

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
CÂMPUS DRACENA**

LUZIANE CRISTINA FERREIRA

**FITORREMEDIÇÃO DE SOLO COM APLICAÇÃO DE TEBUTHIURON E
VINHAÇA POR ESPÉCIES DE INTERESSE AGRÔNOMICO**

Ilha Solteira

2019

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

LUZIANE CRISTINA FERREIRA

**FITORREMEDIÇÃO DE SOLO COM APLICAÇÃO DE TEBUTHIURON E
VINHAÇA POR ESPÉCIES DE INTERESSE AGRÔNOMICO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia – FEIS – UNESP – Câmpus de Ilha Solteira, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Especialidade: Sistemas de Produção

Prof. Dr. Paulo Renato Matos Lopes

Orientador

Ilha Solteira

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

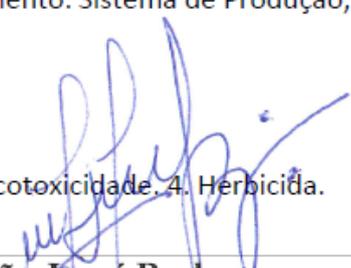
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

F383f Ferreira, Luziane Cristina.
Fitorremediação de solo com aplicação de tebuthiuron e vinhaça por espécies de interesse agrônômico / Luziane Cristina Ferreira. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2019
68 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Sistema de Produção, 2019

Orientador: Paulo Renato Matos Lopes
Inclui bibliografia

1. Biodegradação. 2. Biorremediação. 3. Ecotoxicidade. 4. Herbicida.



João Josué Barbosa
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação
Diretor Técnico
CRB 8-5642



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Ilha Solteira

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Fitorremediação de solo com aplicação de tebuthiuron e vinhaça por espécies de interesse agrônômico

AUTORA: LUZIANE CRISTINA FERREIRA

ORIENTADOR: PAULO RENATO MATOS LOPES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA, área: Sistemas de Produção pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. PAULO RENATO MATOS LOPES
Curso de Engenharia Agrônômica / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena - UNESP


Prof. Dr. EVANDRO PEREIRA PRADO
Coordenadoria do Curso de Engenharia Agrônômica / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena - UNESP


Prof. Dr. RENATO NALLIN MONTAGNOLLI
Departamento de Ciências da Natureza, Matemática e Educação / Universidade Federal de São Carlos - UFSCar

Ilha Solteira, 09 de dezembro de 2019

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por sua infinita bondade. Por ter me proporcionado essa experiência maravilhosa do mestrado, e por ter me dado saúde e proteção, assim como faz em todos os dias da minha vida. Toda honra e toda glória seja dada a Ele.

Graças a Deus também, tenho uma família maravilhosa, a qual eu agradeço imensamente por todo apoio, confiança e ajuda durante todo esse tempo em que morei pela primeira vez, fora de casa. Sem o apoio da minha família, meu pai Ademar, minha mãe Jane e o Juninho meu querido irmão, eu não teria conseguido encarar tão bem essa nova fase. Muito obrigada por me incentivarem, e por cuidarem de mim mesmo que de tão longe.

Ao meu namorado Jackson, que sempre me apoia, confia e está ao meu lado. Por ter me dado forças e sido meu companheiro e incentivador, mesmo com mais de 1000 km nos separando fisicamente. Muito obrigada meu amor.

A todas as pessoas maravilhosas que eu tive oportunidade de conhecer em Ilha Solteira e em Dracena, em especial a todos os participantes do GOU e GPP de Ilha, aos colegas do GAIA, em especial Paulo Henrique, Gustavo, Letícia e Laura, e minha querida amiga que tive oportunidade de dividir um lar durante esse período, e, além disso, também dividimos experiências, sorrisos e algumas lágrimas, obrigada Gabi. Sou muito feliz por ter encontrado pessoas tão especiais em meu caminho.

Agradeço imensamente ao meu orientador Paulo Lopes. Tive uma grande sorte em ter sido sua orientada. Desde o primeiro e-mail, me ajudou e se mostrou ser uma pessoa muito atenciosa, que ensina, incentiva, tem paciência e trata extremamente bem os seus orientados. Tive a honra de ser sua orientada de mestrado, e aprender muito com você Paulo. De todo meu coração, muitíssimo obrigada.

Ao professor Evandro Prado, por desde o início ter acolhido essa pesquisa e ter me ajudado, principalmente com as contas da aplicação do herbicida, como também por ter me indicado seu aluno Pedro Omoto, para realizar a pulverização nas plantas.

Ao professor Reges Heinrichs, por ter me ajudado com todos os cálculos de adubação, e também pelos adubos que nos foram concedidos.

À técnica Mirian de Faria, por ter auxiliado na disponibilização da vinhaça.

Ao professor Ronaldo Cintra, pela ajuda com cálculos de irrigação, como também, pelo fornecimento dos dados meteorológicos.

Aos professores Ronaldo Viana e Evandro Prado, que contribuíram muito com seus conhecimentos na minha qualificação. Todas as informações foram de grande valia para o resultado final dessa dissertação.

Aos professores Renato Montagnoli e Evandro Prado, por terem aceitado esse convite de participar da minha banca de defesa do mestrado, e contribuir grandemente com essa pesquisa. Desde já, muito obrigada.

Por fim, agradeço a Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas da Unesp, campus Dracena por ter sido o local que permitiu a excelente execução do meu experimento e todos os professores, funcionários e colegas que de alguma maneira contribuíram com essa pesquisa. Muito obrigada.

Isto é uma ordem: sê firme e corajoso. Não te atemorizes, não tenhais medo, porque o Senhor está contigo em qualquer parte por onde fores.

Js 1:9

RESUMO

O herbicida tebuthiuron é largamente utilizado na cultura da cana-de-açúcar e pode acarretar prejuízos ao ambiente devido seu elevado potencial tóxico e alta persistência no solo. Assim, esse trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de espécies vegetais em diminuir a concentração de tebuthiuron no solo com aplicação de vinhaça. A eficiência do processo de biorremediação foi avaliada quanto: ao desenvolvimento vegetal, aos parâmetros físico-químicos do solo e à ecotoxicidade do meio. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação utilizando vasos com solo sem histórico de aplicação do herbicida. As espécies potencialmente fitorremediadoras testadas foram: feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*), feijão-guandu (*Cajanus cajan*), milheto (*Pennisetum glaucum*), e mucuna-cinza (*Mucuna pruriens* (L.) DC.). Como espécie sentinela foi utilizada a *Crotalaria juncea*. Ao longo do experimento foram avaliados: o diâmetro do colo, a altura da planta e o número de folhas. Ao final, avaliações de massas fresca e seca foram realizadas para as cinco plantas testadas. A fitotoxicidade das amostras nos tratamentos foi determinada nos tempos inicial (zero) e final (50 dias), utilizando sementes de alface como organismos-teste. Os resultados revelaram que o feijão-de-porco e o feijão-guandu não resistiram a presença do herbicida. O milheto apresentou o menor índice de mortalidade e também o melhor desempenho em solos na presença do tebuthiuron associado ou não à vinhaça. Baseado em seu desenvolvimento vegetal a utilização da mucuna-cinza pode ser mais indicada para uso em reformas de canaviais. Sobre as espécies potencialmente fitorremediadoras, de acordo com o desenvolvimento de *C. juncea*, observa-se que, os vasos que anteriormente foram ocupados por mucuna-cinza, permitiram um melhor desenvolvimento e produção de biomassa para a espécie bioindicadora. Quanto ao teste de ecotoxicidade, a presença isolada do tebuthiuron no solo revelou um potencial tóxico para sementes de *L. sativa*, mas a aplicação da vinhaça junto ao herbicida favoreceu a redução dessa ecotoxicidade no tempo inicial.

Palavras chave: Biodegradação. Biorremediação. Ecotoxicidade. Herbicida.

ABSTRACT

The herbicide tebuthiuron is widely used in sugarcane cultivation and can cause damage to the environment due to its high toxic potential and high soil persistence. Thus, this work aimed to evaluate the potential of plant species in decreasing tebuthiuron concentration in the soil with vinasse application. The efficiency of the bioremediation process was evaluated for: plant development, soil physicochemical parameters and environment ecotoxicity. To evaluate these parameters, the experiments were conducted in a greenhouse using pots with soil with no history of herbicide application. Potential phytoremediation species tested were: jack bean (*Canavalia ensiformis*), pigeon pea (*Cajanus cajan*), millet (*Pennisetum glaucum*), and velvet bean (*Mucuna pruriens* (L.) DC.). As bioindicator species was used *Crotalaria juncea*. Throughout the experiment were evaluated: the neck diameter, the plant height and the number of leaves. At the end, fresh and dry mass evaluations were performed for the five plants tested. The phytotoxicity of the samples in the treatments was determined at the initial (zero) and final (50 days) times, using lettuce seeds as test organisms. Results revealed that pigeon bean and jack bean did not resist the herbicide presence. Millet plants showed the lowest mortality rate among all plant species and also presented the best performance in tebuthiuron presence associated or not with vinasse. However, despite of these results for millet, velvet bean was the most suitable for use in sugarcane fields reforming as green manure based on plant development. Among the phytoremediation species, according to the development of *C. juncea*, it is observed that, although velvet bean and millet had similar results, the vessels that were previously occupied by velvet bean, allowed a better development and production of biomass for the bioindicator species. Regarding the ecotoxicity test, the isolated presence of tebuthiuron in the soil revealed a toxic potential for *L. sativa* seeds, but the application of vinasse to the herbicide favored the reduction of this ecotoxicity in the initial time.

Keywords: Biodegradation. Bioremediation. Ecotoxicity. Herbicide.

