente.

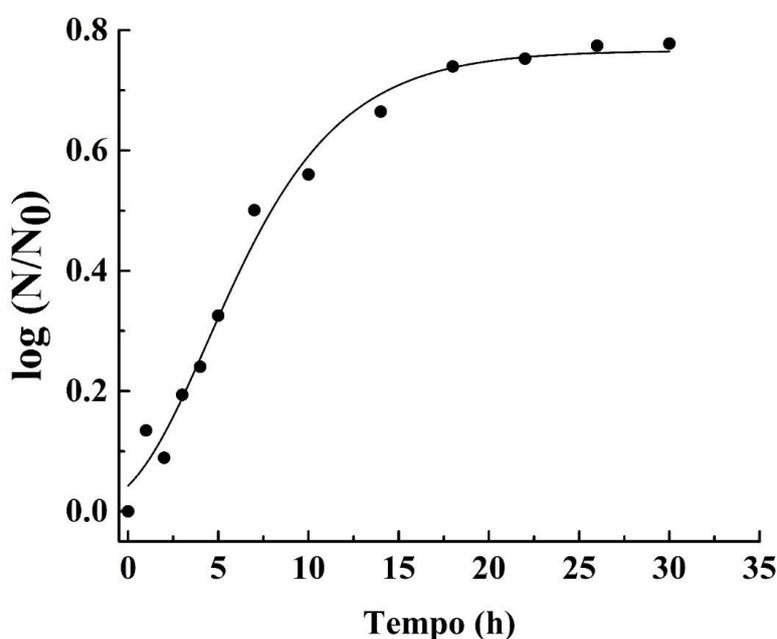
Ressalta-se que a quantidade de herbicida utilizado foi pequena, uma vez que foram consideradas as quantidades recomendadas na bula do produto. Dessa maneira, para estudos futuros, recomenda-se que doses mais altas sejam avaliadas, com o objetivo de

verificar o potencial do *Trichoderma* sp. em utilizar o carbono presente no herbicida para se desenvolver.

5.3 CRESCIMENTO BACTERIANO

Os dados obtidos com o experimento, ao serem aplicados ao modelo de Gompertz (ZHOU et al., 2012), são apresentados como uma curva sigmóide (Figura 8), onde $Y(t)$ é o logaritmo decimal da densidade microbiana no tempo t . Ao aplicar o modelo, alguns parâmetros importantes são obtidos (Tabela 5)

Figura 8 - Curva sigmóide obtida através do modelo de Gompertz para o tratamento *Pseudomonas* sp. sem herbicida



Fonte: A autora

Tabela 5. Parâmetros obtidos através do modelo de Gompertz para o tratamento *Pseudomonas* sp. sem herbicida.

Modelo	SGompertz
Equação	$y = a \cdot \exp(-\exp(-k \cdot (x - xc)))$
A	0.76616 ± 0.01884
μ	4.40598 ± 0.26003
B	0.24086 ± 0.02432
R^2	0.98856

Fonte: A autora

Para analisar os crescimentos bacterianos, os parâmetros A, B e μ são muito importantes, uma vez que representam respectivamente a quantidade limite de colônias do meio; a velocidade de crescimentos relativa no tempo desses microrganismos e o tempo em que o crescimento bacteriano tem sua taxa máxima. Desta forma, esses parâmetros foram analisados de forma a verificar o efeito dos herbicidas no crescimento das bactérias estudadas. Para tanto, os herbicidas foram numerados em códigos, conforme descrito na tabela 6.

Tabela 6. Codificação dos tratamentos utilizados na análise para tolerância das bactérias na presença de herbicidas

Códigos	Herbicidas
T1	Sem herbicida (Controle)
T2	Sulfentrazone
T3	S-Metolaclo-ro + Glifosato
T4	Sulfentrazone + Diuron
T5	Clomazona
T6	Indaziflam

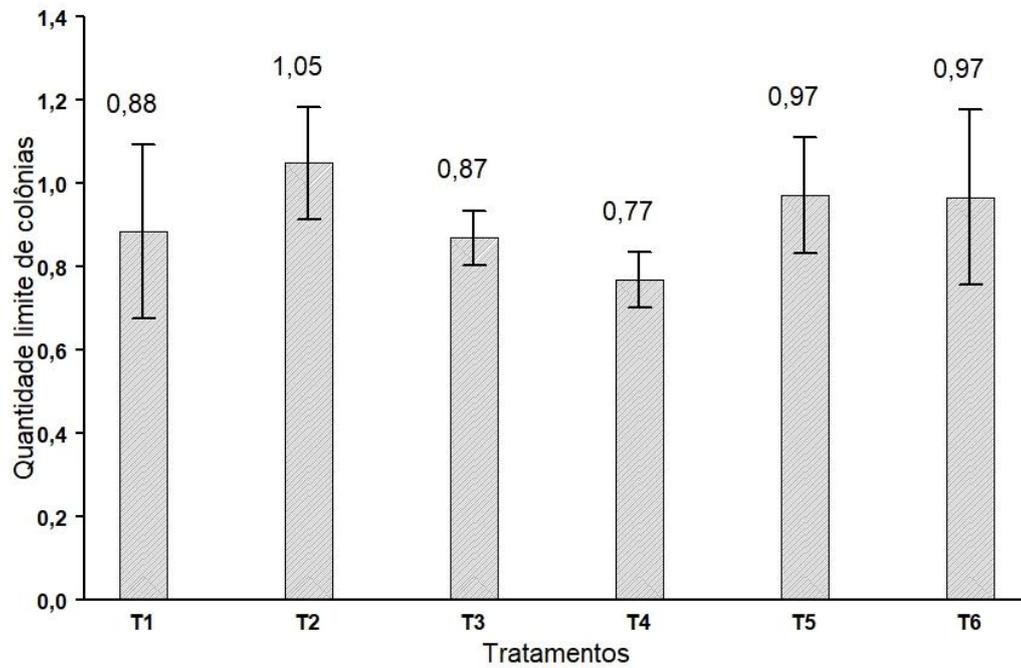
Fonte: A autora

Ao avaliar o parâmetro A de *Azospirillum brasilense* (Figura 9A), *Bacillus subtilis* (Figura 9B) e *Pseudomonas* sp. (Figura 9C), observa-se que não houve alteração na quantidade limite de células produzidas no meio na presença dos produtos utilizados.

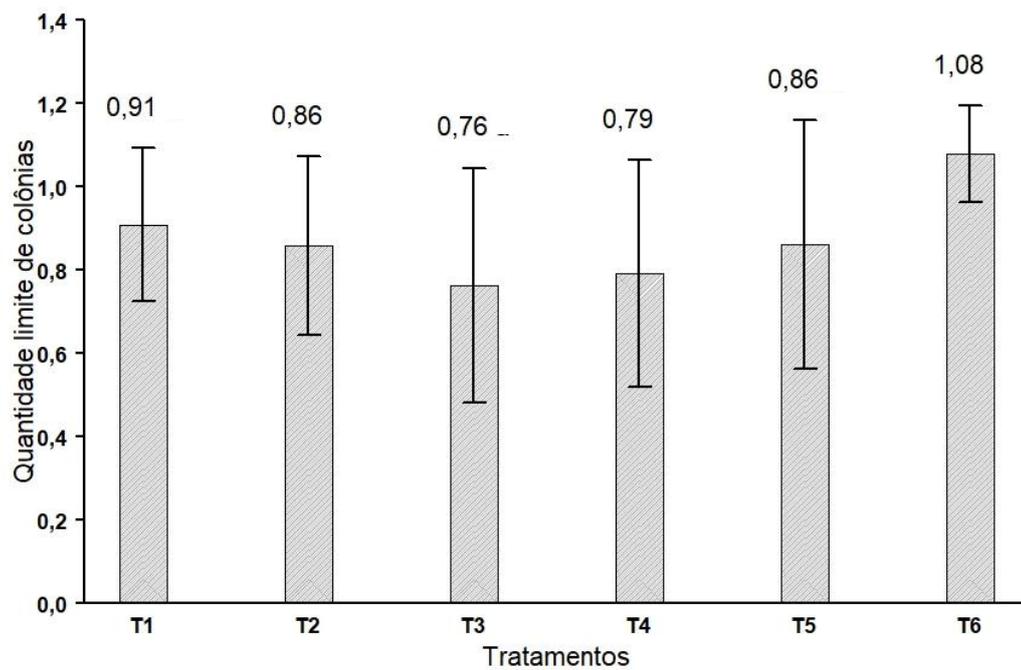
Figura 9 - Valor do parâmetro A obtido através da modelagem de Gompertz para (A) *Azospirillum brasilense*; (B) *Bacillus subtilis*; (C) *Pseudomonas* sp. A descrição dos

