

LAÍS ARAÚJO FAUSTINO

**DESENVOLVIMENTO DE TÉCNICA PARA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLOS
CONTAMINADOS COM INDAZIFLAM**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Francisco Cláudio Lopes de Freitas

Coorientadores: Maurício Dutra Costa
Antonio Alberto da Silva

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2019**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

F268d
2019 Faustino, Laís Araújo, 1990-
Desenvolvimento de técnica para biorremediação de solos
contaminados com indaziflam / Laís Araújo Faustino. – Viçosa,
MG, 2019.

91 f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Francisco Cláudio Lopes de Freitas.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Fitorremediação. 2. Herbicidas. 3. Biorremediação.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Agronomia.
Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 628.16842

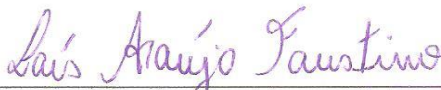
LAÍS ARAÚJO FAUSTINO

**DESENVOLVIMENTO DE TÉCNICA PARA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLOS
CONTAMINADOS COM INDAZIFLAM**

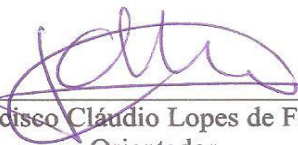
Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 07 de outubro de 2019

Assentimento:



Laís Araújo Faustino
Autora



Francisco Cláudio Lopes de Freitas
Orientador

Aos meus pais, Maria Luiza e José,
Às minhas irmãs, Luiza e Larissa, e
Ao meu noivo e companheiro Flávio,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Fitotecnia, pela oportunidade de realizar o doutorado.

A DEUS e à NOSSA SENHORA APARECIDA, que sempre estiveram comigo, me protegendo e me dando força nos momentos de dificuldade.

Aos meus pais, Maria Luíza e José, as pessoas mais importantes da minha vida, pelo amor incondicional e por estarem sempre ao meu lado.

Às minhas irmãs, Luíza e Larissa, pela compreensão, pelo estímulo e pela confiança.

Ao meu noivo, Flávio, pelo carinho, pelo companheirismo e pela paciência que contribui de forma especial ao longo dessa jornada.

Ao meu orientador, Francisco Cláudio Lopes de Freitas, pela orientação, pela confiança, pela paciência e pelos ensinamentos passados.

Aos meus coorientadores, Maurício Dutra Costa e Antônio Alberto da Silva, pelas valiosas sugestões, pela atenção, pela paciência e pelos ensinamentos.

Aos professores Paulo Roberto Cecon e Lino Roberto Ferreira, pelos conselhos e pelos ensinamentos transmitidos.

Aos amigos do Laboratório de Manejo Integrado de Plantas Daninhas (MIPD), pela convivência, pelos momentos de brincadeiras e pela parceria na execução das atividades, pelo apoio, pela paciência e pelo constante aprendizado.

Aos amigos do Laboratório de Ecologia Microbiana (LEM), em especial ao Sérgio Diaz, pela boa receptividade, pela paciência e pelo auxílio nas atividades laboratoriais.

Aos funcionários do Vale da Agronomia, em especial ao Luís Henrique, Júlio e Paulo Paiva, pela valorosa ajuda durante a realização do meu experimento.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Enfim, a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada!

BIOGRAFIA

Laís Araújo Faustino, filha de José Faustino de Andrade e Maria Luiza de Barros Araújo Faustino, nasceu em 08 de maio de 1990, em Visconde do Rio Branco, Minas Gerais. Em março de 2008, ingressou no curso de Agronomia na Universidade Federal de Viçosa obtendo o título de Engenheira Agrônoma em julho de 2013. Em agosto do mesmo ano, iniciou o curso de Mestrado, em Fitotecnia, pela Universidade Federal de Viçosa, na área de Biologia e Controle de Plantas Daninhas, submetendo-se à defesa da dissertação em julho de 2015. Em agosto de 2015, ingressou no Doutorado em Produção Vegetal no mesmo programa e instituição, submetendo-se à defesa da tese em 07 de outubro de 2019.

RESUMO

FAUSTINO, Laís Araújo, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, outubro de 2019. **Desenvolvimento de técnica para biorremediação de solos contaminados com indaziflam.** Orientador: Francisco Cláudio Lopes de Freitas. Coorientadores: Maurício Dutra Costa e Antonio Alberto da Silva.

O uso de herbicidas persistentes no solo reduz o número de aplicações em culturas que apresentam longo período crítico de prevenção da interferência de plantas daninhas. Entretanto, resíduos desses herbicidas no ambiente podem causar intoxicação de organismos não alvo, elevar os riscos de contaminação do solo e das águas superficiais e subterrâneas, além de inviabilizar a rotação de culturas com espécies sensíveis. Dentre esses herbicidas, destaca-se o indaziflam. Esse produto vem sendo utilizado em grandes áreas nas culturas de cana-de-açúcar, café e eucalipto. Nesta pesquisa foram desenvolvidas técnicas para biorremediar o indaziflam em solos contaminados. O trabalho foi dividido em três etapas. Na primeira, o experimento foi composto em esquema fatorial 7 x 5. Foram avaliadas sete espécies vegetais *Stizolobium aterrimum*, *Canavalia ensiformis*, *Mucuna pruriens*, *Cajanus cajan*, *Zea mays*, *Vigna unguiculata*, e *Phaseolus vulgaris* e cinco doses do indaziflam (0; 5; 10; 20; 40 g ha⁻¹), sendo selecionadas as espécies vegetais *Canavalia ensiformis* e *Mucuna pruriens* tolerantes ao herbicida indaziflam. Na segunda, o experimento foi montado no delineamento inteiramente casualizado, com 10 tratamentos e três repetições. Sendo 10 isolados bacterianos que se destacaram quanto ao crescimento em meio mineral líquido modificado + indaziflam, os quais foram avaliados quanto à capacidade de degradação do herbicida, por meio de quantificação em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), sendo selecionados cinco isolados com capacidade para degradação do indaziflam. Na terceira, avaliou-se a degradação do indaziflam pelas espécies vegetais selecionadas associadas ou não ao consórcio bacteriano formado pelos cinco isolados selecionados. O experimento foi conduzido em esquema fatorial 2 x 4 x 5, com dois níveis de consórcio bacteriano (presença e ausência), quatro níveis para espécies vegetais (*Canavalia ensiformis*, *Mucuna pruriens*, *Canavalia ensiformis* + *Mucuna pruriens* e ausência de espécies vegetais) e cinco doses do indaziflam (0, 10, 20, 40, 80 g ha⁻¹). Na presença do consórcio bacteriano, menores índices de intoxicação da planta bioindicadora foram constatados nos solos sem cultivo de espécies vegetais e cultivado previamente com *Mucuna pruriens* ou *Canavalia ensiformis* + *Mucuna pruriens*. Concluiu-se que as espécies vegetais *Canavalia ensiformis* e *Mucuna pruriens* foram as mais tolerantes ao indaziflam, os isolados bacterianos IN4, IN43, IN50, IN54, IN59 foram os que apresentam maior potencial de

degradação do herbicida e o consórcio bacteriano associado às espécies vegetais selecionadas podem promover biorremediação de solos contaminados com o indaziflam.

Palavras-chave: Fitorremediação. Herbicida. Bactérias.

ABSTRACT

FAUSTINO, Laís Araújo, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, October, 2019. **Development of technique for bioremediation of indaziflam contaminated soils.** Adviser: Francisco Cláudio Lopes de Freitas. Co-advisers: Maurício Dutra Costa and Antonio Alberto da Silva.

The use of persistent soil herbicides reduces the number of crop applications that have a long critical period of weed interference prevention. However, residues of these herbicides in the environment can cause poisoning of non-target organisms, increase the risk of contamination of soil and surface and groundwater, and make it impossible to rotate crops with sensitive species. Among these herbicides, indaziflam stands out. This product has been used in large areas in sugarcane, coffee and eucalyptus crops. In this research techniques were developed to bioremediate indaziflam in contaminated soils. The work was divided into three stages. In the first one, the experiment was composed in a 7 x 5 factorial scheme, in a randomized block design with four replications. Seven plant species *Stizolobium aterrimum*, *Canavalia ensiformis*, *Mucuna pruriens*, *Cajanus cajan*, *Zea mays*, *Vigna unguiculata*, and *Phaseolus vulgaris* and five doses of indaziflam (0; 5; 10; 20; 40 g ha⁻¹), were evaluated plant species *Canavalia ensiformis* and *Mucuna pruriens* herbicide tolerant indaziflam. In the second, the experiment was set up in a completely randomized design with 10 treatments and three replications. Being 10 bacterial isolates that stood out for growth in modified liquid mineral medium + indaziflam, which were evaluated for herbicide degradation capacity by quantification in high performance liquid chromatography (HPLC), and five isolates with capacity for indaziflam degradation. In the third, the indaziflam degradation technique was validated by the selected plant species associated or not with the bacterial consortium formed by the five selected isolates. The experiment was composed in a 2 x 4 x 5 factorial scheme, with two levels of bacterial consortium (presence and absence), four levels for plant species (*Canavalia ensiformis*, *Mucuna pruriens*, *Canavalia ensiformis* + *Mucuna pruriens* and absence of plant species) and five levels doses of indaziflam (0, 10, 20, 40, 80 g ha⁻¹). In the presence of bacterial consortium, lower rates of poisoning of the bioindicator plant were found in soils without cultivation of plant species and previously cultivated with *Mucuna pruriens* or *Canavalia ensiformis* + *Mucuna pruriens*. It was concluded that the plant species *Canavalia ensiformis* and *Mucuna pruriens* were the most tolerant to indaziflam, the bacterial isolates IN4, IN43, IN50, IN54, IN59 were the ones with higher herbicide degradation potential and bacterial

consortium associated with the selected plant species promote bioremediation of soils contaminated with indaziflam.

Keywords: Phytoremediation. Herbicide. Bacteria.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	12
CAPÍTULO 1	14
REFERENCIAL TEÓRICO: ESPÉCIES VEGETAIS E BACTÉRIAS NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO COM HERBICIDA INDAZIFLAM	15
INDAZIFLAM	15
BIORREMEDIAÇÃO	16
FITORREMEDIAÇÃO	18
MICRO-ORGANISMOS NA REMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS	19
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
CAPÍTULO 2	26
SELEÇÃO DE ESPÉCIES VEGETAIS TOLERANTES AO INDAZIFLAM VISANDO PROGRAMA DE FITORREMEDIAÇÃO	27
RESUMO	27
ABSTRACT	28
INTRODUÇÃO	29
MATERIAL E MÉTODOS	30
RESULTADOS	32
DISCUSSÃO	41
CONCLUSÃO	42
AGRADECIMENTOS	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
CAPÍTULO 3	46
SELEÇÃO DE ISOLADOS BACTERIANOS DEGRADADORES DO HERBICIDA INDAZIFLAM	47
RESUMO	47
ABSTRACT	48

INTRODUÇÃO.....	49
MATERIAL E MÉTODOS.....	50
RESULTADOS	53
DISCUSSÃO.....	57
CONCLUSÃO.....	59
AGRADECIMENTOS	59
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
CAPÍTULO 4.....	63
EFICIÊNCIA DO CONSÓRCIO ENTRE PLANTAS E ISOLADOS BACTERIANO NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO COM INDAZIFLAM	64
RESUMO	64
ABSTRACT	65
INTRODUÇÃO.....	66
MATERIAL E MÉTODOS.....	67
RESULTADOS	70
DISCUSSÃO.....	85
CONCLUSÕES.....	87
AGRADECIMENTOS	87
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87
CONSIDERAÇÕES FINAIS	91

INTRODUÇÃO GERAL

Os herbicidas são utilizados na agricultura para controle de plantas daninhas. Muitos desses herbicidas são persistentes, a exemplo do indaziflam, possibilitando o controle adequado de plantas daninhas na área por um período maior, reduzindo com isso o número de aplicações.

Entretanto, a presença do herbicida no solo por período de tempo prolongado passa a ser indesejável, podendo inviabilizar o sistema de rotação de culturas (efeito *carryover*) ou culturas intercaladas, pode provocar a intoxicação de organismos não alvo, ser lixiviado no perfil dos solos e causar a contaminação de águas subterrâneas e superficiais devido ao escoamento superficial, o que pode elevar os riscos de contaminação ambiental.

Em decorrência dos problemas ambientais e agrônômicos causados pelos herbicidas com longa persistência no solo, tem-se aumentado o interesse por técnicas como a biorremediação, que visam explorar agentes biológicos para a degradação e transformação de poluentes orgânicos em baixas concentrações, minimizando os efeitos negativos da presença desses herbicidas no ambiente.

O indaziflam, possui baixa solubilidade em água e meia-vida no solo superior a 150 dias, pertence à classe química denominada alquilazina, tem como mecanismo de ação a inibição da biossíntese de celulose e apresenta efeito satisfatório para o controle de monocotiledôneas e eudicotiledôneas. No Brasil, esse herbicida encontra-se registrado para uso nas culturas de banana, café, caju, cana-de-açúcar, citros, coco, dendê, eucalipto, goiaba, maçã, manga e uva, visando o manejo em pré-emergência das plantas daninhas.

Estudos envolvendo a fitorremediação de solos com herbicidas geralmente utilizam apenas uma espécie vegetal como remediadora. No presente trabalho, testou-se a capacidade de fitorremediação de duas espécies vegetais distintas na associação com um consórcio bacteriano. No entanto, são escassos na literatura trabalhos envolvendo a utilização de plantas e consórcio bacteriano associados para biorremediação do herbicida indaziflam.

Assim, diante da frequente utilização do indaziflam no Brasil nas culturas da cana-de-açúcar e café e no reflorestamento para controle de plantas daninhas, da preocupação em impedir a contaminação de solos e águas, da importância da biorremediação como técnica para descontaminação de solos e pela falta de trabalhos com plantas fitorremediadoras associadas a consórcios microbianos, propôs-se a realização deste trabalho.

No capítulo 1 foi apresentado o referencial teórico que serviu como base para o desenvolvimento deste trabalho. No capítulo 2 foram selecionadas duas espécies tolerantes ao indaziflam, *C. ensiformis* e *M. pruriens*, indicando potencial para serem inseridas em programas

de fitorremediação de solos contaminados com o herbicida indaziflam. No capítulo 3, isolou bactérias degradadoras do indaziflam em meio de cultura a partir de solo com histórico recente de aplicação de diferentes herbicidas e em área de mata nativa, sem histórico de aplicação de herbicidas. Os isolados bacterianos apresentaram capacidade diferenciada de degradar o ingrediente ativo na formulação comercial ou no padrão técnico e apresentam potencial de uso em programas de biorremediação de solos contaminados com o indaziflam. Por fim, no capítulo 4, avaliou-se a associação entre o consórcio bacteriano e espécies vegetais na biorremediação de solo contaminado com o herbicida indaziflam. Os resíduos do herbicida no solo foram detectados por meio de bioensaio e cromatografia líquida de alta eficiência.

CAPÍTULO 1

REFERENCIAL TEÓRICO: ESPÉCIES VEGETAIS E BACTÉRIAS NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO COM HERBICIDA INDAZIFLAM

O uso de herbicidas para o controle químico de plantas daninhas é prática indispensável para a agricultura moderna, sendo a classe de agrotóxico mais consumida no mundo (FAOSTAT, 2018). Após a aplicação, os herbicidas podem seguir diferentes destinos, governados por processos como sorção, lixiviação e escoamento superficial, degradação química e, ou biológica e a absorção pelas plantas, podendo também, ocorrer interação entre os respectivos processos (MANCUSO et al., 2011, CARA et al., 2017).

Alguns desses herbicidas possuem persistência elevada no solo, o que é importante para o controle por período maior, sem que haja necessidade de outras aplicações (PROCÓPIO et al., 2009). No entanto, a persistência prolongada do herbicida no ambiente pode ser indesejável, podendo inviabilizar o sistema de rotação de culturas (efeito *carryover*) ou culturas intercaladas (DAN et al., 2012). Além disso, pode provocar a intoxicação de organismos não alvo (VIEIRA et al., 2007; LANE et al., 2012; SILVA et al., 2014), ser lixiviados no perfil dos solos e causar a contaminação de águas subterrâneas (SANTOS et al., 2015) e de águas superficiais devido ao escoamento superficial (MARCHESAN et al., 2010; OTTO et al., 2012).

Em razão da longa persistência, o conhecimento de técnicas que venha favorecer a remediação de solos contaminados por esse herbicida é de grande interesse prático. Assim, como forma de descontaminação de solos submetidos a aplicações de herbicidas, técnicas de biorremediação têm sido utilizadas.

A biorremediação consiste no emprego de espécies vegetais associadas com micro-organismos utilizadas na descontaminação de solos, apresentando-se como técnica eficiente, promissora (CHELINHO et al., 2010) e interessante devido, principalmente, aos baixos custos e por ser estratégia com mínima intervenção na recuperação dos ambientes contaminados.

INDAZIFLAM

O indaziflam (*N*-[(1*R*,2*S*)-2,3-dihydro-2,6-dimethyl-1*H*-inden-1-yl]-6-[(1*R*)-1-fluoroethyl]-1,3,5-triazine-2,4-diamine) (Figura 1), é herbicida pertencente à classe química alquilazina (TOMPKINS, 2010). Possui como características físico-químicas baixa solubilidade em água (0,0028 kg m⁻³ a 20°C), o *K*_{oc} < 1.000 mL g⁻¹ de carbono orgânico, o p*K*_a = 3,5 e o log *K*_{ow} em pH 4; 7 ou 9 = 2,8 e meia-vida no solo (t_{1/2}) superior a 150 dias. É classificado como moderadamente móvel no solo a móvel (TOMPKINS, 2010) ou a pouco

móvel no solo (ALONSO et al., 2011; JHALA; SINGH, 2012), porém seus produtos de degradação (indaziflam-ácido carboxílico, fluoroetildiaminotriazina e fluoroetiltriazinanodiona) são mais móveis (USEPA, 2010).

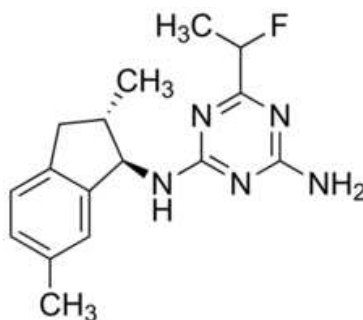


Figura 1: Estrutura química do herbicida indaziflam.

Este herbicida tem como mecanismo de ação a inibição da biossíntese de celulose, fazendo com que novas células da parede celular não sejam formadas, ocorrendo paralisação do desenvolvimento da planta (GRIFFIN, 2005; TOMPIKINS, 2010; GUERRA et al., 2013). A inibição supostamente acontece na etapa da reticulação das microfibrilas de celulose (GUERRA et al. 2013; BRABHAM, 2016). Além disso, o indaziflam também inibe a disposição dos cristais de celulose na parede celular, prejudicando o alongamento e a divisão celular em função da má formação da parede celular.

É recomendado para aplicação em pré-emergência das plantas daninhas, atuando sobre plantas monocotiledôneas e algumas eudicotiledôneas (AMIM et al., 2014), porém é mais eficiente no controle de monocotiledôneas (SEBASTIAN et al., 2017). Possui registro no Brasil para controle de plantas daninhas nas culturas de cana-de-açúcar, café, citros, eucalipto, pinus, banana, caju, coco, dendê, goiaba, manga, maçã e uva (MAPA, 2019).

Trabalhos realizados por Gonçalves (2018) e Souza (2018) constataram que, apesar da baixa retenção do indaziflam aos coloides do solo, sua sorção é influenciada pelos teores de matéria orgânica e pH. Solos com pH elevado (acima de 5,5) e com baixas concentrações de matéria orgânica tendem a deixar o herbicida mais disponível na solução para absorção pelas culturas e para processos de lixiviação.

BIORREMEDIAÇÃO

A biorremediação é um processo no qual organismos vivos, geralmente microrganismos e, ou plantas, são utilizados para alterar ou decompor determinados poluentes, transformando-

os em substâncias menos nocivas ou inertes (JACQUES et al., 2010). Essa biotecnologia pode ser utilizada em águas superficiais e subterrâneas, bem como em solos e resíduos industriais, em aterros e áreas de contenção. Esse método biológico tem sido a maneira mais ecologicamente adequada e eficaz de se degradar substâncias tóxicas, além de ser, em geral, mais barato (BAMFORTH; SINGLETON, 2005; OTENIO et al., 2005; MARTINS et al., 2007; JESUS et al., 2009; XU et al., 2009; ZHANG et al., 2013; NITISAKULKAN et al., 2014).

Para eliminação dos poluentes do ambiente, podem ser utilizadas técnicas de biorremediação *in situ*, como atenuação natural, bioaugmentação, bioestimulação, fitorremediação e “landfarming”, ou técnicas de biorremediação *ex situ*, como compostagem e biorremediadores (JACQUES et al., 2007).

O tratamento *ex-situ* (ou *off-site*), realizado fora do local onde ocorreu a contaminação, requer a escavação e a remoção do solo contaminado para outro local, tornando o processo mais caro, enquanto que o *in-situ* (ou *on-site*), é realizado no próprio local da contaminação (ANDRADE et al., 2010). Sendo este mais atrativo e economicamente viável, quando comparado ao tratamento *ex-situ*. Além disso, o tratamento *in-situ*, normalmente, incide em menores impactos ambientais (NANO et al., 2003).

Segundo Andrade et al. (2010), as bactérias são as mais utilizadas e, por isso, são consideradas como o componente principal em trabalhos que envolvem a biodegradação de solos contaminados, pelo seu rápido crescimento, fácil cultivo e produção de inoculantes. São importantes, em função de seus efeitos bioquímicos e por destruírem ou transformarem os poluentes potencialmente perigosos em compostos mais simples e menos tóxicos ao ser humano e ao meio ambiente (NRC, 1993).

A biodegradação de um complexo de moléculas normalmente envolve o efeito mútuo das comunidades de microrganismos associado ou não a plantas, e conta com a versatilidade metabólica de bactérias e fungos (SILVA; FAY, 2004). Segundo Lopez et al. (2005), o maior grupo de bactérias isoladas foram identificadas como gram-negativas e classificadas como membros do gênero *Pseudomonas* (41%) e *Aeromonas* (31%), retiradas de amostras de água de um lago oligotrófico.

A biorremediação consiste em três princípios básicos: presença do micro-organismo, disponibilidade do contaminante e as condições ambientais adequadas para o crescimento e atividade microbiana (MENEGETTI, 2007). Assim, a biorremediação revela-se como técnica eficiente, promissora (CHELINHO et al., 2010) e interessante devido, principalmente, aos baixos custos e por envolver mínima intervenção, na maioria das vezes, na recuperação dos ambientes contaminados.

FITORREMEDIAÇÃO

A fitorremediação é uma das técnicas de biorremediação mais estudadas, devido à sua eficiência na descontaminação dos solos e por ser alternativa viável, de baixo custo, que promove a manutenção da fertilidade do solo. Essa técnica consiste no uso de espécies vegetais, sua comunidade microbiana associada e de amenizantes das condições do solo (corretivos, fertilizante, matéria orgânica etc.), além de práticas agronômicas que, se aplicadas em conjunto, removem, imobilizam ou tornam os contaminantes inofensivos para o ecossistema (ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000).

O conceito de se utilizar espécies vegetais em ambientes contaminados não é novo. No fim do século 19, *Thlaspi caerulescens* e *Viola calaminaria* foram as primeiras espécies vegetais documentadas por acumular altos níveis de metais nas folhas (LASAT et al., 2000). A fitorremediação pode ser usada em solos contaminados com substâncias orgânicas ou inorgânicas, como metais pesados, elementos contaminantes, hidrocarbonetos de petróleo, agrotóxicos, explosivos, solventes clorados e subprodutos tóxicos da indústria (CUNNINGHAM et al., 1996).

Entretanto a fitorremediação de solos com herbicidas tem menos eficácia que outros compostos (PIRES et al., 2005), porque em geral, é mais difícil trabalhar com compostos orgânicos, em razão da diversidade molecular, complexidade da análise e das constantes transformações a que estão sujeitos. Os metais pesados, por exemplo, são mais facilmente quantificados e raramente formam metabólitos intermediários no solo, como ocorre na biodegradação de compostos orgânicos (CUNNINGHAM et al., 1996).

A fitorremediação apresenta elevado potencial de utilização, entre as inúmeras vantagens, destacam-se algumas características, como o menor custo, os compostos orgânicos podem ser degradados a CO₂ e H₂O, remoção de toda fonte de contaminação, as plantas são mais fáceis de serem monitoradas, as propriedades biológicas e físicas do solo são mantidas, há incorporação da matéria orgânica ao solo e controle da erosão, utiliza-se a energia solar e há alta probabilidade de aceitação pública (COLE et al. 1995; CUNNINGHAM et al. 1996; VOSE et al. 2000).

Já em relação às limitações da técnica, destacam-se a dificuldade na seleção de plantas com potencial para fitorremediação, o tempo requerido para obtenção de resultado satisfatório ser longo, condições edáficas podem restringir o crescimento de plantas selecionadas, e possibilidade das plantas fitorremediadoras tornarem-se indesejáveis (NARAYANAN et al. 1996; CUNNINGHAM et al. 1996; MACEK et al. 2000). Os herbicidas podem ser translocados

para outros tecidos da planta e subsequentemente volatilizados; podem ainda sofrer parcial ou completa degradação ou ser transformados em compostos menos tóxicos, especialmente menos fitotóxicos, combinados e, ou ligados a tecidos das plantas (compartimentalização) (ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000; SCRAMIN et al., 2001).

Várias pesquisas têm comprovado a eficácia de plantas na fitorremediação de herbicidas (MADALÃO et al., 2012a, b; SANTOS et al., 2012; MITTER et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2014; MITTON et al., 2014; BELO et al., 2016; MADALÃO et al., 2017).