LISTA DE ABREVIATURAS

%G	Percentual de germinação de sementes em relação ao controle negativo
%R	Percentual de alongamento de raiz em relação ao controle negativo
CN	Controle negativo
CP	Controle positivo
CTC	Capacidade de troca catiônica
DAS	Dias após a semeadura
FG	Feijão-guandu
FP	Feijão-de-porco
GI	Índice de germinação
H+Al	Hidrogênio + Alumínio
KCl	Cloreto de potássio
MC	Mucuna-cinza
MFPA	Matéria fresca da parte aérea
MFR	Matéria fresca da raiz
ML	Milheto
MSPA	Matéria seca da parte aérea
MSR	Matéria seca da raiz
pH	Potencial hidrogeniônico
SB	Soma de bases
T-	Ausência de tebuthiuron
T+	Presença de tebuthiuron
t0	Tempo zero
t45	Tempo final de 45 dias
t50	Tempo final de 50 dias
V%	Saturação da CTC por bases
V-	Ausência de vinhaça
V+	Presença de vinhaça

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula estrutural do herbicida tebuthiuron	18
Figura 2. Altura das plantas durante o desenvolvimento vegetal por 50 dias.	30
Figura 3. Diâmetro das plantas durante o desenvolvimento vegetal por 50 dias.	31
Figura 4. Número de folhas das plantas durante o desenvolvimento vegetal por 50 dias.	32
Figura 5. Altura de <i>C. juncea</i> durante o desenvolvimento vegetal por 45 dias.....	44
Figura 6. Diâmetro de <i>C. juncea</i> durante o desenvolvimento vegetal por 45 dias.....	45
Figura 7. Número de folhas de <i>C. juncea</i> durante o desenvolvimento vegetal por 45 dias. ...	46

APÊNDICE

Figura 8. Adubação do solo com o adubo Super Fosfato Simples	69
Figura 9. Aplicação de vinhaça aos tratamentos V+	69
Figura 10. Aplicação do herbicida tebuthiuron	70
Figura 11. Sintoma de fitotoxicidade em espécies vegetais.	70
Figura 12. Espécie de milho no tratamento controle com grande volume radicular	71
Figura 13. Espécie visualmente mais raquítica, comparada à testemunha, devido ao tratamento em que foi submetida.	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição físico-química do solo.....	25
Tabela 2. Delineamento experimental dos tratamentos	27
Tabela 3. Porcentagem de mortalidade das espécies vegetais em 15, 29 e 50 dias após a semeadura (DAS). Composição dos tratamentos: T(tebuthiuron), V(vinhaça), + (presença) e - (ausência).....	29
Tabela 4. Análise de variância do diâmetro das plantas aos 50 DAS. Composição dos tratamentos: T(tebuthiuron), V(vinhaça), + (presença) e - (ausência).....	33
Tabela 5. Análise de variância da massa fresca e seca da parte aérea e raiz das espécies vegetais. Composição dos tratamentos: T(tebuthiuron), V(vinhaça), + (presença) e - (ausência).....	36
Tabela 6. Análise de variância da altura, diâmetro e número de folhas de <i>C. juncea</i> após 45 DAS em vasos anteriormente ocupados por espécies vegetais. Composição dos tratamentos: T(tebuthiuron), V(vinhaça), + (presença) e - (ausência).....	49
Tabela 7. Análise de variância da massa fresca e seca da parte aérea e raiz de <i>C. juncea</i> em vasos anteriormente ocupados por espécies vegetais. Composição dos tratamentos: T(tebuthiuron), V(vinhaça), + (presença) e - (ausência).....	50
Tabela 8. Análise de variância dos valores de 1-GI para <i>Lactuca sativa</i> nos bioensaios de ecotoxicidade para os tratamentos no tempo inicial (t0) e após 50 dias de atenuação natural (t50). Composição dos tratamentos T(tebuthiuron), V(vinhaça), + (presença) e - (ausência), CN (Controle negativo), C (Controle), FG (Feijão-guandu), FP (Feijão-de-porco), MC (Mucuna-cinza), e ML (Milheto).....	52

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1	Cana-de-açúcar	17
2.2	Herbicidas	17
2.3	Fertirrigação.....	18
2.4	Fitorremediação	19
2.5	Ecotoxicidade.....	21
3	OBJETIVOS	23
3.1	Geral.....	23
3.2	Específicos	23
4	DESENVOLVIMENTO E PRODUÇÃO DE ADUBO VERDE EM SOLO COM APLICAÇÃO DE TEBUTHIURON E VINHAÇA	
4.1	Introdução.....	24
5	MATERIAL E MÉTODOS	25
5.1	Coleta de solo e vinhaça	25
5.2	Herbicida tebuthiuron.....	26
5.3	Espécies vegetais.....	26
5.4	Delineamento experimental.....	26
5.5	Preparo das unidades experimentais	27
5.6	Avaliação do desenvolvimento vegetal.....	28
5.7	Forma de análise dos resultados	28
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
7	CONCLUSÃO	38
8	FITORREMEDIAÇÃO DE SOLO COM TEBUTHIURON E VINHAÇA UTILIZANDO <i>CROTALARIA JUNCEA</i> COMO PLANTA BIOINDICADORA	40
8.1	INTRODUÇÃO	
9	MATERIAL E MÉTODOS	41
9.1	Coleta de solo e vinhaça	41
9.2	Herbicida tebuthiuron.....	42
9.3	Delineamento experimental.....	42

9.4	Preparo das unidades experimentais	42
9.5	Avaliação do desenvolvimento vegetal.....	43
9.6	Bioensaios de ecotoxicidade	43
9.7	Forma de análise dos resultados.....	44
10	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
11	CONCLUSÃO.....	54
12	CONCLUSÃO GERAL	56
13	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	57
	REFERÊNCIAS	58
	APÊNDICE.....	70

1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar pertence ao gênero *Saccharum* e a família Poaceae. É uma planta semiperene que para apresentar um crescimento adequado, necessita de condições de alta luminosidade, temperatura e umidade do solo (SILVA; SILVA, 2012). Dentre os fatores bióticos que podem interferir negativamente na sua produtividade, destaca-se a presença de plantas daninhas que podem competir por todos os recursos disponíveis (KUVA, 2003; SQUASSONI, 2012).

Para o controle dessas espécies invasoras, a utilização do herbicida tebuthiuron é amplamente realizada, tendo em vista sua ação pré-emergente, através da inibição do fotossistema II (BRASIL, 2018). Apesar da importância dos defensivos agrícolas nas atividades de produção, é importante ressaltar que seu uso excessivo pode resultar em problemas como *carryover* (MANCUSO *et al.*, 2011), intoxicação a organismos não alvo (SILVA *et al.*, 2014), lixiviação e contaminação de águas subterrâneas (SOUZA *et al.*, 2001)

Outro composto orgânico muito utilizado nos canaviais brasileiros é a vinhaça, cuja ação fertilizante é explorada na fertirrigação e também pode resultar em impactos ao meio ambiente por apresentar elevada demanda biológica de oxigênio (DBO), pH ácido e alta corrosividade (ANDRADE; DINIZ, 2007; SANTOS *et al.*, 2009; LIMA *et al.*, 2016).

A vinhaça de cana-de-açúcar é o principal efluente do processo de destilação da fermentação do etanol. As aplicações da vinhaça podem resultar em diferentes alterações no solo, tais como, incremento na disponibilidade de alguns íons, elevação do pH (REZENDE, 1979; NUNES, 1981); capacidade de troca catiônica (CTC) mais elevada; maior capacidade de retenção de água; melhoria da estrutura física do solo e a ampliação da população e atividade microbiana no solo (GLÓRIA ; ORLANDO FILHO, 1983; SILVA ; RIBEIRO, 1997; SILVA *et al.*, 2007).

Além disso, esse composto apresenta cheiro e cor característicos (escuro) pode ser altamente poluente devido a altas concentrações de matéria orgânica, baixo pH, alta demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e demanda química de oxigênio (DQO) (ESPAÑA-GAMBOA *et al.*, 2011). Seu uso prolongado pode resultar em saturação de cátions no solo, lixiviação e posteriormente a contaminação do lençol freático (JUNQUEIRA *et al.*, 2009; MORILLO; VILLAVERDE, 2017).

Nesse sentido, apresenta-se a biorremediação, que inclui diferentes técnicas como a biodegradação, por meio dos micro-organismos, vermicompostagem, através das minhocas e fitorremediação a partir das plantas. A biorremediação para eliminação de poluentes orgânicos se caracteriza como uma técnica econômica e ambientalmente amigável (MORILLO ; VILLAVERDE, 2017) e oferece a possibilidade de recuperar ou remediar áreas contaminadas por meio da redução da concentração e efeitos tóxicos de agentes poluentes (FASANELLA; CARDOSO, 2016). O uso de plantas caracterizado como fitorremediação, é uma técnica que utiliza espécies com potencial de descontaminação ambiental por diferentes processos biológicos destes organismos (SOUZA *et al.*, 2011).

Tendo em vista a ampla utilização do herbicida tebuthiuron na cultura da cana-de-açúcar, sua alta persistência no solo e elevado potencial tóxico que pode ocasionar impactos ambientais (IBAMA 2009; TONIETO, 2014), faz-se necessária a avaliação de novas alternativas de remediação, como a fitorremediação, no contexto da lavoura canavieira associado à fertirrigação com vinhaça pela utilização de plantas, visando estabelecer métodos de tratamento eficientes para redução desses efeitos negativos ao meio ambiente.