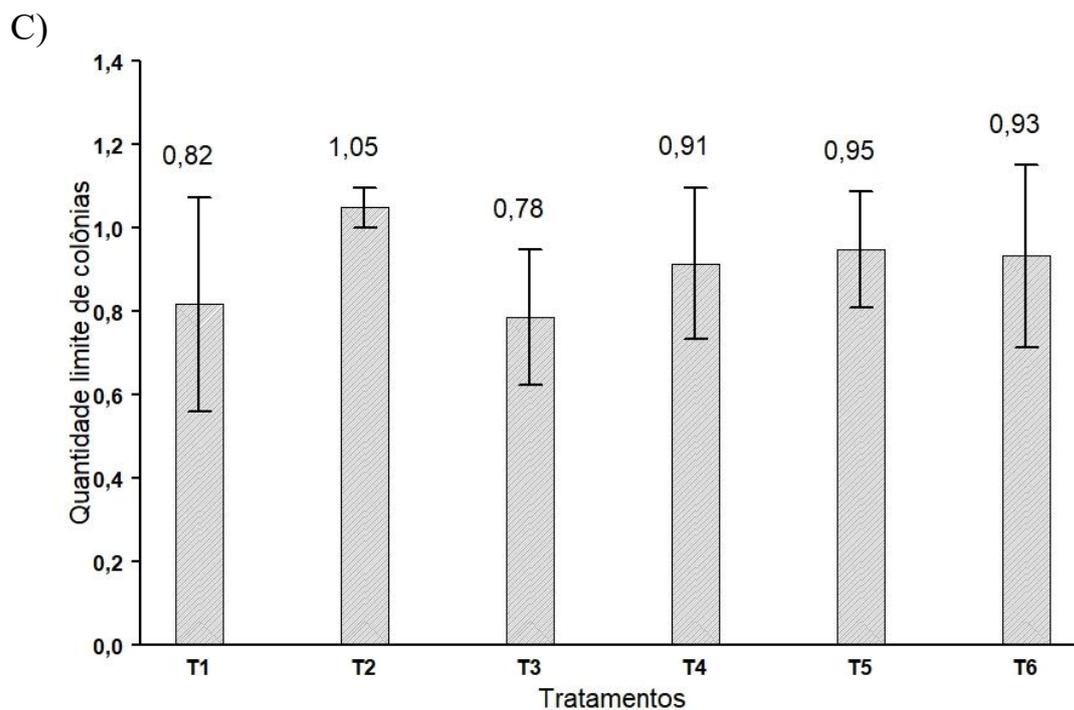
tratamentos de acordo com seus respectivos códigos está descrita na Tabela 5. Os tratamentos não diferem entre si, $p > 0,05$; as barras indicam o desvio padrão ($n=5$).

A)



B)



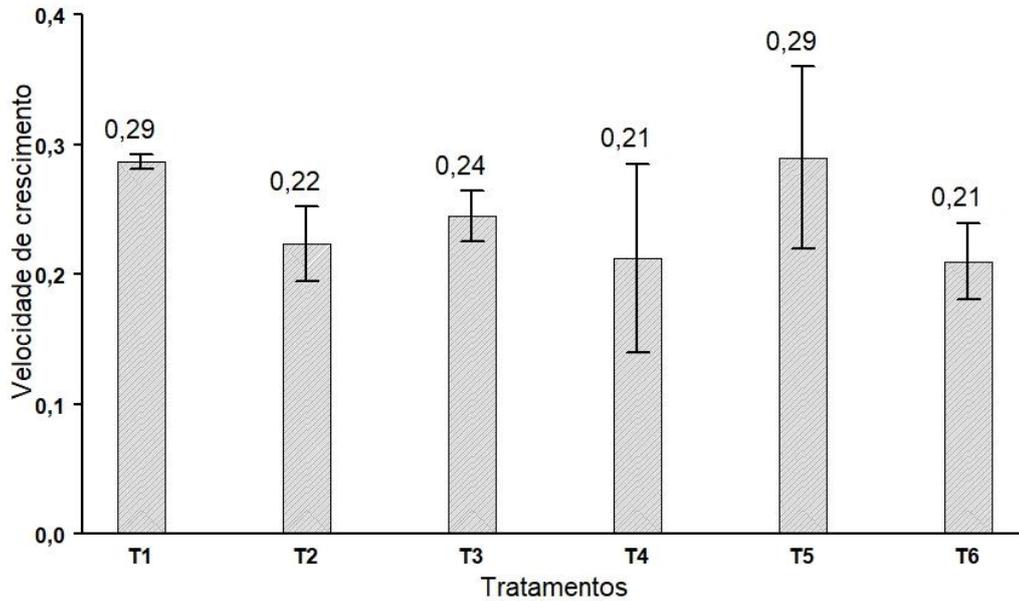


Fonte: A autora

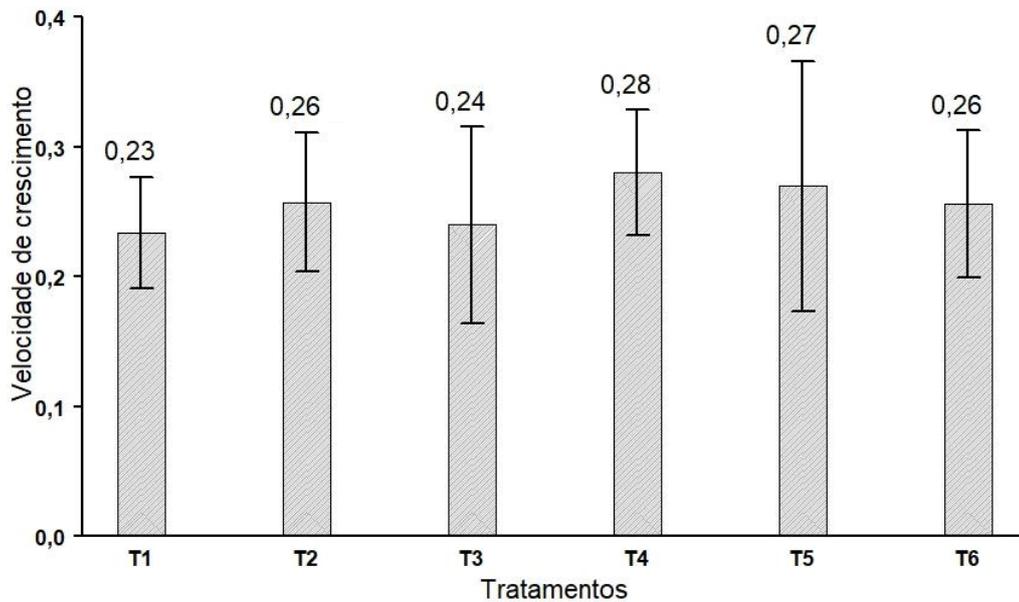
Avaliando o parâmetro B de *Azospirillum brasilense* (Figura 10A), *Bacillus subtilis* (Figura 10B) e *Pseudomonas* sp. (Figura 10C), observa-se que a velocidade de crescimento, ou seja, a taxa de crescimento relativa no tempo de avaliação não foi alterada na presença dos produtos utilizados.