Para seleção de espécies fitorremediadoras é preciso que seja avaliado inicialmente um número elevado de espécies, sendo que o primeiro passo na seleção é que as espécies apresentem tolerância ao herbicida estudado. Contudo, deve-se evitar a utilização de espécies de difícil controle posterior e, se possível, selecionar espécies que promovam outros benefícios ao solo, como é o caso dos adubos verdes.

Os principais tipos de fitorremediação são: Fitoextração, o processo é iniciado quando ocorre a remoção dos contaminantes do solo e posterior retenção no tecido vegetal; Fitotransformação, técnica que pode ser aplicada tanto no tratamento da água como do solo, na qual o metabolismo da planta atua na degradação dos contaminantes; Fitoestimulação, onde a estimulação da atividade dos micro-organismos degradadores dos contaminantes ocorre na rizosfera da planta; e Fitoestabilização, nesta técnica as plantas são utilizadas para reduzir a migração dos contaminantes no solo.

MICRO-ORGANISMOS NA REMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS

A poluição tornou-se preocupação global devido à contaminação do ambiente com compostos indesejáveis e ao efeito negativo que esses poluentes causam não somente no ambiente, mas também na saúde humana (MARTINS; AZEVEDO, 2012). Na busca de alternativas para despoluir áreas contaminadas por diversos compostos orgânicos, tem-se optado por soluções que englobam: eficiência na descontaminação, simplicidade na execução, menor tempo demandado pelo processo e menor custo.

A persistência de um contaminante no solo depende de suas propriedades físico-químicas, das propriedades do solo, da interação com o solo e mudanças estruturais da molécula as quais irão determinar sua degradabilidade (LAVORENTI, 1996). Os solos diferem entre si nas atividades metabólicas microbianas, sendo estas afetadas pela estrutura e composição, dentre outras características (SABATÉ et al., 2004),

A biorremediação consiste na utilização de microrganismos autóctones, ou seja, do próprio local, sem qualquer interferência de tecnologias ativas de remediação; na adição de agentes estimulantes (bioestimulação) como: oxigênio e biossurfactantes; e na inoculação de consórcios microbianos enriquecidos (bioaumento) (BENTO et al., 2003).

Os produtos finais de uma biorremediação efetiva são nitratos, sulfatos, fosfatos, formas amoniacais, água, gás carbônico e outros compostos inorgânicos resultantes do processo de mineralização. Estes compostos não apresentam toxicidade e podem ser incorporados ao ambiente sem prejuízo aos organismos vivos (MARIANO, 2007).

Bactérias e fungos são agentes transformadores eficazes, haja vista a capacidade desses microrganismos de degradar ampla diversidade de substâncias orgânicas (DESAI & DESAI, 1993). Segundo Mariano (2007), a estrutura química dos poluentes orgânicos tem profunda influência na capacidade dos micro-organismos metabolizarem essas moléculas, especialmente com respeito às taxas e extensão da biodegradação, sendo que alguns compostos orgânicos são rapidamente biodegradados enquanto outros são recalcitrantes.

Esse referencial teórico teve como objetivo entender a interação plantas e micro-organismos na biorremediação de solos contaminados com herbicidas, bem como a caracterização do herbicida indaziflam.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V. V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R. (ed.). **Tópicos em Ciência do solo**. v.1. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2000. p.299-352.

ALONSO, D.G.; KOSKINEN, W.C.; OLIVEIRA JR, R.S.; CONSTANTIN, J.; MISLANHA, S. Sorption-desorption of indaziflam in selected agricultural soils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, n. 4, p. 3096-3101, 2011.

AMIM, R. T.; FREITAS, S. P.; FREITAS, I. L. J.; GRAVINA, G. A.; PAES, H. M. F. Controle de plantas daninhas pelo indaziflam em solos com diferentes características físico-químicas. **Planta Daninha**, v. 32, n. 4, p. 791-800, 2014.

ANDRADE, J. A.; AUGUSTO, F & JARDIM, I. C. S. F. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Eclética Química**, 35 - 3: 17 - 43, 2010.

BAMFORTH, S.; SINGLETON, I. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 80, n. 7, p. 723 - 736, 2005.

BELO, A.F. et al. Atividade fotossintética de plantas cultivadas em solo contaminado com sulfentrazone. **Revista Brasileira de Herbicidas** 15: 165-174, 2016.

BENTO, F. M.; CAMARGO, F. A. O.; OKEKE, B. Bioremediation of soil contaminated by diesel oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.34, supl.1, p. 65-68, Nov. 2003.

BRABHAM, CHAD B. Probing the plant cell wall with herbicides: a chemical genetics approach. 2016.

CARA, I. G., RUSU, B. G., RAUS, L., & JITAREANU, G. Sorption potential of alkaline treated straw and a soil for sulfonylurea herbicide removal from aqueous solutions: An environmental management strategy. **Chemosphere**, 186, p.360-366, 2017.

CHELINHO, S.; MOREIRA-SANTOS, M.; LIMA, D.; SILVA, C.; VIANA, P.; ANDRÉ, S.; LOPES, I.; RIBEIRO, R.; FIALHO, A. M.; VIEGAS, C. A.; SOUSA, J. P. Cleanup of atrazine-contaminated soils: ecotoxicological study on the efficacy of a bioremediation tool with *Pseudomonas sp.* ADP. **Journal of Soils and Sediments**, v. 10, p. 568 - 578, 2010.

COLE, M. A.; ZHANG, L.; LIU, X. Remediation of pesticide-contaminated soil by planting and compost addition. **Compost Science Utilization**, v. 3, p. 20-30, 1995.

CUNNINGHAM, S. D.; ANDERSON, T. A.; SCHWAB, A. P. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. **Advances in Agronomy**, v. 56, p. 55-114, 1996.

DAN, H. A. et al. Resíduos de herbicidas utilizados na cultura da soja sobre o milho cultivado em sucessão. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 1, p. 86-91, 2012.

DESAI, J. D.; DESAI, A. J. Biosurfactants: production, properties, applications. Ed. Nain Kosaric, University of Western Ontario: London, Canada, cap. 3, 504 p., 1993.

FAOSTAT, 2018 – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Pesticides Use**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/RP>>. Acesso em: 01 de janeiro de 2019.

GONÇALVES, V. A. Dinâmica do indaziflam em solos do Brasil avaliada pelas técnicas da planta indicadora e cromatografia. 2018. 66f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2018.

GRIFFIN, J.L. Inhibition of cell wall synthesis. **Weed Course**.p.150-153, 2005.

GUERRA, N. et al. Aminocyclopyrachlor e indaziflam: seletividade, controle e comportamento no ambiente. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 12, n. 3, p. 285-295, 2013.

JACQUES, R. J. S.; BENTO, F. M.; ANTONIOLLI, Z. I.; CAMARGO, F. A. O. Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. **Ciência Rural**, 37:1192-1201, 2007.

JACQUES, R. J. S.; SILVA, K. J. da; BENTO, F. M.; CAMARGO, F. A. O. Biorremediação de um solo contaminado com antraceno sob diferentes condições físicas e químicas. **Ciência Rural**, 40(2):280-287, 2010.

JESUS, S. L.; ARÉVALO, R.A.; ROMÃO, G. O.; ROSSI, L. M.; COSCIONE, A. R.; NOGUEIRA, N. L. Potencial de utilização de *Cyperus rotundus* na descontaminação de áreas

de descarte de resíduos industriais com elevados teores de metais. **Planta Daninha**, v. 27, n. 4, p. 641 - 645, 2009.

JHALA, A.J.; SINGH, M. Leaching of indaziflam compared with residual herbicides commonly used in Florida citrus. **Weed Technology**, v. 26, n. 3, p. 602-607, 2012.

LANE, M.; LORENZ, N.; SAXENA, J.; RAMSIER, C.; DICK, R. P. Microbial activity, community structure and potassium dynamics in rhizosphere soil of soybean plants treated with glyphosate. *Pedobiologia* - **International Journal of Soil Biology**, v. 55, p. 153 - 159, 2012.

LASAT, M. M.; KOCHIAN, L. V. Physiology of Zn hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*. In: TERRY, N.; BAÑUELOS, G. (Ed.). Phytoremediation of contaminated soil and water. Boca Raton: Lewis Publishers, 2000. p.159-169.

LOPEZ, L.; POZO, C.; RODELAS, B.; CALVO, C.; JUAREZ, B.; MARTINEZ-TOLEDO, M.V.; GONZALEZ-LOPEZ, J. Identification of bacteria isolated from oligotrophic lake with pesticide removal capacities. **Ecotoxicology** 14, 299-312, 2005.

MACEK, T.; MACKOVÁ, M.; KÁŠ, J. Exploitation of plants for the removal of organics in environmental remediation. **Biotechnology Advances**, v. 18, p. 23-34, 2000.

MADALÃO, J. C. PIRES, F. R.; CARGNELUTTI FILHO, A.; CHAGAS, K.; NASCIMENTO, A. F.; GARCIA, G. de O. Fitorremediação de solos contaminados com o herbicida sulfentrazone por espécies de adubos verdes. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 55, n. 4, p. 288-296, 2012b.

MADALÃO, J. C.; PIRES, F. R.; CHAGAS, K.; CARGNELUTTI FILHO, A.; PROCÓPIO, S. O. Uso de leguminosas na fitorremediação de solo contaminado com sulfentrazone. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, n. 4, p. 390-396, 2012a.

MADALÃO, J.C. et al. Action of *Canavalia ensiformis* in remediation of contaminated soil with sulfentrazone. **Bragantia** 76:292-299, 2017.

MANCUSO, M. A. C.; NEGRISOLI, E.; PERIM, L. Efeito residual no solo (“*Carryover*”). **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 10, n. 2, p. 151- 164, 2011.

MAPA – MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Agrofit 2003: sistema de informação. Brasília, 2015. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/agrofit>. Acesso em: janeiro de 2019.

MARCHESAN, E.; SARTORI, G. M. S.; AVILA, L. A.; MACHADO, S. L. O.; ZANELLA, R.; PRIMEL, E. G.; MACEDO, V. R. M.; MARCHEZAN, M. G. Resíduos de agrotóxicos na água de rios da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 40, n. 5, p. 1053 - 1059, 2010.

MARIANO, A. P.; ANGELIS, D. F.; BONOTTO, D. Monitoramento de indicadores geoquímicos e avaliação de biodegradação em área contaminada com óleo diesel. **Engenharia Sanitária e Ambiental**. 2007, vol.12, n.3, pp. 296-304.

MARTINS, P. F.; AZEVEDO, R. A. Perspectivas do uso de microrganismos na biorremediação. Disponível em: <<http://www.genetica.esalq.usp.br/pub/seminar/PFMartins-200701-Resumo.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2019.

MARTINS, P. F.; MARTINEZ, C. O.; CARVALHO, G.; CARNEIRO, P. I. B.; AZEVEDO, R. A.; PILEGGI, S. A. V.; MELO, I. S.; PILEGGI, M. Selection of microorganisms degrading S-Metolachlor herbicide. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 50, n. 1, p. 153 - 159, 2007.

MENEGHETTI, L. R. R. Biorremediação na descontaminação de solo residual de basalto contaminado com óleo diesel e biodiesel. Passo Fundo: UPF, 2007.

MITTER, B.; PETRIC, A.; SHIN, M. W.; CHAIN, P. S.; HAUBERG-LOTTE, L.; REINHOLD-HUREK, B.; NOWAK, J.; SESSITSCH, A. Comparative genome analysis of Burkholderia phytofirmans PsJN reveals a wide spectrum of endophytic lifestyles based on interaction strategies with host plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 1–15, 2013.

MITTON, M. F.; MIGLIORANZA, K. S. B.; GONZALEZ, M.; SHIMABUKURO, V. M.; MONSERRAT, J. M. Assessment of tolerance and efficiency of crop species in the phytoremediation of DDT polluted soils. **Ecological Engineering**, v. 71, p.501–508, 2014.

NANO, G.; BORRONI, A. & ROTA, R. Combined slurry and solid phase bioremediations of diesel contaminated soil. **Journal of Hazardous Materials**, B100:79-94, 2003.

NARAYANAN, M. et al. Experimental and modeling studies of the fate of trichlorethylene in a chamber with alfafa plants. 1996. Online. Disponível em <http://www.engg.ksu.edu/HSRC/home.html>. Acesso em: 12 dez. 2017.

NITISAKULKAN, T.; OKU, S.; KUDO, D.; NAKASHIMADA, Y.; TAJIMA, T.; VANGNAI, A. S.; JUNICHI, K. Degradation of chloroanilines by toluene dioxygenase from *Pseudomonas putida* T57. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 117, n. 3, p. 292 - 297, 2014.

NRC: NATIONAL RESEARCH COUNCIL. In Situ Bioremediation: When Does It Work? Washington, DC, National Academy Press, 1993.

OLIVEIRA, V.; GOMES, N. C. M; ALMEIDA, A.; SILVA, A. M. S.; SIMÕES, M. M. Q.; SMALLA, K.; CUNHA, A. Hydrocarbon contamination and plant species determine the phylogenetic and functional diversity of endophytic degrading bacteria. **Molecular Ecology**, v. 23, n. 6, p. 1392–1404, 2014.

OTENIO, M. H.; SILVA, M. T. L.; MARQUES, M. L. O.; ROSEIRO, J. C.; BIDOIA, E. D. Benzene, toluene and xylene biodegradation by *Pseudomonas putida* CCM1 852. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 36, p. 258 - 261, 2005.

OTTO S.; CARDINALI, A.; MAROTTA, E.; PARADISI, C.; ZANIN, G. Effect of vegetative filter strips on herbicide runoff under various types of rainfall. **Chemosphere**, v. 88, p. 113 - 119, 2012.

PIRES, F. R.; SOUZA, C. M.; CECON, P. R.; SANTOS, J. B.; TOTOLA, M. R.; PROCOPIO, S. O.; SILVA, A. A.; SILVA, C. S. W. Inferências sobre atividade rizosférica de espécies com

potencial para fitorremediação do herbicida tebuthiuron. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, p. 627 - 634, 2005.

PROCÓPIO, S. O.; CARMO, M. L.; PIRES, F. R.; FILHO, A. C.; BRAZ, G. B. P.; SILVA, W. F. P.; BARROSO, A. L. L.; SILVA, G. P.; CARMO, E. L.; BRAZ, A. J. B. SANTOS, E. A.; CORREIA, N. M.; SILVA, J. R. M.; VELINI, E. D.; PASSOS, A.B.R.J.; P.; PACHECO, L. P. Efeito da densidade populacional de *Panicum maximum* (cultivar Tanzânia) na fitorremediação de solo contaminado com o herbicida picloram. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 2, p. 295 - 304, 2009.

SABATÉ, J.; VIÑAS, M.; SOLANAS, A. M. Laboratory-scale bioremediation experiments on hydrocarbon contaminated soils. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 54, n. 1, p. 19-25, 2004.

SANTOS, C. H.; GARCIA, A. L. O.; CALONEGO, J. C.; TIRITAN, C. S.; RIGOLIN, I. M.; SPÓSITO, T. H. N. Utilização da mucuna preta (*Mucuna aterrima* Piper & Tracy) para a fitorremediação de solo contaminado por chumbo. **Revista Agro@mbiente**, v. 6, n. 3, p. 215-221, 2012.

SANTOS, E. A.; CORREIA, N. M.; SILVA, J. R. M.; VELINI, E. D.; PASSOS, A.B.R.J.; DURIGAN, J. C. Detecção de herbicidas em água subterrânea na microbacia do Córrego Rico (SP). **Planta Daninha**, v. 33, n. 1, p. 147-155, 2015.

SCRAMIN, S.; SKORUPA, L.A.; MELO, I.S. Utilização de plantas na remediação de solos contaminados por herbicidas – Levantamento da flora existente em áreas de cultivo de cana-de-açúcar. In: MELO, I. S.; SILVA, C. M. M. S.; SCRAMIN, S.; SPESSOTO, A. **Biodegradação**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2001. p.369-371.

SEBASTIAN, D. J., FLEMING, M. B., PATTERSON, E. L., SEBASTIAN, J. R., & NISSEN, S. J. Indaziflam: A New Cellulose Biosynthesis Inhibiting Herbicide Provides Long-Term Control of Invasive Winter Annual Grasses. **Pest Management Science**, 2017.

SILVA, C.M.M.S; FAY, E.F. Pesticidas & Ambiente. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p.145-192, 2004.

SILVA, G. S.; MELO, C. A. D.; FIALHO, C. M. T.; TUFFI SANTOS, L. D.; COSTA, M. D.; SILVA, A. A. Impact of sulfentrazone, isoxaflutole and oxyfluorfen on the microorganisms of two forest soils. **Bragantia**, v. 73, n. 3, p. 292 - 299, 2014.

SOUZA, W. M. **Influência dos atributos do solo na sorção e lixiviação do indaziflam em solos tropicais**. 2018. 76f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2018.

TOMPKINS, J. 2010. Pesticide Fact Sheet: Indaziflam. Environmental Protection Agency. Unites States. Disponível em: <http://www.epa.gov/opp00001/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-80818_26-Jul10.pdf> Acessado em: 20 de jan. de 2018.

USEPA. Pesticide fact sheet, 2010. Conditional registration, 2010. 108 p.

VIEIRA, R. F.; SILVA, C. M. M. S.; SILVEIRA, A. P. D. Soil microbial biomass C and symbiotic processes associated with soybean after sulfentrazone herbicide application. **Plant Soil**, v. 300, p. 95 - 103, 2007.

VOSE, J. M. et al. Leaf water relations and sapflow in Eastern cottonwood (*Populus deltoides* Bartr.) trees planted for phytoremediation of a groundwater pollutant. **International Journal of Phytoremediation**, v. 2, p. 53-73, 2000.

XU, J., LI, X. S., XU, Y. J., QIU, L. H., PAN, C. P. Biodegradation of pyrazosulfuronethyl by three strains of bacteria isolated from contaminated soils. **Chemosphere**, v. 74, p. 682 - 687, 2009.

ZHANG, J. J.; CHEN, Y. F.; FANG, T.; ZHOU, N. Y. Co-metabolic degradation of tribenuron methyl, a sulfonylurea herbicide, by *Pseudomonas sp.* strain NyZ42. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 76, p. 36 - 40, 2013.

CAPÍTULO 2

SELEÇÃO DE ESPÉCIES VEGETAIS TOLERANTES AO INDAZIFLAM VISANDO PROGRAMA DE FITORREMEDIAÇÃO

RESUMO: Herbicidas que apresentam longa persistência no solo são de grande interesse para uso em diversas culturas. Entretanto, esses herbicidas podem contaminar o solo e águas superficiais e subterrâneas, além disso podem inviabilizar a rotação de cultivos. Dentre esses herbicidas, destaca-se o indaziflam, que é muito utilizado no Brasil nas culturas da cana-de-açúcar e café e no reflorestamento. Uma das alternativas para reduzir a persistência de herbicidas no solo é o cultivo em áreas contaminadas de espécies tolerantes que podem se associar a microrganismo do solo promovendo a remediação. Objetivou-se com esta pesquisa selecionar espécies vegetais com potencial para utilização em programas de fitorremediação de solos contaminados com o herbicida indaziflam. O experimento foi montado em esquema fatorial 7x5, no delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições. Foram avaliadas sete espécies previamente selecionadas (*Stizolobium aterrimum*, *Canavalia ensiformis*, *Mucuna pruriens*, *Cajanus cajan*, *Zea mays*, *Vigna unguiculata* e *Phaseolus vulgaris*) as quais foram submetidas a cinco doses de indaziflam (0; 5; 10; 20; 40 g ha⁻¹), aplicadas em pré-emergência, no sentido de verificar a tolerância destas ao referido herbicida e seu potencial para uso em programas de fitorremediação. Aos 14, 21, 28 e 35 DAS foram realizadas avaliações visuais de intoxicação nas plantas, utilizando-se escala de 0 a 100%, sendo zero para ausência de sintomas e 100 para a morte da planta. Aos 35 DAS, também foram avaliadas área foliar, a massa de matéria seca da parte aérea e das raízes da planta e volume das raízes. Concluiu-se que *C. ensiformis* e *M. pruriens* foram as mais tolerantes ao indaziflam, indicando potencial para serem inseridas em programas de fitorremediação de solos contaminados com o referido herbicida.

Palavras-chave: Fitorremediação. *Canavalia ensiformis*. *Mucuna pruriens*.

SELECTION OF INDAZIFLAM TOLERANT VEGETABLE SPECIES FOR A PHYTOREMEDIATION PROGRAM

ABSTRACT: Herbicides that have a long persistence in the soil are of great interest for use in several cultures. However, these herbicides can contaminate soil and surface and groundwater, in addition to making crop rotation unfeasible. Among these herbicides, indaziflam stands out, which is widely used in Brazil in the cultivation of sugar cane and coffee and in reforestation. One of the alternatives to reduce the persistence of herbicides in the soil is cultivation in contaminated areas of tolerant species that can be associated with soil microorganisms promoting remediation. The objective of this research was to select plant species with potential for use in phytoremediation programs of soils contaminated with the herbicide indaziflam. The experiment was set up in a 7x5 factorial scheme, in a randomized block design, with four replications. Seven previously selected species were evaluated (*Stizolobium aterrimum*, *Canavalia ensiformis*, *Mucuna pruriens*, *Cajanus cajan*, *Zea mays*, *Vigna unguiculata* and *Phaseolus vulgaris*) which were subjected to five doses of indaziflam (0; 5; 10; 20; 40 g ha⁻¹), applied in pre-emergence, in order to verify their tolerance to said herbicide and its potential for use in phytoremediation programs. At 14, 21, 28 and 35 DAS visual evaluations of intoxication in the plants were performed, using a scale of 0 to 100%, being zero for the absence of symptoms and 100 for the death of the plant. At 35 DAS, the leaf area, the dry matter mass of the aerial part and the roots of the plant and the volume of the roots were also evaluated. It was concluded that *C. ensiformis* and *M. pruriens* were the most tolerant to indaziflam, indicating the potential to be inserted in phytoremediation programs of soils contaminated with this herbicide.

Keywords: Phytoremediation. *Canavalia ensiformis*. *Mucuna pruriens*.

INTRODUÇÃO

O uso de herbicidas trouxe benefícios à agricultura moderna, entretanto, problemas advindos do uso excessivo e contínuo desses produtos têm causado danos ao meio ambiente. O problema torna-se ainda maior quando os herbicidas aplicados possuem longo período residual. Esses herbicidas podem inviabilizar o sistema de rotação de culturas (efeito *carryover*) ou culturas intercaladas (DAN et al., 2012). Além disso, podem provocar a intoxicação de organismos não alvo (VIEIRA et al., 2007; LANE et al., 2012; SILVA et al., 2014), serem lixiviados no perfil dos solos e causar a contaminação de águas subterrâneas (SANTOS et al., 2015) e de águas superficiais devido ao escoamento superficial (MARCHESAN et al., 2010; OTTO et al., 2012).

Dentre os herbicidas que apresentam longo efeito residual no solo e são muito utilizados no Brasil destaca-se o indaziflam (N-[(1R,2S)-2,3-dihidro-2,6-dimethyl-1H-inden-1-yl]-6-[(1R)-1fluoroethyl]-1,3,5-triazine-2,4-diamine). Esse herbicida inibe a biossíntese de celulose, atuando no complexo celulose sintase (BRABHAM et al., 2014). É recomendado para aplicação em pré-emergência das plantas daninhas, atuando sobre plantas monocotiledôneas e algumas eudicotiledôneas (AMIM et al., 2014). Possui registro no Brasil para controle de plantas daninhas nas culturas de cana-de-açúcar, café, citros, eucalipto, pinus, banana, caju, coco, dendê, goiaba, manga, maçã e uva (MAPA, 2019).

O indaziflam possui longo período de persistência no solo, com meia-vida superior a 150 dias (TOMPKINS, 2010). Apresenta baixa solubilidade em água (0,0028 kg m⁻³ a 20°C), $K_{oc} < 1.000 \text{ mL g}^{-1}$ de carbono orgânico, o $pK_a = 3,50$ e o $\log K_{ow}$ em pH 4; 7 ou 9 = 2,80 (TOMPKINS, 2010) e é classificado como móvel a moderadamente móvel no solo (GUERRA et al., 2013).

Em razão dessa longa persistência no solo, o conhecimento de técnicas que venham a favorecer a remediação de solos contaminados por esse herbicida é de grande interesse prático. Aplicações dessas técnicas poderão reduzir os riscos ambientais decorrentes do uso desse herbicida. Segundo SUSARLA et al., 2002 a fitorremediação possibilita a remediação *in situ* de contaminantes inorgânicos e orgânicos no solo e na água. Além disso, é de baixo custo em relação às outras técnicas (NEWMAN et al., 1998). Várias pesquisas têm demonstrado a eficiência dessa técnica em diversos ecossistemas contaminados com compostos orgânicos e inorgânicos (MADALÃO et al., 2012a, b; SANTOS et al., 2012; MITTER et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2014; MITTON et al., 2014; BELO et al., 2016; MADALÃO et al., 2017).

A fitorremediação envolve o uso de plantas e sua microbiota, associada a práticas agronômicas que, se aplicadas em conjunto, removem, imobilizam ou tornam os contaminantes inofensivos ao ecossistema (PIRES et al., 2003a). Vários trabalhos têm resultados satisfatórios na fitorremediação de herbicidas com longo efeito residual que, além de acelerarem a redução dos níveis dos contaminantes no solo, resultam em benefícios como adubos verdes e produção de forragem (PIRES et al., 2003a).

A seleção de espécies vegetais para remediação de resíduos de herbicidas tem limitações, pois herbicidas são contaminantes que possuem grande diversidade molecular e maior complexidade nas análises, diante das constantes transformações a que estão sujeitos (PIRES et al., 2003a). Essa dificuldade pode aumentar ainda mais quando o herbicida possui amplo espectro de ação (SANTOS et al., 2004a). Além disso, o herbicida é utilizado para o controle de plantas, as quais, nesta técnica, são os agentes remediadores (SANTOS et al., 2006).