Dessa maneira, esse trabalho foi dividido em dois artigos, onde, no Artigo 1 há um enfoque agrônomo, e foi avaliado o potencial de quatro espécies vegetais, utilizadas na agricultura como forrageiras e adubo verde em remediar solo com associações de tebuthiuron e vinhaça, analisando a eficiência do processo de biorremediação. E no artigo 2, com enfoque ambiental, o potencial de remediação das espécies vegetais foi verificado por meio da utilização de uma espécie sentinela (*Crotalaria juncea*) e também, o potencial ecotoxicológico desse solo foi monitorado antes e após processo de biorremediação utilizando sementes de *Lactuca sativa*, como organismo teste.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cana-de-açúcar

Segundo Sindhu *et al.*, (2016) o Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo e contribui para 25% da produção total mundial. Com isso o Brasil também se destaca como o maior produtor mundial de açúcar e etanol, a partir da cana-de-açúcar, e com cerca de 660 milhões toneladas sendo produzidos por ano (MAZUTTI *et al.*, 2006; MAPA, 2016).

Neste sentido, o Brasil apresenta uma grande vantagem pelo seu potencial edafoclimático, que favorece grandemente às produções agrícolas como a cana-de-açúcar. Porém, existem alguns fatores que podem causar prejuízos para essa produção (NASCIMENTO, 2016).

Dentre esses se destaca a elevada utilização de defensivos agrícolas, como os herbicidas. Segundo Victoria Filho e Christoffoleti (2004), o controle das plantas daninhas deve ser feito de maneira adequada, pois pode causar dificuldade na colheita da cultura e sérias perdas na produtividade. Além disso, dados do Instituto de Economia Agrícola (IEA, 2008) afirmam que a cana-de-açúcar está atrás apenas da soja como cultura de maior utilização de herbicidas no país.

2.2 Herbicidas

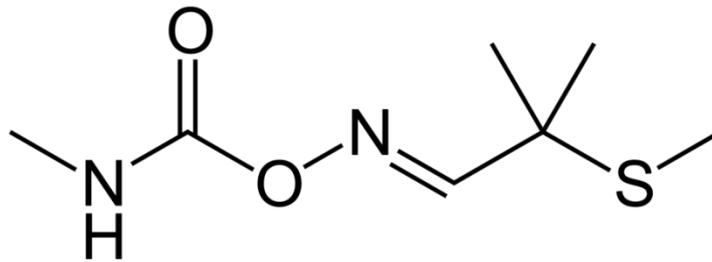
Na lavoura canavieira, a comunidade de plantas daninhas tem provocado sérias perdas de produtividade quando não é adequadamente controlada. Apesar de apresentar uma via fotossintética altamente eficiente (C4), a cana é afetada pela presença dessas invasoras, que competem por todos os recursos disponíveis (VICTORIA FILHO; CHRISTOFFOLETI, 2004; SANDANIEL *et al.*, 2008).

Assim, faz-se necessária a utilização de um pacote tecnológico para o manejo adequado de plantas daninhas para obtenção de produtividades elevadas como, por exemplo, o uso de herbicidas (KUVA *et al.*, 2008; OLIVEIRA; BRIGHENTI, 2011). Esse método químico é o mais utilizado na agricultura convencional por apresentar facilidade de acesso e baixo custo comparado a outras técnicas de controle (KUVA *et al.*, 2008).

Dentre os herbicidas mais utilizados na cultura da cana-de-açúcar está o tebuthiuron. Sua molécula (1-(5-tert-butil-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1,3-dimetilureia) está incluída no grupo químico das ureias substituídas, sendo seletivo e de ação sistêmica. Tendo classificação toxicológica de moderada a extrema (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011), é considerado

perigoso ao meio ambiente - Classe III segundo o IBAMA (2009). Além disso, ele também apresenta elevada solubilidade (FRANCO-BERNARDES *et al.*, 2014; TONIETO, 2014) e tempo de meia vida no solo muito alto, podendo encontrar resíduos por dois anos ou mais após sua aplicação (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011).

Figura 1. Fórmula estrutural do herbicida tebuthiuron



Fonte: scielo.br

Esse herbicida apresenta como mecanismo de ação, a interrupção do transporte de elétrons no FS II nas plantas. O modo de ação é pela inibição da fotossíntese, se ligando ao sítio de ligação da plastoquinona QB, e proteína D1 do fotossistema II. Há ainda nesse processo um bloqueio de transporte de elétrons, que resulta na paralisação da fixação de CO₂ e produção de ATP e NADHP₂, elementos fundamentais para o crescimento das plantas (OLIVEIRA JR. *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2014)

Ainda neste contexto, existe a aplicação de outros compostos orgânicos na lavoura canavieira que podem também resultar em impactos ambientais. Logo, a utilização de diferentes substâncias na cultura pode interferir no comportamento ambiental dessas moléculas. Dentre os compostos mais aplicados nas plantações de cana-de-açúcar está a vinhaça, representada pela técnica de fertirrigação.

2.3 Fertirrigação

Devido à sua abundância em matéria orgânica, a vinhaça (também conhecida como destilaria de destilaria ou destilaria lavada) tem sido aplicada em fertirrigação, com bons resultados ao longo dos anos (HOARAN *et al.*, 2018).

A fertirrigação baseia-se na utilização de um subproduto das usinas sucroalcooleiras como fertilizante nos canaviais (SILVA, 2011). Tendo em vista sua composição química (alto teor de potássio, nitrogênio, fósforo, sulfatos, cloretos, entre outros.) (ANDARADE; DINIZ,

2007; EMBRAPA, 2015), a vinhaça pode substituir de forma parcial as aplicações de adubo mineral (SANTOS *et al.*, 2009).

A vinhaça representa o principal resíduo da destilação do etanol, cuja geração está entre 10 a 14 litros para cada litro produzido do biocombustível (ASSAD, 2017). Este fato evidencia seu potencial poluidor e, conseqüentemente, a importância do seu adequado descarte no meio ambiente.

Souza *et al.* (2015) observaram que a fertirrigação com vinhaça promoveu ganhos na fertilidade do solo, favorecendo a produção de colmos e incrementando a qualidade final do produto. Entretanto, os autores reconheceram que essa prática pode causar sérios problemas ao meio ambiente dependendo do volume aplicado.

Neste sentido, o reaproveitamento da vinhaça na lavoura apresenta limitações quanto à dosagem desse resíduo no solo. Ultrapassar os seus limites pode não ser uma estratégia sustentável por apresentar efeitos negativos ao meio ambiente e à própria cultura (LIMA *et al.*, 2016).

2.4 Fitorremediação

Recentemente, inúmeras ações antropogênicas têm chamado atenção quanto aos seus impactos nos ecossistemas. Sobretudo quanto às práticas agrícolas, devido ao indiscriminado uso de pesticidas e gestão inadequada das aplicações destes compostos químicos nas culturas, podendo resultar em contaminação do solo e das águas superficiais e subterrâneas (OLIVA JUNIOR, 2012).

Biodegradação microbiana, fitorremediação pelo uso de plantas e vermicompostagem com minhocas são diferentes técnicas que podem ser aplicadas como biorremediação destas áreas impactadas. Trata-se de uma alternativa ecologicamente viável que oferece diferentes possibilidades de destruir ou tornar os contaminantes em substâncias inócuas (MORILLO; VILLAVARDE, 2017).

O processo foi utilizado por Araújo e Orlanda (2014) para biorremediar solo do cerrado maranhense contaminado por 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-D) utilizando linhagens bacterianas. Seu resultado revelou alta porcentagem de inativação desse herbicida pelos microrganismos. Além disso, o cultivo de algumas espécies vegetais no solo impactado pode estimular o crescimento microbiano e induzir a degradação de moléculas poluentes, como os

resíduos de herbicidas, pela ação da microbiota capaz de (co)metabolizá-los (MELO *et al.*, 2017).

A fitorremediação de herbicidas tem sido muito estudada no Brasil (SANTOS *et al.*, 2004; PIRES *et al.*, 2006; CARMO *et al.*, 2008; PROCÓPIO *et al.*, 2008; BELO *et al.*, 2011; MADALÃO *et al.*, 2012; MONQUERO *et al.*, 2013).

Esse processo trata-se do uso de plantas para a redução da concentração e da toxidez de contaminantes no ambiente (ALI *et al.*, 2013). Pesquisas relacionadas a essa técnica buscam compreender a interação planta-contaminante (VASCONCELLOS *et al.*, 2012), cuja fisiologia do vegetal é capaz de promover a descontaminação ambiental (SOUZA *et al.*, 2011).

Dependendo da origem do contaminante e da espécie vegetal, existem diferentes mecanismos fitorremediadores: extração, estabilização, volatilização, acumulação, degradação ou estímulo da microbiota indígena associada, conhecida como fitoestimulação. As plantas são capazes de suportar grandes populações microbianas na rizosfera pela produção de exsudados nas raízes (TURPAULT *et al.*, 2007; AZABUIKE *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2017). Portanto, representa um importante método de remediação para áreas impactadas com herbicidas de elevada persistência (SANTOS *et al.*, 2010).

Logo, estudos vêm sendo realizados com o intuito de reduzir esse efeito residual dos herbicidas pela utilização de espécies vegetais que aceleram a diminuição dos seus níveis no solo. Seus resultados também apresentaram benefícios agrícolas pela utilização de espécies de interesse agrícola como plantas forrageiras e pela aplicação em adubos verdes (PIRES *et al.*, 2003; 2005a,b; 2008; MELO *et al.*, 2017)

Diversos trabalhos na literatura observaram a redução na concentração de pesticidas no solo empregando fitorremediação (PIRES *et al.*, 2003; 2005a,b; 2008; CARMO *et al.*, 2008; MADALÃO *et al.*, 2013; MELO *et al.*, 2017). No entanto, a toxicidade dessas amostras de solo antes e após o tratamento não foi analisada. Assim, sabendo-se que a degradação de compostos orgânicos pode gerar compostos intermediários mais tóxicos que a molécula original (ROCHA *et al.*, 2018), torna-se essencial a avaliação do potencial ecotoxicológico no ambiente para evidenciar o sucesso no processo de biorremediação (BANKS; SCHULTZ, 2005).