Figura 10 - Valor do parâmetro B obtido através da modelagem de Gompertz para (A) *Azospirillum brasilense*; (B) *Bacillus subtilis*; (C) *Pseudomonas* sp. A descrição dos tratamentos de acordo com seus respectivos códigos está descrita na Tabela 5. Os tratamentos não diferem entre si, $p > 0,05$; as barras indicam o desvio padrão ($n=5$).

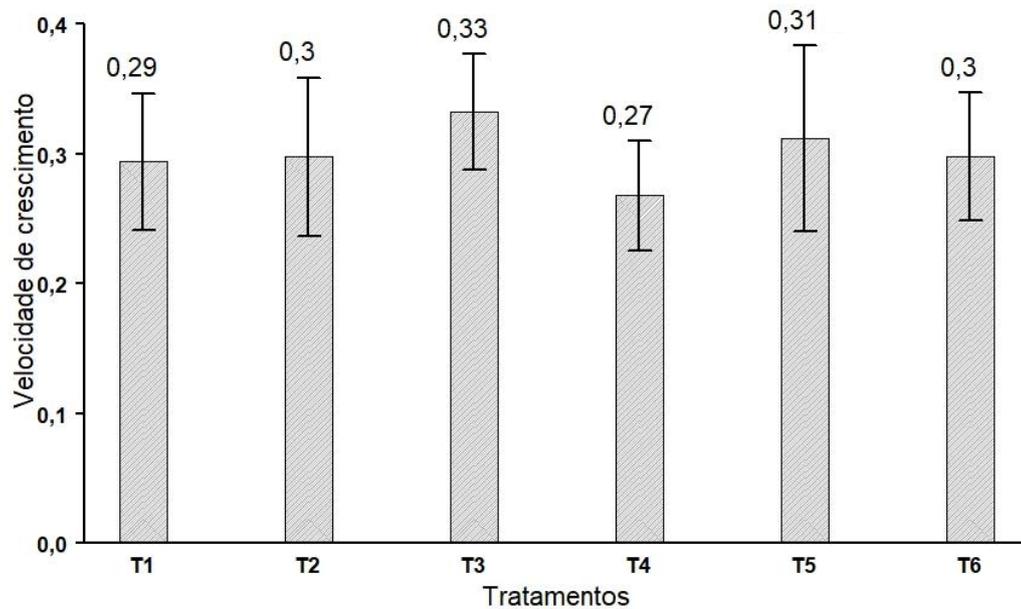
A)



B)



C)



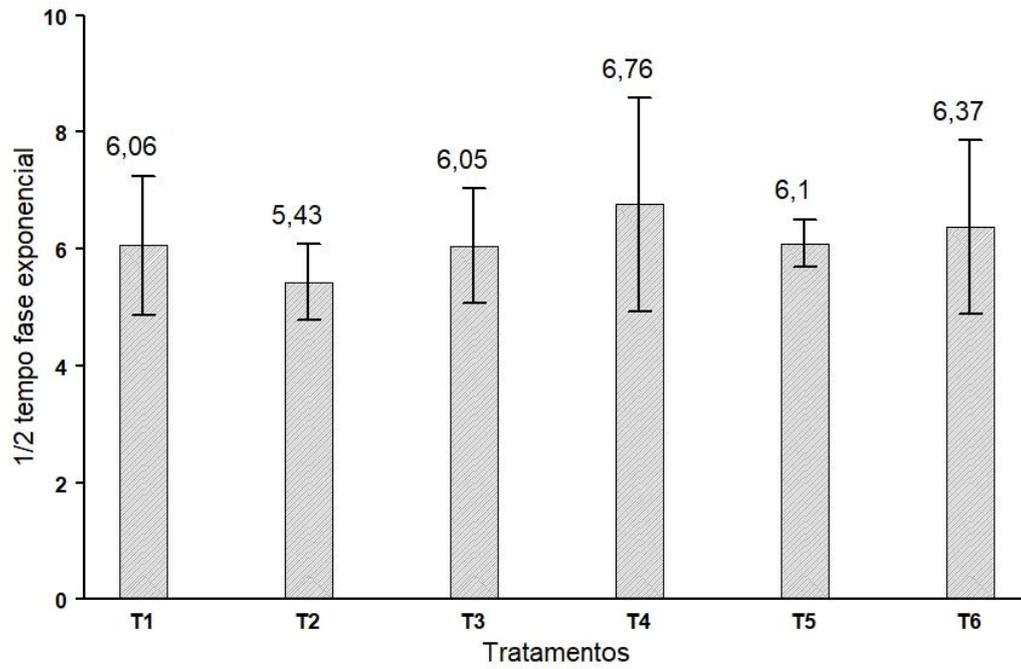
Fonte: A autora

Para o parâmetro μ de *Azospirillum brasilense* (Figura 11A), *Bacillus subtilis* (Figura 11B) e *Pseudomonas* sp. (Figura 11C), observa-se que o tempo em que esses microrganismos têm sua maior taxa de crescimento, não é afetado pela presença dos herbicidas utilizados.

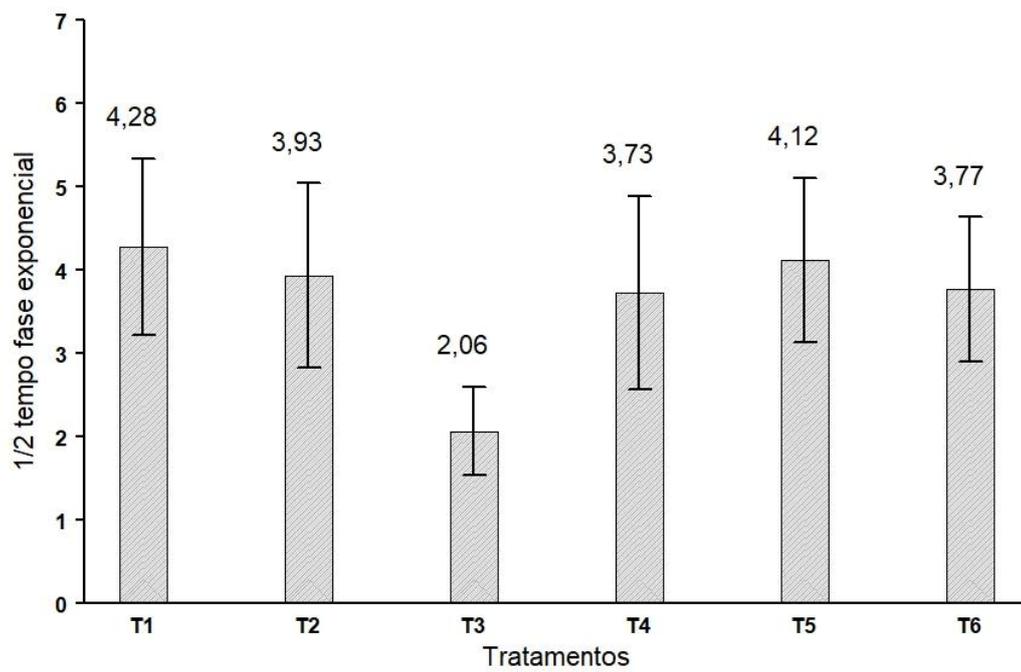
Figura 11 - Valor do parâmetro μ obtido através da modelagem de Gompertz para (A) *Azospirillum brasilense*; (B) *Bacillus subtilis*; (C) *Pseudomonas* sp. A descrição dos tratamentos de acordo com seus respectivos códigos é descrita na Tabela 5. Os