Em razão disso, a primeira etapa quando se pretende implantar um programa de fitorremediação de solos contaminados com herbicidas consiste na seleção de espécies tolerantes. Essas espécies devem ser de fácil cultivo e, dentro do possível, agregar atributos ao solo que venham melhorar a fertilidade.

Nesta pesquisa, o objetivo foi selecionar espécies vegetais tolerantes ao herbicida indaziflam.

MATERIAL E MÉTODOS

Seleção de espécies vegetais tolerantes ao indaziflam

O experimento foi realizado em casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, em esquema fatorial 7 x 5, no delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições. Foram avaliadas sete espécies vegetais mucuna-preta (*Stizolobium aterrimum*), feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*), mucuna-cinza (*Mucuna pruriens*), feijão-guandu (*Cajanus cajan*), milho (*Zea mays*), feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), e feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*) e cinco doses do indaziflam (0; 5; 10; 20; 40 g ha⁻¹).

As espécies avaliadas no presente trabalho foram escolhidas a partir da condução de ensaio preliminar onde foram avaliadas, as seguintes espécies: mucuna-preta (*Stizolobium aterrimum*), feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*), mucuna-cinza (*Mucuna pruriens*), feijão-guandu (*Cajanus cajan*), lab-lab (*Dolichus lablab*), braquiária (*Urochloa brizantha*), milho (*Zea mays*), girassol (*Helianthus annuus*), feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), soja (*Glycine max*),

milheto (*Pennisetum glaucum*), sorgo (*Sorghum bicolor*), trigo (*Triticum aestivum*), aveia-preta (*Avena strigosa*), crotalaria (*Crotalaria juncea*) e feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*).

Foram utilizados vasos de polietileno com capacidade de 3,6 dm³, revestidos com sacos plásticos, preenchidos com Latossolo Vermelho-Amarelo de textura argilosa (50% de argila, 13,6% de silte e 36,3% de areia), coletado na camada de 0 a 20 cm de profundidade em área sem histórico de aplicação de herbicidas, no Município de Viçosa-MG. A análise química do solo apresentou as seguintes características: pH (água) 5,71; matéria orgânica 3,36 dag kg⁻¹; P e K 6,2 e 68 mg dm⁻³, respectivamente; Ca, Mg, Al, H + Al e CTC efetiva 4,99; 0,81; 0,0; 3,2 e 5,97 cmolc dm⁻³, respectivamente. O solo foi previamente adubado com 0,144 g dm⁻³ de N, 1,044 g dm⁻³ de P₂O₅ e 0,288 g dm⁻³ de K₂O.

Após o preenchimento dos vasos com solo foram semeadas seis sementes por vaso seguidas de irrigação até atingir, aproximadamente, 80% da capacidade de campo. Posteriormente, foi realizada a aplicação do herbicida utilizando-se pulverizador costal, pressurizado com gás carbônico (CO₂), equipado com duas pontas de pulverização tipo leque TT110 02, espaçadas de 0,50 m, com volume de calda de 170 L ha⁻¹.

Após a emergência das plântulas, foi realizado desbaste deixando quatro plantas por vaso. Os vasos foram irrigados sempre que necessário para manter a umidade do solo com aproximadamente 80% da capacidade de campo. Aos 14, 21, 28 e 35 DAS foram realizadas avaliações visuais de intoxicação nas plantas, utilizando-se escala de 0 a 100%, sendo zero para ausência de sintomas e 100 para a morte da planta. Aos 35 DAS, avaliaram-se, também, a área foliar, a massa de matéria seca da parte aérea e das raízes da planta, e volume das raízes.

Para determinação da área foliar (AF - cm²/vaso) foi utilizado medidor de área foliar LI-3100. A massa de matéria seca da parte aérea (MSPA - g/vaso) e das raízes das plantas (MSR - g/vaso) foi obtida por meio de pesagem do material colhido, seco em estufa de circulação forçada (70 ± 2 °C) até atingir massa constante. O volume de raízes (VR - cm³/vaso) foi determinado pelo método do volume de água deslocado em proveta graduada (CARRIGAN; FREY, 1980).

Para a comparação entre as diferentes espécies, que apresentam características morfológicas distintas, os dados de matéria seca da parte aérea e das raízes, área foliar e volume de raízes foram transformados em um índice em relação a testemunha de cada espécie (sem herbicida), que recebeu valor igual a 1,0 (um).

Análise estatística dos dados obtidos

Os dados foram submetidos à análise de variância e de regressão. Para o fator qualitativo utilizou-se o critério de agrupamento de médias de Scott-Knott à 5% de significância e para o fator quantitativo utilizou-se a regressão, e os modelos foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão utilizando-se o teste “t” a 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação e no comportamento do fenômeno em estudo. A partir das equações estabeleceu-se o C₅₀, dose necessária do indaziflam para redução de 50% das características de intoxicação, área foliar, matéria seca da parte aérea, das raízes e volume das raízes.

RESULTADOS

Constatou-se efeito significativo para espécie, dose e interação entre espécie e dose para a característica intoxicação aos 14, 21, 28 e 35 dias após a semeadura (DAS) (Tabela 1).

Tabela 1 - Resumo das análises de variância das variáveis intoxicação aos 14, 21, 28 e 35 dias após a semeadura (DAS)

FV	GL	QM			
		14DAS	21DAS	28DAS	35DAS
Bloco	3	12,03	88,22	117,45	44,94
Espécie	6	8.846,57**	6.702,99**	3.339,71**	3.107,50**
Dose	4	18.011,31**	17.919,20**	14.639,12**	7.612,32**
Espécie x Dose	24	1.089,94**	830,97**	945,24**	1.217,84**
Resíduo	102	134,47	144,49	257,97	127,05
CV (%)		31,9	33,45	55,98	63,50

** F significativo a 1% de probabilidade

Verificou-se no desdobramento dos níveis de intoxicação obtido pelas diferentes espécies dentro de cada dose avaliada do indaziflam (Tabela 2), que *C. ensiformis* e *Z. mays* pertencem ao grupo de espécies com menor intoxicação nas avaliações aos 14 e 21 DAS e *C. ensiformis* e *M. pruriens* na avaliação aos 35 DAS para a dose de 20 g ha⁻¹ indaziflam. Na dose de 40 g ha⁻¹, aos 14 e 21 DAS, as plantas foram separadas em quatro grupos, com menor intoxicação verificada pela *C. ensiformis*, diferentemente do que ocorreu aos 28 DAS, que o grupo com menor intoxicação foi composto pelas espécies *C. ensiformis* e *M. pruriens*. Aos 35 DAS, foram obtidos cinco grupos distintos, sendo o grupo com menor intoxicação *S. aterrimum*, *C. ensiformis* e *M. pruriens*, com índices de intoxicação de 21,2, 13,7 e 3,7% na dose de 40 g ha⁻¹, respectivamente.

Tabela 2 – Intoxicação (%) em espécies vegetais cultivadas em solo com diferentes doses do herbicida indaziflam, aos 14, 21, 28 e 35 dias após a semeadura (DAS)

Espécie	Dose do indaziflam (g ha ⁻¹)				
	0	5	10	20	40
14 DAS					
<i>S. aterrimum</i>	0,0 a	63,7 a	78,7 a	77,0 a	96,7 a
<i>C. ensiformis</i>	0,0 a	0,0 c	6,2 c	7,5 c	18,7 d
<i>M. pruriens</i>	0,0 a	36,2 b	78,7 a	85,0 a	85,0 a
<i>C. cajan</i>	0,0 a	13,7 c	75,0 a	84,0 a	84,5 a
<i>Z. mays</i>	0,0 a	7,5 c	12,5 c	20,0 c	68,7 b
<i>V. unguiculata</i>	0,0 a	13,7 c	38,7 b	32,5 b	42,5 c
<i>P. vulgaris</i>	0,0 a	25,0 c	26,2 b	31,2 b	62,5 b
21 DAS					
<i>S. aterrimum</i>	0,0 a	47,5 a	80,0 a	73,7 a	86,2 a
<i>C. ensiformis</i>	0,0 a	3,75 c	10,0 d	8,7 d	17,5 d
<i>M. pruriens</i>	0,0 a	13,7 c	70,0 a	71,2 a	76,2 b
<i>C. cajan</i>	0,0 a	23,7 b	68,7 a	79,5 a	92,0 a
<i>Z. mays</i>	0,0 a	8,7 c	13,7 d	15,0 d	58,7 b
<i>V. unguiculata</i>	0,0 a	21,2 b	37,5 c	30,0 c	47,5 c
<i>P. vulgaris</i>	0,0 a	28,7 b	53,7 b	50,0 b	70,0 b
28 DAS					
<i>S. aterrimum</i>	0,0 a	8,7 b	47,5 a	71,2 a	56,2 c
<i>C. ensiformis</i>	0,0 a	8,7 b	8,75 b	10,0 b	17,5 d
<i>M. pruriens</i>	0,0 a	1,2 b	25,0 b	25,0 b	35,0 d
<i>C. cajan</i>	0,0 a	10,0 b	12,5 b	67,5 a	99,2 a
<i>Z. mays</i>	0,0 a	10,0 b	18,7 b	23,7 b	66,2 b
<i>V. unguiculata</i>	0,0 a	20,0 b	40,0 a	38,7 b	51,2 c
<i>P. vulgaris</i>	0,0 a	40,0 a	46,2 a	66,2 a	78,7 b
35 DAS					
<i>S. aterrimum</i>	0,0 a	0,0 a	38,7 a	40,0 b	21,2 e
<i>C. ensiformis</i>	0,0 a	6,2 a	5,0 b	6,2 d	13,7 e
<i>M. pruriens</i>	0,0 a	1,2 a	6,2 b	2,5 d	3,7 e
<i>C. cajan</i>	0,0 a	0,0 a	2,5 b	26,2 c	97,5 a
<i>Z. mays</i>	0,0 a	10,0 a	13,7 b	26,2 c	45,0 c
<i>V. unguiculata</i>	0,0 a	3,7 a	8,7 b	17,5 c	27,5 d
<i>P. vulgaris</i>	0,0 a	11,2 a	41,2 a	71,2 a	73,7 b

Grupos de médias seguidos da mesma letra na coluna são semelhantes pelo critério de Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade.

No desdobramento das doses do indaziflam sobre a intoxicação das espécies vegetais avaliadas aos 14 e 21 DAS (Tabela 3) e 28 e 35 DAS (Tabela 4), pelo modelo de regressão linear segmentado com platô (RLP), verificou-se que as espécies que se destacaram, aos 35 DAS, com menores índices de intoxicação, associados à maiores doses do indaziflam, foram *C. ensiformis* e *M. pruriens*, com intoxicação máxima de 10,0 e 3,12%, respectivamente, e ambas

com C_{50} maior que 40 g ha^{-1} de indaziflam. Embora, *C. ensiformis* tenha obtido índices baixos desde a avaliação realizada aos 14 DAS, *M. pruriens* apresentou elevados índices visuais de intoxicação até 21 DAS e posterior recuperação.

Tabela 3 – Equações ajustadas da intoxicação em função das doses do herbicida indaziflam para as respectivas espécies vegetais, aos 14 e 21 dias após a semeadura (DAS)

Espécie	Equações ajustadas	Intervalo	C ₅₀
14 DAS			
<i>S. aterrimum</i>	$\hat{Y}_1=12,75\text{Dose}^1$ $\hat{Y}_2=84,17^2$	$0 \leq D < 6,60$ $6,60 \leq D \leq 40,00$	4,0
<i>C. ensiformis</i>	$\hat{Y}_1=-1,042+0,625\text{Dose}$ $\hat{Y}_2=13,12$	$0 \leq D < 22,67$ $22,67 \leq D \leq 40,00$	>40
<i>M. pruriens</i>	$\hat{Y}_1=-1,042+7,875\text{Dose}$ $\hat{Y}_2=85,00$	$0 \leq D < 10,93$ $10,93 \leq D \leq 40,00$	6,5
<i>C. cajan</i>	$\hat{Y}_1=2,75\text{Dose}$ $\hat{Y}_2=81,17$	$0 \leq D < 29,51$ $29,51 \leq D \leq 40,00$	18,0
<i>Z. mays</i>	$\hat{Y}_1=0,417+1,25\text{Dose}$ $\hat{Y}_2=44,37$	$0 \leq D < 35,17$ $35,17 \leq D \leq 40,00$	>40
<i>V. unguiculata</i>	$\hat{Y}_1=2,75\text{Dose}$ $\hat{Y}_2=37,92$	$0 \leq D < 13,79$ $13,79 \leq D \leq 40,00$	>40
<i>P. vulgaris</i>	$\hat{Y}_1=3,958+2,625\text{Dose}$ $\hat{Y}_2=46,87$	$0 \leq D < 16,35$ $16,35 \leq D \leq 40,00$	>40
21 DAS			
<i>S. aterrimum</i>	$\hat{Y}_1=9,50\text{Dose}$ $\hat{Y}_2=80,00$	$0 \leq D < 8,42$ $8,42 \leq D \leq 40,00$	5,5
<i>C. ensiformis</i>	$\hat{Y}_1=1,750+0,443\text{Dose}$ $\hat{Y}_2=17,50$	$0 \leq D < 35,56$ $35,56 \leq D \leq 40,00$	>40
<i>M. pruriens</i>	$\hat{Y}_1=2,75\text{Dose}$ $\hat{Y}_2=72,50$	$0 \leq D < 26,36$ $26,36 \leq D \leq 40,00$	18,0
<i>C. cajan</i>	$\hat{Y}_1=-3,542+6,875\text{Dose}$ $\hat{Y}_2=85,75$	$0 \leq D < 12,99$ $12,99 \leq D \leq 40,00$	8,0
<i>Z. mays</i>	$\hat{Y}_1=0,625+1,375\text{Dose}$ $\hat{Y}_2=36,87$	$0 \leq D < 26,36$ $26,36 \leq D \leq 40,00$	>40
<i>V. unguiculata</i>	$\hat{Y}_1=4,25\text{Dose}$ $\hat{Y}_2=38,33$	$0 \leq D < 9,02$ $9,02 \leq D \leq 40,00$	>40
<i>P. vulgaris</i>	$\hat{Y}_1=0,625+5,375\text{Dose}$ $\hat{Y}_2=60,00$	$0 \leq D < 11,05$ $11,05 \leq D \leq 40,00$	9,0

¹ $\hat{Y}_1 = a + bx$ descreve uma reta crescente ou decrescente até um determinado valor d (valor que encontra as retas) da curva que é o platô de resposta no intervalo $0 \leq D < d$;

² $\hat{Y}_2 =$ uma constante, no intervalo $d \leq D \leq 40,00$

Tabela 4 – Equações ajustadas da intoxicação em função das doses do herbicida indaziflam para as respectivas espécies vegetais, aos 28 e 35 dias após a semeadura (DAS)

Espécie	Equações ajustadas	Intervalo	C ₅₀
28 DAS			
<i>S. aterrimum</i>	$\hat{Y}_1 = -1,250 + 3,786 \text{Dose}$ $\hat{Y}_2 = 56,25$	$0 \leq D < 15,19$ $15,19 \leq D \leq 40,00$	13,5
<i>C. ensiformis</i>	$\hat{Y}_1 = 3,250 + 0,414 \text{Dose}$ $\hat{Y}_2 = 17,50$	$0 \leq D < 34,40$ $34,40 \leq D \leq 40,00$	>40
<i>M. pruriens</i>	$\hat{Y}_1 = -3,750 + 2,50 \text{Dose}$ $\hat{Y}_2 = 30,00$	$0 \leq D < 13,50$ $13,50 \leq D \leq 40,00$	>40
<i>C. cajan</i>	$\hat{Y}_1 = -7,000 + 3,371 \text{Dose}$ $\hat{Y}_2 = 99,25$	$0 \leq D < 31,51$ $31,51 \leq D \leq 40,00$	17,0
<i>Z. mays</i>	$\hat{Y}_1 = 0,208 + 1,875 \text{Dose}$ $\hat{Y}_2 = 45,00$	$0 \leq D < 23,89$ $23,89 \leq D \leq 40,00$	>40
<i>V. unguiculata</i>	$\hat{Y}_1 = 4,00 \text{Dose}$ $\hat{Y}_2 = 45,00$	$0 \leq D < 11,25$ $11,25 \leq D \leq 40,00$	>40
<i>P. vulgaris</i>	$\hat{Y}_1 = 5,625 + 4,625 \text{Dose}$ $\hat{Y}_2 = 72,50$	$0 \leq D < 14,46$ $14,46 \leq D \leq 40,00$	9,5
35 DAS			
<i>S. aterrimum</i>	$\hat{Y}_1 = -0,250 + 2,278 \text{Dose}$ $\hat{Y}_2 = 21,25$	$0 \leq D < 9,44$ $9,44 \leq D \leq 40,00$	>40
<i>C. ensiformis</i>	$\hat{Y}_1 = 1,250 + 0,500 \text{Dose}$ $\hat{Y}_2 = 10,00$	$0 \leq D < 17,5$ $17,5 \leq D \leq 40,00$	>40
<i>M. pruriens</i>	$\hat{Y}_1 = -0,625 + 0,625 \text{Dose}$ $\hat{Y}_2 = 3,12$	$0 \leq D < 6,00$ $6,00 \leq D \leq 40,00$	>40
<i>C. cajan</i>	$\bar{Y} = 7,1875$		
<i>Z. mays</i>	$\hat{Y}_1 = 1,500 + 1,257 \text{Dose}$ $\hat{Y}_2 = 45,00$	$0 \leq D < 34,60$ $34,60 \leq D \leq 40,00$	>40
<i>V. unguiculata</i>	$\hat{Y}_1 = -0,250 + 0,886 \text{Dose}$ $\hat{Y}_2 = 27,50$	$0 \leq D < 31,33$ $31,33 \leq D \leq 40,00$	>40
<i>P. vulgaris</i>	$\hat{Y}_1 = -3,125 + 4,125 \text{Dose}$ $\hat{Y}_2 = 72,50$	$0 \leq D < 18,33$ $18,33 \leq D \leq 40,00$	13,0

¹ $\hat{Y}_1 = a + bx$ descreve uma reta crescente ou decrescente até um determinado valor d (valor que encontra as retas) da curva que é o platô de resposta no intervalo $0 \leq D < d$;

² $\hat{Y}_2 =$ uma constante, no intervalo $d \leq D \leq 40,00$

Houve efeito significativo da espécie, dose e interação entre as doses do herbicida indaziflam e as espécies vegetais para as características AF, MSPA e VR, com exceção de MSR, que a interação não foi significativa, no entanto, devido ao interesse, ela foi desdobrada (Tabela 5).

Tabela 5 - Resumo das análises de variância das variáveis área foliar (AF), matéria seca da parte aérea (MSPA), das raízes (MMSR) e volume das raízes (VR), aos 35 dias após a semeadura (DAS)

FV	GL	QM			
		AF	MSPA	MSR	VR
Bloco	3	0,018	0,044	0,771	0,145
Espécie	6	0,544**	0,301**	2,125**	0,470**
Dose	4	0,919**	1,314**	0,837*	1,711**
Espécie x Dose	24	0,242*	0,149**	0,398 ^{ns}	0,176**
Resíduo	102	0,128	0,053	0,270	0,072
CV (%)		46,67	32,21	59,03	33,20

** F significativo a 1% de probabilidade; * F significativo a 5% de probabilidade;

^{ns} F não significativo

No desdobramento das espécies dentro de cada dose do herbicida (Tabela 6), verificou-se dois grupos distintos para as variáveis AF e MSPA, onde *C. ensiformis*, *M. pruriens*, *Z. mays* e *V. unguiculata* foram as espécies mais tolerantes, com maiores índices em relação à testemunha na dose de 20 g ha⁻¹ de indaziflam. Nesta mesma dose, para a variável VR, também verificou-se dois grupos distintos, onde o grupo com maior índice é representado pelas espécies *C. ensiformis* e *M. pruriens*.

Para as variáveis MSPA e VR, na dose de 40 g ha⁻¹, foram revelados dois grupos distintos, sendo o grupo formado pela *S. aterrimum*, *C. ensiformis*, *M. pruriens*, *Z. mays* e *V. unguiculata*, o grupo com maior tolerância ao herbicida (Tabela 6).

Tabela 6 – Índices em relação à testemunha para área foliar (AF), matéria seca da parte aérea (MSPA), das raízes (MSR) e volume das raízes (VR), de espécies vegetais cultivadas em solo com diferentes doses do herbicida indaziflam, aos 35 dias após a semeadura (DAS)

Espécie	Dose do indaziflam (g ha ⁻¹)				
	0	5	10	20	40
AF (cm ² /vaso)					
<i>S. aterrimum</i>	1,00 (1.659,88) a	1,10 a	0,70 b	0,33 b	0,72 b
<i>C. ensiformis</i>	1,00 (2.418,78) a	0,73 a	0,96 a	0,94 a	0,66 b
<i>M. pruriens</i>	1,00 (2.528,95) a	0,74 a	1,21 a	0,84 a	1,22 a
<i>C. cajan</i>	1,00 (544,23) a	1,12 a	1,05 a	0,31 b	0,00 c
<i>Z. mays</i>	1,00 (1.946,95) a	0,83 a	0,96 a	0,82 a	0,68 b
<i>V. unguiculata</i>	1,00 (2.576,86) a	0,60 a	0,64 b	0,63 a	0,59 b
<i>P. vulgaris</i>	1,00 (2.763,33) a	0,71 a	0,29 b	0,28 b	0,14 c
MSPA (g/vaso)					
<i>S. aterrimum</i>	1,00 (7,57) a	1,13 a	0,63 b	0,36 b	0,49 a
<i>C. ensiformis</i>	1,00 (17,13) a	0,73 b	0,98 a	0,92 a	0,72 a
<i>M. pruriens</i>	1,00 (9,2) a	0,81 b	0,93 a	0,71 a	0,61 a
<i>C. cajan</i>	1,00 (3,68) a	1,03 a	0,91 a	0,31 b	0,00 b
<i>Z. mays</i>	1,00 (12,58) a	0,81 b	0,84 a	0,81 a	0,60 a
<i>V. unguiculata</i>	1,00 (16,26) a	0,53 b	0,52 b	0,53 b	0,54 a
<i>P. vulgaris</i>	1,00 (14,06) a	0,79 b	0,35 b	0,33 b	0,19 b
MSR (g/vaso)					
<i>S. aterrimum</i>	1,00 (2,87) a	1,31 b	0,80 a	0,46 a	0,70 b
<i>C. ensiformis</i>	1,00 (5,11) a	1,05 b	1,34 a	0,95 a	0,67 b
<i>M. pruriens</i>	1,00 (3,44) a	0,96 b	1,04 a	0,92 a	1,30 a
<i>C. cajan</i>	1,00 (1,48) a	1,02 b	0,78 a	0,22 a	0,00 b
<i>Z. mays</i>	1,00 (9,73) a	2,33 a	1,37 a	1,40 a	1,26 a
<i>V. unguiculata</i>	1,00 (5,86) a	0,57 b	0,45 a	0,59 a	0,61 b
<i>P. vulgaris</i>	1,00 (7,93) a	0,32 b	0,64 a	0,63 a	0,14 b
VR (cm ³ /vaso)					
<i>S. aterrimum</i>	1,00 (38,33) a	1,31 a	0,86 b	0,62 b	0,64 a
<i>C. ensiformis</i>	1,00 (33,75) a	1,25 a	1,12 a	0,89 a	0,87 a
<i>M. pruriens</i>	1,00 (36,25) a	0,99 a	1,11 a	1,05 a	0,70 a
<i>C. cajan</i>	1,00 (15,00) a	1,08 a	1,25 a	0,30 b	0,01 b
<i>Z. mays</i>	1,00 (135,5) a	0,88 b	0,87 b	0,65 b	0,53 a
<i>V. unguiculata</i>	1,00 (75,00) a	0,57 b	0,61 b	0,61 b	0,66 a
<i>P. vulgaris</i>	1,00 (66,25) a	0,66 b	0,52 b	0,57 b	0,28 b

Grupos de médias seguidos da mesma letra na coluna são semelhantes pelo critério de Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade. Números entre parênteses referem-se aos valores reais observados na testemunha (dose 0,0 g ha⁻¹ de indaziflam) para cada variável.

O efeito das doses do indaziflam sobre os índices AF, MSPA, MSR e VR, pela análise de regressão, foi apresentado na Tabela 7, onde observou que não houve efeito das doses do

herbicida para *C. ensiformis* nas variáveis AF (0,86), MSPA (0,87), MSR (0,99) e VR (1,02), *M. pruriens* para AF (1,00), *S. aterrimum* para MSR (0,85) e VR (0,88), *Z. mays* MSR (1,47) e *P. vulgaris* para MSR (0,54) e VR (0,60). Maiores decréscimos lineares com o aumento da dose foram observados para todas as variáveis do *C. cajan* e para AF e MSPA do *P. vulgaris*.

Para a espécie *M. pruriens*, verificou-se incremento no índice para as variáveis MSR e VR, nas menores doses e posterior decréscimo nas doses maiores, caracterizando como função quadrática, com o coeficiente β_0 com sinal positivo (Tabela 7), indicando que em baixas doses o herbicida proporciona estímulo no crescimento das plantas e C_{50} de 24,5 para MSR e maior que 40 para VR evidenciando elevada tolerância ao herbicida, assim como o *C. ensiformis* que não sofreu influência das doses avaliadas do indaziflam para as variáveis AF, MSPA, MSR e VR..