2.5 Ecotoxicidade

A ecotoxicologia é o ramo da toxicologia que avalia os efeitos tóxicos resultantes da ação de compostos de origem natural ou sintética nos ecossistemas, o que pode resultar em impactos na fauna, flora e/ou microbiota (FORBES; FORBES, 1994).

Os efeitos adversos causados pela ação de agentes químicos sobre os seres vivos são avaliados por meio dos testes de ecotoxicidade, que avaliam estes prejuízos sobre organismos-teste ou espécies não alvo da substância em análise (HAGNER *et al.*, 2010; CARDOSO; ALVES, 2013).

Para o estudo da ecotoxicologia, um bom modelo a ser utilizado são os pesticidas agrícolas. Esses compostos causam constantemente problemas de contaminação, apresentam alta persistência no meio ambiente e provocam efeitos tóxicos nas cadeias ecológicas, atingindo diferentes formas de vida. Assim, a partir de bioensaios com diferentes seres vivos é possível avaliar os impactos do uso desses produtos sobre organismos não alvo (GRISOLIA, 2005).

A permanência de compostos no solo pode ser determinada quantitativamente por técnicas cromatográficas. Já os bioensaios de ecotoxicidade destacam-se pela detecção dos resíduos ativos biologicamente, diminuindo a complexidade e o custo de análise. No entanto, seus resultados são semiquantitativos e específicos para a molécula e o organismo-teste utilizados (BEYER *et al.*, 1988).

Com base nisso, diversos estudos de biorremediação vêm utilizando sementes na avaliação ecotoxicológica do processo de tratamento de ambientes potencialmente contaminados para diferentes compostos: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos - HPAs (CARVALHO *et al.*, 2010), óleos lubrificantes automotivos (LOPES *et al.*, 2010), fármacos (REDE, 2011), óleos vegetais e biodiesel (TAMADA *et al.*, 2012), petróleo e derivados (CRUZ *et al.*, 2014), espumas de incêndio (MONTAGNOLLI *et al.*, 2017), córregos urbanos contaminados por efluentes de origem domiciliar e industrial (SANTOS *et al.*, 2017), entre outros.

Contudo, pesquisas com tratamento de solo com pesticidas utilizando microrganismos (VILLAVARDE *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2018) e plantas (PIRES *et al.*, 2003; 2005a,b; 2008; CARMO *et al.*, 2008; MADALÃO *et al.*, 2013; MELO *et al.*, 2017) geralmente não avaliam a toxicidade do meio antes e após o processo biológico. Portanto, não são capazes de

certificar a eficiência da biorremediação pela ausência de dados ecotoxicológicos comparativos.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar o potencial de espécies vegetais utilizadas na agricultura como forrageiras e adubo verde em remediar solo com associações de tebuthiuron e vinhaça, analisando a eficiência do processo de biorremediação. Específicos

3.2 Específicos

- Avaliar o desenvolvimento vegetal de espécies utilizadas na agricultura como forrageira e adubo verde em solo com tebuthiuron e vinhaça;
- Analisar o potencial de remediação de espécies vegetais em solos com diferentes associações tebuthiuron-vinhaça, utilizando uma espécie sentinela após o processo biológico;
- Monitorar o potencial ecotoxicológico das amostras de solo nos tratamentos antes e após o processo de biorremediação;

4 DESENVOLVIMENTO E PRODUÇÃO DE ADUBO VERDE EM SOLO COM APLICAÇÃO DE TEBUTHIURON E VINHAÇA

4.1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar representa uma cultura de grande importância no Brasil. Atualmente, o estado de São Paulo ocupa a posição de maior produtor, com uma área plantada superior a 52% (CONAB, 2017).

Além dos fatores de acréscimo na produtividade, é necessário um destaque também, para aqueles que podem limitar o sucesso da cultura. Dentre eles, as condições climáticas, doenças, insetos praga e as plantas daninhas. Essas, quando não controladas de maneira adequada, podem resultar em até 85% de perdas para a produção da cultura (VICTORIA FILHO ; CHRISTOFFOLETI, 2004).

Neste contexto, destaca-se o grande volume de utilização do herbicida tebuthiuron em função da sua ação pré-emergente e da inibição do fotossistema II (BRASIL, 2018).

Além do herbicida, outros compostos, como a vinhaça, que é um subproduto orgânico da produção de etanol (ASSAD, 2017) é aplicada nos canaviais e tem sua ação fertilizante explorada na fertirrigação (SANTOS *et al.*, 2009; LIMA *et al.*, 2016). Resultando em economia na adubação dos canaviais (ROSSETTO, 2004).

Entretanto, a estratégia da fertirrigação apresenta limitações quanto à dosagem desse material que pode ser utilizado no solo. Ultrapassar os seus limites pode não ser algo sustentável, e pelo contrário, causar danos ao meio ambiente e à própria cultura (LIMA *et al.*, 2016). Além disso, a ampla utilização do tebuthiuron na cultura pode ocasionar prejuízos pela sua alta persistência (por até dois anos) no solo (PIRES *et al.*, 2006) e elevado potencial tóxico para organismos não-alvo (IBAMA, 2009). Portanto, faz-se necessária a avaliação de aplicação deste herbicida associada à fertirrigação com o intuito de cultivar espécies de interesse agrônomo para a reforma de canaviais.

A utilização de espécies leguminosas como adubo verde é recomendada na reforma do canavial (AMBROSANO *et al.*, 2013) por apresentar benefícios, como: fixação biológica de nitrogênio (TIMOSSI *et al.*, 2011), custo relativamente baixo, aumento na produtividade da cultura, conservação do solo, e proteção contra espécies invasoras (AMBROSANO *et al.*, 2005).

Com isso, essa pesquisa teve como objetivo avaliar o efeito fitotóxico do tebuthiuron associado ou não a vinhaça sob desenvolvimento vegetal e capacidade de produção de biomassa de espécies vegetais utilizadas na agricultura como forrageira e adubo verde.

5 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi instalada em casa de vegetação localizada na Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Universidade Estadual Paulista - FCAT/Unesp, câmpus de Dracena, coordenadas 21°28' latitude sul e 51°31' longitude oeste com altitude média de 400 m.

O clima de tipo Aw (tropical úmido), classificado segundo Köppen (1948) com temperatura local média de 22,1 °C e precipitação anual média de 1.200 mm, obtidos a partir da estação meteorológica de Dracena EMA/FCAT.

O período de realização foi entre março e maio de 2019 com médias de temperatura e umidade relativa do ar fora da casa de vegetação, de 25,7 °C e 73,4%, respectivamente, também obtidos a partir da estação meteorológica de Dracena EMA/FCAT.

5.1 Coleta de solo e vinhaça

O solo da região foi classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico por Santos *et al.* (2018). A análise física revelou que consiste em 89,9% de areia, 7,1% de argila e 3,0% de silte, indicando textura arenosa. A composição química do solo pode ser observada na Tabela 1. Essa caracterização serviu de base para adubação dos vasos visando um bom desenvolvimento das espécies avaliadas.

Os adubos foram utilizados nas seguintes dosagens por vaso: para o milheto, aplicação de 80 g de Ureia diluída em 1,5 L de água, divididos em 3 aplicações de 500 mL cada. Para as leguminosas, 8 g de Ureia diluídas em 4,5 L de água aplicada em uma vez na semeadura. Para todos os vasos: 125 g de KCl diluídos em 6 litros de água, divididos em 3 aplicações de 2 L cada, e 445 g de Super Fosfato Simples aplicados na preparação de 320 litros de solo, necessários para enchimento de todos os vasos (Fotos no apêndice).

Tabela 1. Composição físico-química do solo.

Parâmetros	Valor	Unidade
pH	5,2	
Matéria orgânica	3	g dm ³
Potássio	1,7	mmolc dm ³
Cálcio	15	

Magnésio	4	
Hidrogênio + Alumínio	13	
Fósforo	5	
Boro	0,17	
Cobre	0,5	mg dm ³
Ferro	8	
Manganês	7,8	
Zinco	0,3	
Saturação da CTC por bases (V%)	61	%
Soma de bases	21	mmolc dm ³
Capacidade de troca catiônica (CTC)	34	

Fonte: Adaptado do resultado do laboratório da FCA/Unesp Botucatu

A vinhaça foi coletada em usina sucroenergética da região de Dracena-SP em frascos de vidro estéril. Posteriormente, o volume foi acondicionado em geladeira a 4 °C.

5.2 Herbicida tebuthiuron

O herbicida tebuthiuron foi adquirido em estabelecimento comercial no município de Dracena-SP pelo produto comercial Combine[®] 500SC - Dow AgroSciences Industrial Ltda.

5.3 Espécies vegetais

As espécies vegetais foram escolhidas conforme sua capacidade de remediar solo com pesticidas e também pelo seu potencial agrícola na melhora da qualidade do solo, sendo utilizadas como adubo verde e/ou forrageiras na rotação da cultura de cana-de-açúcar. Assim, foram escolhidas quatro espécies da empresa BRSEEDS[®], Lote 01/2018, Safra 2018/2018: FG - feijão-guandu (*Cajanus cajan*); FP - feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) (MADALÃO *et al.*, 2013; MADALÃO *et al.*, 2016); MC - mucuna-cinza (*Mucuna pruriens* L. DC.). (PIRES *et al.*, 2005; PIRES *et al.*, 2008); e ML - milheto (*Pennisetum glaucum*) (PIRES *et al.*, 2008).

5.4 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, no esquema fatorial 2x2x4 com cinco repetições, ligado à dose recomendada de tebuthiuron pelo produto comercial Combine[®] 500SC (ausência e presença), ao volume de vinhaça geralmente utilizado na lavoura canavieira (ausência e presença), e às quatro espécies vegetais com potencial agrícola de utilização na reforma de canaviais.

A dose utilizada do produto formulado Combine[®] 500SC foi de 2 L ha⁻¹ (200µldm⁻³), que corresponde a 1 kg ha⁻¹ do ingrediente ativo tebuthiuron. De acordo com a bula do

produto, essa é a dose adequada para solos de textura arenosa e areno-argilosa (BRASIL, 2019).