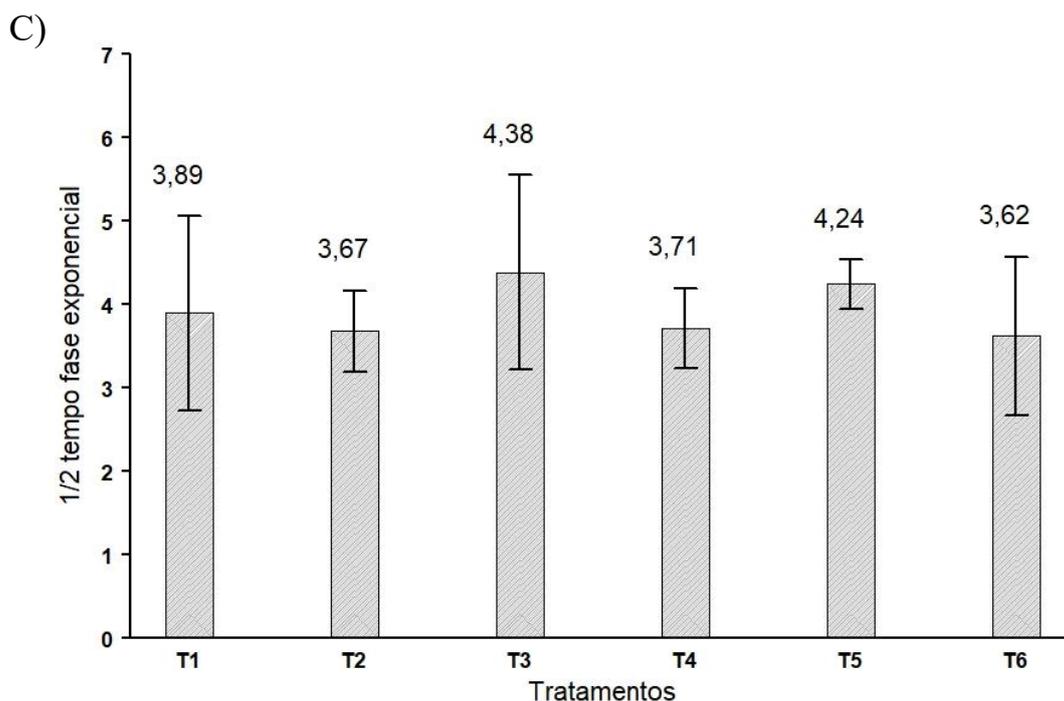
tratamentos não diferem entre si, $p > 0,05$; as barras indicam o desvio padrão ($n=5$).

A)



B)





Fonte: A autora

Diante disso, observa-se, portanto, que o crescimento de *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas* sp. não foi influenciado na presença dos herbicidas, demonstrando que os produtos avaliados não afetam o crescimento das bactérias.

6. DISCUSSÃO

Mediante os experimentos avaliados, confirma-se que todos os microrganismos estudados se desenvolveram na presença dos herbicidas utilizados.

Para que um herbicida seja liberado para uso e a sua dose recomendada seja determinada, estudos utilizando microrganismos são realizados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, junto ao Ministério da Saúde para determinar a CL 50 (Concentração Letal Média para matar 50% dos indivíduos em um determinado espaço de tempo). Machado (1999), afirma que os dados da CL50 oferecem uma ideia significativa a respeito da toxicidade de um agrotóxico a organismos vivos.

Ressalta-se que os testes com os microrganismos são realizados de forma genérica, tomando como base a respiração e a nitrogação dos microrganismos

(IBAMA, 2022) não sendo avaliado efeito desses produtos sobre o crescimento de grupos microbianos específicos.

Pereira et al. (2008) relatam que a utilização de agrotóxicos, em especial, de herbicidas, pode influenciar a dinâmica dos microrganismos do solo, mas pode também apresentar efeito nulo sobre os mesmos.

O mecanismo de ação de um herbicida está ligado ao passo bioquímico ou biofísico inicial no interior celular, sendo esse suficiente ou não para matar espécies sensíveis e, para que isso ocorra, diversas reações/processos químicos são fundamentais para determinar o êxito de um produto (MARCHI et al., 2008).

Ao analisar o mecanismo de ação dos herbicidas avaliados, observa-se que nenhum possui efeito direto sobre microrganismos presentes no solo. O clomazone atua como inibidor de pigmento, inibindo enzimas na via do ácido mevalônico que leva a biossíntese de carotenóide, os quais estão localizados nos cloroplastos das plantas (ROSS; CHILDS, 1996); o S-metolachlor inibe a divisão celular e o crescimento da parte aérea e de raízes; o indaziflam inibe a biossíntese de celulose; o sulfentrazone inibi a protoporfirina oxidase -PROTOX, que é uma enzima presente nos cloroplastos das plantas, sendo precursora da clorofila (MARKWELL et al, 2006); o diuron inibi o fotossistema II, processo que faz parte da fotossíntese; e o glifosato inibi a EPSP, que está envolvida na síntese de aminoácidos aromáticos (tirosina, triptofano e fenilamina), que são essenciais para o crescimento vegetal (ROSS, CHILDS, 1996).

Como forma de controle das plantas daninhas, os herbicidas, podem afetar organismos não alvos, a exemplo dos microrganismos benéficos como aqueles que atuam no controle biológico e na promoção de crescimento vegetal (PEIXOTO et al., 2010).

Neste trabalho, os fungos e bactérias utilizados, além de promoverem benefícios ao desenvolvimento vegetal, demonstraram tolerar os produtos aplicados, indicando a possibilidade desses microrganismos serem empregados em estudos de biorremediação de solos contaminados com herbicidas residuais.

Estudos realizados corroboram com esse resultado e demonstram o potencial de crescimento dos fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Trichoderma* (Colla et al., 2008) e de bactérias (SINGH; SINGH, 2016) em meios contendo herbicidas. Nogueira et al. (2021) e Palleroni et al. (2009) relatam que algumas bactérias são extremamente ativas

e conseguem utilizar muitos compostos como substratos, mesmo que estes possam ser tóxicos para a maioria de outros seres vivos.

Analisado do ponto de vista econômico, essa observação é extremamente relevante para o agronegócio de uma forma geral, pois os produtores podem aplicar inoculantes para promoção do desenvolvimento vegetal, contendo os microrganismos avaliados com os herbicidas, sem causar nenhum efeito negativo dessa aplicação conjunta, reduzindo assim o tempo de aplicação desses produtos e aumentando a eficiência no manejo das florestas plantadas.

Ressalta-se que na literatura, não são encontrados estudos que relatem o efeito desses herbicidas sobre o grupo específico de microrganismos estudados. Portanto, recomenda-se que estudos mais aprofundados sejam realizados, levando-se em consideração diferentes doses dos produtos avaliados e um maior tempo de exposição dos microrganismos a esses produtos, buscando assim, compreender melhor a dinâmica entre microrganismos e herbicidas residuais, averiguando o potencial biorremediador de cada microrganismo e a possibilidade de aplicação dos defensivos junto aos inoculantes.