Tabela 7 – Equações ajustadas dos índices em relação a testemunha da área foliar (AF), matéria seca da parte aérea (MSPA), das raízes (MSR) e volume das raízes (VR), em função das doses do herbicida indaziflam para as respectivas espécies vegetais, aos 35 dias após a semeadura (DAS)

Espécie	Equações ajustadas	R ² /r ²	C ₅₀
AF			
<i>S. aterrimum</i>	$\hat{Y}_1=1,152-0,059^{\circ}D-0,001^{\circ}D^2$	0,7676	8,5
<i>C. ensiformis</i>	$\bar{Y}=0,8602$		
<i>M. pruriens</i>	$\bar{Y}=1,0037$		
<i>C. cajan</i>	$\hat{Y}_1=1,144-0,029^*D$	0,8671	19,5
<i>Z. mays</i>	$\hat{Y}_1=0,965-0,007^*D$	0,7683	>40
<i>V. unguiculata</i>	$\hat{Y}_1=0,977-0,171^*D^{1/2}+0,018^{\circ}D$	0,9008	>40
<i>P. vulgaris</i>	$\hat{Y}_1=0,955-0,059^*D+0,0009^{\circ}D^2$	0,9075	9,5
MSPA			
<i>S. aterrimum</i>	$\hat{Y}_1=1,137-0,054^{\circ}D+0,0009^{\circ}D^2$	0,8061	13,5
<i>C. ensiformis</i>	$\bar{Y}=0,8717$		
<i>M. pruriens</i>	$\hat{Y}_1=0,950-0,009^*D$	0,8049	>40
<i>C. cajan</i>	$\hat{Y}_1=1,074-0,028^{**}D$	0,9167	19,5
<i>Z. mays</i>	$\hat{Y}_1=0,936-0,008^*D$	0,8398	>40
<i>V. unguiculata</i>	$\hat{Y}_1=0,980-0,230^*D^{1/2}+0,025^*D$	0,9515	10,5
<i>P. vulgaris</i>	$\hat{Y}_1=0,978-0,055^*D+0,0008^{\circ}D^2$	0,9114	10,5
MSR			
<i>S. aterrimum</i>	$\bar{Y}=0,8553$		
<i>C. ensiformis</i>	$\bar{Y}=0,9999$		
<i>M. pruriens</i>	$\hat{Y}_1=1,021-0,011^{ns}D-0,0004^{\circ}D^2$	0,8695	24,5
<i>C. cajan</i>	$\hat{Y}_1=1,024-0,027^{**}D$	0,8961	19,0
<i>Z. mays</i>	$\bar{Y}=1,4753$		
<i>V. unguiculata</i>	$\hat{Y}_1=0,983-0,242^*D^{1/2}+0,029^*D$	0,9130	12,0
<i>P. vulgaris</i>	$\bar{Y}=0,5466$		
VR			
<i>S. aterrimum</i>	$\bar{Y}=0,8844$		
<i>C. ensiformis</i>	$\bar{Y}=1,0262$		
<i>M. pruriens</i>	$\hat{Y}_1=0,982+0,014^{\circ}D-0,0005^*D^2$	0,9610	>40
<i>C. cajan</i>	$\hat{Y}_1=1,182-0,030^*D$	0,7832	19,5
<i>Z. mays</i>	$\hat{Y}_1=0,962-0,011^{**}D$	0,9360	>40
<i>V. unguiculata</i>	$\hat{Y}_1=0,979-0,206^*D^{1/2}+0,025^*D$	0,9165	>40
<i>P. vulgaris</i>	$\bar{Y}=0,6058$	0,9315	

** , * , ° , □ e ^{ns} significativo a 1, 5, 10, 15 % e não significativo, respectivamente, pelo Teste

DISCUSSÃO

Quando avaliou-se as doses do herbicida para as sete espécies, constatou-se aos 35 DAS, que menores índices de intoxicação, associados à maiores doses do indaziflam, foram verificados para *S. aterrimum*, *C. ensiformis* e *M. pruriens*, com intoxicação máxima de 21,25, 10,0 e 3,12%, respectivamente (Tabela 4). A maior tolerância dessas espécies ao indaziflam, pode ser devido ao maior tamanho das sementes, com isso maiores quantidades de reservas, sendo potencialmente mais vigorosas que as demais espécies avaliadas. Segundo Haig e Westoby (1991), a maior quantidade de reserva aumenta a probabilidade de sucesso no estabelecimento da plântula, pois permite a sobrevivência por maior tempo em condições ambientais desfavoráveis.

Como o indaziflam atua inibindo a biossíntese de celulose, fazendo com que novas células da parede celular não sejam formadas, causando engrossamento nas raízes e paralisação do crescimento (BRABHAM et al., 2014), a maior quantidade de reservas nas sementes pode resultar em maior tolerância ao herbicida, possibilitando seu estabelecimento para posterior recuperação, especialmente, considerando que o herbicida foi aplicado sobre o solo, com maior concentração nas camadas superficiais.

Menores índices de intoxicação aos 14, 21 e 28 DAS, verificados para *C. ensiformis* pode ser consequência da raiz mais profunda para sustentação dessa espécie em relação à *S. aterrimum* e *M. pruriens*, uma vez que estas possuem mais raízes laterais que sustentam seu crescimento rasteiro e com características trepadeira (BOTH, 2011). Maior profundidade do sistema radicular consiste em característica importante em plantas remediadoras pois, está relacionado à maior probabilidade de sobrevivência inicial, quando ainda há maior concentração de herbicida no solo.

S. aterrimum e *M. pruriens* apresentaram maior intoxicação inicial, até 28 DAS, devido às raízes mais superficiais (BOTH, 2011). Entretanto, com o crescimento e aprofundamento das raízes, as plantas se recuperaram dos efeitos do indaziflam aos 35 DAS, com a *M. pruriens* alcançando índice de intoxicação na ordem de 3% (Tabelas 2 e 4).

A *M. pruriens* destaca-se pela alta capacidade de produção de biomassa e por apresentar baixo risco de se tornar indesejável, pois não possui dormência nas sementes (BRANCALIÃO, 2009). Por outro lado, *S. aterrimum*, possui dormência (OLIVERA, 2013), sendo, portanto, menos indicada devido à possibilidade se tornar uma planta infestante na área em cultivos posteriores, aliado à sua capacidade de interferência nas culturas e dificuldade de controle.

Observa-se que as sete espécies estudadas, com exceção *Z. mays* (Tabela 2), pertencem à família Fabaceae, o que é desejável em programas de fitorremediação, devido à capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico (N₂) por meio da simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium* (RIBEIRO et al., 2013; HUNGRIA, KASCHUK, 2014) e elevada capacidade de acúmulo de biomassa (SCRAMIN et al. 2001).

Diversos trabalhos realizados com a finalidade de selecionar espécies fitorremediadoras de herbicidas constataram que espécies leguminosas, destinadas à adubação verde foram as que apresentaram o melhor desempenho. *C. ensiformis* e *M. pruriens* foram as que mais se destacaram quanto a tolerância aos herbicidas tebuthiuron (PIRES et al. 2003a, b) e trifloxysulfuron sodium (Procópio et al., 2004; Santos et al., 2004b). Silva & Bueno (2000) selecionaram *S. aterrimum* como uma das espécies tolerantes aos herbicidas alachlor, imazaquin e pendimethalin, sendo suscetível apenas ao 2,4-D. Todos os trabalhos mencionados evidenciaram que as espécies que toleraram os herbicidas no solo, também tiveram, posteriormente, desempenho satisfatório como fitorremediadoras.

CONCLUSÃO

As espécies *C. ensiformis* e *M. pruriens* apresentaram boa tolerância ao indaziflam, indicando potencial para serem inseridas em programas de fitorremediação de solos contaminados com o esse herbicida.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa e apoio concedido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMIM, R. T.; FREITAS, S. P.; FREITAS, I. L. J.; GRAVINA, G. A.; PAES, H. M. F. Controle de plantas daninhas pelo indaziflam em solos com diferentes características físico-químicas. **Planta Daninha**, v. 32, n. 4, p. 791-800, 2014.

BELO, A.F. et al. Atividade fotossintética de plantas cultivadas em solo contaminado com sulfentrazone. **Revista Brasileira de Herbicidas** 15: 165-174, 2016.

BRABHAM, C., LEI, L., GU, Y., STORK, J., BARRETT, M., & DEBOLT, S. Indaziflam herbicidal action: a potent cellulose biosynthesis inhibitor. **Plant physiology**, v. 166, n. 3, p. 1177-1185, 2014.

CARRIGAN, L.; FREY, K. J. Root volumes of Avena species. **Crop Science**, v. 20, p. 407 - 408, 1980.

BRANCALIÃO, S.R. Viabilidade do uso de "coquetel" comparado a leguminosas solteiras em sucessão com a cultura da soja no sistema plantio direto em Campinas (SP). 2009. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/coquetel/index.htm>. Acesso em: 19 mai. 2019.

BOTH, I. W. et al. Descrição morfológica do desenvolvimento inicial de quatro espécies utilizadas na adubação verde. In: 63ª Reunião Sociedade Brasileira para o progresso da ciência. 2011, Goiânia. Resumos. 2011 <http://portal.sbpcnet.org.br/publicacoes/tipo/reunioes-anuais/>

DAN, H. A. et al. Resíduos de herbicidas utilizados na cultura da soja sobre o milho cultivado em sucessão. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 1, p. 86-91, 2012.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa. Manual de métodos de análises de solo. 2ª.ed. Rio de Janeiro; 1997. 212p.

GUERRA, N. et al. Aminocyclopyrachlor e indaziflam: seletividade, controle e comportamento no ambiente. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 12, n. 3, p. 285-295, 2013.

HAIG, D.; WESTOBY, M. Seed size, pollination casts and angiosperm success. **Evolutionary Ecology**, v.5, p.231-247, 1991.

HUNGRIA, M.; KASCHUK, G. Regulation of N₂ fixation and NO₃⁻ / NH₄⁺ assimilation in nodulated and N- fertilized *Phaseolus vulgaris* L. exposed to high temperature stress. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v.98, p.32-39, 2014.

LANE, M.; LORENZ, N.; SAXENA, J.; RAMSIER, C.; DICK, R. P. Microbial activity, community structure and potassium dynamics in rhizosphere soil of soybean plants treated with glyphosate. **Pedobiologia - International Journal of Soil Biology**, v. 55, p. 153-159, 2012.

MADALÃO, J. C. PIRES, F. R.; CARGNELUTTI FILHO, A.; CHAGAS, K.; NASCIMENTO, A. F.; GARCIA, G. de O. Fitorremediação de solos contaminados com o herbicida sulfentrazone por espécies de adubos verdes. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 55, n. 4, p. 288-296, 2012b.

MADALÃO, J. C.; PIRES, F. R.; CHAGAS, K.; CARGNELUTTI FILHO, A.; PROCÓPIO, S. O. Uso de leguminosas na fitorremediação de solo contaminado com sulfentrazone. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, n. 4, p. 390-396, 2012a.

MADALÃO, J.C. et al. Action of *Canavalia ensiformis* in remediation of contaminated soil with sulfentrazone. **Bragantia** 76:292-299, 2017.

MAPA – MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Agrofit 2003: sistema de informação. Brasília, 2015. Disponível em:

<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/agrofit>. Acesso em: janeiro de 2019.

MARCHESAN, E.; SARTORI, G. M. S.; AVILA, L. A.; MACHADO, S. L. O.; ZANELLA, R.; PRIMEL, E. G.; MACEDO, V. R. M.; MARCHEZAN, M. G. Resíduos de agrotóxicos na água de rios da Depressão Central do Estado do Rio Grandedo Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 40, n. 5, p. 1053-1059, 2010.

MITTER, B.; PETRIC, A.; SHIN, M. W.; CHAIN, P. S.; HAUBERG-LOTTE, L.; REINHOLD-HUREK, B.; NOWAK, J.; SESSITSCH, A. Comparative genome analysis of Burkholderia phytofirmans PsJN reveals a wide spectrum of endophytic lifestyles based on interaction strategies with host plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 1–15, 2013.

MITTON, M. F.; MIGLIORANZA, K. S. B.; GONZALEZ, M.; SHIMABUKURO, V. M.; MONSERRAT, J. M. Assessment of tolerance and efficiency of crop species in the phytoremediation of DDT polluted soils. **Ecological Engineering**, v. 71, p.501–508, 2014.

OLIVEIRA, J.D. Superação de dormência em sementes de mucuna preta (*Stizolobium aterrimum*). 2013. 63f. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Acre, Rio Branco-AC, 2013.

OLIVEIRA, V.; GOMES, N. C. M; ALMEIDA, A.; SILVA, A. M. S.; SIMÕES, M. M. Q.; SMALLA, K.; CUNHA, A. Hydrocarbon contamination and plant species determine the phylogenetic and functional diversity of endophytic degrading bacteria. **Molecular Ecology**, v. 23, n. 6, p. 1392–1404, 2014.

OTTO S.; CARDINALI, A.; MAROTTA, E.; PARADISI, C.; ZANIN, G. Effect of vegetative filter strips on herbicide runoff under various types of rainfall. **Chemosphere**, v. 88, p. 113-119, 2012.

PIRES, F. R. et al. Fitorremediação de solos contaminados por herbicidas. **Planta Daninha**, v. 21, n. 2, p. 335-341, 2003a.

PIRES, F. R. et al. Seleção de plantas com potencial para fitorremediação de tebuthiuron. **Planta Daninha**, v. 21, n. 3, p. 451-458, 2003b.

PROCÓPIO S.O, SANTOS J.B, SILVA A.A, PIRES F.R, RIBEIRO JÚNIOR JI, SANTOS E.A & FERREIRA L.R (2004) Seleção de plantas com potencial para fitorremediação de solos contaminados com o herbicida trifloxysulfuron sodium. **Planta Daninha**, 22:315-322.

RIBEIRO, R. A.; ORMENO-ORRILO, E.; DALL'AGNOL, R. F.; GRAHAM, P. H.; MARTINEZ-ROMERO, E.; HUNGRIA, M. Novel Rhizobium lineages isolated from root nodules of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Andean and Mesoamerican áreas. *Research in Microbiology*, Paris, v.64, p.740–748, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.resmic.2013.05.002>

SANTOS, C. H.; GARCIA, A. L. O.; CALONEGO, J. C.; TIRITAN, C. S.; RIGOLIN, I. M.; SPÓSITO, T. H. N. Utilização da mucuna preta (*Mucuna aterrimum* Piper & Tracy) para a fitorremediação de solo contaminado por chumbo. **Revista Agro@mbiente**, v. 6, n. 3, p. 215-221, 2012.

SANTOS, E. A. et al. Fitoestimulação como processo de descontaminação de solos com trifloxysulfuron-sodium. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 25., 2006, Brasília. Anais... Brasília: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, 2006. p. 142.

SANTOS, E. A.; CORREIA, N. M.; SILVA, J. R. M.; VELINI, E. D.; PASSOS, A.B.R.J.; DURIGAN, J. C. Detecção de herbicidas em água subterrânea na microbacia do Córrego Rico (SP). **Planta Daninha**, v. 33, n. 1, p. 147-155, 2015.

SANTOS, J. B. et al. Seletividade do herbicida trifloxysulfuron sodium para fins de fitorremediação. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 51, n. 293, p. 129-141, 2004b.

SANTOS, J.B.; PROCÓPIO, S.O.; SILVA, A.A.; PIRES, F.R.; RIBEIRO JUNIOR, J.I.; SANTOS, E.A.; FERREIRA, L.R. Fitorremediação do herbicida trifloxysulfuron sodium. **Planta Daninha**, 22:223-330, 2004a.

SCRAMIN, S.; SKORUPA, L. A.; MELO, I. S. Utilização de plantas na remediação de solos contaminados por herbicidas – levantamento da flora existente em áreas de cultivo de cana-de-açúcar. In: MELO, I. S. et al. Biodegradação. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2001. p. 369-371.

SILVA, G. S.; MELO, C. A. D.; FIALHO, C. M. T.; TUFFI SANTOS, L. D.; COSTA, M. D.; SILVA, A. A. Impact of sulfentrazone, isoxaflutole and oxyfluorfen on the microorganisms of two forest soils. **Bragantia**, v. 73, n. 3, p. 292-299, 2014.

SILVA, J. F.; BUENO, C. R. Tolerância de leguminosas de cobertura do solo a herbicidas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 22., 2000, Foz do Iguaçu. Resumos... Foz do Iguaçu: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, 2000. p. 375.

SUSARLA, S.; MEDINA, V. F.; McCUTCHEON, S. C. Phytoremediation: na ecological solution to organic chemical contamination. **Ecological Engineering**, v. 18, p. 647-658, 2002.

TOMPKINS, J. 2010. Pesticide Fact Sheet: Indaziflam. Environmental Protection Agency. Unites States. Disponível em: <http://www.epa.gov/opp00001/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-80818_26-Jul10.pdf> Acessado em: 20 de jan. de 2019.

VIEIRA, R. F.; SILVA, C. M. M. S.; SILVEIRA, A. P. D. Soil microbial biomass C and symbiotic processes associated with soybean after sulfentrazone herbicide application. **Plant Soil**, v. 300, p. 95-103, 2007.

CAPÍTULO 3

SELEÇÃO DE ISOLADOS BACTERIANOS DEGRADADORES DO HERBICIDA INDAZIFLAM

RESUMO: Herbicidas que apresentam longo período residual no solo, a exemplo do indaziflam, possibilita o controle de plantas daninhas por maior período. No entanto, resíduos desse herbicida no solo causam contaminação ambiental, e podem inviabilizar novos cultivos em sucessão (*Carryover*). Objetivou-se com esta pesquisa, isolar e selecionar bactérias com potencial para degradação do herbicida indaziflam, utilizando-o como fonte de carbono. Foram coletadas amostras de solo em área agrícola com histórico recente de aplicação de diferentes herbicidas e outra, em área de mata nativa, sem histórico de aplicação de herbicidas. As amostras foram levadas ao laboratório, onde foram selecionados 60 isolados bacterianos capazes de crescer na presença do indaziflam, os quais foram avaliados, quanto à taxa de crescimento em caldo nutriente, caldo nutriente + indaziflam e meio mineral líquido modificado + indaziflam, por meio de curva de crescimento em placas de Elisa, por 30 horas. Dez isolados se destacaram quanto ao crescimento e foram avaliados quanto à capacidade de degradação do indaziflam, com o herbicida como única fonte de carbono. Constatou-se capacidade diferenciada dos isolados na degradação do indaziflam na formulação comercial. Cinco desses isolados promoveram de 35,91 a 48,72 % de degradação do indaziflam na formulação comercial, em um período de 10 dias. Conclui-se que os isolados bacterianos IN4, IN43, IN50, IN54, IN59 foram os que apresentaram maior potencial de degradação do herbicida indaziflam.

Palavras-chave: Herbicida. Bactérias. Degradação. Solos.

SELECTION OF BACTERIAL ISOLATES DEGRADING THE INDAZIFLAM HERBICIDE

ABSTRACT: Herbicides that have a long residual period in the soil, such as indaziflam, enable weed control for a longer period. However, residues of this herbicide in the soil cause environmental contamination, and can prevent new crops in succession (*Carryover*). The objective of this research was to isolate and select bacteria with potential for degradation of the herbicide indaziflam, using it as a carbon source. Soil samples were collected in an agricultural area with a recent history of application of different herbicides and another in an area of native forest, without a history of application of herbicides. The samples were taken to the laboratory, where 60 bacterial isolates capable of growing in the presence of indaziflam were selected, which were evaluated for growth rate in nutrient broth, nutrient broth + indaziflam and modified liquid mineral medium + indaziflam, by means of growth curve in Elisa plates, for 30 hours. Ten isolates stood out for growth and were evaluated for the degradation capacity of indaziflam, with the herbicide as the only carbon source. Differentiated capacity of the isolates was found in the degradation of indaziflam in the commercial formulation. Five of these isolates promoted 35.91 to 48.72% degradation of indaziflam in the commercial formulation, in a period of 10 days. It is concluded that the bacterial isolates IN4, IN43, IN50, IN54, IN59 were those that presented the greatest degradation potential of the herbicide indaziflam.

Keywords: Herbicide. Bacteria. Degradation. Soils.

INTRODUÇÃO

O uso de herbicidas na agricultura atual é prática comum e contribui para evitar a perda de produtividade ocasionada pelas plantas daninhas. No entanto, durante esse processo, os herbicidas atingem não apenas as plantas, mas também o solo, podendo causar problemas de contaminação ambiental.

Uma vez aplicado, os herbicidas podem ser volatilizados, fotodegradados, serem absorvidos pelas plantas, degradados ou transformados pela microbiota no solo, serem lixiviados ou adsorvidos aos coloides orgânicos e minerais do solo (PRATA, 2002; MANCUSO et al., 2011). Assim, o solo é destino provável da maioria dos produtos químicos utilizados na agricultura, sejam eles aplicados em pré ou pós-emergência (LAW, 2001).

Herbicidas com efeito residual longo possibilitam o controle de plantas daninhas na área por um período maior, reduzindo com isso o número de aplicações, especialmente, em culturas perenes ou com logo período crítico de interferência. Entretanto, a presença do herbicida por longo período no solo inviabiliza o sistema de rotação de culturas (*carryover*) ou culturas intercaladas (DAN et al., 2012), intoxicação a organismos não alvo (VIEIRA et al., 2007; LANE et al., 2012; SILVA et al., 2014). Além disso, irá favorecer a lixiviação e contaminação de águas subterrâneas (SANTOS et al., 2015), escoamento superficial (runoff) e contaminação de águas superficiais (MARCHESAN et al., 2010; OTTO et al., 2012).

Dentre os herbicidas utilizados para o controle de plantas daninhas com período residual longo, cita-se o indaziflam (N-[(1R,2S)-2,3-dihydro-2,6-dimethyl-1H-inden-1-yl]-6-[(1R)-1-fluoroethyl]-1,3,5-triazine-2,4-diamine). Pertence à classe química denominada alquilazina, possui registro no Brasil para controle de plantas daninhas nas culturas de cana-de-açúcar, café, citros, eucalipto, pinus, banana, caju, coco, dendê, goiaba, manga, maçã e uva (MAPA, 2019) e é recomendado para aplicação em pré-emergência das plantas daninhas, atuando sobre plantas monocotiledôneas e algumas eudicotiledôneas (AMIM et al., 2014).

O indaziflam possui meia-vida ($t_{1/2}$) estimada no solo maior do que 150 dias, baixa solubilidade em água ($0,0028 \text{ kg m}^{-3}$ a 20°C), o $K_{oc} < 1.000 \text{ mL g}^{-1}$ de carbono orgânico, $pK_a = 3,50$ e o $\log K_{ow}$ em pH 4; 7 ou 9 = 2,80 (TOMPKINS, 2010). Além disso, ele é classificado como móvel a moderadamente móvel no solo e apresenta valor de pressão de vapor de $6,92 \times 10^{-8} \text{ Pa}$ (GUERRA et al., 2013). O teor de matéria orgânica e o pH são os principais atributos do solo que governam o potencial de sorção do indaziflam, em que solos com pH superior a 5,5 e baixo teor de matéria orgânica possuem baixo potencial de retenção do herbicida aos coloides

e, conseqüentemente, maior disponibilidade na solução para absorção pelas plantas, bem como para lixiviação (GONÇALVES, 2018; SOUZA, 2018).

Visando a diminuição dos problemas ocasionados pelo uso de herbicidas com longa persistência no ambiente, tem sido proposto a biorremediação. Essa consiste no emprego de processo ou atividade biológica por meio de organismos vivos, sejam plantas e, ou micro-organismos e suas enzimas, que possuam capacidade de modificar ou decompor determinados poluentes, transformando-os em substâncias menos tóxicas ou inertes (JACQUES et al., 2010). A biorremediação apresenta-se como uma técnica eficiente, promissora (CHELINHO et al., 2010) devido, principalmente, aos baixos custos e por ser uma estratégia com mínima intervenção, na recuperação dos ambientes contaminados

Os micro-organismos do solo, a exemplo das bactérias e fungos, participam de forma efetiva na eliminação ou redução de resíduos de herbicidas pela sua capacidade degradadora (OHMES et al., 2000; DELLAMATRICE; MONTEIRO 2004; MARTINS et al., 2007; SILVA et al., 2007; MARTINEZ et al., 2010). Melo et al. (2016), isolaram bactérias degradadoras do sulfentrazone a partir de solo com histórico de aplicação do herbicida, sendo o gênero *Pseudomonas*, predominante entre os isolados.

A degradação de herbicidas no solo pode ocorrer por meio da atuação de uma espécie, ou, mais comumente, de várias espécies de micro-organismos, sendo essas capazes de degradar e até mineralizar herbicidas, possibilitando a biorremediação de áreas contaminadas. Apesar da importância da microbiota de solo na transformação do herbicida indaziflam em substâncias menos tóxicas, são escassas as informações na literatura sobre eficiência de bactérias na degradação desse herbicida. Assim, objetivou-se, nesta pesquisa, isolar e caracterizar bactérias capazes de utilizar o indaziflam como fonte de carbono, bem como avaliar o potencial das mesmas de degradar o herbicida.

MATERIAL E MÉTODOS

1- Local e solos utilizados

Foram coletadas duas amostras compostas de solo na profundidade de 0-10 cm, no campo experimental Diogo Alves de Melo da Universidade Federal de Viçosa, o primeiro em área agrícola com histórico recente de aplicação de diferentes herbicidas (glyphosate, 2,4-D, nicosulfuron, atrazine, flumioxazin, metribuzin, oxyfluorfen, s-metolachlor e sulfentrazone), e o segundo em área de mata nativa sem histórico de aplicação de herbicidas. As amostras foram levadas para o Laboratório de Ecologia Microbiana (BIOAGRO), onde foram passadas em

peneira com malha de 2,0 mm e uma parte destas encaminhadas ao laboratório para análises química e física (Tabela 1).