O volume de vinhaça foi de $150 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ (150 mL dm^{-3}), que corresponde a aplicação geralmente realizada pela usina fornecedora, de acordo com a Norma Técnica P4.231/2005 da CETESB (2005).

5.5 Preparo das unidades experimentais

Os vasos utilizados como unidades experimentais (volume de 4 dm^3) foram preenchidos com solo. Primeiramente, os tratamentos com presença de vinhaça receberam a aplicação deste composto de forma manual e uniforme.

Tabela 2. Delineamento experimental dos tratamentos

Espécie vegetal	Tratamentos	Tebutiurum	Vinhaça	Espécie vegetal	Tratamentos	Tebutiurum	Vinhaça
sp1	1a	-	-	sp3	3a	-	-
	1b	-	+		3b	-	+
	1c	+	-		3c	+	-
	1d	+	+		3d	+	+
sp2	2a	-	-	sp4	4a	-	-
	2b	-	+		4b	-	+
	2c	+	-		4c	+	-
	2d	+	+		4d	+	+

Fonte: Próprio autor

No dia seguinte, foi realizada a pulverizações do Combine[®] 500 SC na dose comercial de 2 L ha^{-1} , através do pulverizador costal pesquisa (Herbicat[®]) pressurizado por CO_2 equipado com seis pontas de jato plano XR 8002 na pressão de 2 bar (vazão de $0,65 \text{ L min}^{-1}$) e espaçadas em 0,5 m. A aplicação foi realizada na velocidade de 5 km h^{-1} mantidas a uma altura de 0,75 m em relação ao topo dos vasos proporcionando um volume de aplicação de 250 L ha^{-1} . As condições ambientais como temperatura e umidade relativa do ar foram monitoradas no momento das pulverizações através de termo-higro-anemômetro-luxímetro digital portátil (Instrutherm[®] modelo THAL-300). A pulverização aconteceu dentro de uma casa de vegetação, o que evitou o efeito do vento sob a aplicação. Os tratamentos com ausência de vinhaça e/ou tebuthiuron tiveram o mesmo volume de água deionizada aplicado naqueles com a adição desses compostos (Fotos no apêndice).

No dia seguinte à aplicação do tebuthiuron, foi realizada a semeadura de dez sementes por vaso. Foi realizado o desbaste no 8º dia após a semeadura (DAS) e conduzida uma planta

por vaso. Esses foram irrigados diariamente por microaspersão a 6 mm h^{-1} durante 60 minutos, sendo 30 minutos pela manhã e 30 minutos ao final do dia, para manutenção das condições adequadas para o desenvolvimento vegetal.

5.6 Avaliação do desenvolvimento vegetal

O desenvolvimento das plantas foi avaliado de acordo com as seguintes análises semanais: (I) diâmetro do colo em mm obtido com auxílio de um paquímetro; (II) altura da planta em cm com auxílio de uma régua; e (III) número de folhas. Este monitoramento periódico foi realizado por 50 dias e resultou em seis avaliações.

Ao final do experimento (t50), as plantas de cada tratamento foram separadas para determinações da biomassa: massa fresca das partes aérea (MFPA) e radicular (MFR) e massa seca das partes aérea (MSPA) e radicular (MSR). A separação da parte aérea e raiz se deu pelo corte do colmo rente ao solo. As raízes foram lavadas para que todo o solo fosse removido. Após a separação, cada fração foi pesada separadamente, embalada em saco de papel e colocada em estufa de circulação forçada de ar a 65°C , por 72 horas e novamente pesadas (Fotos no apêndice).

5.7 Forma de análise dos resultados

Os resultados foram analisados efetuando-se a análise de variância, teste de Tukey a 5,0% de probabilidade para a comparação de médias, utilizando o software Microcal Origin 8.0.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A mortalidade das espécies vegetais durante o monitoramento está apresentada na Tabela 3.

Inicialmente, observa-se que no tratamento controle (T-V-, ausência de tebuthiuron e vinhaça), apenas o milho apresentou morte de 20% a partir de 29 DAS. Já ao adicionar vinhaça (T-V+), não foram registradas mortes até o tempo final (t50) para nenhuma espécie vegetal (Tabela 3).

Contudo, a aplicação do tebuthiuron no solo provocou fitotoxicidade em todas as espécies vegetais analisadas. A taxa de mortalidade nos tratamentos com feijão-guandu e feijão-de-porco estava entre 80 e 100% aos 29 DAS, e no tempo final (50 DAS), o efeito do herbicida resultou em morte de todos esses indivíduos (Tabela 3).

Para a mucuna-cinza aos 50 DAS, a presença do tebuthiuron ocasionou a morte de 60% e sua associação com a vinhaça reduziu essa perda para 40%. O milho foi a espécie com menor taxa de mortalidade na presença do herbicida (40%), apesar de ser a única espécie com 20% de perda em 15 DAS para o solo com associação tebuthiuron-vinhaça (T+V+) (Tabela 3).

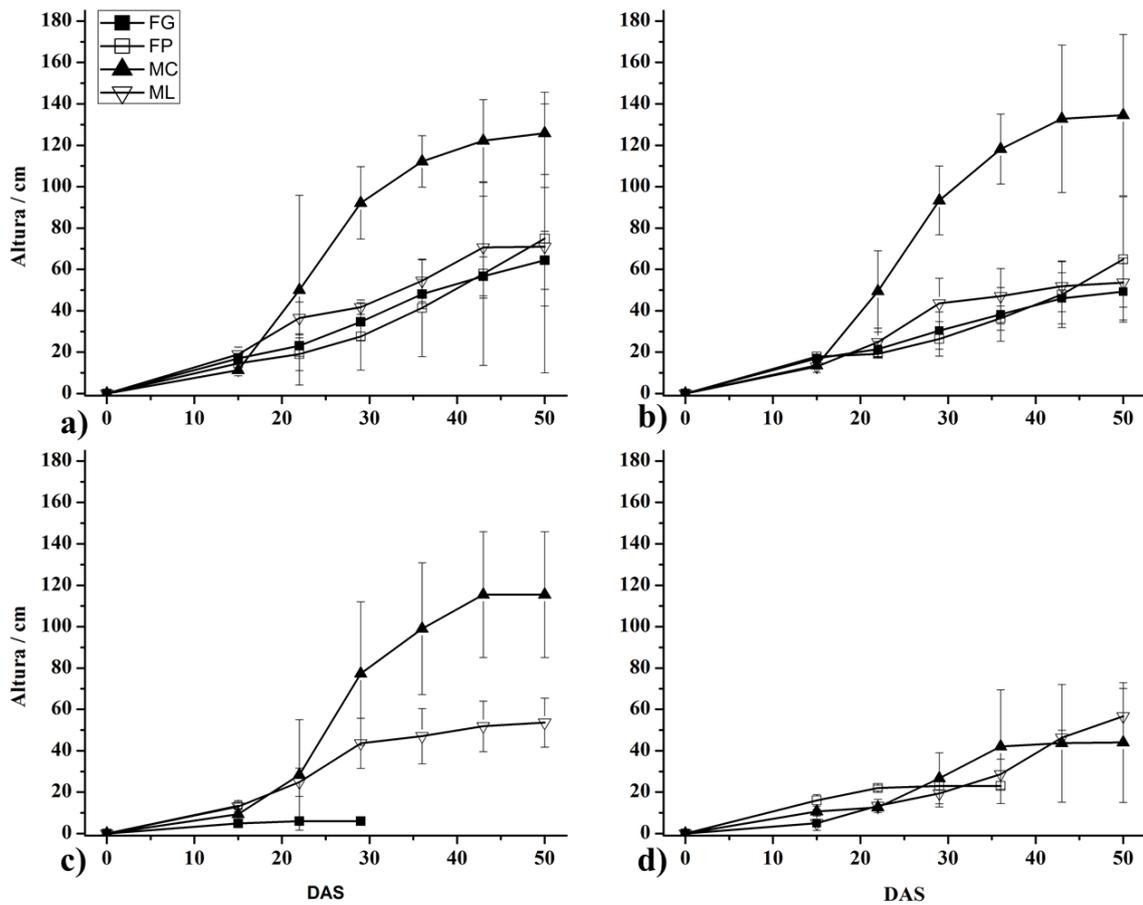
As porcentagens de mortalidade nos feijões (FG e FP) demonstraram alta susceptibilidade dessas espécies à aplicação recente do herbicida tebuthiuron, o que pode inviabilizar sua utilização na rotação de culturas com a cana-de-açúcar. Lembrando que na prática, a rotação acontece após o ciclo completo da planta, o que pode levar um ano, e dessa maneira, talvez as plantas não sofressem tanto com a fitotoxicidade do herbicida. Vale ressaltar que ambas as espécies não estão entre as plantas infestantes controladas pelo tebuthiuron (BRASIL, 2019), porém seu efeito fitotóxico foi prejudicial ao desenvolvimento das plantas nos tratamentos com o herbicida.

Tabela 3. Porcentagem de mortalidade das espécies vegetais em 15, 29 e 50 dias após a semeadura (DAS). Composição dos tratamentos: T(tebuthiuron), V(vinhaça), + (presença) e - (ausência).

Espécies	DAS	Porcentagem de mortalidade			
		Tratamentos			
		T-V-	T-V+	T+V-	T+V+
Feijão guandu	15	0	0	0	0
	29	0	0	80	100
	50	0	0	100	100
Feijão de porco	15	0	0	0	0
	29	0	0	100	80
	50	0	0	100	100
Mucuna cinza	15	0	0	0	0
	29	0	0	40	40
	50	0	0	60	40
Milho	15	0	0	0	20
	29	20	0	20	40
	50	20	0	20	40

Fonte: Próprio autor

Figura 2. Altura das plantas durante o desenvolvimento vegetal por 50 dias.