7. CONCLUSÃO

Conclui-se, portanto, que os herbicidas residuais testados não interferem no crescimento dos microrganismos avaliados; sem fonte de carbono, no meio de cultura, o crescimento fúngico é reduzido, visto que os microrganismos não foram capazes de utilizar como fonte de carbono os produtos avaliados; a presença e/ou a ausência de nitrogênio não interfere no crescimento fúngico por um curto espaço de tempo.

Recomenda-se para os próximos estudos que a avaliação do potencial degradador seja realizada por um maior espaço de tempo e com doses mais elevadas dos produtos, para assim, verificar como será o comportamento de crescimento fúngico e se estes conseguirão utilizar as fontes de carbono e de nitrogênio presentes nos agroquímicos, caso estejam em doses mais elevadas.

Avaliando o crescimento bacteriano na presença dos herbicidas, conclui-se que o crescimento de *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas* sp. não foi influenciado na presença dos herbicidas, ou seja, os herbicidas avaliados não afetam o crescimento bacteriano.

REFERENCIAS

ALVES, F. G. **Solubilização do fosfato de rocha por *Aspergillus niger***. 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.

AMBIENTE BRASIL. Guia Florestal. Disponível em: <<http://www.guiaflorestal.com.br/?pg=lerartigo&id=83>>. Acesso em: 13 nov. 2021.

ARFARITA, N., *et al.* The Potential use of *Trichoderma viride* Strain FRP3 in Biodegradation of the Herbicide Glyphosate. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, [s.l.], 2014. <https://doi.org/10.5504/BBEQ.2012.0118>

ÁVILA, J. M. M. P. M.; SIMIONI, F. J.; BATISTA, E. DE O. Importância e desempenho das florestas plantadas no contexto do agronegócio brasileiro. **Floresta**, [s.l.], v. 47, n. 1, p. 85–94, 2017. <https://doi.org/10.5380/rf.v47i1.47687>

ATLAS, R. M. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. **Microbiological Reviews**, Bethesda, v. 45, n. 1, p. 180-208, 1981. <https://doi.org/10.1128/mr.45.1.180-209.1981>

BALDANI, J.I. *et al.* Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, p. 911-922, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(96\)00218-0](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(96)00218-0)

BARASSI, C.A. *et al.* Potencialidad de *Azospirillum* en optimizer el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. *In*: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) ***Azospirillum sp.*: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008, p.49-59.

BARROSO, A. A. M. MURATA, A. T. **Matologia**: estudos sobre plantas daninhas. Jaboticabal: Fábrica da Palavra, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106783>

BARROSO, G. M. *et al.* Tolerance of *Bradyrhizobium* sp. BR 3901 to herbicides and their ability to use these pesticides as a nutritional source. **Ecological Indicators**, [s.l.], v.119, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106783>.

BASHAN, Y. *et al.* Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. **Biology and Fertility of Soils**, [s.l.],

v.42, p.279-285, 2006. <https://doi.org/10.1007/s00374-005-0025-x>

BENNETT, J. W. An Overview of the Genus *Aspergillus*. In M. Machida e K. Gomi. **Aspergillus: Molecular Biology and Genomics**, 1 ed. Norfolk: Caister Academic Press, 2010, p. 1–17.

BISOGNIN, R. P. *et al.* Análise do potencial microbiano de uma biopilha na biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo. **Eng Sanit Ambient**, [s.l.], v.23, n.3,2018. <https://doi.org/10.1590/s1413-41522018152421>.

BISSETT, J. A revision of the genus *Trichoderma*. I. Section *Longibrachiatum* sect. nov. **Canadian Journal of Botany**, [s.l.], v. 62, p. 924-931, 1984. <https://doi.org/10.1139/b84-131>.

BRAGA, R. R. *et al.* Effect of growing *Brachiria brizantha* on phytoremediation of picloram under different pH environments. **Ecological Engineering**, [s.l.], p.102- 106, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.05.050>.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA**. Sistemas de agrotóxicos fitossanitários - AGROFIT. Brasília: MAPA, 2022. Disponível em: <https://agrofit.agricultura.gov.br/> . Acesso em: 02 ago. 2022a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. **Bula GAMIT® 360 CS**. Brasília: MAPA, 2022. Disponível em: <https://fmcagricola.com.br/Content/Fotos/Bula%20-%20Gamit%20360%20CS.pdf>. Acesso em: 02 mar. 2022b.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. **Bula Stone**. Brasília: MAPA, 2022. Disponível em: <https://www.fmcagricola.com.br/Content/Fotos/Bula%20-%20Stone.pdf>>. Acesso em: 02 mar. 2022c.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. **Bula Sequence**. Brasília: MAPA, 2022. Disponível em: https://www.syngenta.com.br/sites/g/files/zhg256/f/sequence_0.pdf?token=1636469266 >. Acesso em: 02 mar. 2022d.

CAIRES, L. MICRORGANISMOS SÃO ALTERNATIVA SUSTENTÁVEL PARA RECUPERAÇÃO DE ÁREAS CONTAMINADAS. **Com Ciência**, [s.l.], 2018.

CALIFORNIA. Department of Pesticide Regulation. **Clomazone**. Public Report, [s./], 2003.

CANTARELLI, E. B. *et al.* Efeito do manejo de plantas daninhas no desenvolvimento inicial de *Pinus taeda* em várzeas na Argentina. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 30, n. 5, p. 711-718, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622006000500004>.

CAO, B., *et al.* Insight Into the Variation of Bacterial Structure in Atrazine-Contaminated Soil Regulating by Potential Phytoremediator: *Pennisetum americanum* (L.) K. Schum. **Frontiers in Microbiology**, Harbin, 2018. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00864>.

CARDOSO, P. G. *et al.* Diferenciação morfológica e molecular de fungos produtores de pectinases *Penicillium eximium* e *Penicillium griseoroseum*. **Brazilian Journal of Microbiology**, Viçosa, v. 38, n. 1, p. 71-77, 2007. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822007000100015>.

CARDOSO, E. J. B.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**. 2 ed. Piracicaba: ESALQ, 2016.

CARON, B. O. *et al.* Intercepção da radiação luminosa pelo dossel de espécies florestais e sua relação com o manejo das plantas daninhas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 1, p. 75-82, jan. 2012. Disponível em: Acesso em: 21 dez. 2021. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782012000100013>.

CECAGNO, R. **Genômica comparativa entre espécies do gênero *Azospirillum* com ênfase nas características exclusivas da bactéria promotora de crescimento *vegetal Azospirillum amazonense***. 2013. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

CECHINEL, L. **Isolamento de fungos a partir de solo com uso intenso de agroquímicos, visando a biorremediação**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnólogo em Gestão Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2019.

CHAGNON, P.L. *et al.* A trait-based framework to understand life history of mycorrhizal fungi. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 18, p. 484-491, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.05.001>.

CHANDER, M.; ARORA, D. S.; BATH, H. K. Biodecolourisation of some industrial dyes by white-rot fungi. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, Hampshire, v. 31, n. 2, p. 94-97, 2004. <https://doi.org/10.1007/s10295-004-0116-y>.

COLLA, L. M. *et al.* Isolamento e seleção de fungos para biorremediação a partir de solo contaminado com herbicidas triazínicos. **Ciências Agrárias**, Passo Fundo, v.32, n.3, 2008. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542008000300016>.

CONCEIÇÃO, D. M. *et al.* Fungos filamentosos isolados do rio Atibaia, SP e refinaria de petróleo biodegradadores de compostos fenólicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 1, p. 99-106, 2005. <https://doi.org/10.1590/1808-1657v72p0992005>.