Tabela 1 - Resultados das análises química e física dos solos nas camadas de 0-10 cm

Análise química									
	pH	MO	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al	t
Amostras	(água)	dag kg⁻¹	mg dm⁻³		cmolc dm⁻³				
Cultivado	4,98	3,26	33,9	188	3,34	0,5	0,1	5,1	4,42
Mata Nativa	5,12	5,90	2,0	63	4,14	1,11	0,1	5,1	5,51

Análise física			
Amostras	Areia (g kg⁻¹)	Argila (g kg⁻¹)	Silte (g kg⁻¹)
Cultivado	0,183	0,606	0,211
Mata Nativa	0,382	0,536	0,083

Análises realizadas no Laboratório de Análises de Solo Viçosa, segundo metodologia da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa (1997).

2- Cultivo de enriquecimento

Para cada solo, uma porção de 15,0 gramas foi adicionada a 150,0 mL de meio mínimo líquido (1,0 L água; 3,0 g NaNO₃; 1,0 g K₂HPO₄; 0,5 g MgSO₄.7H₂O; 0,5 g KCl; 0,01 g FeSO₄.7H₂O; pH 6,8) suplementado com 1000 µg mL⁻¹ do ingrediente ativo (i.a.) indaziflam na formulação comercial do herbicida Alion® (500 g L⁻¹ i.a.) e mantidos sob agitação em shaker a 30°C e 150 rpm durante 15 dias. A formulação comercial (Alion®) foi a única fonte de carbono e energia disponibilizada.

O herbicida Alion® na concentração de 500 g L⁻¹ do i.a. foi esterilizado por meio da técnica de tindalização, que consiste no aquecimento descontínuo em recipiente fechado, com exposição à temperatura de 80°C, em banho maria, por 20 minutos durante três dias consecutivos, com intervalo de 24h.

3- Isolamento, cultivo e conservação

Após 24, 72, 168 e 360 horas de incubação do solo foram realizadas diluições em série, transferindo-se inicialmente 1,0 mL da suspensão para tubos contendo 9,0 mL de solução salina (NaCl 0,85%) obtendo-se a diluição 10⁻¹ e, assim sucessivamente até obter a diluição 10⁻⁶. Foi realizado o plaqueamento de 0,1mL das diluições 10⁻¹, 10⁻²; 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶ espalhando com o auxílio de alça de Drigalsky, em meio de cultura mínimo sólido (1,0 L água; 3,0 g NaNO₃; 1g K₂HPO₄; 0,5 g MgSO₄.7H₂O; 0,5 g KCl; 0,01 g FeSO₄.7H₂O; 16,0 g ágar) suplementado com o produto comercial (Alion®) como única fonte de carbono e energia. Foram acrescidos 1,0 mL de solução de ciclohexamida (10 mg mL⁻¹) ao meio de cultura. De

cada uma das diluições foram retiradas cinco alíquotas para o plaqueamento em placas de Petri, as quais foram incubadas em BOD a 30°C por 3 dias.

Cada isolado bacteriano obtido foi inoculado em Meio LB (Luria Bertani Broth, Miller) a 30°C e 150 rpm até o meio se tornar turvo a olho nu. Uma alíquota de 1,7 mL do Meio LB com o inóculo foi misturada a 0,30 mL de glicerol a 80%, homogeneizados e congelados posteriormente em nitrogênio líquido e armazenado em ultrafreezer a -86°C.

4- Crescimento dos isolados bacterianos

O crescimento dos isolados foram avaliados por meio da leitura de densidade óptica ao longo do tempo em placas de Elisa, contendo 96 células com capacidade de 250 µL cada, por meio de leituras de absorbância em espectrofotômetro a 560 nm.

Inicialmente, foi avaliado o crescimento dos isolados em caldo nutriente (1,0 L água; 2,0 g Na₂HPO₄; 3,0 g NaCl; 3,0 g extrato de carne; 5,0 g peptona; pH 6,8), sendo utilizado 180 µL de caldo nutriente e 10 µL dos isolados bacterianos. Posteriormente, foram avaliados o crescimento em dois meios suplementados com o herbicida Alion® na concentração de 0,7 µg mL⁻¹.

O primeiro meio foi o caldo nutriente, sendo utilizado 140 µL de caldo nutriente, 40 µL do herbicida indaziflam e 10 µL dos isolados com densidade óptica de 0,6. O segundo meio foi o meio mínimo líquido (1,0 L água; 3,0 g NaNO₃; 1,0g K₂HPO₄; 0,5 g MgSO₄.7H₂O; 0,5 g KCl; 0,01 g FeSO₄.7H₂O; pH 6,8), contendo 140 µL de meio mínimo, 40 µL do herbicida indaziflam e 10 µL dos isolados bacterianos. Na mesma placa foram mantidas amostras em branco sem a presença do isolado bacteriano, somente com o meio de cultura.

4.1- Avaliação

As placas de Elisa com os três meios de cultura foram incubadas a 30°C por 30 horas, sendo o crescimento bacteriano avaliado em intervalos de 30 minutos, através de leituras de absorbância no espectrofotômetro de 560 nm. O experimento foi realizado em esquema fatorial 3 x 15, no delineamento inteiramente casualizado com três repetições. Os tratamentos constaram da combinação, dos três meios de cultura e dos tempos de avaliação (2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 e 30 horas), para cada isolado.

5- Degradação do indaziflam no produto comercial

Os isolados selecionados foram cultivados em caldo nutriente (1,0 L água; 2,0 g Na₂HPO₄; 3,0 g NaCl; 3,0 g extrato de carne; 5,0 g peptona; pH 6,8) até a densidade óptica (D.O.) de 0,6. Posteriormente, frascos com 50,0 mL de meio mínimo líquido (1,0 L água; 3,0 g NaNO₃; 1,0g K₂HPO₄; 0,5 g MgSO₄.7H₂O; 0,5 g KCl; 0,01 g FeSO₄.7H₂O; pH 6,8),

suplementado com 1.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ i.a. indaziflam, foram inoculados com 0,1 mL de inóculo e incubados a 30°C, 150 rpm, por 10 dias.

Após o período de incubação, a degradação do herbicida pelos isolados foi estimada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), modelo Shimadzu LC 20AT Japão, com detector UV/vis (Schimadzu SPD-20A) e coluna de aço inoxidável C18 (VP, Shimadzu Shim-pack ODS 150x6 mm x 4 mm id.).

As condições cromatográficas para a análise foram: como fase móvel acetonitrila e água (acidificada com 0,01% de ácido acético) na proporção de 60:40 (V:V), com volume de injeção de 20 μL , a um fluxo de 1,0 mL min^{-1} e comprimento de onda de 212 nm, a uma temperatura de 30 °C (ROMERO et al., 2018).

6- Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância e de regressão. Para o fator qualitativo utilizou-se o critério de agrupamento de médias de Scott-Knott à 5% de significância e para avaliação do crescimento em função do tempo foram ajustados modelos sigmoidal $\hat{y} = \frac{a}{1+e^{-\frac{X-X_0}{b}}}$ em que: \hat{y} é a variável resposta de interesse (Absorbância 560 nm), X é o tempo em horas, a é assíntona correspondente ao valor máximo da variável em questão; b é a inclinação da resposta da variável e X_0 é o ponto de inflexão da curva e corresponde ao tempo, em horas, necessário para a ocorrência de 50% de resposta.

RESULTADOS

Das duas amostras de solo coletadas em área agrícola e mata nativa, foram constatados 60 isolados bacterianos capazes de crescer em meio suplementado com a formulação comercial do herbicida indaziflam, sendo identificados como IN1 até IN60. As colônias isoladas, possuem características morfológicas distintas como coloração, formato da borda, presença de brilho, halo e rugosidade.

Dos 60 isolados obtidos na primeira etapa, 10 foram selecionados com base em características como crescimento inicial rápido em meio caldo nutriente e densidade óptica acima de 0,4 (dados não apresentados).

Nas Figuras 1 e 2, estão apresentados os dados relativos ao crescimento dos 10 isolados selecionados na etapa inicial em meio caldo nutriente, meio caldo nutriente + indaziflam e meio

mineral líquido modificado + indaziflam, onde se observa que o meio caldo nutriente sem adição do indaziflam demandou maior tempo para estabilização do crescimento de todos os isolados em relação aos meios contendo indaziflam, com exceção do IN50, indicando que a presença do herbicida em meio caldo nutriente influenciou positivamente o crescimento dos isolados, reduzindo o tempo para estabilização do crescimento. Além disso, maiores valores de absorbância indicam maior taxa de crescimento dos isolados nos meios contendo indaziflam, enquanto que no meio caldo nutriente sem herbicida, o valor máximo obtido foi inferior aos meios contendo o herbicida.

Vale ressaltar que o meio mineral líquido modificado + indaziflam, o qual tem como única fonte de carbono o indaziflam na formulação comercial, favoreceu o crescimento de todos os isolados bacterianos, com maiores valores em relação ao meio caldo nutriente (Figuras 1 e 2). O IN4 foi o isolado com o crescimento mais elevado no meio caldo nutriente + herbicida, expresso pelos maiores valores de absorbância (Figura 1).

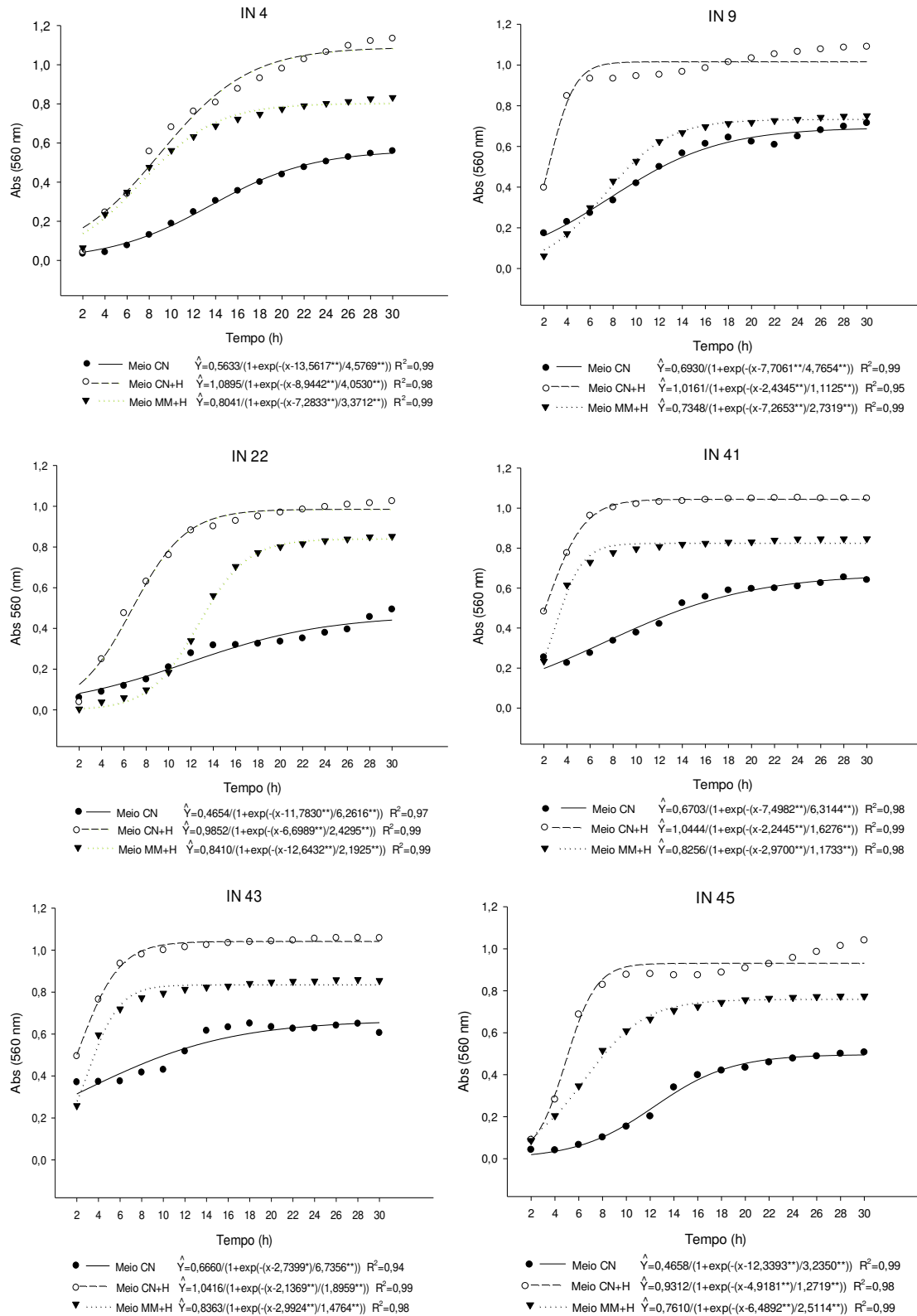


Figura 1: Crescimento dos isolados bacterianos IN4, IN9, IN22, IN41, IN43 e IN45 cultivados em meio caldo nutriente (CN), meio caldo nutriente + herbicida (CN+H) e meio mineral líquido modificado + herbicida (MM+H), por 30 horas (sendo utilizado o herbicida indaziflam na formulação comercial) Abs (absorbância 560 nm).

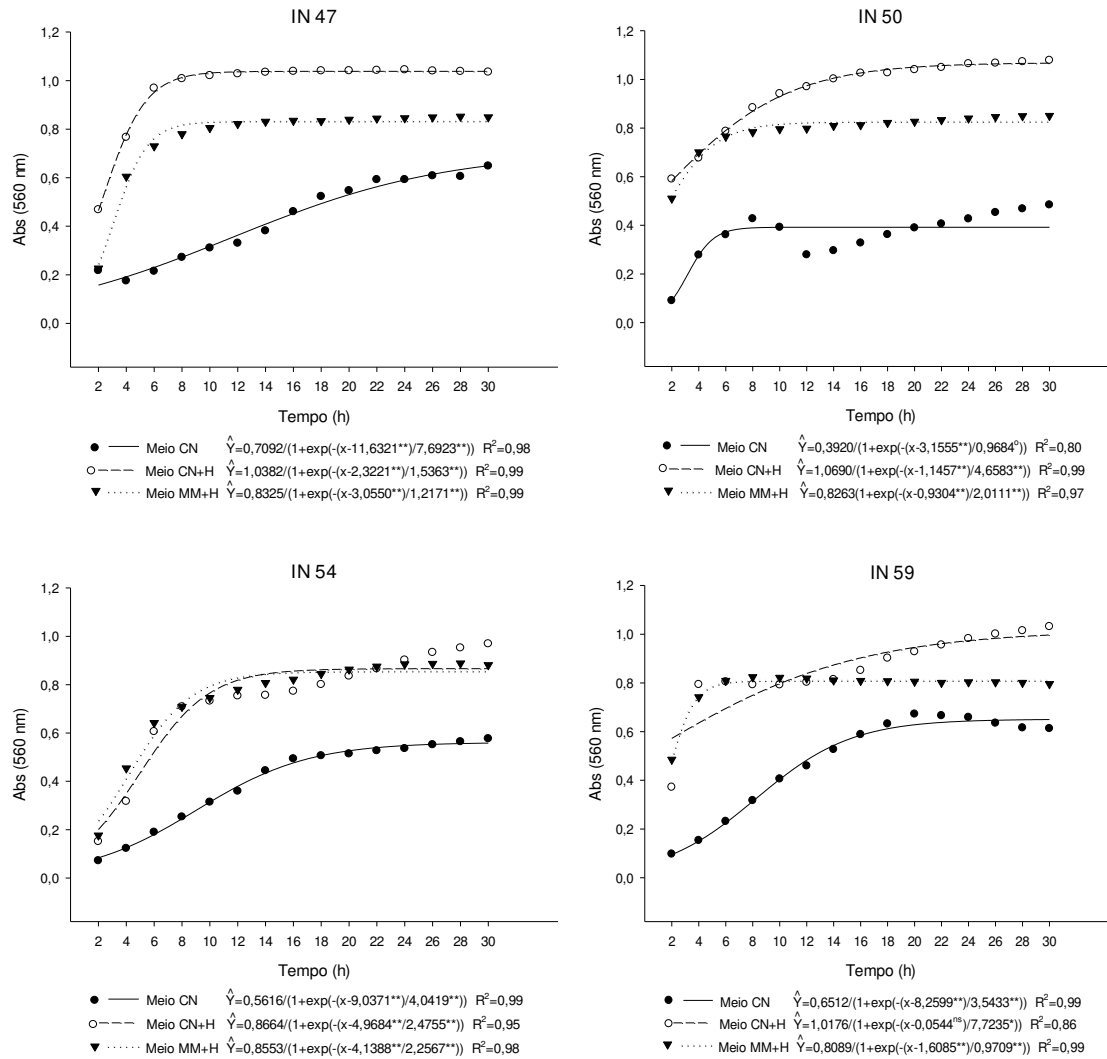


Figura 2: Crescimento dos isolados bacterianos IN47, IN50, IN54 e IN59 cultivados em meio caldo nutriente (CN), meio caldo nutriente + herbicida (CN+H) e meio mineral líquido modificado + herbicida (MM+H), por 30 horas (sendo utilizado o herbicida indaziflam na formulação comercial) Abs (absorbância 560 nm).

Na avaliação da capacidade de degradação do indaziflam pelos isolados, por meio de CLAE, na formulação comercial e padrão técnico, verificou-se capacidades distintas de metabolização da molécula e redução da concentração inicial do princípio ativo. Quando utilizou-se o indaziflam na formulação comercial, os 10 isolados foram separados em três grupos distintos, sendo a máxima degradação observada nos tratamentos compostos pelos isolados IN4, IN43, IN50, IN54 e IN59, visto que houve uma variação de 35,91% a 48,72% da concentração inicial em meio líquido mineral modificado (Tabela 2). Dos isolados que apresentaram máxima degradação, dois foram coletados em solo de mata nativa, sem histórico

de uso de herbicidas, e três em área agrícola, com histórico recente de aplicação de diferentes herbicidas.

Tabela 2: Concentração final do indaziflam obtida por meio de cromatografia líquida de alta eficiência e percentual de redução em relação à concentração da testemunha sem isolado bacteriano a partir do produto comercial Alion® (1000,00 $\mu\text{g mL}^{-1}$), cultivados em meio líquido mineral modificado com diferentes isolados bacterianos, após 10 dias de incubação a 150 rpm e 30°C.

Isolados bacterianos	Local de coleta dos isolados	Produto comercial	
		Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Redução da concentração inicial (%)
IN 4	Área agrícola	559,46 c	44,05
IN 9	Área agrícola	789,43 b	21,06
IN 22	Mata nativa	784,47 b	21,55
IN 41	Mata nativa	889,37 b	11,06
IN 43	Mata nativa	554,37 c	44,56
IN 45	Mata nativa	830,07 b	16,99
IN 47	Mata nativa	843,81 b	15,62
IN 50	Área agrícola	640,85 c	35,91
IN 54	Mata nativa	512,80 c	48,72
IN 59	Área agrícola	565,28 c	43,47
Testemunha		1000,00 a	
CV (%)		9,13	

Grupos de médias com a mesma letra são semelhantes ao nível de 5% de probabilidade pelo critério de Scott Knott

DISCUSSÃO

Na fase de isolamento, onde foram detectados 60 isolados bacterianos capazes de crescer em meio e com o produto comercial indaziflam como única fonte de carbono, nos solos coletados em mata nativa e área agrícola (dados não apresentados), constata-se a diversidade de microrganismos no solo com potencial para tolerar e, eventualmente, degradar o referido herbicida.

Na segunda fase, em que avaliou-se os dez isolados bacterianos com maior taxa de crescimento em diferentes meios de cultura, constatou-se que os mesmos apresentaram melhores taxas de crescimento em meio líquido mineral modificado + indaziflam, o qual possui apenas o herbicida como fonte de carbono, em relação ao meio caldo nutriente sem o herbicida, evidenciadas pelas maiores taxas de absorvância e menor tempo para estabilização do crescimento (Figuras 1 e 2).

No presente estudo, a biodegradação do herbicida não parece ser realizada somente por cometabolismo, uma vez que na ausência de fontes preferenciais de carbono ocorre o crescimento dos isolados, bem como degradação dos herbicidas (Figuras 1 e 2). Tal resultado, também foi observado por Martins (2012), que também constatou biodegradação do herbicida s-metolachlor na ausência de outras fontes de carbono.

Maior degradação do indaziflam na formulação comercial (Alion®), com índices de redução na concentração do i.a. entre 35,91 e 48,72, no período de 10 dias de incubação, foi observada nos meios contendo os isolados IN54, IN43, IN4, IN59 e IN50 (Tabela 2). Entretanto, esses isolados também possuem capacidade de crescimento quando em presença do herbicida e outras fontes de nutrientes, mais fáceis de metabolização, tornando possível seu crescimento em ambientes naturais com fontes alternativas de carbono e nutrientes (Figuras 1 e 2).

MELO et al. (2016), avaliando potencial de degradação do sulfentrazone na formulação comercial em solução, constataram que bactérias das espécies *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas lutea*, *Pseudomonas plecoglossicida* e três isolados de *Pseudomonas sp*, reduziram a concentração do herbicida até 5% no mesmo período.

Bactérias das espécies *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas alcaligenes* e *Enterobacter aerogenes* reduziram a concentração do herbicida s-metolachlor na ordem de 14,42 e 35,01% quando mantidas em solução por 5 e 10 dias de incubação, respectivamente (MARTINS et al., 2007). Villaverde et al. (2018), avaliando consórcios microbianos, isolados de diferentes solos agrícolas, observaram que a degradação do herbicida diuron em solução mostrou resultados de mineralização com redução de até 81,6%.

Dois dos cinco isolados com maior potencial de degradação na formulação comercial são provenientes de mata nativa e três de área agrícola (Tabela 2), evidenciando que não há uma lógica que determine o padrão da área de origem das bactérias com potencial de degradação do herbicida. Esta variação da origem dos isolados corrobora com CARDOSO (1992), que relata o solo como reservatório da maioria dos micro-organismos, com grande diversidade, as quais possuem capacidade de degradar compostos desde simples moléculas até compostos químicos sintetizados pelo homem (TORSTENSSON, 1980).

Portanto, a degradação de até 48% do indaziflam, obtido por meio do produto comercial, em meio líquido mineral modificado, comprova o potencial desses isolados para fitorremediação do herbicida visando minimizar problemas de intoxicação em culturas sensíveis cultivadas em sucessão (*carryover*), bem como redução do risco de contaminação ambiental. Ressaltando, que o indaziflam é herbicida com elevado período residual, com meia-

vida superior a 150 dias no solo (TOMPKINS, 2010), e fica pouco sorvido no solo, estando assim disponível para lixiviação e intoxicação em espécies sensíveis cultivadas em sucessão (SOUZA, 2018).

CONCLUSÃO

Os isolados IN4, IN43, IN50, IN54, IN59 promoveram 35 a 48% de degradação do indaziflam na formulação comercial, demonstrando potencial para trabalhos futuros com biorremediação de solos contaminados com esse herbicida.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa e apoio concedido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMIM, R. T.; FREITAS, S. P.; FREITAS, I. L. J.; GRAVINA, G. A.; PAES, H. M. F. Controle de plantas daninhas pelo indaziflam em solos com diferentes características físico-químicas. **Planta Daninha**, v. 32, n. 4, p. 791-800, 2014.
- BELO, A. F.; SANTOS, E. A.; SANTOS, J. B.; FERREIRA, L. R.; SILVA, A. A.; CECON, P. R.; SILVA, L. L. Effect of soil humidity on *Canavalia ensiformis* and *Stizolobium aterrimum* capacity of remediating soils contaminated by herbicides. **Planta Daninha**, v. 25, n. 2, p. 239-249, 2007.
- CARDOSO, E. J. B. N. Ecologia microbiana do solo. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do solo, 1992. p.33-57.
- CHELINHO, S.; MOREIRA-SANTOS, M.; LIMA, D.; SILVA, C.; VIANA, P.; ANDRÉ, S.; LOPES, I.; RIBEIRO, R.; FIALHO, A. M.; VIEGAS, C. A.; SOUSA, J. P. Cleanup of atrazine-contaminated soils: ecotoxicological study on the efficacy of a bioremediation tool with *Pseudomonas sp.* ADP. **Journal of Soils and Sediments**, v. 10, p. 568 - 578, 2010.
- BIER, O. Bacteriologia e microbiologia. 18.ed. São Paulo: Melhoramentos, 1977. 1056p.

DAN, H. A. et al. Resíduos de herbicidas utilizados na cultura da soja sobre o milho cultivado em sucessão. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 1, p. 86-91, 2012.

DELLAMATRICE, P. M; MONTEIRO, R. T. R. Isolation of diuron-degrading bactéria from treated Soil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, n. 6, p. 999-1003, 2004.

GUERRA, N. et al. Aminocyclopyrachlor e indaziflam: seletividade, controle e comportamento no ambiente. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 12, n. 3, p. 285-295, 2013.

JACQUES, R. J. S.; SILVA, K. J. da; BENTO, F. M.; CAMARGO, F. A. O. Biorremediação de um solo contaminado com antraceno sob diferentes condições físicas e químicas. **Ciência Rural**, v. 40, n. 2, p. 280-287, 2010.

LANE, M.; LORENZ, N.; SAXENA, J.; RAMSIER, C.; DICK, R. P. Microbial activity, community structure and potassium dynamics in rhizosphere soil of soybean plants treated with glyphosate. **Pedobiologia - International Journal of Soil Biology**, v. 55, p. 153-159, 2012.

LAW, S. E. Agricultural electrostatic spray application: a review of significant research and development during de 20th century. **Journal Electrostatic**, v. 51, n. 2, p. 25-42, 2001.

MANCUSO, M. A. C.; NEGRISOLI, E.; PERIM, L. Efeito residual no solo (“Carryover”). **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 10, n. 2, p. 151-164, 2011.

MAPA – MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Agrofit 2003: sistema de informação. Brasília, 2015. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/agrofit>. Acesso em: janeiro de 2019.