Legenda: a) T-V-; b) T-V+; c) T+V-; d) T+V+. Composição dos tratamentos: T (tebuthiuron), V (vinhaça), + (presença) e - (ausência). FG – Feijão-guandu, FP – Feijão-de-porco, MC – Mucuna-cinza, e ML – Milheto.

Fonte: Próprio autor

De forma semelhante ao presente trabalho, Alves *et al.* (2018) demonstraram que diferentes doses do herbicida sulfentrazone (0,0; 0,3; 0,6 e 1,2 kg ha⁻¹) provocaram a morte de espécies vegetais não-alvo: crotalária, milheto, mucuna-preta e sorgo. Por outro lado, o feijão-guandu foi indicado por Monqueiro *et al.* (2013) como uma boa espécie para a produção de adubo verde em solos com o herbicida diclosulam.

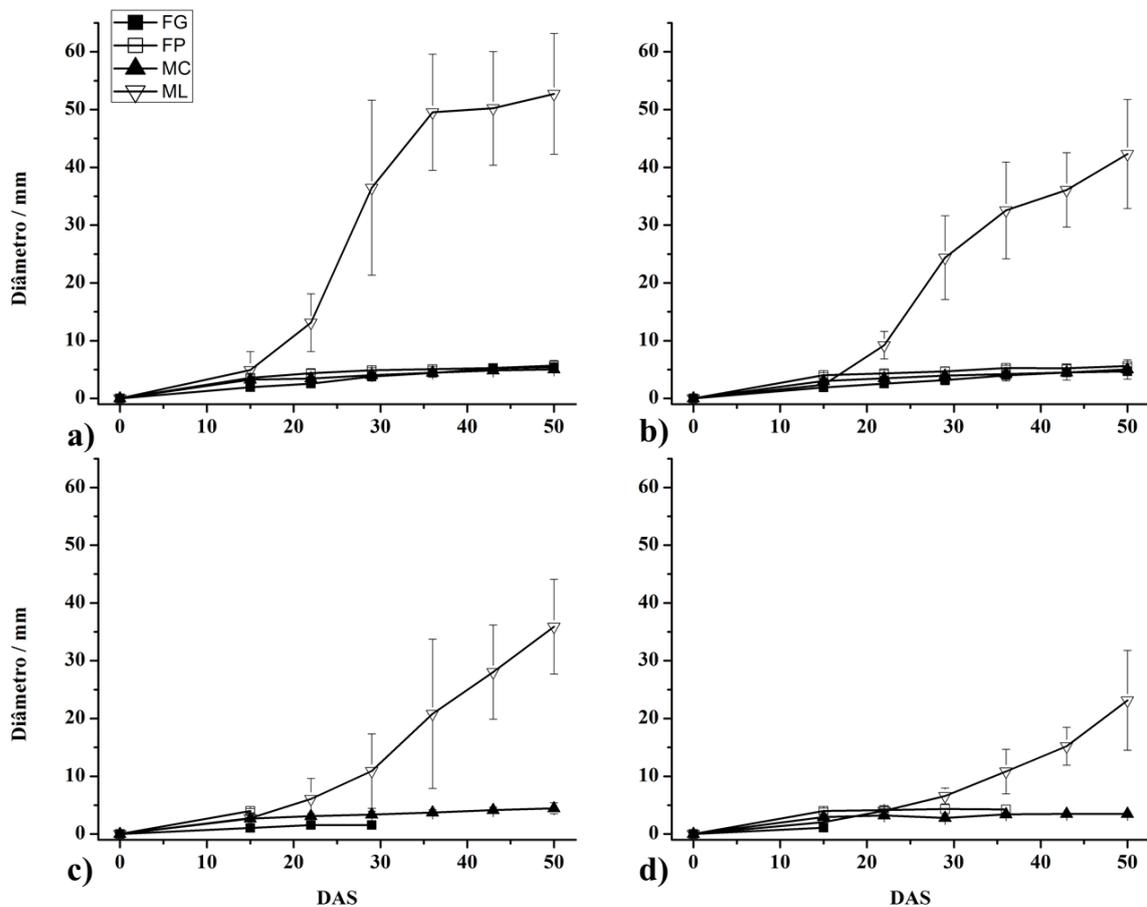
Aos 15 DAS, avaliações dos parâmetros morfológicos das plantas foram realizadas semanalmente até o 50 DAS. O acompanhamento da altura nos diferentes tratamentos está apresentado na Figura 1 e os resultados no tempo final (t50) analisados estatisticamente estão na Tabela 4.

O monitoramento da altura das plantas revelou que os maiores valores foram encontrados no tratamento controle (T-V-, Figura 2a). Em contrapartida, os menores resultados foram observados na presença de tebuthiuron e vinhaça (T+V+, Figura 2d). Em relação às espécies, destaca-se a mucuna-cinza seguida do milho (Figura 1).

Quando realizada a análise de variância para a altura em 50 DAS (Tabela 4), nota-se que não houve resultado para os feijões (FG e FP) em função da mortalidade na presença do herbicida (Tabela 3).

O monitoramento do desenvolvimento vegetal nos tratamentos também foi realizado para o diâmetro das plantas e o número de folhas e está apresentado nas Figuras 3 e 5, respectivamente. Igualmente ao realizado para os resultados da altura, a análise de variância para o diâmetro e número de folhas foi realizada no tempo final e pode ser observada, na Tabela 4.

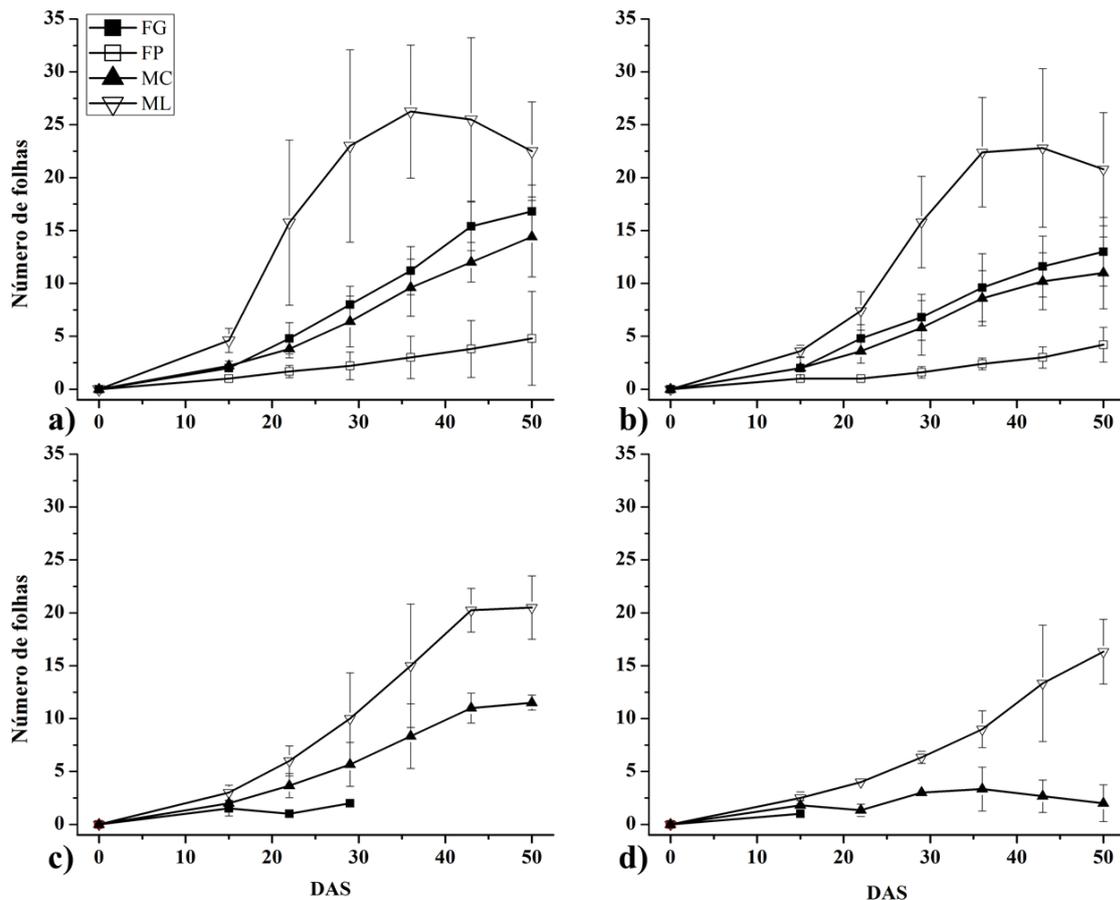
Figura 3. Diâmetro das plantas durante o desenvolvimento vegetal por 50 dias.



Legenda: a) T-V-; b) T-V+; c) T+V-; d) T+V+. Composição dos tratamentos: T(tebuthiuron), V(vinhaça), + (presença) e - (ausência). FG – Feijão-guandu, FP – Feijão-de-porco, MC – Mucuna-cinza, e ML – Milheto.

Fonte: Próprio autor

Figura 4. Número de folhas das plantas durante o desenvolvimento vegetal por 50 dias.



Legenda: a) T-V-; b) T-V+; c) T+V-; d) T+V+. Composição dos tratamentos: T(tebuthiuron), V(vinhaça), + (presença) e - (ausência). FG – Feijão-guandu, FP – Feijão-de-porco, MC – Mucuna-cinza, e ML – Milheto.

Fonte: Próprio autor

Na Tabela 4, é demonstrado o efeito prejudicial para a altura da mucuna-cinza quando associado o herbicida com a vinhaça. A aplicação isolada desses compostos não revelou diferença com o tratamento controle (T-V-). Porém, quando combinados (T+V+), houve uma redução significativa de 65%.