CURRAN, W. S. *et al.* Effects of tillage and application methods on clomazone, imazaquin, and imazethapyr persistence. **Weed Sci.**, [s.l.], v. 40, p. 482-489, 1992. <https://doi.org/10.1017/S004317450005195X>.

DEMICHELLI, F. N. *et al.* Caracterização de microrganismos isolados de solo contaminado com Glifosato na região sul do Brasil/Characterization of microorganisms isolated from soil contaminated with Glyphosate in southern Brazil. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, Curitiba, v. 3, n. 1, p. 2-8, 2020.

DINELLI, G. *et al.* Comparison of the persistence of atrazine and metolachlor under field and laboratory conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s.l.] v. 48, n. 7, p. 3037-3043, 2000. <https://doi.org/10.1021/jf991057b>.

DONATI, I. Enzimi, acidi organici ed altri metaboliti coinvolti nella patogenesi di *Penicillium* spp. **Università di Bologna**, Bolonha, 2008.

DRINKWATER, L.E. *et al.* Potentially mineralizable nitrogen as an indicator of biologically active soil nitrogen. In: DORAN, J.W.; JONES, A.J. **Methods for Assessing Soil Quality**. Soil Science Society of America Special Publication, [s.l.], v.49, p. 217-229, 1996. <https://doi.org/10.2136/sssaspecpub49.c13>.

EGEA, T. C. **Avaliação do perfil de produção de enzimas e potencial de degradação do herbicida diuron pelos fungos isolados de solo de plantação de cana-de-açúcar**. 2010. Dissertação (Programa de Pós Graduação em Microbiologia do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2010.

ELLIS, D. *et al.* **Descriptions of Medical Fungi 2 ed.** Australia: Adelaide Medical Centre for Women and Children, 2007.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The lurking menace of weeds.** [s.l.], 2009. Disponível em: <http://www.fao.org/news/story/en/item/29402/icode/>. Acesso em: 10 mar. 2022.

FERHATOGLU, Y.; BARRET, M. Studies of clomazone mode of action. **Pesticide Biochemistry Physiology**, [s.l.], v.85, n.1, p.7-14, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2005.10.002>.

FRANÇA, I. W. L.; GONÇALVES, L. R. B. Estudo da aplicabilidade do biossurfactante produzido por *Bacillus subtilis* LAMI005 em biorremediação in situ. *In*: Reunião Anual de Avaliação PRH-ANP. 2011. **Anais** do 6º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás. Florianópolis, 2011.

FRAVEL, D. R. Role of antibiotics in the biocontrol of plant disease. **Annual Review of Phytopathology**, Beltsville, v. 26, p.75-91, 1988. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.26.090188.000451>.

GADD, G. M. Geomycology: biogeochemical transformations of rocks, minerals, metals and radionuclides by fungi, bioweathering and bioremediation. *Mycol Res*, v. 111, n. Pt 1, p. 3-49, 97. Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation. **Microbiology**, [s.l.], v. 156, n. Pt 3, p. 609-43. 2007. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2006.12.001>.

GARVIL, M. P. *et al.* IMPACTOS DA PRESENÇA DO FUNGO *Penicillium* sp NA INDÚSTRIA. **Journal Systems**, [s.l.], v. 4, n. 1, 2014. Disponível em: <http://www.computacao.unitri.edu.br/erac/index.php/erac/article/view/516#:~:text=S%C3%A3o%20geradoras%20de%20micotoxina%2C%20podem,fabrica%C3%A7%C3%A3o%20de%20queijo%20e%20salames>. Acesso em: 10 fev. 2022.

GAYLARD, C. C. *et al.* Aspectos biológicos e técnicas da biorremediação de xenobióticos. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 8, n. 34, 2005.

GUEDES, S. F. **Estudo da biodegradação do ácido 2,4- diclorofenoxiacético, um herbicida selectivo amplamente utilizado na agricultura, por uma estirpe de *Penicillium*.** 2020. Dissertação (Tecnologia e Segurança Alimentar) - Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, Monte da Caparica, 2010.

GIANESSI, P. L. The Increasing Importance of Herbicides in Worldwide Crop Production. **Pest Management Science**, [s.l.], v.69, n.10, p.1099-1105, 2013. <https://doi.org/10.1002/ps.3598>.

GILLER, P.S. The diversity of soil communities, the ‘poor man’s tropical rainforest’. **Biodiversity and Conservation**, London, v. 5, p. 135-168, 1996. <https://doi.org/10.1007/BF00055827>.

GOLDBERG, I., ROKEM, J. S. E PINES. Organic acids: old metabolites, new themes. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, [s.l.], v. 81(10), p. 1601–1611, 2006. <https://doi.org/10.1002/jctb.1590>.

GOMEZJURADO, M. E. G. **Solubilização de fosfato fungos do solo e eficiência de sua inoculação em caupi e milho**. 2011. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

GUERRA, N. *et al.* Aminocyclopyrachlor e indaziflam: Seletividade, controle e comportamento no ambiente. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Campo Mourão, v.12, n.3, p.285-295, 2013. <https://doi.org/10.7824/rbh.v12i3.246>.

HAKAMADA, R. E. *et al.* Levantamento sobre manejo de plantas daninhas. In: XL REUNIÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA DO PTMS, Campo Grande, 2010. **Anais...** Campo Grande, 2010.

HANEY, R.L. *et al.* Effect of glyphosate on soil microbial activity and biomass full access. **Weed Science**, [s.l.], v. 48, n. 1, p. 89- 93, 2000. [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2000\)048\[0089:EOGOSM\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2000)048[0089:EOGOSM]2.0.CO;2).

HUNGRIA, M. **Inoculação com Azospirillum brasilense: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja, 2011.

IBÁ. Industria Brasileira de Árvores. **Relatório Anual**. [s.l.], 2020. Disponível em: <https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/986/o/relatorio-iba-2020.pdf>. Acesso em: 05 mar. 2022.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Avaliação ambiental para registro de agrotóxicos, seus componentes e afins de uso agrícola**. [s.l.], 2022. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/avaliacao-e->

destinacao/quimicos-e-biologicos/avaliacao-ambiental-para-registro-de-agrotoxicos-seus-componentes-e-afins-de-uso-agricola#ppa. Acesso em: 10 set. 2022.

IBGE. **Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura 2020**. Rio de Janeiro, v. 35, p. 1-8, 2020. Disponível em: https://www.aen.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/migrados/0610pevs_2020_v35_informativo.pdf. Acesso em: 04 fev. 2022.

ILLMER P.; SCHINNER, F. Solubilização de fosfatos de cálcio inorgânicos – mecanismos de solubilização. **Soil Biol Biochem**, Oxford, n.27, v.3, p.257–263, 1995.

JAKLITSCH, W.M. European species of *Hypocrea* part I the green-spored species. **Studies in Mycology**, [s.l.], v. 63, p.1-91, 2009. <https://doi.org/10.3114/sim.2009.63.01>.

JHALA, A. J.; SINGH, M. Leaching of indaziflam compared with residual herbicides commonly used in Florida citrus. **Weed Technology**, [s.l.], v. 26, n. 3, p. 602-607, 2012. <https://doi.org/10.1614/WT-D-11-00161.1>.

KAAPRO, J.; HALL, J. Indaziflam, a new herbicide for pre-emergent control of weeds in turf, forestry, industrial vegetation and ornamentals. **Pakistan Journal Weed Science Research**, Paquistão, v.18, p.267-270, 2012.

KENGEN, S. **A política florestal brasileira: uma perspectiva histórica**. Porto Seguro: Série Técnica IPEF, n. 34, p. 18-34, 2001.