MARCHESAN, E.; SARTORI, G. M. S.; AVILA, L. A.; MACHADO, S. L. O.; ZANELLA, R.; PRIMEL, E. G.; MACEDO, V. R. M.; MARCHEZAN, M. G. Resíduos de agrotóxicos na água de rios da Depressão Central do Estado do Rio Grandedo Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 40, n. 5, p. 1053-1059, 2010.

MARTINEZ, C. O.; SILVA, C. M. M. S.; FAY, E. F.; ABAKERLI, R. B.; MAIA, A. H. N.; DURRANT, L.R. Microbial degradation of sulfentrazone in a Brazilian Rhodic Hapludox soil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, p. 209-217, 2010.

MARTINS, P. F.; MARTINEZ, C. O.; CARVALHO, G. DE; CARNEIRO, P. I. B.; AZEVEDO, R. A.; PILEGGI, S. A. V.; MELO, I. S. DE; PILEGGI, M. Selection of microorganisms degrading s-metolachlor herbicide. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 50, n. 1, p.153-159, 2007.

MARTINS, P. F. **Aspectos da regulação metabólica bacteriana em respostas a herbicidas: um enfoque ao sistema antioxidante. 2012.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

MELO, C.A.D. ET AL. Isolation and characteristics of sulfentrazone degrading bacteria. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, 2016. DOI: 10.1080/03601234.2016.1248136

OHMES, G. A.; HAYES, R. M.; MUELLER, T. C. Sulfentrazone dissipation in a Tennessee soil. **Weed Technology**, v. 14, p. 100-105, 2000.

OTTO S.; CARDINALI, A.; MAROTTA, E.; PARADISI, C.; ZANIN, G. Effect of vegetative filter strips on herbicide runoff under various types of rainfall. **Chemosphere**, v. 88, p. 113-119, 2012.

PRATA, F. **Comportamento do glifosato no solo e deslocamento miscível de atrazina. Piracicaba**, 2002. 149 p. (Tese Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2002.

SANTOS, E. A.; CORREIA, N. M.; SILVA, J. R. M.; VELINI, E. D.; PASSOS, A.B.R.J.; DURIGAN, J. C. Detecção de herbicidas em água subterrânea na microbacia do Córrego Rico (SP). **Planta Daninha**, v. 33, n. 1, p. 147-155, 2015.

SILVA, G. S.; MELO, C. A. D.; FIALHO, C. M. T.; TUFFI SANTOS, L. D.; COSTA, M. D.; SILVA, A. A. Impact of sulfentrazone, isoxaflutole and oxyfluorfen on the microorganisms of two forest soils. **Bragantia**, v. 73, n. 3, p. 292-299, 2014.

SILVA, T. M.; STETS, M. I.; MAZZETTO, A. M.; ANDRADE, F. D.; PILEGGI, S. A. V.; FÁVERO, P. R.; CANTÚ, M. D.; CARRILHO, E.; CARNEIRO, P. I. B.; PILEGGI, **Technology**, v. 50, n. 1, p.153-159, 2007.

SOUZA, W. M. **Influência dos atributos do solo na sorção e lixiviação do indaziflam em solos tropicais**. 2018. 76f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2018.

TORSTENSSON, L. Role of microorganisms in decomposition. In: HANCE, R.J., ed. *Interactions between herbicides and the soil*. London: Academic Press, p. 349, 1980.

TOMPKINS, J. 2010. Pesticide Fact Sheet: Indaziflam. Environmental Protection Agency. Unites States. Disponível em: <http://www.epa.gov/opp00001/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-80818_26-Jul10.pdf> acessado em: 20 de jan. de 2019.

VIEIRA, R. F.; SILVA, C. M. M. S.; SILVEIRA, A. P. D. Soil microbial biomass C and symbiotic processes associated with soybean after sulfentrazone herbicide application. **Plant Soil**, v. 300, p. 95-103, 2007.

VILLAVERDE, J., RUBIO-BELLIDO, M., MERCHÁN, F., MORILLO, E. Bioremediation of diuron contaminated soils by a novel degrading microbial consortium. **Journal of Environmental Management**, v.188, p. 379-386, 2017.

CAPÍTULO 4

EFICIÊNCIA DO CONSÓRCIO ENTRE PLANTAS E ISOLADOS BACTERIANO NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO COM INDAZIFLAM

RESUMO: Resíduos de herbicidas no solo podem causar contaminação ambiental e prejudicar o crescimento e a produtividade de espécies sensíveis cultivadas em sucessão a cultura principal (*Carryover*). Diante do exposto, objetivou-se avaliar a eficiência do consórcio bacteriano previamente selecionado, por plantas fitorremediadoras e pela associação desses na biorremediação de solos contaminados com o indaziflam. O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados, com quatro repetições. Os tratamentos foram arranjos em esquema fatorial 2 x 4 x 5, com dois níveis de consórcio bacteriano (presença e ausência), quatro níveis para espécies vegetais (*C. ensiformis*, *M. pruriens*, *C. ensiformis* + *M. pruriens* e ausência de espécies vegetais) e cinco níveis para dose do indaziflam (0, 10, 20, 40, 80 g ha⁻¹). O crescimento das plantas foi avaliado 60 dias após a semeadura (DAS). Nesta ocasião, foram feitas avaliações de intoxicação e do crescimento (área foliar, volume de raízes e acúmulo de matéria seca da parte aérea e das raízes) e coleta das amostras de solo para o cultivo do sorgo (*Sorghum bicolor*), visando avaliar a presença de resíduo do indaziflam no solo. Constatou-se que plantas de *C. ensiformis* e *M. pruriens* quando cultivadas em solo contaminados com até 40 g ha⁻¹ apresentaram índice de crescimento satisfatório. Menores índices de intoxicação pelo indaziflam foram verificados na *M. pruriens* e no consórcio *C. ensiformis* + *M. pruriens* quando estas foram cultivadas em solo com consórcio bacteriano. Quanto à resposta da planta bioindicadora (*S. bicolor*) da presença do indaziflam na solução do solo não se verificou diferenças até a dose de 20 g ha⁻¹, independente do tratamento utilizado. Entretanto, na dose de 40 g ha⁻¹ foram observados menores índices de intoxicação no sorgo quando se adicionou o consórcio bacteriano ao solo, independente do cultivo de espécies vegetais, indicando menor ação residual do indaziflam. Menor ação residual do herbicida na presença do consórcio bacteriano foi constatado, também, no solo sem cultivo de espécies vegetais e cultivado previamente com *M. pruriens* ou *C. ensiformis* + *M. pruriens*. Concluiu-se que o consórcio bacteriano associado ou não ao cultivo *M. pruriens* e *C. ensiformis* possuem capacidade para biorremediação de solos contaminados com o herbicida indaziflam, reduzindo contaminação ambiental e intoxicação em culturas sucessoras.

Palavras-chave: Fitorremediação. Bactérias. Descontaminação. Herbicida.

CONSORTIUM EFFICIENCY BETWEEN PLANTS AND BACTERIAL ISOLATES IN THE BIORREMEDICATION OF SOIL CONTAMINATED WITH INDAZIFLAM

ABSTRACT: Herbicide residues in the soil can cause environmental contamination and impair the growth and productivity of sensitive species grown in succession to the main crop (*Carryover*). Given the above, the objective was to evaluate the efficiency of the bacterial consortium previously selected, by phytoremediation plants and their association in the bioremediation of soils contaminated with indaziflam. The experimental design adopted was in randomized blocks, with four replications. The treatments were arranged in a 2 x 4 x 5 factorial scheme, with two levels of bacterial consortium (presence and absence), four levels for plant species (*C. ensiformis*, *M. pruriens*, *C. ensiformis* + *M. pruriens* and absence of species vegetables) and five levels for indaziflam dose (0, 10, 20, 40, 80 g ha⁻¹). Plant growth was evaluated 60 days after sowing (DAS). On this occasion, evaluations of intoxication and growth (leaf area, volume of roots and accumulation of dry matter in the aerial part and roots) were carried out and collection of soil samples for the cultivation of sorghum (*Sorghum bicolor*), in order to assess the presence of indaziflam residue in the soil. It was found that plants of *C. ensiformis* and *M. pruriens* when grown in soil contaminated with up to 40 g ha⁻¹ showed a satisfactory growth rate. Lower indaziflam intoxication rates were observed in *M. pruriens* and in the consortium *C. ensiformis* + *M. pruriens* when they were grown in soil with a bacterial consortium. Regarding the response of the bioindicator plant (*S. bicolor*) to the presence of indaziflam in the soil solution, there were no differences up to the dose of 20 g ha⁻¹, regardless of the treatment used. However, at a dose of 40 g ha⁻¹, lower rates of intoxication in sorghum were observed when the bacterial consortium was added to the soil, regardless of the cultivation of plant species, indicating less residual action of indaziflam. Less residual herbicide action in the presence of the bacterial consortium was also observed in the soil without cultivation of plant species and previously cultivated with *M. pruriens* or *C. ensiformis* + *M. pruriens*. It was concluded that the bacterial consortium associated or not with the cultivation *M. pruriens* and *C. ensiformis* have the capacity for bioremediation of soils contaminated with the herbicide indaziflam, reducing environmental contamination and intoxication in successor crops.

Keywords: Phytoremediation. Bacteria. Decontamination. Herbicid.

INTRODUÇÃO

Após atingir o solo os herbicidas podem seguir diferentes destinos: serem sorvidos, lixiviados e escoados via superficial, degradados por processo químico e, ou biológicos e serem absorvidos pelas plantas, podendo também, ocorrer interação entre os respectivos processos (MANCUSO et al., 2011, CARA et al., 2017).

Alguns desses herbicidas possuem persistência elevada no solo, o que é importante para o controle por um período de tempo maior, sem que haja necessidade de outras aplicações (PROCÓPIO et al., 2009). No entanto, a persistência prolongada do herbicida no ambiente pode acarretar danos em plantas sensíveis em sistemas de rotação de culturas (*carryover*) ou culturas intercaladas (DAN et al., 2012), intoxicação a organismos não alvo (VIEIRA et al., 2007; LANE et al., 2012; SILVA et al., 2014), lixiviação e contaminação de águas subterrâneas (SANTOS et al., 2015), escoamento superficial (*run-off*) e subsuperficial (*run-in*) e contaminação de águas superficiais (MARCHESAN et al., 2010; OTTO et al., 2012).

Dentre os herbicidas utilizados para o controle de plantas daninhas com período residual longo, tem-se o indaziflam (*N*-[(1*R*,2*S*)-2,3-dihidro-2,6-dimetil-1*H*-inden-1-yl]-6-[(1*R*)-1-fluoroetil]-1,3,5-riazine-2,4-diamine), pertencente à classe química alquilazina (TOMPKINS, 2010).

Tem como mecanismo de ação a inibição da biossíntese de celulose, que supostamente acontece na etapa da reticulação das microfibrilas de celulose, além da inibição da disposição dos cristais de celulose na parede celular, prejudicando a sua formação, o alongamento e a divisão celular. Com isso, dificilmente o indaziflam irá afetar plantas com folhas completamente desenvolvidas, visto que não ocorre à síntese de celulose e a parede celular já se encontra totalmente formada (GUERRA et al., 2013). Possui baixa solubilidade em água ($0,0028 \text{ kg m}^{-3}$ a 20°C), $K_{oc} < 1.000 \text{ mL g}^{-1}$ de carbono orgânico, o $pK_a = 3,5$ e o $\log K_{ow}$ em pH 4; 7 ou 9 = 2,8 e meia-vida no solo ($t_{1/2}$) superior a 150 dias (TOMPKINS, 2010).

Em decorrência dos problemas ambientais e agronômicos causados pelos herbicidas com longo período residual no solo, tem-se aumentado o interesse por técnicas como a biorremediação, que visam explorar agentes biológicos para a degradação e transformação de poluentes orgânicos em baixas concentrações (COLLA et al., 2008), minimizando os efeitos negativos da presença desses herbicidas no ambiente.

A biorremediação consiste na utilização de processo ou atividade biológica por meio de organismos vivos, sejam micro-organismos e, ou plantas, que possuam a capacidade de

modificar ou decompor determinados poluentes, transformando-os em substâncias menos tóxicas ou inertes (JACQUES et al., 2010).

Diversas pesquisas destacaram o potencial de plantas na remediação de solos com herbicidas, técnica conhecida como fitorremediação, que consiste no tratamento de áreas contaminadas com o uso de espécies vegetais com o objetivo de reduzir a concentração de contaminantes a níveis seguros para a saúde humana e do ambiente, impedindo ou dificultando a propagação de substâncias nocivas (PILON-SMITS, 2005; BALDANTONI et al., 2014).

A fitorremediação associada à bioaugmentação, ou seja, à introdução de micro-organismos ou consórcios para acelerar e aumentar a eficiência de remoção dos compostos tóxicos *in situ* (MARTIN-HERNANDEZ et al., 2012), pode promover a descontaminação do solo mais rapidamente, tornando a área apta a receber culturas sensíveis em menos tempo.

Para estudos de quantificação de herbicidas no solo, o bioensaio é uma ferramenta muito útil na investigação da atividade residual de herbicidas no solo, porque é capaz de detectar concentrações pequenas, muita das vezes não quantificadas por métodos cromatográficos, mas que são capazes de causar toxicidade nas plantas. As vantagens dos bioensaios são a sua simplicidade, versatilidade, alta sensibilidade (NAVAS et al., 2016), possibilidade de detecção de baixos níveis de metabólitos tóxicos que pode não ocorrer com métodos químicos e habilidade de quantificar apenas a fração biologicamente ativa do herbicida (SANTOS et al., 2013).

Contudo, são escassas as pesquisas associando fitorremediação com a introdução de micro-organismos comprovadamente degradadores de herbicidas no solo. Diante do exposto, objetivou-se avaliar o potencial de biorremediação de solos contaminados com o indaziflam por consórcio bacteriano previamente selecionado, por plantas fitorremediadoras e pela associação desses.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa em duas etapas, na primeira foram cultivadas espécies vegetais associadas à adição de consórcio bacteriano ao solo por um período de 60 dias e na segunda, avaliou-se o potencial de fitorremediação dos tratamentos do primeiro experimento, por meio de bioensaio com sorgo como espécie indicadora da presença do herbicida.

Cultivo de espécies vegetais potencialmente fitorremediadoras em associação com consórcio bacteriano

Cada unidade experimental correspondeu a vasos com capacidade de 5 dm³, revestidos com sacos plásticos e preenchidos com Latossolo Vermelho-Amarelo de textura argilosa (58% de argila, 6% de silte e 36% de areia) coletado na camada de 0 a 20 cm de profundidade em área sem histórico de aplicação de herbicidas, no Município de Viçosa-MG. A análise química do solo, apresentou as seguintes características: pH (água) 4,94; matéria orgânica 2,02 dag kg⁻¹; P e K 13,7 e 93 mg dm⁻³, respectivamente; Ca, Mg, Al, H + Al e CTC efetiva 2,01; 0,58; 0,0; 4,3 e 2,83 cmolc dm⁻³, respectivamente. O solo foi previamente adubado com 0,144 g dm⁻³ de N, 1,044 g dm⁻³ de P₂O₅ e 0,288 g dm⁻³ de K₂O.

O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados, com quatro repetições. Os tratamentos foram arranjos em esquema fatorial 2 x 4 x 5, com dois níveis de consórcio bacteriano (presença e ausência), quatro níveis para espécies vegetais (*C. ensiformis*, *M. pruriens*, *C. ensiformis* + *M. pruriens* e ausência de espécies vegetais) e cinco níveis para dose do indaziflam (0, 10, 20, 40, 80 g ha⁻¹).

O solo adubado foi colocado em uma caixa de madeira (1,8 x 0,5 x 0,19 m) revestida com filme de polietileno e a aplicação do indaziflam foi realizada com pulverizador costal, pressurizado com gás carbônico (CO₂), equipado com duas pontas de pulverização tipo leque TT110 02 espaçadas de 0,50 m, com volume de calda de 170 L ha⁻¹. Após a aplicação do herbicida, o solo foi homogeneizado de modo a incorporar o herbicida no mesmo antes de ser colocado nos vasos.

A semeadura das espécies potencialmente fitorremediadoras (*C. ensiformis*, *M. pruriens* e *C. ensiformis* + *M. pruriens*) selecionadas em experimentos anteriores foi realizada a 5 cm de profundidade utilizando-se seis sementes por vaso. Decorridos 15 dias da semeadura realizou-se o desbaste deixando três plantas da mesma espécie ou duas de cada (cultivo misto) em cada unidade experimental. A irrigação foi realizada diariamente, de modo a manter o solo com aproximadamente 80 % da capacidade de campo.

O consórcio bacteriano foi formado por cinco isolados identificados como IN4, IN43, IN50, IN54 e IN59, selecionados em ensaio anterior (Capítulo 3), com base em características como crescimento inicial rápido, densidade óptica acima de 0,4 e degradação do herbicida indaziflam. Estes foram cultivados separadamente em meio caldo nutriente (1,0 L água; 2,0 g Na₂HPO₄; 3,0 g NaCl; 3,0 g extrato de carne; 5,0 g peptona; pH 6,8) por aproximadamente 10 horas a 30°C e 150 rpm até densidade óptica de 0,6. O meio foi submetido à centrifugação (5000 rpm, 5 min e 4°C) e as células bacterianas suspensas em solução salina (NaCl 0,85%). O

consórcio foi adicionado ao solo aos sete dias após o semeio das espécies vegetais, pipetando-se volumes de três mL de solução de cada um dos cinco isolados de modo a garantir igual quantidade de unidades formadoras de colônia (UFC mL⁻¹) de cada espécie, totalizando 15 mL de solução e inoculação de $4,5 \times 10^4$ UFC g⁻¹ de solo.

Aos 15, 30, 45 e 60 dias após a semeadura (DAS), foram realizadas avaliações visuais de intoxicação nas plantas, utilizando escala de 0 a 100%, sendo zero para ausência de sintomas e 100 para a morte das plantas. As espécies vegetais foram cultivadas por 60 DAS, quando foram realizadas avaliações de área foliar e matéria seca da parte aérea e das raízes e volume de raízes. Para determinação da área foliar (AF - cm²/vaso) foi utilizado um medidor de área foliar LI-3100.

Após a retirada da parte aérea, o solo contido nos vasos foi destorroado de modo a não afetar as raízes, as quais foram, posteriormente lavadas com água corrente e submetidas ao processo de medição de raízes (VR - cm³/vaso) pelo método do volume de água deslocado em proveta graduada (CARRIGAN; FREY, 1980). Após a determinação do VR, as raízes e a parte aérea das plantas foram colocadas separadamente, em sacos de papel e levadas à estufa com circulação forçada de ar (70 ± 2 °C) até atingir peso constante para posterior determinação da massa da matéria seca (g/vaso).

Para a comparação entre as diferentes espécies, que apresentam características morfológicas distintas, os dados de matéria seca da parte aérea e das raízes, área foliar e volume de raízes foram transformados em um índice em relação a testemunha de cada espécie (sem herbicida), que recebeu valor igual a 1 (um).

Bioensaio

Amostras homogêneas de solo de cada unidade experimental coletado dos vasos, após a colheita das plantas, foram colocadas em vasos com capacidade de 0,3 dm³, revestidos com sacos plásticos. Posteriormente foram semeadas dez sementes da espécie bioindicadora *Sorghum bicolor* (BRAGA, 2017), deixando-se, após desbaste, seis plantas por vaso.

Aos 14 e 21 DAS foram realizadas avaliações visuais de intoxicação nas plantas de sorgo, utilizando escala de 0 a 100%, sendo zero para ausência de sintomas e 100 para a morte das plantas. Aos 21 DAS as plantas foram colhidas e avaliadas quanto à massa de matéria seca da parte aérea e das raízes e volume de raízes. A massa da matéria seca da parte aérea e das raízes das plantas foi obtida por meio de pesagem do material colhido, seco em estufa de circulação forçada (70 ± 2 °C) até atingir peso constante e o volume de raízes (VR - cm³/vaso) foi determinado pelo método do volume de água deslocado em proveta graduada (CARRIGAN; FREY, 1980).

Análise estatística dos dados obtidos

Os dados foram submetidos à análise de variância e de regressão. Para os fatores qualitativos, utilizou-se o teste de Tukey, a 5% de significância, e para o fator quantitativo, utilizou-se a regressão. Os modelos foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão, utilizando-se o teste “t” a 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação e no comportamento do fenômeno em estudo. Independentemente da interação de maior grau ser ou não significativa optou-se pelo desdobramento da mesma, devido a interação em estudo. A partir das equações estabeleceu-se o C₅₀, dose necessária do indaziflam para redução de 50% das características de intoxicação, área foliar, matéria seca da parte aérea, das raízes e volume das raízes.

RESULTADOS

Cultivo de espécies vegetais potencialmente fitorremediadoras em associação com consórcio bacteriano

No desdobramento dos fatores espécies vegetais e adição do consórcio bacteriano dentro de cada dose de indaziflam para a variável intoxicação das plantas *C. ensiformis*, *M. pruriens* e *C. ensiformis* + *M. pruriens* aos 15, 30, 45 e 60 dias após a semeadura (DAS) (Tabela 1), verifica-se maior tolerância da *M. pruriens* ao indaziflam, constatada pelos menores índices de intoxicação nas doses de 10 e 20 g ha⁻¹ em relação ao *C. ensiformis* e ao cultivo simultâneo das respectivas espécies, independente do tratamento de inoculação com o consórcio bacteriano.

Na dose de 40 g ha⁻¹ de indaziflam, verifica-se que aos 15 DAS não há diferença na intoxicação em relação à presença e ausência do consórcio bacteriano. Entretanto, a partir dos 30 DAS, no cultivo simultâneo entre *C. ensiformis* + *M. pruriens* e aos 60 DAS para o cultivo de *M. pruriens*, constata-se menores índices de intoxicação quando se realizou a inoculação do consórcio bacteriano ao solo (Tabela 1).

Verificou-se que na dose de 80 g ha⁻¹, não houve diferenças contrastantes entre as espécies e a adição do consórcio bacteriano, em razão dos altos índices de intoxicação em função da dose elevada do herbicida (Tabela 1), correspondente à dose comercial recomendada em bula (MAPA, 2019).

Tabela 1 – Intoxicação (%) nos diferentes cultivos com cinco doses do herbicida indaziflam, com ou sem inoculação do consórcio bacteriano, aos 15, 30, 45 e 60 dias após a semeadura (DAS)

Cultivo	Dose do indaziflam (g ha ⁻¹)									
	0		10		20		40		80	
	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
15 DAS										
<i>C. ensiformis</i>	0,0 Aa	0,0 Aa	31,7 Ab	29,5 Ab	66,2 Ab	66,2 Ab	82,0 Aa	81,5 Ab	90,7 Aa	90,7 Aa
<i>M. pruriens</i>	0,0 Aa	0,0 Aa	41,2 Aa	31,5 Bab	70,0 Aab	71,7 Aab	87,0 Aa	89,0 Aa	93,2 Aa	91,5 Aa
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	0,0 Aa	0,0 Aa	38,0 Aa	37,5 Aa	72,5 Aa	76,2 Aa	83,2 Aa	87,5 Aab	87,7 Aa	92,0 Aa
CV (%)	6,41									
30 DAS										
<i>C. ensiformis</i>	0,0 Aa	0,0 Aa	41,2 Aa	35,5 Aa	56,2 Aa	57,5 Aa	69,0 Aa	72,0 Ab	86,2 Aa	83,7 Aab
<i>M. pruriens</i>	0,0 Aa	0,0 Aa	16,2 Ab	20,0 Ab	25,0 Ac	27,5 Ac	66,2 Aa	66,2 Ab	83,0 Aa	77,5 Ab
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	0,0 Aa	0,0 Aa	46,2 Aa	37,5 Ba	35,0 Ab	40,0 Ab	66,2 Ba	79,5 Aa	85,5 Aa	85,2 Aa
CV (%)	9,52									
45 DAS										
<i>C. ensiformis</i>	0,0 Aa	0,0 Aa	40,5 Aa	33,7 Bb	57,2 Aa	56,2 Aa	70,0 Aa	72,0 Aa	85,0 Aa	81,5 Aab
<i>M. pruriens</i>	0,0 Aa	0,0 Aa	15,0 Bb	27,5 Ab	30,0 Ac	32,5 Ab	68,5 Aa	63,7 Ab	87,0 Aa	76,5 Bb
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	0,0 Aa	0,0 Aa	46,2 Aa	42,5 Aa	45,7 Ab	50,5 Aa	67,5 Ba	75,5 Aa	85,7 Aa	86,0 Aa
CV (%)	9,58									
60 DAS										
<i>C. ensiformis</i>	0,0 Aa	0,0 Aa	31,2 Aa	31,2 Aa	49,2 Aa	45,0 Aa	63,7 Aa	57,5 Bb	86,0 Aa	80,7 Aab
<i>M. pruriens</i>	0,0 Aa	0,0 Aa	11,2 Ab	11,2 Ab	29,2 Ab	29,5 Ab	40,7 Bb	49,5 Ac	83,7 Aa	76,2 Bb
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	0,0 Aa	0,0 Aa	37,5 Aa	36,2 Aa	45,5 Aa	46,0 Aa	43,2 Bb	83,7 Aa	84,0 Aa	86,7 Aa
CV (%)	9,41									

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula na linha e minúscula na coluna para cada dose, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Na Tabela 2 estão apresentados os desdobramentos das doses do indaziflam sobre a intoxicação dos cultivos com ou sem inoculação do consórcio bacteriano aos 15, 30, 45 e 60 DAS. Aos 15 DAS, para os cultivos *C. ensiformis* e *M. pruriens*, com ou sem inoculação, foram ajustadas equações pelo modelo de regressão linear segmentado com platô (RLP), com a dose demandada para a estabilização da intoxicação nos cultivos variando entre 25,15 a 26,36 g ha⁻¹, com índices entre 86,12 e 90,25% e C₅₀ bem estável entre os tratamentos, com doses entre 13,5 e 15,5 g ha⁻¹.