Comparando-se as espécies vegetais, apenas no tratamento T-V+ foi encontrada diferença significativa (Tabela 4). Neste caso, a mucuna-cinza teve maior resultado com 134,6 cm de altura.

Diferentemente dos resultados apresentados na Figura 2 e na Tabela 4, Galon *et al.* (2017) observaram redução na altura de centeio, ervilhaca e soja-preta na presença de uma mistura de herbicidas (*chlorimuron-ethyl* e *sulfometuron-methyl*). Da mesma forma, Sanchez *et al.* (2017) relevaram que a aplicação de atrazine afetou o crescimento de quatro espécies vegetais (azevém, cevada, festuca-alta e milho), sendo o milho mais resistente nas menores doses.

A menor susceptibilidade das espécies vegetais em relação ao herbicida é uma característica fundamental para seu uso em reforma de canaviais. Neste sentido, diferentes ingredientes ativos podem apresentar prejuízos no desenvolvimento vegetal relativos a cada espécie. Para o tebuthiuron, associado ou não à vinhaça, foi observado que o uso de feijão-guandu e feijão-de-porco torna-se inviável, mas a mucuna-cinza e o milheto demonstraram-se como alternativas viáveis.

Tabela 4. Análise de variância do diâmetro das plantas aos 50 DAS. Composição dos tratamentos: T(tebuthiuron), V(vinhaça), + (presença) e - (ausência).

Espécies	Tratamentos			
	T- V-	T- V+	T+V-	T+V+
	Altura (cm)			
Feijão-Guandu	64,40 Aa	49,20 Bb	*ND	*ND
Feijão-de-Porco	75,00 Aa	64,80 Bb	*ND	*ND
Mucuna-Cinza	125,80 Aa	134,60 Aa	115,50 Aab	44,00 Bb
Milheto	71,00 Aa	53,60 Ba	60,75 Ba	56,67 Aa
	Diâmetro do coleto / mm			
Feijão-Guandu	5,41 Ba	4,69 Bb	*ND	*ND
Feijão-de-Porco	5,67 Ba	5,60 Bb	*ND	*ND
Mucuna-Cinza	5,05 Ba	5,03 Ba	4,47 Bab	3,49 Bb
Milheto	52,71 Aa	42,30 Aa	35,88 Aa	23,14 Ab
	Número de folhas			
Feijão-Guandu	16,80 Aba	13,00 Bb	*ND	*ND
Feijão-de-Porco	4,80 Ca	4,20 Cb	*ND	*ND
Mucuna-Cinza	14,40 Ba	11,00 Ba	11,50 Ba	2,00 Ab
Milheto	22,50 Aa	20,80 Aa	20,50 Aa	16,33 Ba

Letras maiúsculas diferentes representam diferença significativa das médias entre os tratamentos na coluna e letras minúsculas diferentes representam diferença significativa das médias entre os tratamentos na linha (teste de Tukey a 5,0% de significância).

**ND (Não detectado, por morte da planta)*

Fonte: Próprio autor

O acompanhamento do diâmetro das plantas revelou que, assim como na altura, os maiores valores foram encontrados no tratamento controle (T-V-, Figura 3a). Por outro lado, os menores resultados foram observados na presença de tebuthiuron e vinhaça (T+V+, Figura 3d). Em relação às espécies, destaca-se o milho seguido da mucuna-cinza (Figura 3).

Quando realizada a análise de variância para o diâmetro e número de folhas em 50 DAS (Tabela 4), nota-se que não houve resultado para os feijões (FG e FP) em função da mortalidade já mencionada na presença do herbicida (Tabela 3).

Na Tabela 3, é demonstrado o efeito prejudicial para o diâmetro do coleto da mucuna-cinza quando associado o herbicida com a vinhaça em relação à amostra de solo controle. No entanto, a aplicação isolada (T-V+ e T+V-) não revelou diferença com o tratamento sem esses compostos (T-V-). Já o milho, o tratamento T+V+ apresentou menor valor de diâmetro para as plantas, diferindo significativamente de todos os outros. Além disso, o diâmetro do milho foi maior em todos os tratamentos com diferenças significativas em relação às outras espécies vegetais, atingindo de 23,14 a 52,71 cm. (Tabela 3).

Quanto à avaliação do número de folhas, essa obteve maiores variações, tendo em vista que as espécies vegetais apresentavam grande diferença em morfologia foliar e que em determinados momentos houve queda e novas brotações de folhas. Essa queda pode ser proveniente da fitotoxicidade que as plantas sofreram, como também do desenvolvimento natural de cada espécie (Rocha *et al.*, 2010). Os maiores valores foram encontrados na ausência de tebuthiuron e vinhaça (Figura 3a) e os menores na presença de ambos (Figura 3d). Observa-se também, pela Figura 4, que o milho apresentou maior número de folhas nos tratamentos.

Ainda na Tabela 4, observa-se efeito fitotóxico do herbicida para o número de folhas da mucuna-cinza quando associado com a vinhaça. Igualmente ao resultado do diâmetro do colo, a aplicação isolada não revelou diferença com o tratamento controle (T-V-). Contudo, quando ambos foram adicionados (T+V+), esse tratamento diferiu de todos os outros, mostrando uma redução de 86,11% na média do número de folhas.

A comparação entre espécies revela que o milho destaca-se com diferença significativa entre todas as espécies vegetais, com exceção do feijão-guandu no tratamento sem o uso de tebuthiuron e vinhaça.

Corroborando com o exposto, Dutra *et al.* (2017) afirmaram que a aplicação dos herbicidas diuron e hexazinone afetou, entre outros fatores, a taxa de crescimento em diâmetro e a área foliar de mudas de ipê-mirim, promovendo diminuição desses atributos, comparado a testemunha.

Neste sentido, observa-se que, mesmo na dose comercial, a utilização do herbicida tebuthiuron foi capaz de afetar o desenvolvimento das quatro espécies de interesse agrônomo para a reforma de canaviais. Portanto, uma avaliação prévia de sua aplicação associada ou não a outras substâncias torna-se uma importante etapa para viabilizar o uso de plantas leguminosas ou gramíneas.

Aos 50 DAS, realizou-se a coleta das espécies vegetais e separação entre parte aérea e raiz para determinação da biomassa. Esse é um fator de grande importância, pois o acúmulo de biomassa, propicia a manutenção da fertilidade do solo além de proporcionar à mesma cobertura vegetal por um período mais longo que poderá resultar em melhoria nas propriedades físicas e químicas do solo (SOUZA *et al.*, 2005).

O resultado da análise de variância para as massas fresca e seca da parte aérea e raiz das espécies vegetais estão apresentados na Tabela 5. A biomassa fresca da parte aérea e da raiz das quatro espécies vegetais analisadas apresentou comportamento semelhante às avaliações de altura, diâmetro do colo e número de folhas.

Na Tabela 5, estão os resultados para a parte aérea das plantas em que é demonstrado mais uma vez o efeito prejudicial para a mucuna-cinza quando associado o herbicida com a vinhaça. A aplicação isolada desses compostos, embora causasse redução dos valores, não apresentou diferença com o tratamento controle (T-V-). Para o milho, não foi observada diferença estatística nos tratamentos para massa fresca da parte aérea, porém, para a massa seca, a combinação dos compostos (T+V+) diferiu dos tratamentos T-V- e T-V+ (Tabela 5).

As outras espécies (FG e FP), como observado na Tabela 1, já haviam morrido no tempo final do experimento (t50). Portanto, o milho e a mucuna-cinza mostraram que, embora houvesse uma queda da biomassa da parte aérea na combinação dos compostos (T+V+), as plantas ainda se mantiveram vivas e capazes de se desenvolver, com destaque

principalmente para o milho que se torna uma alternativa para a geração de cobertura vegetal.

Quanto à massa fresca e seca da raiz, é possível observar em todas as espécies vegetais, que essa parte da planta foi a mais afetada. O resultado para a combinação de tebutiuron e vinhaça (T+V+) diferiu da testemunha para estes parâmetros em relação à mucuna-cinza (Tabela 5). Esta espécie também foi a mais prejudicada, mostrando valores muito baixos de biomassa da raiz, sendo 0,40 g para massa fresca e 0,05 g para massa seca. As plantas de milho não diferiram em nenhum dos tratamentos, embora a redução no tratamento T+V+ comparado ao controle tenha sido de 93,46% e 95,72% nas massas fresca e seca da raiz, respectivamente. (Tabela 5).

Tabela 5. Análise de variância da massa fresca e seca da parte aérea e raiz das espécies vegetais. Composição dos tratamentos: T(tebutiuron), V(vinhaça), + (presença) e - (ausência).

Espécies	Tratamentos			
	T- V-	T- V+	T+V-	T+V+
Massa fresca PA				
Feijão-Guandu	18,09 Ba	12,37 Ca	*ND	*ND
Feijão-de-Porco	50,4 Ba	42,66 Ba	*ND	*ND
Mucuna-Cinza	33,98 Ba	29,38 BCa	21,91 Bab	4,33 Bb
Milho	170,93 Aa	92,68 Aa	92,51 Aa	50,19 Aa
Massa seca PA				
Feijão-Guandu	5,21 Ba	3,58 Ba	*ND	*ND
Feijão-de-Porco	12,7 Aba	10,45 Aba	*ND	*ND
Mucuna-Cinza	8,73 Ba	7,49 Ba	4,88 Bab	0,63 Bb
Milho	27,64 Aa	11,98 Aa	8,33 Aab	4,13 Ab
Massa fresca Raiz				
Feijão-Guandu	6,04 Ba	2,79 Ba	*ND	*ND
Feijão-de-Porco	5,44 Ba	2,15 Ba	*ND	*ND
Mucuna-Cinza	1,73 Ba	1,34 Bab	1,12 Bab	0,40 Bb
Milho	71,97 Aa	14,53 Aa	22,35 Aa	4,70 Aa
Massa seca Raiz				
Feijão-Guandu	0,47 Ba	0,28 Bb	*ND	*ND
Feijão-de-Porco	1,18 Ba	0,66 Ba	*ND	*ND
Mucuna-Cinza	0,35 Ba	0,23 Bab	0,22 Bab	0,05 Bb
Milho	12,39 Aa	2,66 Aa	2,53 Aa	0,53 Aa

Letras maiúsculas diferentes representam diferença significativa das médias entre os tratamentos na coluna e letras minúsculas diferentes representam diferença significativa das médias entre os tratamentos na linha (teste de Tukey a 5,0% de significância).