KIMURA, O; RIBEIRO, R. L. D. Taxonomia do gênero *Pseudomonas*. In: **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.2, 209-228, 1994.

KING, C. A. *et al.* Plant growth and nitrogenase activity of glyphosate-tolerant soybean in response to foliar glyphosate applications. **Agronomy Journal**, [s.l.], v. 93, n. 2, p. 176-186, 2001. <https://doi.org/10.2134/agronj2001.931179x>.

KIRKSEY, K. B. *et al.* Clomazone dissipation in two Tennessee soils. **Weed Science**, [s.l.], v. 44, n. 4, p. 959-963, 1996. <https://doi.org/10.1017/S0043174500094996>.

KRIJGSHELD, P. *et al.* **Development in *Aspergillus***. **Studies in mycology**, [s.l.], v. 74, p. 1-29, 2013. <https://doi.org/10.3114/sim0006>.

LAABS, V. *et al.* Fate of pesticides in tropical soils of Brazil under field conditions. **Journal of Environmental Quality**, [s.l.], v. 31, n. 1, p. 256-268, 2002. <https://doi.org/10.2134/jeq2002.2560>.

LANNA FILHO, R.; FERRO, H. M.; PINHO, R. S. C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, Lavras, v. 4, n. 2, p. 12, 2010.

LIEBMAN, M. *et al.* Ecologically sustainable weed management: How do we get from proof-of-concept to adoption? **Ecological Applications**, [s.l.], v.26, n.5, p. 1352-1369, 2016. <https://doi.org/10.1002/15-0995>.

LISBOA, D. C. V. S. **Biorremediação de efluentes de lavanderias têxteis por espécies de Trichoderma da micoteca urm produtoras de enzimas oxidativas**. 2017. Tese (Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

LOUX, M. M.; SLIFE, F. W. Availability and persistence of imazaquin, imazethapyr, and clomazone in soil. **Weed Science**, [s.l.], v. 37, n. 2, p. 259-267, 1989. <https://doi.org/10.1017/S0043174500071885>.

LUGTENBERG, B.; KAMILOVA, F. Plant growth-promoting rhizobacteria. **Annual Rev. Microbiology**, [s.l.], v. 63, 2009. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162918>.

MACHADO, M. R. Uso de brânquias de peixes como indicadores de qualidade das águas. NOPAR, **Científica**, Londrina v.1, n. 1, p. 63-76, 1999.

MANCUSO, M. A. C.; NEGRISOLI, E.; PERIM, L. Efeito residual de herbicidas no solo (“Carryover”). **Revista Brasileira de Herbicidas**, Botucatu, v. 10, n.2, 2011. <https://doi.org/10.7824/rbh.v10i2.106>.

MANDELBAUM, R.T., ALLAN, D.L.; WACKETT, L.P. Isolation and characterization of a *Pseudomonas* sp. that mineralizes the s-triazine herbicide atrazine. **Appl. Environ. Microb**, [s.l.], n. 61. p. 1451-1457, 1995. <https://doi.org/10.1128/aem.61.4.1451-1457.1995>

MARCHI, G. *et al.* **Herbicidas**: mecanismos de ação e uso. Planaltina, DF. Embrapa Cerrados, 2008.

MARCHI, S. R. *et al.* Efeito de períodos de convivência e de controle das plantas daninhas na cultura de *Eucalyptus grandis*. *In*: SEMINÁRIO SOBRE CULTIVO MÍNIMO DO SOLO EM FLORESTAS, 1995, Curitiba, PR. **Anais...** Curitiba: CNPFloresta/ IPEF/ UNESP/ SIF/ FUPEF, p.122-133, 1995.

MARKWELL, J. *et al.* Introducción a los herbicidas que actúan a través de la fotosíntesis. **Plant & Soil Sciences e Library**, [s.l.], 2006.

MARTINS, S. C. S.; MARTINS, C. M. Bactérias diazotróficas: potencial para biorremediação de ambientes impactados. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v.9, n.17; p. 2708, 2013.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Microbiologia ambiental**. 2. ed. rev. e ampl. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2008.

MELO, C.A., *et al.* Isolation and characteristics of sulfentrazone-degrading bacteria. **Journal of Environmental Science and Health**, [s.l.], v. 52, p. 115–121, 2017. <https://doi.org/10.1080/03601234.2016.1248136>.

MENDES, G. O. *et al.* Mechanisms of phosphate solubilization by fungal isolates when exposed to different P sources. **Annals of Microbiology**, [s.l.], v.64, p. 239-249, 2014. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0656-3>.

MEYER, U. Biodegradation of synthetic organic colorants. *In*: BROWN, A. W. A. **Ecology of pesticides**. New York: Jhon Willey, 1978.

MIRANSARI, M. Soil microbes and the availability of soil nutrients. **Acta Physiologiae Plantarum**, Paris, v. 35, p. 3075-3084, 2013. <https://doi.org/10.1007/s11738-013-1338-2>.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J.O. **Xenobióticos do solo**. Microbiologia e Bioquímica do Solo. 2006, p.263-311.

MOREIRA, J. M. M. Á. P.; OLIVEIRA, E. B. DE. Importância do setor florestal brasileiro com ênfase nas plantações florestais comerciais. **Plantações florestais: geração de benefícios com baixo impacto ambiental**, [s.l.], p. 11–19, 2017.

NANO, G.; *et al.* Combined slurry and solid phase bioremediations of diesel contaminated soil. **Journal of Hazardous Materials**. [s.l.], p.79-94, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0304-3894\(03\)00065-7](https://doi.org/10.1016/S0304-3894(03)00065-7).

NOGUEIRA, O. M. N. Tolerância de microrganismos eucariotos ao herbicida glifosato. **Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 42, n. 1, p. 103-112, 2021. <https://doi.org/10.5433/1679-0367.2021v42n1p103>.

NOLDIN, J. *et al.* Persistência do herbicida clomazone na água quando aplicado na cultura do arroz irrigado, sistema pré-germinado. **Planta Daninha**, Viçosa, v.19, n.3, p.401-408, 2001. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582001000300013>.

NONAKA, K. *et al.* Enhancement of metabolites productivity of *Penicillium pinophilum* FKI-5653, by co-culture with *Trichoderma harzianum* FKI-5655. **Journal of antibiotics**, [s.l.], v. 64, 2011. <https://doi.org/10.1038/ja.2011.91>.

OKAMURA, H. *et al.* Antifouling herbicides in the coastal waters of western Japan. **Marine Pollution Bulletin**, [s.l.], v. 47, p. 59-67, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(02\)00418-6](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00418-6).

OLIVEIRA JÚNIOR, R.S. Conceitos importantes no estudo do comportamento de herbicidas no solo. **Boletim Informativo – Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, [s.l.], v.27, n. 2, p.9- 13, 2001.

OLIVEIRA JÚNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. (Ed.). **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax, 2011.

PALLERONI, N. J. *et al.* Nucleic Acid Homologies in the Genus *Pseudomonas*. **Systematic and evolutionary microbiology**, [s.l.], v. 23, n. 4, 1973. <https://doi.org/10.1099/00207713-23-4-333>.

PALLERONI, N. N. J. *et al.* **Micro-biology of hydrocarbon-degrading Pseudomonas**. In: Hand-book of Hydrocarbon and Lipid Microbiology. Timmis, K.N.(ed.). Berlin

Heidelberg, Germany: Springer-Verlag, p.1787–1798, 2009. https://doi.org/10.1007/978-3-540-77587-4_129

PANKHURST, C.E.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R. **Biological Indicators of Soil Health: Synthesis**. Australia: CAB International, 1997.