Aos 60 DAS, verifica-se redução dos índices de intoxicação nas plantas cultivadas em relação às avaliações anteriores (Tabela 2), em que o cultivo *C. ensiformis*, com e sem inoculação, demandaram 26,5 e 30,0 g ha⁻¹ de indaziflam para atingirem índice de 50% de intoxicação (C₅₀), respectivamente. Para a *M. pruriens*, houve incremento linear da intoxicação, com elevação de 1,01 e 0,94% por grama do indaziflam e C₅₀ de 47 e 45,5 g ha⁻¹, com e sem adição do consórcio bacteriano, respectivamente, evidenciando maior tolerância ao herbicida em relação ao *C. ensiformis*, cujos índices de elevação na intoxicação foram superiores à 1,34% por grama do herbicida.

Para o cultivo simultâneo *C. ensiformis* + *M. pruriens*, não se verificou efeito de doses sobre a intoxicação das plantas quando se realizou a inoculação com consórcio bacteriano, obtendo média de intoxicação de 42,50%, o que permite inferir que o C₅₀ é superior a dose máxima, de 80 g ha⁻¹, diferente do comportamento observado para o cultivo sem inoculação, que foi ajustado pelo modelo quadrático, com C₅₀ de 19 g ha⁻¹ (Tabela 1).

Tabela 2 – Equações de regressão ajustadas da intoxicação aos 15, 30, 45 e 60 dias após a semeadura (DAS), nos diferentes cultivos, com ou sem inoculação (Inoc) do consórcio bacteriano e as doses necessárias para atingir 50% de intoxicação (C₅₀)

Cultivo	Inoc	Equações ajustadas	Intervalo	C ₅₀
15 DAS				
<i>C. ensiformis</i>	Com	$\hat{Y}_1 = -0,458 + 3,312D^1$ $\hat{Y}_2 = 86,37^2$	$0 \leq D < 26,21$ $26,21 \leq D \leq 80$	15,5
<i>C. ensiformis</i>	Sem	$\hat{Y}_1 = -1,208 + 3,312D$ $\hat{Y}_2 = 86,12$	$0 \leq D < 26,36$ $26,36 \leq D \leq 80$	15,5
<i>M. pruriens</i>	Com	$\hat{Y}_1 = 2,083 + 3,500D$ $\hat{Y}_2 = 90,12$	$0 \leq D < 25,15$ $25,15 \leq D \leq 80$	13,5
<i>M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1 = -1,458 + 3,587D$ $\hat{Y}_2 = 90,25$	$0 \leq D < 25,56$ $25,56 \leq D \leq 80$	14,5
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	Com	$\hat{Y}_1 = 5,561 + 3,352 * D - 0,029 * D^2$	R ² = 0,9521	15,5
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1 = 4,938 + 3,544 * D - 0,030 * D^2$	R ² = 0,9536	14,5
30 DAS				
<i>C. ensiformis</i>	Com	$\hat{Y}_1 = 4,375 + 2,812D$ $\hat{Y}_2 = 77,62$	$0 \leq D < 26,04$ $26,04 \leq D \leq 80$	16,0
<i>C. ensiformis</i>	Sem	$\hat{Y}_1 = 2,250 + 2,875D$ $\hat{Y}_2 = 77,87$	$0 \leq D < 26,30$ $26,30 \leq D \leq 80$	16,5
<i>M. pruriens</i>	Com	$\hat{Y}_1 = -1,750 + 1,636D$ $\hat{Y}_2 = 83,00$	$0 \leq D < 51,81$ $51,81 \leq D \leq 80$	31,5
<i>M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1 = 0,250 + 1,611D$ $\hat{Y}_2 = 77,50$	$0 \leq D < 47,96$ $47,96 \leq D \leq 80$	31,0
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	Com	$\bar{Y} = 46,60$		
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1 = 3,129 + 2,681 * D - 0,020 * D^2$	R ² = 0,9630	20,5
45 DAS				
<i>C. ensiformis</i>	Com	$\hat{Y}_1 = 3,953 + 2,862D$ $\hat{Y}_2 = 77,50$	$0 \leq D < 25,69$ $25,69 \leq D \leq 80$	16,0
<i>C. ensiformis</i>	Sem	$\hat{Y}_1 = 1,875 + 2,812D$ $\hat{Y}_2 = 76,75$	$0 \leq D < 26,62$ $26,62 \leq D \leq 80$	17,0
<i>M. pruriens</i>	Com	$\hat{Y}_1 = 6,8375 + 1,108^{**}D$	r ² = 0,9197	39,0
<i>M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1 = 13,143 + 0,896^{*}D$	r ² = 0,8675	41,5
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	Com	$\hat{Y}_1 = 9,680 + 2,227^{o}D - 0,016^{o}D^2$	R ² = 0,9070	21,5
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1 = -0,295 + 15,010^{**}D^{1/2} - 0,585^{o}D$	R ² = 0,9905	16,0
60 DAS				
<i>C. ensiformis</i>	Com	$\hat{Y}_1 = 9,600 + 1,512D$ $\hat{Y}_2 = 86,00$	$0 \leq D < 50,52$ $50,52 \leq D \leq 80$	26,5
<i>C. ensiformis</i>	Sem	$\hat{Y}_1 = 10,000 + 1,339D$ $\hat{Y}_2 = 80,75$	$0 \leq D < 52,82$ $52,82 \leq D \leq 80$	30,0
<i>M. pruriens</i>	Com	$\hat{Y}_1 = 2,4187 + 1,0193^{**}D$	r ² = 0,9868	47,0
<i>M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1 = 4,8937 + 0,9468^{**}D$	r ² = 0,9649	47,5
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	Com	$\bar{Y} = 42,50$		
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1 = 2,307 + 2,947^{**}D - 0,023 * D^2$	R ² = 0,9831	19,0

** , * , ° , □ e ^{ns} significativo a 1, 5, 10, 15 % e não significativo, respectivamente, pelo Teste t

¹ $\hat{Y}_1 = a + bx$ descreve uma reta crescente ou decrescente até um determinado valor d (valor que encontra as retas) da curva que é o platô de resposta no intervalo $0 \leq D < d$;

² $\hat{Y}_2 =$ uma constante, no intervalo $d \leq D \leq 80,00$

Os desdobramentos das espécies cultivadas e da adição do consórcio bacteriano dentro de cada dose de indaziflam para as variáveis área foliar (AF), massa da matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca das raízes (MSR) e volume das raízes (VR) aos 60 DAS estão representados na Tabela 3. Verifica-se que na dose 10 g ha⁻¹ de indaziflam, maior índice para variável AF foi observado no cultivo simultâneo entre *C. ensiformis* e *M. pruriens*, com inoculação do consórcio bacteriano, enquanto que para as demais variáveis, não houve variação. Entretanto, na dose de 20 g ha⁻¹ de indaziflam, maior índice para a variável MSR foi observado quando se realizou inoculação do consórcio bacteriano no cultivo simultâneo entre *C. ensiformis* + *M. pruriens*.

Na dose de 40 g ha⁻¹, também no cultivo simultâneo entre *C. ensiformis* + *M. pruriens*, maiores índices foram verificados nos tratamentos com inoculação do consórcio bacteriano para as variáveis AF e VR (Tabela 3), com incremento de 74% e 135%, respectivamente, em relação ao tratamento sem inoculação do consórcio bacteriano. Também, na dose de 80 g ha⁻¹, foi verificado incremento na ordem de 123 % quando se adicionou o consórcio bacteriano para a variável volume de raízes no cultivo simultâneo de *C. ensiformis* + *M. pruriens*.

Quando se compara as espécies dentro de cada dose e dos sistemas com e sem adição do consórcio bacteriano, constata-se que com a adição do consórcio bacteriano maiores índices foram verificados para *C. ensiformis* e *C. ensiformis* + *M. pruriens* para as variáveis relacionadas às raízes (MSR e VR) e para *C. ensiformis* + *M. pruriens* para área foliar na dose de 40 g ha⁻¹, enquanto na dose de 80 g ha⁻¹ verifica-se maior volume de raízes para o cultivo simultâneo *C. ensiformis* + *M. pruriens*, ressaltando que os índices alcançados para volume de raízes foram maiores do que a testemunha (0,0 g ha⁻¹) em todas as doses avaliadas. Quando não se adicionou o consórcio bacteriano, maiores índices foram constatados para *C. ensiformis* para as variáveis AF, MSPA, MSR e VR na dose de 40 g ha⁻¹ e MSR na dose de 80 g ha⁻¹ de indaziflam.

Tabela 3 – Índices em relação à testemunha para as variáveis área foliar (AF), massa da matéria seca da parte aérea (MSPA), das raízes (MSR) e volume das raízes (VR), em diferentes cultivos com cinco doses do herbicida indaziflam, com ou sem inoculação do consórcio bacteriano, aos 60 dias após a semeadura (DAS)

Cultivo	Dose do indaziflam (g ha ⁻¹)									
	0		10		20		40		80	
	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
Área foliar (cm ² /vaso)										
<i>C. ensiformis</i>	1,00 (6795) Aa	1,00 (7378) Aa	0,69 Aa	0,78 Aa	0,56 Aa	0,53 Aa	0,49 Aab	0,49 Aa	0,22 Aa	0,31 Aa
<i>M. pruriens</i>	1,00 (8110) Aa	1,00 (10467)Aa	0,74 Aa	0,64 Aab	0,60 Aa	0,53 Aa	0,36 Ab	0,29 Ab	0,14 Aa	0,25 Aa
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	1,00 (7563) Aa	1,00 (9440) Aa	0,74 Aa	0,59 Bb	0,66 Aa	0,58 Aa	0,54 Aa	0,31 Bb	0,24 Aa	0,19 Aa
CV (%)	14,99									
Massa da matéria seca da parte aérea (g/vaso)										
<i>C. ensiformis</i>	1,00 (52,42) Aa	1,00 (53,10) Aa	0,70 Aa	0,81 Aa	0,55 Aa	0,55 Aa	0,43 Aa	0,44 Aa	0,22 Aa	0,29 Aa
<i>M. pruriens</i>	1,00 (38,95) Aa	1,00 (45,27) Aa	0,82 Aa	0,71 Aa	0,69 Aa	0,60 Aa	0,35 Aa	0,27 Ab	0,14 Aa	0,25 Aa
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	1,00 (49,21) Aa	1,00 (53,40) Aa	0,74 Aa	0,77 Aa	0,66 Aa	0,58 Aa	0,47 Aa	0,37 Aab	0,25 Aa	0,16 Aa
CV (%)	16,29									
Matéria seca da raiz (g/vaso)										
<i>C. ensiformis</i>	1,00 (5,74) Aa	1,00 (5,66) Aa	1,05 Aa	1,05 Aa	1,18 Aa	1,23 Aa	1,08 Aa	1,00 Aa	0,54 Aa	0,80 Aa
<i>M. pruriens</i>	1,00 (8,89) Aa	1,00 (8,48) Aa	0,77 Aa	0,98 Aa	1,17 Aa	0,96 Aab	0,37 Ab	0,39 Ab	0,22 Aa	0,45 Aab
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	1,00 (9,35) Aa	1,00 (10,6) Aa	0,86 Aa	1,01 Aa	1,10 Aa	0,70 Bb	0,80 Aa	0,50 Ab	0,45 Aa	0,31 Ab
CV (%)	27,02									
Volume de raiz (cm ³ /vaso)										
<i>C. ensiformis</i>	1,00 (34,75) Aa	1,00 (45,00) Aa	0,93 Aa	1,23 Aa	1,16 Aa	1,08 Aa	1,58 Aa	1,62 Aa	0,81 Aab	1,02 Aa
<i>M. pruriens</i>	1,00 (63,75) Aa	1,00 (68,25) Aa	1,23 Aa	1,15 Aa	1,28 Aa	1,11 Aa	0,86 Ab	0,55 Ab	0,29 Ab	0,49 Aa
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	1,00 (50,75) Aa	1,00 (58,75) Aa	1,20 Aa	1,18 Aa	1,46 Aa	1,12 Aa	1,86 Aa	0,79 Bb	1,07 Aa	0,48 Ba
CV (%)	38,66									

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula na linha e minúscula na coluna para cada dose, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Números entre parênteses referem-se aos valores reais observados para cada variável, na dose 0,0 g ha⁻¹ de indaziflam.

As doses do indaziflam sobre as espécies cultivadas, com ou sem inoculação do consórcio bacteriano para as variáveis AF, MSPA, MSR e VR estão apresentados na Tabela 4. Não se verificou efeito do aumento da dose de indaziflam, com \bar{Y} =média, para as variáveis área foliar, para *C. ensiformis* com e sem adição do consórcio bacteriano, MSPA para *C. ensiformis* sem adição do consórcio bacteriano, MSR na *M. pruriens* sem adição e *C. ensiformis* + *M. pruriens* com adição do consórcio bacteriano.

À medida que se aumentou a dose do indaziflam, houve redução nos índices para as variáveis AF e MSPA nas espécies *M. pruriens* e *C. ensiformis* + *M. pruriens* independente da adição do consórcio bacteriano, MSPA para *C. ensiformis* e MSR para *M. pruriens*, ambas com inoculação e MSR para o cultivo simultâneo *C. ensiformis* + *M. pruriens* e VR para *M. pruriens* sem adição do consórcio bacteriano, evidenciados pelas equações lineares ou quadráticas com o parâmetro β_1 negativo (Tabela 4).

Houve estímulo no crescimento proporcionado pelo aumento de pelo menos uma das doses do indaziflam, com posterior decréscimo, para as variáveis MSR e VR para *C. ensiformis*, VR no cultivo simultâneo *C. ensiformis* + *M. pruriens*, com e sem adição do consórcio bacteriano ao solo e na *M. pruriens* com adição do consórcio bacteriano, evidenciados pela equações raiz quadráticas ou quadráticas com o parâmetro β_1 positivo (Tabela 4), embora, taxas de incrementos mais pronunciadas foram evidenciadas na variável VR com adição do consórcio bacteriano, independente da espécie vegetal, conforme também pode ser verificado na Tabela 3.

Nas avaliações das variáveis AF e MSPA, o cultivo mais tolerante, com maior C_{50} , foi o cultivo *C. ensiformis* + *M. pruriens* com adição do consórcio bacteriano, enquanto para MSR destacou-se o cultivo de *C. ensiformis* independente da inoculação do consórcio bacteriano e, para VR o cultivo de *C. ensiformis* independente da inoculação e *C. ensiformis* + *M. pruriens* com adição do consórcio bacteriano (Tabela 4).

Tabela 4 - Equações de regressão ajustadas dos índices em relação à testemunha de área foliar (AF), massa de matéria seca da parte aérea (MSPA), das raízes (MSR) e volume das raízes (VR), aos 60 dias após a semeadura (DAS), nos diferentes cultivos com cinco doses do herbicida indaziflam, com ou sem inoculação (Inoc) do consórcio bacteriano e valores de C50 que representam a dose de indaziflam necessária para reduzir o índice das respectivas variáveis em 50%

Cultivo	Inoc	Equações ajustadas	R ² /t ²	C ₅₀
AF				
<i>C. ensiformis</i>	Com	$\bar{Y}=0,592$		
<i>C. ensiformis</i>	Sem	$\bar{Y}=0,622$		
<i>M. pruriens</i>	Com	$\hat{Y}_1=0,975-0,021^{**}D+0,0001^{*}D^2$	0,9949	26,5
<i>M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1=0,952-0,025^{*}D+0,0002^{*}D^2$	0,9748	23,5
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	Com	$\hat{Y}_1=0,895-0,008^{**}D$	0,9305	56,0
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1=0,931-0,023^{*}D+0,0001^{o}D^2$	0,9387	22,5
MSPA				
<i>C. ensiformis</i>	Com	$\hat{Y}_1=0,999-0,105^{**}D^{1/2}+0,002^{o}D$	0,9978	28,0
<i>C. ensiformis</i>	Sem	$\bar{Y}=0,620$		
<i>M. pruriens</i>	Com	$\hat{Y}_1=1,014-0,020^{**}D+0,0001^{*}D^2$	0,9936	30,0
<i>M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1=0,991-0,025^{**}D+0,0002^{*}D^2$	0,9901	24,5
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	Com	$\hat{Y}_1=0,960-0,017^{*}D+0,0001^{o}D^2$	0,9816	35,0
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1=0,984-0,021^{**}D+0,0001^{**}D^2$	0,9964	26,5
MSR				
<i>C. ensiformis</i>	Com	$\hat{Y}_1=0,994+0,011^{*}D-0,0002^{*}D^2$	0,9825	>80
<i>C. ensiformis</i>	Sem	$\hat{Y}_1=0,989+0,080^{o}D^{1/2}-0,011^{o}D$	0,7792	>80
<i>M. pruriens</i>	Com	$\hat{Y}_1=1,024-0,010^{*}D$	0,6867	50,5
<i>M. pruriens</i>	Sem	$\bar{Y}=0,759$		
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	Com	$\bar{Y}=0,841$		
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1=1,057-0,017^{*}D+0,00009^{o}D^2$	0,9500	40,0
VR				
<i>C. ensiformis</i>	Com	$\hat{Y}_1=0,847+0,028^{o}D-0,0003^{o}D^2$	0,7444	>80
<i>C. ensiformis</i>	Sem	$\hat{Y}_1=0,950+0,024^{o}D-0,0003^{o}D^2$	0,6497	>80
<i>M. pruriens</i>	Com	$\hat{Y}_1=1,005+0,166^{*}D^{1/2}-0,027^{*}D$	0,9766	70,0
<i>M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1=1,115-0,008^{*}D$	0,7275	70,0
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	Com	$\hat{Y}_1=0,922+0,040^{*}D-0,0004^{*}D^2$	0,9467	>80
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1=1,021+0,089^{o}D^{1/2}-0,017^{*}D$	0,9475	75,5

** , * , ^o , [□] e ^{ns} significativo a 1, 5, 10, 15 % e não significativo, respectivamente, pelo Teste t

Bioensaio

Na tabela 5, estão apresentados dados relativos aos desdobramentos dos fatores espécies cultivadas e adição do consórcio bacteriano dentro de cada dose de indaziflam no ensaio biológico para a variável intoxicação de plantas aos 14 e 21 dias após a semeadura (DAS),

visando a detecção de resíduo de indaziflam pela planta indicadora (sorgo). Verifica-se que até a dose de 20 g ha⁻¹ de indaziflam, não se detectou, visualmente, intoxicação nas plantas de sorgo, independente do cultivo de espécies vegetais e/ou presença e ausência do consórcio bacteriano, o que se deve à dose baixa do herbicida, associada ao espaço de tempo de 60 dias entre a aplicação do herbicida e o início da condução do bioensaio.

Na dose de 40 g ha⁻¹, foram observados menores índices de intoxicação no sorgo nas avaliações aos 14 e 21 DAS, quando se adicionou o consórcio bacteriano ao solo, independente do cultivo de espécies vegetais, indicando menor ação residual do indaziflam (Tabela 5). Na dose de 80 g ha⁻¹ de indaziflam não houve diferença da inoculação sobre a intoxicação das plantas, independente do cultivo de espécies vegetais.

Quando se compara as espécies dentro de cada dose e dos sistemas com e sem adição do consórcio bacteriano, constata-se que com a adição do consórcio bacteriano, menores índices de intoxicação foram verificados no solo sem cultivo de espécies vegetais aos 14 DAS e cultivado com *C. ensiformis* + *M. pruriens* e sem cultivo de espécies vegetais aos 21 DAS na dose de 40 g ha⁻¹, enquanto na dose de 80 g ha⁻¹ não há diferença entre as espécies vegetais, independente da inoculação do consórcio. Quando não se adicionou o consórcio bacteriano, menores índices foram constatados para *M. pruriens* e sem cultivo de espécies vegetais aos 14 e 21 DAS na dose de 40 g ha⁻¹ e *C. ensiformis*, *M. pruriens* e sem cultivo de espécies vegetais na dose de 80 g ha⁻¹ de indaziflam (Tabela 5).

Tabela 5 – Intoxicação do sorgo (%) nos diferentes cultivos com cinco doses do herbicida indaziflam, com ou sem inoculação do consórcio bacteriano, aos 14 e 21 dias após a semeadura (DAS)

Cultivo	Dose do indaziflam (g ha ⁻¹)									
	0		10		20		40		80	
	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
14 DAS										
<i>C. ensiformis</i>	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	40,0 Bb	57,5 Aa	90,0 Aa	91,5 Aa
<i>M. pruriens</i>	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	45,0 Ba	52,5 Ab	91,7 Aa	91,7 Aa
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	41,5 Bab	57,5 Aa	94,0 Aa	93,7 Aa
Sem cultivo	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	27,5 Bc	50,0 Ab	91,2 Aa	90,0 Aa
CV (%)	7,95									
21 DAS										
<i>C. ensiformis</i>	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	38,7 Ba	53,7 Aa	88,2 Aa	85,7 Ab
<i>M. pruriens</i>	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	37,5 Bab	52,5 Aab	90,7 Aa	87,0 Aab
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	32,5 Bbc	56,2 Aa	92,0 Aa	91,2 Aa
Sem cultivo	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	27,5 Bc	47,5 Ab	88,2 Aa	84,7 Ab
CV (%)	10,82									

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula na linha e minúscula na coluna para cada dose, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Nos desdobramentos das doses do indaziflam dentro dos fatores espécies cultivadas e com ou sem inoculação do consórcio bacteriano para a variável intoxicação aos 14 e 21 DAS do sorgo (Tabela 6), verifica-se incremento exponencial para intoxicação nas plantas de sorgo a partir da dose de 20 g ha⁻¹, com índices máximos na dose de 80 g ha⁻¹, com pouca variação no índices de C₅₀, que variou entre 40, 5 e 46,5 aos 14 DAS e entre 37,5 e 43,5 aos 21 DAS, embora possa ser constatado na última avaliação, que com a adição do consórcio bacteriano houve necessidade de doses mais elevadas para alcançar o C₅₀ nos solos cultivados com *M. pruriens*, *C. ensiformis* + *M. pruriens* e sem cultivo prévio, indicando menor ação residual nos respectivos solos.

Tabela 6 – Equações de regressão ajustadas da intoxicação aos 14 e 21 dias após a semeadura (DAS), nos diferentes cultivos com cinco doses do herbicida indaziflam, com ou sem inoculação do consórcio bacteriano e valores de C₅₀, que representam a dose de indaziflam necessária para promover 50% de intoxicação nas plantas de sorgo.

Cultivo	Inoc	Equações ajustadas	R ² /r ²	C ₅₀
14 DAS				
<i>C. ensiformis</i>	Com	$\hat{Y}_1=91,05/(1+\exp(4,93-0,11D))$	0,999	46,5
<i>C. ensiformis</i>	Sem	$\hat{Y}_1=91,50/(1+\exp(9,28-0,24D))$	0,999	40,0
<i>M. pruriens</i>	Com	$\hat{Y}_1=91,79/(1+\exp(7,73-0,19D))$	0,999	41,5
<i>M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1=91,75/(1+\exp(9,33-0,24D))$	0,999	40,0
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	Com	$\hat{Y}_1=94,00/(1+\exp(15,78-0,38D))$	0,999	42,0
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1=93,75/(1+\exp(9,41-0,24D))$	0,999	40,0
Sem cultivo	Com	$\hat{Y}_1=91,24/(1+\exp(20,00-0,47D))$	0,999	43,0
Sem cultivo	Sem	$\hat{Y}_1=89,99/(1+\exp(20,00-0,50D))$	0,999	40,5
21 DAS				
<i>C. ensiformis</i>	Com	$\hat{Y}_1=88,75/(1+\exp(5,70-0,16D))$	0,999	37,5
<i>C. ensiformis</i>	Sem	$\hat{Y}_1=85,75/(1+\exp(13,34-0,34D))$	0,999	40,0
<i>M. pruriens</i>	Com	$\hat{Y}_1=90,83/(1+\exp(7,67-0,18D))$	0,999	43,5
<i>M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1=87,00/(1+\exp(14,25-0,36D))$	0,999	40,5
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	Com	$\hat{Y}_1=91,99/(1+\exp(17,47-0,42D))$	0,999	42,0
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1=91,25/(1+\exp(8,38-0,22D))$	0,999	39,0
Sem cultivo	Com	$\hat{Y}_1=88,24/(1+\exp(20,00-0,48D))$	0,999	42,5
Sem cultivo	Sem	$\hat{Y}_1=84,74/(1+\exp(20,00-0,50D))$	0,999	41,0

Nos desdobramentos dos fatores espécies cultivadas e adição do consórcio bacteriano dentro de cada dose de indaziflam para as variáveis MSPA, MSR e VR do sorgo aos 21 DAS (Tabela 7), ao se comparar a adição do consórcio bacteriano dentro de cada nível do cultivo de espécies vegetais, verifica-se que quando o solo foi mantido sem cultivo, a adição do consórcio bacteriano resultou em redução na taxa de acúmulo de MSPA nas dose de 0,0, 10 e 20 g ha⁻¹ de indaziflam, MSR na dose de 10 g ha⁻¹ e, também, o VR na dose de 0,0 g ha⁻¹, indicando efeito inibitório do crescimento do sorgo com adição do consórcio bacteriano.

Entretanto, na dose de 40 g ha⁻¹, a partir da qual se observou intoxicação nas plantas de sorgo (Tabela 5) e também das plantas de *C. ensiformis* e *M. pruriens* cultivadas no primeiro ensaio (Tabela 1), somente detectou-se efeito da adição do consórcio bacteriano no solo sem cultivo para a variável MSPA, com maior índice no tratamento com inoculação do consórcio. Na dose de 80 g ha⁻¹, praticamente não houve crescimento de plantas em todos os tratamentos, com isso, não houve diferença para nenhuma das variáveis.