PATEL, D. D; KUMBHAR, D.A. Weed and its Management: A Major Threats to Crop Economy. **Journal of Pharmaceutical Science and Bioscientific Research**, [s.l.], v.6, n.6, p.753-758, 2016.

PEIXOTO, M.F.S.P.*et al.* Ação do trifluralin na micorrização e crescimento de plantas de amendoim (*Arachis hypogaea*). **Planta Daninha**, [s.l.], v.28, p. 609-614, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582010000300018>.

PEREIRA, A. R. B.; FREITAS, D. A. F. de. Uso de microorganismos para a biorremediação de ambientes impactados. **Rev. Elet. em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, Cascavel, v. 6, n. 6, p. 975-1006, 2012. <https://doi.org/10.5902/223611704818>.

PEREIRA, J. L et al. Effects of glyphosate and endosulfan on soil microorganisms in soybean crop. **Planta Daninha**, v. 26, n. 4, p. 825-830, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582008000400014>.

PIMENTEL, D. *et al.* Economic and environmental benefits of biodiversity. **BioScience**, Washington, v. 47, p. 747-757, 1997. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582008000400014>.

PINHO, A. C. D. *et al.* Uso de *Pseudomonas aeruginosa* para biodegradação de poluentes contaminantes de água. **Revista de Biotecnologia e Ciência**, Impameri, v. 7, n. 1, 2018.

PIRES, F.R. *et al.* Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. **Planta daninha**, Viçosa, v. 21, n. 2, 2003. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=s0100-83582003000200020&script=sci_arttext. Acesso em: 08 mar. 2022. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582003000200020>

PITELLI, R.A. competição e controle das plantas daninhas em áreas agrícolas. **Série Técnica IPEF**, Piracicaba, v. 12, p. 1–24, 1987.

PITELLI, R.A., MARCHI, S.R. Interferência das plantas invasoras nas áreas de reflorestamento. *In: SEMINÁRIO TÉCNICO SOBRE PLANTAS DANINHAS E O USO DE HERBICIDAS EM REFLORESTAMENTO*, 3, 1991, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte, 1991, p. 1 – 11.

R Core Team (2022). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

ROCHA, A. B. C., *et al.* **Teste de toxicidade do alquilbenzeno sulfonato linear (las) utilizando o fungo *Aspergillus Niger* an 400**. II Colóquio de estudos ambientais do bioma Caatinga. 2018. Disponível em : https://prpi.ifce.edu.br/nl/_lib/file/doc2777-Trabalho/ARTIGO%20BIANCA%20COLOQUIO.pdf. Acesso em: 02 set. 2022.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas** 5.ed. Londrina: Edição dos autores, 2005.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 6 ed. Londrina: Edição dos autores, 2011.

ROSA, C. A. R., *et al.* **Práticas de micologia veterinária**. Instituto de Veterinária. Departamento de Micologia e Imunologia Veterinária. Micologia Veterinária. Prática 8. Seropédica, 2002.

ROSSI, C.V.S.; ALVES, P.L.C.A.; MARQUES JÚNIOR, J. Mobilidade do sulfentrazone em latossolo vermelho e em chernossolo. **Planta daninha**, Viçosa, v.23, n.4, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582005000400019>

ROSS, M. A.; CHILDS, D. J. **Herbicide mode-of-action summary**. Cooperative Extension Service Publication WS-23, Purdue University, West Lafayette, 1996.

SANTOS, S. F. M. **Estudo da Produção de Pectinases por Fermentação em Estado Sólido Utilizando Pedúnculo de Caju como Substrato**. 2007. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2007.

SCHREIBER, F. *et al.* Plantas indicadoras de clomazone na fase vapor. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 10, p. 1817–1823, out. 2013. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782013001000014>.

SCHUMACHER, M. V.; VIERA, M. **Silvicultura do eucalipto no Brasil**. Santa Maria:UFSM, 2016.

SENSEMAN, S. A. **Herbicide handbook**. 9.ed. Lawrence: Weed Science Society of America, 2007.

SESHADRI, S. *et al.* Effect of nitrogen and carbon sources on the inorganic phosphate solubilization by different *Aspergillus niger* strains. **Chemical Engineering Communications**, [s.l.], v. 191, p. 1043-1052, 2004. <https://doi.org/10.1080/00986440490276308>.

SHODA, M. Review: Bacterial control of plant diseases. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, [s.l.], v. 89, n. 6, 2000. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(00\)80049-3](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(00)80049-3).

SILVA, A. A. **Prospecção da tolerância de bactérias isoladas da região do quadrilátero ferrífero a diferentes agentes tóxicos**. 2020. Dissertação (PósGraduação em Biotecnologia) - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2020.

SILVA, J. R. C. *et al.* Bactérias endofíticas no controle e inibição in vitro de *Pseudomonas syringae* pv. tomato, agente da pinta bacteriana do tomateiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, p.1062-1072, 2008. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542008000400005>.

SILVEIRA, A. P. D. ; FREITAS, S. S. **Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2007.

SIMÕES, M. F.; SANTOS, C.; LIMA, N. Structural Diversity of *Aspergillus* (Section *Nigri*) Spores. **Microscopy and Microanalysis**, [s.l.], v. 19, n.5, p. 1151–8, 2013. <https://doi.org/10.1017/S1431927613001712>.

SINGH, B.; SINGH, K. Microbial degradation of herbicides. **Critical Reviews in Microbiology**, [s.l.], v. 42, n. 2, p. 245–261, 2016.

SIQUEIRA, A. A., *et al.* MicroFit: um software gratuito para desenvolvimento e ajuste de modelos matemáticos de crescimento bacteriano. **Brazilian Journal of Food Technology**, [s.l.], 17(4). 2014. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.6414>.

SOUZA, A. P. **Potencial biotecnológico de fungos de gênero *Penicillium* e interação com cana-de-açúcar.** 2010. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – USP, Piracicaba, 2010.

TAROUCO, C. P. *et al.* Períodos de interferência de plantas daninhas na fase inicial de crescimento do eucalipto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 9, p. 1131-1137, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2009000900010>.

TAKAHASHI, E. N. *et al.* Consequências da deriva de clomazone e sulfentrazone em clones de *E. grandis* x *E. urophylla*. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 4, p. 675-683, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622009000400010>.

TONI, L. R. M. *et al.* Adsorção de glyphosate sobre solos e minerais. **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.4, p.829-833, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000400034>.

TRIPATHI, P. *et al.* Trichoderma: a potential bioremediator for environmental cleanup. **Clean Technologies and Environmental Policy**, [s.l.], v. 15, p. 541-550, 2013. <https://doi.org/10.1007/s10098-012-0553-7>.

WAKELIN, S. A. *et al.* Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. closely associated with wheat roots. **Biology and Fertility of Soils**, [s.l.], v.40, p. 36-43, 2004. <https://doi.org/10.1007/s00374-004-0750-6>.

WOESE, C.R. Bacterial evolution. **Microbiology Review**, [s.l.], v.51, n.2, p.221-271, 1987. <https://doi.org/10.1128/mr.51.2.221-271.1987>.

ZAFRA, G.; CORTÉS-ESPINOSA, D. V. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by Trichoderma species: a mini review. **Environmental Science and Pollution Research**, [s.l.], v. 22, p.19426-19433, 2015. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5602-4>.

ZAGO, V. C. P. *et al.* **Pseudomonas spp. Fluorescentes – Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas e Biocontroladoras de Fitopatógenos em Sistemas de Produção Agrícola.** Embrapa, Seropédica, 2000.

ZHOU, K. *et al.* Effect of combined function of temperature and water activity on the growth of *Vibrio harveyi*. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, São Paulo, v. 43, n. 4, p. 1365- 1375, 2012. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000400018>