No desdobramento do sistema de cultivo dentro de cada dose do herbicida e nos sistemas com e sem adição do consórcio bacteriano (Tabela 7), verifica-se que quando não se inoculou o consórcio bacteriano, maiores taxas de acúmulo de MSPA do sorgo foram constatadas quando o solo foi mantido sem espécies vegetais até a dose de 40 g ha⁻¹. Ainda no solo sem inoculação, verificou-se maiores taxas de MSR nas doses de 10 e 20 g ha⁻¹ e VR nas doses de 0,0 e 10 g ha⁻¹. Na presença do consórcio bacteriano, também se constata maiores taxas de crescimento do sorgo quando o solo foi mantido sem cultivo prévio na dose de 10 g ha⁻¹.

Menores índices de crescimento do sorgo nos solos com cultivo anterior de *C. ensiformis*, *M. pruriens* e *C. ensiformis* + *M. pruriens*, especialmente, nas doses mais baixas do indaziflam, sugerem efeito inibitório do crescimento do sorgo devido a um possível efeito alelopático das espécies vegetais.

Tabela 7 – Matéria seca da parte aérea (MSPA), das raízes (MSR) e volume das raízes (VR) do sorgo, nos diferentes cultivos com cinco doses do herbicida indaziflam, com ou sem inoculação do consórcio bacteriano, aos 21 dias após a semeadura (DAS)

Cultivo	Dose do indaziflam (g ha ⁻¹)									
	0		10		20		40		80	
	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
MSPA (g/vaso)										
<i>C. ensiformis</i>	1,86 Aa	1,68 Ab	1,36 Bb	1,73 Ab	1,27 Bb	1,88 Ab	0,90 Ab	0,71 Ab	0,17 Aa	0,19 Aa
<i>M. pruriens</i>	1,69 Aab	1,76 Ab	1,43 Bb	1,84 Ab	1,46 Ab	1,63 Ab	0,93 Ab	1,01 Ab	0,14 Aa	0,17 Aa
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	1,45 Ab	1,72 Ab	1,37 Bb	1,86 Ab	1,58 Ab	1,83 Ab	0,97 Ab	0,83 Ab	0,13 Aa	0,14 Aa
Sem cultivo	1,82 Bab	3,20 Aa	2,52 Ba	3,08 Aa	2,29 Ba	3,05 Aa	1,65 Aa	1,41 Ba	0,18 Aa	0,22 Aa
CV (%)	14,96									
MSR (g/vaso)										
<i>C. ensiformis</i>	2,93 Aa	1,66 Ba	1,34 Aa	1,48 Ab	1,29 Ab	1,70 Aab	0,82 Aa	0,52 Aa	0,19 Aa	0,25 Aa
<i>M. pruriens</i>	1,43 Ab	1,91 Aa	1,24 Aa	2,05 Ab	1,16 Ab	1,63 Aab	1,00 Aa	0,71 Aa	0,17 Aa	0,16 Aa
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	2,30 Aab	1,88 Aa	1,61 Aa	1,71 Ab	1,63 Aab	1,04 Ab	0,76 Aa	0,66 Aa	0,22 Aa	0,18 Aa
Sem cultivo	1,54 Ab	2,19 Aa	2,06 Ba	3,98 Aa	2,68 Aa	2,35 Aa	1,49 Aa	0,91 Aa	0,30 Aa	0,25 Aa
CV (%)	50,66									
VR (cm ³ /vaso)										
<i>C. ensiformis</i>	22,2 Aa	12,2 Bb	12,2 Ab	12,0 Ab	14,5 Aa	13,7 Aa	10,5 Aa	6,25 Aa	2,75 Aa	2,5 Aa
<i>M. pruriens</i>	17,0 Aab	13,7 Aab	12,5 Ab	13,2 Ab	16,25 Aa	13,5 Aa	12,0 Aa	10,0 Aa	2,25 Aa	2,25 Aa
<i>C. ensiformis</i> + <i>M. pruriens</i>	18,0 Aa	15,0 Aab	14,2 Ab	10,5 Ab	17,0 Aa	11,0 Ba	11,2 Aa	7,0 Aa	2,25 Aa	1,50 Aa
Sem cultivo	11,7 Bb	18,2 Aa	20,0 Aa	21,7 Aa	18,5 Aa	16,0 Aa	13,7 Aa	11,2 Aa	4,00 Aa	2,75 Aa
CV (%)	26,45									

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula na linha e minúscula na coluna para cada dose, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Na Tabela 8, estão apresentados os desdobramentos das doses do indaziflam dentro dos fatores espécies cultivadas e inoculação de consórcio bacteriano para as variáveis MSPA, MSR e VR de sorgo, no bioensaio. Verifica-se que quando se realizou o cultivo das espécies *C. ensiformis*, *M. pruriens* e *C. ensiformis* + *M. pruriens*, independente da inoculação com consórcio bacteriano no solo sem cultivo e sem adição do consórcio bacteriano, houve decréscimo para as variáveis MSPA, MSR e VR com o aumento da dose do herbicida, evidenciado pelos valores negativos do β_1 das equações lineares e quadráticas ajustadas (Tabela 8).

Entretanto, quando o solo foi mantido sem cultivo e com inoculação do consórcio bacteriano, no primeiro ensaio, houve incremento no crescimento do sorgo com o aumento da dose do indaziflam e posterior decréscimo, evidenciado pelos valores positivos do β_1 e negativos do β_2 nas equações ajustadas pela modelo raiz quadrática, fato que resultou em maiores índices de C_{50} para as variáveis MSPA, MSR e VR (Tabela 8), indicando potencial do consórcio bacteriano na degradação do indaziflam.

Ao se comparar o C_{50} entre as espécies vegetais, verifica-se necessidade de doses mais elevadas para reduzir 50% das variáveis MSPA, MSR e VR quando se faz o cultivo prévio de *M. pruriens* e *C. ensiformis* + *M. pruriens* em relação ao cultivo da *C. ensiformis*, independente da inoculação do consórcio bacteriano.

Tabela 8 - Equações de regressão ajustadas da matéria seca da parte aérea (MSPA), das raízes (MSR) e volume das raízes (VR), aos 21 dias após a semeadura (DAS), nos diferentes cultivos com cinco doses do herbicida indaziflam, com ou sem inoculação (Inoc) do consórcio bacteriano e valores de C_{50} que representam a dose de indaziflam necessária para reduzir o índice das respectivas variáveis em 50%

Cultivo	Inoc	Equações ajustadas	R^2/r^2	C_{50}
MSPA				
<i>C. ensiformis</i>	Com	$\hat{Y}_1=1,702-0,019^{**}D$	0,9701	44,5
<i>C. ensiformis</i>	Sem	$\hat{Y}_1=1,891-0,021^*D$	0,8534	45,0
<i>M. pruriens</i>	Com	$\hat{Y}_1=1,709-0,019^{**}D$	0,9828	45,0
<i>M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1=1,937-0,021^{**}D$	0,9661	46,0
<i>C. ensiformis+M. pruriens</i>	Com	$\hat{Y}_1=1,628-0,017^{**}D$	0,8940	48,0
<i>C. ensiformis+M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1=1,965-0,022^{**}D$	0,9006	44,5
Sem cultivo	Com	$\hat{Y}_1=1,860+0,377^*D^{1/2}-0,063^{**}D$	0,9888	62,0
Sem cultivo	Sem	$\hat{Y}_1=3,416-0,040^{**}D$	0,9427	42,5
MSR				
<i>C. ensiformis</i>	Com	$\hat{Y}_1=2,868-0,466^*D^{1/2}+0,019^{\square}D$	0,9760	13,0
<i>C. ensiformis</i>	Sem	$\hat{Y}_1=1,93x0,97^D$	0,9156	23,0
<i>M. pruriens</i>	Com	$\hat{Y}_1=1,457-0,015^{**}D$	0,9652	48,5
<i>M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1=2,038-0,024^{**}D$	0,9200	42,5
<i>C. ensiformis+M. pruriens</i>	Com	$\hat{Y}_1=2,047-0,024^{**}D$	0,9183	42,5
<i>C. ensiformis+M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1=1,738-0,021^{**}D$	0,9005	41,5
Sem cultivo	Com	$\hat{Y}_1=1,523+0,463^{\circ}D^{1/2}-0,067^*D$	0,8958	68,5
Sem cultivo	Sem	$\hat{Y}_1=3,607x0,968^D$	0,8965	21,5
VR				
<i>C. ensiformis</i>	Com	$\hat{Y}_1=18,562-0,203^*D$	0,8379	46,0
<i>C. ensiformis</i>	Sem	$\hat{Y}_1=15,240x0,978^D$	0,9203	31,0
<i>M. pruriens</i>	Com	$\hat{Y}_1=17,175-0,172^*D$	0,8601	50,0
<i>M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1=15,050-0,150^{**}D$	0,9431	50,0
<i>C. ensiformis+M. pruriens</i>	Com	$\hat{Y}_1=18,325-0,192^{**}D$	0,9253	48,0
<i>C. ensiformis+M. pruriens</i>	Sem	$\hat{Y}_1=13,687-0,156^{**}D$	0,9527	44,0
Sem cultivo	Com	$\hat{Y}_1=12,105+3,387^*D^{1/2}-0,536^{**}D$	0,9813	60,5
Sem cultivo	Sem	$\hat{Y}_1=20,693-0,223^{**}D$	0,9208	46,5

** , * , ° , □ e ^{ns} significativo a 1, 5, 10, 15 % e não significativo, respectivamente, pelo Teste t

DISCUSSÃO

No primeiro experimento, observou-se que, dos cultivos avaliados, a *M. pruriens* apresentou maior tolerância ao herbicida indaziflam nas doses mais baixas, refletindo em menores índices de intoxicação em todas as avaliações e necessidade de maior dose para alcançar 50% de intoxicação (C_{50}), independente da inoculação do consórcio bacteriano (Tabelas 1 e 2), o que relaciona a adaptação e tolerância dessa espécie ao herbicida, conforme constatado, também, no capítulo 2.

No presente estudo, não foi possível observar diferenças entre a presença e ausência do consórcio bacteriano nas primeiras avaliações de intoxicação (Tabela 1), o que se deve, possivelmente, ao fato de que o tempo para o consórcio bacteriano se estabelecer no solo não foi suficiente para proporcionar diferenças significativas, considerando que a inoculação no solo foi realizada 7 DAS. Entretanto, na avaliação realizada aos 60 DAS, constata-se no cultivo simultâneo entre *C. ensiformis* + *M. pruriens* e *M. pruriens*, menores índices de intoxicação quando se realizou a inoculação do consórcio bacteriano ao solo (Tabela 1), podendo-se inferir que com o aumento do espaço de tempo após a inoculação, houve redução do nível de resíduo do indaziflam no solo.

Possivelmente, os isolados bacterianos adicionados ao solo foram capazes de metabolizar a molécula de indaziflam, assim como observado no meio de cultura, no capítulo 3. A maioria dos micro-organismos pode utilizar mais de um composto como fonte de carbono, através de vias preferenciais que direcionam a célula para compostos de fácil acesso e simples composição, ou mesmo, pode ser metabolizada paralelamente a outras vias, caracterizando o co-metabolismo (MARTINS, 2012).

Os índices alcançados para as variáveis relacionadas às raízes (MSR e VR) foram superiores ao da testemunha quando se aplicou indaziflam em doses de até 40 g ha⁻¹ (Tabelas 3 e 4), que pode ser atribuída ao efeito hormese, em que baixas doses do indaziflam estimulam o crescimento das plantas. Costa (2018), observou que o mesmo herbicida promoveu o incremento em mudas de macaúba, quando a aplicação ocorreu após o transplântio, atribuindo efeito hormese, que consiste no efeito de doses baixas de substâncias definidas como tóxicas promovendo estímulo ao desenvolvimento das plantas (SILVA et al., 2012). Também Souza (2018), estudando lixiviação do indaziflam por meio de ensaio biológico, constatou baixas concentrações do indaziflam estimularam o crescimento do sorgo.

Bioensaio

Na segunda etapa do trabalho, na qual se avaliou por meio de bioensaio, a detecção do herbicida no solo obtido após término do primeiro experimento, observa-se que até a dose de 20 g ha⁻¹ de indaziflam, não se detectou intoxicação do sorgo. Entretanto, na dose de 40 g ha⁻¹ foram observados menores índices de intoxicação quando se adicionou o consórcio bacteriano ao solo (Tabela 5), indicando menor ação residual do indaziflam, independente do cultivo de espécies vegetais. Fato que também é constatado na tabela 6, onde se observa índices de C₅₀ mais elevados, que indicam redução da ação do herbicida, para intoxicação aos 21 DAS nos solos sem cultivo e com cultivo de *M. pruriens* e *C. ensiformis* + *M. pruriens* e, ainda, na Tabela 8, para as MSPA, MSR e VR no solo sem cultivo.

Embora, não tenha sido verificada intoxicação no sorgo até a dose de 20 g ha⁻¹ de indaziflam, resíduos remanescentes causaram intoxicação no sorgo nas doses de 40 e 80 g ha⁻¹, semeado 60 dias após a aplicação, confirmando a sensibilidade do sorgo ao herbicida em solo (BRAGA, 2017) e a elevada persistência deste no solo.

Outro fato importante a ser relatado, é a intoxicação das plantas, causadas não somente pelo indaziflam, mas também, pelos seus metabólitos resultantes da degradação do indaziflam (indaziflam-triazinadiazina (FDAT), indaziflam-triazinaindanona (ITI) e ácido indaziflam-carboxílico (ICA)) que possuem elevada toxicidade para plantas (ALONSO et al., 2011; SOUZA, 2018), podendo ser detectados no bioensaio.

Menores índices de crescimento do sorgo nos solos com cultivo anterior *C. ensiformis*, *M. pruriens* e *C. ensiformis* + *M. pruriens*, especialmente, nas doses mais baixas do indaziflam, sugerem ação inibitória do crescimento do sorgo devido a um possível efeito alelopático das espécies vegetais. Além disso, pode haver liberação de substâncias alelopáticas pelos vegetais em resposta ao estresse gerado pelo herbicida, inibindo de certa forma o crescimento da espécie bioindicadora (MELO et al., 2014). Segundo Fontanetti et al. (2004), *Stizolobium aterrimum*, *C. ensiformis* e *Crotalaria juncea* (L.) mostraram-se eficientes no controle de tiririca (*Cyperus rotundus*), provavelmente por efeito alelopático, especialmente *S. aterrimum*.

Verifica-se, também, que quando o solo foi mantido sem cultivo, a adição do consórcio bacteriano resultou em redução na taxa de acúmulo de MSPA e VR na dose de 0,0 g ha⁻¹ (sem herbicida), indicando efeito inibitório do crescimento do sorgo com adição do consórcio bacteriano, que se deve provavelmente à liberação de substâncias com efeito alelopático pelos micro-organismos, resultando em menor MSPA e VR aos 21 DAS do sorgo.

O cultivo simultâneo entre *C. ensiformis* + *M. pruriens* associado com o consórcio bacteriano foi a combinação que proporcionou resultados mais satisfatórios, podendo ser uma alternativa interessante para a biorremediação de solos contaminados com herbicida indaziflam,

porque além da redução dos resíduos de herbicida no solo proporcionam maior aporte de nitrogênio ao solo por serem leguminosas, e ainda propiciam aumento da atividade microbiana e da diversidade de micro-organismos no solo com relação aos cultivos isolados, pela diversidade de exsudatos lançados no meio (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; MELO et al., 2014).

A técnica do bioensaio demonstrou potencial para avaliação da descontaminação de solos com resíduos de indaziflam por meio da fitorremediação associada à bioaugmentação com adição de consórcio bacteriano com potencial para biorremediação. Entretanto, estudos mais minuciosos por meio de quantificação de resíduos do herbicida são necessários em razão da variabilidade no crescimento do sorgo por efeitos inibitórios decorrentes de substâncias liberadas pelas plantas e pelo consórcio bacteriano, pelo efeito de hormese do herbicida em baixas concentrações estimulando o crescimento das plantas e ainda, pela possibilidade de degradação do herbicida a metabólitos tóxicos

CONCLUSÕES

Na presença do consórcio bacteriano, menores índices de intoxicação da planta bioindicadora foram constatados nos solos sem cultivo de espécies vegetais e cultivado previamente com *M. pruriens* ou *C. ensiformis* + *M. pruriens*.

O consórcio bacteriano possui capacidade para biorremediação de solos contaminados com o herbicida indaziflam, reduzindo contaminação ambiental e intoxicação em culturas sucessoras.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa e apoio concedido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALONSO, D.G.; KOSKINEN, W.C.; OLIVEIRA Jr, R.S.; CONSTANTIN, J.; MISLANHA, S. Sorption-desorption of indaziflam in selected agricultural soils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, n.4, p.3096-3101, 2011.

BALDANTONI, D.; CICALTELLI, A.; BELLINO, A.; CASTIGLIONE, S. **Different behaviours in phytoremediation capacity of two heavy metal tolerant poplar clones in relation to iron and other trace elements.** *Journal of Environmental Management*, v. 146, p. 94–99, 2014.

BRAGA, R. R. **Sorção de indaziflam e isoxaflutole em solos tropicais.** 2017. 54f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2017.

CARA, I. G., RUSU, B. G., RAUS, L., & JITAREANU, G. Sorption potential of alkaline treated straw and a soil for sulfonylurea herbicide removal from aqueous solutions: An environmental management strategy. **Chemosphere**, 186, p.360-366, 2017.

CARRIGAN, L.; FREY, K. J. Root volumes of Avena species. **Crop Science**, v. 20, p. 407 - 408, 1980.

COLLA, L. M. et al. Isolamento e seleção de fungos para Biorremediação a partir de solo contaminado com herbicidas Triazínicos. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 32, n. 3, p. 809-313, 2008.

COSTA Y. K. S. **Herbicidas: seletividade para mudas de macaúba e eficácia no controle de plantas daninhas.** 2018. 38f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2018.

DAN, H. A. et al. Resíduos de herbicidas utilizados na cultura da soja sobre o milho cultivado em sucessão. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 1, p. 86-91, 2012.

Fontanétti, A.; Carvalho; G.J.; Morais, A.R.; Almeida, K. e Duarte, W.F. (2004) - **Adubação verde no controle de plantas invasoras nas culturas de alface-americana e de repolho.** *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, vol. 28, n. 5, p. 967-973.

GUERRA, N. et al. Aminocyclopyrachlor e indaziflam: seletividade, controle e comportamento no ambiente. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 12, n. 3, p. 285-295, 2013.

JACQUES, R. J. S.; SILVA, K. J. da; BENTO, F. M.; CAMARGO, F. A. O. Biorremediação de um solo contaminado com antraceno sob diferentes condições físicas e químicas. **Ciência Rural**, 40(2):280-287, 2010.

LANE, M.; LORENZ, N.; SAXENA, J.; RAMSIER, C.; DICK, R. P. Microbial activity, community structure and potassium dynamics in rhizosphere soil of soybean plants treated with glyphosate. *Pedobiologia - International Journal of Soil Biology*, v. 55, p. 153 - 159, 2012.

MANCUSO, M. A. C.; NEGRISOLI, E.; PERIM, L. Efeito Residual no solo (“Carryover”). **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 10, n. 2, p. 151-164, 2011.

MAPA – MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Agrofitec 2003: sistema de informação. Brasília, 2015. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/agrofit>. Acesso em: janeiro de 2019.

MARCHESAN, E.; SARTORI, G. M. S.; AVILA, L. A.; MACHADO, S. L. O.; ZANELLA, R.; PRIMEL, E. G.; MACEDO, V. R. M.; MARCHEZAN, M. G. Resíduos de agrotóxicos na

água de rios da Depressão Central do Estado do Rio Grandedo Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 40, n. 5, p. 1053-1059, 2010.

MARTIN-HERNANDEZ, M.; SUAREZ-OJEDA, M. E.; CARRERA, J. Bioaugmentation for treating transient or continuous p-nitrophenol shock loads in an aerobic sequencing batch reactor. **Bioresource Technology**, v. 123, p. 150 - 156, 2012.

MARTINS, P. F. **Aspectos da regulação metabólica bacteriana em respostas a herbicidas: um enfoque ao sistema antioxidante. 2012.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

MELO, C.; FIALHO, C.; FARIA, A.; NETO, M.; SARAIVA, D.; COSTA, M.; FERREIRA, L.; FERREIRA, F. A. Microbial activity of soil cultivated with corn in association with weeds under different fertility management systems. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 74, n. 4, p. 477 - 484, 2014.

MOREIRA, F. S. M.; SIQUEIRA, J. O. Rizosfera. In: MOREIRA, F. S. M.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. Editora: UFLA, Universidade Federal de Lavras, 2006. p. 407 - 447.

NAVAS, R.; KANIKADAN, A. Y. S.; SILVA, R. J. Avaliação da sustentabilidade de uma escola técnica agrícola por meio de indicadores. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 3, n. 1, p. 94-100, 2016.

OTTO S.; CARDINALI, A.; MAROTTA, E.; PARADISI, C.; ZANIN, G. Effect of vegetative filter strips on herbicide runoff under various types of rainfall. **Chemosphere**, v. 88, p. 113-119, 2012.

PILON-SMITS, E. **Phytoremediation**. Annual review of plant biology, v. 56, p. 15–39, 2005.

PROCÓPIO, S. O.; CARMO, M. L.; PIRES, F. R.; FILHO, A. C.; BRAZ, G. B. P.; SILVA, W. F. P.; BARROSO, A. L. L.; SILVA, G. P.; CARMO, E. L.; BRAZ, A. J. B. SANTOS, E. A.; CORREIA, N. M.; SILVA, J. R. M.; VELINI, E. D.; PASSOS, A.B.R.J.; P.; PACHECO, L. P. Efeito da densidade populacional de *Panicum maximum* (cultivar Tanzânia) na fitorremediação de solo contaminado com o herbicida picloram. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 2, p. 295 - 304, 2009.

SANTOS, D. P.; BRAGA, R. R.; GUIMARÃES, F. A. R., PASSOS, A. B. R. J.; SILVA, D. V.; SANTOS, J. B.; NERY, M. C. Determinação de espécies bioindicadoras de resíduos de herbicidas auxínicos. **Revista Ceres**, v. 60, n. 3, p. 354-362, 2013.

SANTOS, E. A.; CORREIA, N. M.; SILVA, J. R. M.; VELINI, E. D.; PASSOS, A.B.R.J.; DURIGAN, J. C. Detecção de herbicidas em água subterrânea na microbacia do Córrego Rico (SP). **Planta Daninha**, v. 33, n. 1, p. 147-155, 2015.

SILVA, G. S.; MELO, C. A. D.; FIALHO, C. M. T.; TUFFI SANTOS, L. D.; COSTA, M. D.; SILVA, A. A. Impact of sulfentrazone, isoxaflutole and oxyfluorfen on the microorganisms of two forest soils. **Bragantia**, v. 73, n. 3, p. 292 - 299, 2014.

SILVA, J.C.; ARF, O.; GERLACH, G.A.X.; KURYIAMA, C.S.; RODRIGUES, R.A.F. Efeito hormese de glyphosate em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. 42(3): 295- 302, 2012.

SOUZA, W. M. **Influência dos atributos do solo na sorção e lixiviação do indaziflam em solos tropicais**. 2018. 76f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2018.

TOMPKINS, J. 2010. Pesticide Fact Sheet: Indaziflam. Environmental Protection Agency. Unites States. Disponível em: <http://www.epa.gov/opp00001/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-80818_26-Jul10.pdf> acessado em: 20 de jan. de 2019.

VIEIRA, R. F.; SILVA, C. M. M. S.; SILVEIRA, A. P. D. Soil microbial biomass C and symbiotic processes associated with soybean after sulfentrazone herbicide application. **Plant Soil**, v. 300, p. 95 - 103, 2007.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho, avaliou-se a associação entre consórcio bacteriano e espécies vegetais na biorremediação de solo contaminado com o herbicida indaziflam.

As espécies *C. ensiformis* e *M. pruriens* foram tolerantes ao indaziflam, indicando potencial para serem inseridas em programas de fitorremediação de solos contaminados com esse herbicida.

Isolaram-se bactérias degradadoras do indaziflam em meio de cultura a partir de solo com histórico recente de aplicação de diferentes herbicidas e em área de mata nativa, sem histórico de aplicação desse composto. Os isolados bacterianos variam quanto à capacidade de degradar o ingrediente ativo na formulação comercial e apresentam potencial de uso em programas de biorremediação de solos contaminados com o indaziflam.

Na primeira etapa do trabalho, em solo contaminado com cinco doses do herbicida indaziflam, foi realizado ou não o cultivo de duas espécies vegetais distintas (*C. ensiformis* e *M. pruriens*), associadas ou não a isolados bacterianos previamente selecionados. Na segunda etapa, na qual se avaliou por meio de bioensaio a detecção do herbicida indaziflam no solo após término do primeiro experimento, constatou-se indicativo de redução do resíduo do herbicida indaziflam no solo. As doses mais baixas não foram suficientes para intoxicar as plantas de sorgo e na dose de 80 g ha⁻¹ a concentração era muito alta, causando alta intoxicação mesmo após os 60 dias.

Os resultados encontrados contribuem para trabalhos sobre a biorremediação de solos contaminados com resíduos de herbicidas, de modo a entender melhor a interação entre espécies vegetais e bactérias degradadoras no solo. Essa associação, abre novas perspectivas de estudos de solos com resíduos de herbicidas no Brasil, lembrando a complexidade do sistema, que deve ser estudada individualmente, caso por caso.

Assim, entendendo melhor os efeitos da associação entre espécies vegetais fitorremediadoras e bactérias na biorremediação de solos contaminados com resíduo do herbicida indaziflam, pode-se acelerar e otimizar o processo de descontaminação, disponibilizando a área para o cultivo de espécies vegetais sensíveis (efeito *carryover*) mais rapidamente, além de reduzir os potenciais riscos de contaminação ambiental, sobretudo de corpos de águas subterrâneas e superficiais.