**ND (Não detectado, por morte da planta)*

Fonte: Próprio autor

A redução da produção de massa seca da parte aérea das espécies vegetais pode ser atribuída ao fato do herbicida tebuthiuron possuir como mecanismo de ação a inibição da fotossíntese, atuando no fotossistema II (TROPALDI *et al.*, 2015), o que resulta na inibição do transporte de elétrons paralisando a fixação de CO₂ e a produção de ATP e NADPH₂, os quais são elementos essenciais ao crescimento das plantas (FUERST ; NORMAN, 1991; PEREZ JONES *et al.*, 2009).

De forma semelhante ao presente estudo, quanto a massa fresca da raiz, Ibrahim *et al.* (2013) afirmaram que a aplicação do herbicida atrazine, que apresenta o mesmo mecanismo de ação do tebuthiuron, também afetou de forma mais significativa o desenvolvimento das raízes de espécies vegetais não-alvo: milho, tremoço amargo, sorgo doce, rabanete, tremoço doce, aveia, soja e trigo. Corroborando com o exposto, Sanches *et al.* (2017) também confirmaram que a atrazine diminuiu significativamente a biomassa total de várias espécies vegetais não-alvo (azevém, cevada, festuca-alta e milho). Além disso, demonstraram que as raízes dessas plantas foram afetadas em maior grau pelo herbicida.

A redução no valor da massa fresca, também foi observado por Galon *et al.* (2016), que revelam que a aplicação combinada de atrazine e flumioxazin afetou o desenvolvimento de sorgo sacarino resultando em menores massas quando comparado ao tratamento sem a aplicação destes compostos.

Por fim, Monquero *et al.* (2013) ressaltaram que os resultados de acúmulo de matéria vegetal é importante, pois a escolha da espécie também deve considerar a taxa de crescimento e a produção de biomassa. Cazetta *et al.* (2005) afirmaram que a relação entre massa seca e massa fresca (MS/MF) de gramíneas pode ser 2,5 vezes maior do que a das leguminosas, relevando uma informação relevante para a escolha da espécie vegetal que será utilizada como cobertura.

Os resultados encontrados no presente estudo demonstram indícios de fitotoxicidade provocada pelo tebuthiuron para a mucuna-cinza e o milheto, cujas reduções da altura, do

diâmetro do coleto, do número de folhas, e da biomassa total foram decorrentes das alterações no processo fotossintético.

Comparando essas duas espécies (MC e ML), sabe-se que a parte aérea das leguminosas apresenta baixa relação C/N resultando em rápida decomposição. Diferentemente, gramíneas apresentam relação C/N elevada, o que resultaria em massa seca por mais tempo no solo. Em relação às raízes, ambas apresentam lignificação, o que resulta em maior tempo para que sejam decompostas (GUIMARÃES *et al.*, 2017).

Porém, esses dois grupos de plantas diferenciam-se quanto à morfologia das raízes. Nas leguminosas, elas crescem em profundidade, criando poros e melhorando a drenagem e redução da resistência à penetração (SOUZA *et al.*, 2013); enquanto nas gramíneas ocorre uma concentração de raízes próximo à superfície, resultando em agregação das partículas, estabilização da estrutura e elevação da taxa de infiltração de água (SALTON *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2012).

Diante do exposto, embora o milheto apresentasse melhor desenvolvimento e geração de biomassa vegetal frente a mucuna-cinza, essa leguminosa ainda foi considerada como melhor opção para utilização em reforma de canavial em relação às espécies analisadas. Dentre as vantagens estão: o potencial de recuperação da fertilidade do solo pela decomposição da matéria vegetal; o aumento da capacidade de troca de cátions; a melhora na disponibilidade de macro e micronutrientes; o auxílio na formação e estabilização de agregados; a maior infiltração de água; e, principalmente, o aporte de nitrogênio ao solo devido à fixação biológica (SCIVITTARO *et al.*, 2000; AMBROSANO *et al.*, 2011; SOUZA *et al.*, 2013).

7 CONCLUSÃO

As espécies vegetais feijão-guandu e feijão-de-porco apresentaram elevados sintomas de fitotoxicidade, o que resultou na morte de todas as plantas que receberam a aplicação do herbicida.

Por outro lado, o milheto apresentou o menor índice de mortalidade e o melhor desempenho quando associado tebutiuron com a vinhaça. Entretanto, apesar desses resultados para o milheto, a utilização da mucuna-cinza foi a mais indicada para uso em reformas de canaviais como adubo verde baseado no desenvolvimento vegetal e nas suas características como leguminosa.

8 FITORREMEDIAÇÃO DE SOLO COM TEBUTHIURON E VINHAÇA UTILIZANDO *CROTALARIA JUNCEA* COMO PLANTA BIOINDICADORA

8.1 INTRODUÇÃO

Na cultura da cana-de-açúcar, a comunidade de plantas daninhas tem provocado sérias perdas na produtividade, caso essa não seja adequadamente controlada. Apesar de apresentar uma via fotossintética altamente eficiente (C4), colaborando dessa forma para seu adequado crescimento nas fases iniciais do seu desenvolvimento, a cana é afetada pela presença das plantas daninhas, que competem por todos os recursos disponíveis (VICTORIA FILHO ; CHRISTOFFOLETI, 2004; SANDANIEL; FERNANDES; BARROSO, 2008).

Assim, o plantio da cana-de-açúcar é desenvolvido em sua grande maioria em áreas extensas. Por isso, para obtenção de produtividades elevadas, faz-se necessária a utilização de um pacote tecnológico para o manejo adequado de plantas daninhas, como os herbicidas (KUVA *et al.*, 2008; OLIVEIRA ; BRIGHENTI, 2011). Esse método químico é o mais utilizado na cultura, devido ao fato de apresentar facilidade de acesso e baixo custo, comparado a outras técnicas de controle (KUVA *et al.*, 2008).

Além dos herbicidas, a vinhaça que é um subproduto da indústria sucroalcooleira e é utilizada como fertilizante no campo (ANDRADE; DINIZ, 2007). A vinhaça representa um resíduo da destilação do álcool, cuja geração está entre 10 a 14 litros para cada litro de etanol produzido (ASSAD, 2017). Este fato evidencia seu grande potencial poluidor e, conseqüentemente, a importância do seu adequado descarte no meio ambiente.

Dentre as alternativas para despoluir áreas contaminadas por agrotóxicos tem-se optado por soluções que englobam: eficiência na descontaminação, simplicidade na execução, menor tempo demandado pelo processo e menor custo (FERRO *et al.*, 1994). a biorremediação apresenta-se como estratégia ecologicamente viável no tratamento de áreas impactadas com compostos orgânicos. Seu principal objetivo é baseado na indução ou aceleração dos processos biológicos naturais para reduzir a concentração e os efeitos tóxicos dos agentes poluentes (FASANELLA; CARDOSO, 2016).

O processo de fitorremediação trata-se do uso de plantas para a redução da toxidez de contaminantes no ambiente (ALI *et al.*, 2013). As pesquisas relacionada a essa técnica buscam a compreensão da interação planta-contaminante (VASCONCELLOS *et al.*, 2012).

Assim, as plantas utilizadas devem apresentar capacidade de absorção de elementos tóxicos no solo para dessa forma promover sua descontaminação (SOUZA *et al.*, 2011).

Nesse sentido, Pires *et al.* (2008), utilizando espécies como milheto (*Pennisetum typhoides*), mucuna-preta (*Stizolobium aterrimum*), feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) e feijão-guandu (*Cajanus cajan*), comprovaram eficiência da fitorremediação de tebuthiuron, utilizando *Crotalaria juncea* como planta indicadora. Além disso, diversos trabalhos na literatura observaram a redução na concentração de pesticidas no solo empregando fitorremediação (PIRES *et al.*, 2003; PIRES *et al.*, 2005; PIRES *et al.*, 2006; PIRES *et al.*, 2008; MADALÃO *et al.*, 2013; MELO *et al.*, 2017).

No entanto, a toxicidade dessas amostras antes e após o tratamento não foi analisada. A degradação de compostos orgânicos pode gerar compostos intermediários mais tóxicos que a molécula original (ROCHA *et al.*, 2018) e, portanto, torna-se essencial a avaliação do potencial ecotoxicológico no ambiente para evidenciar o sucesso no processo de biorremediação (BANKS; SCHULTZ, 2005).

Nesse sentido, objetivou-se avaliar o potencial de remediação de solo com tebuthiuron e vinhaça por espécies de interesse agrônômico utilizando *Crotalaria juncea* como planta indicadora e sementes de *Lactuca sativa* como organismos testes em ensaios de ecotoxicidade.

9 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi instalada em casa de vegetação localizada na Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Universidade Estadual Paulista - FCAT/Unesp, câmpus de Dracena, coordenadas 21°28' latitude sul e 51°31' longitude oeste com altitude média de 400 m.

O clima de tipo Aw (tropical úmido), classificado segundo Köppen (1948) com temperatura média de 22,1 °C e precipitação anual média de 1.200 mm.

O período de realização foi entre Maio e Julho de 2019 com médias de temperatura e umidade relativa do ar de 22,6 °C e 62,9%, respectivamente.

9.1 Coleta de solo e vinhaça

O solo da região foi classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico por Santos *et al.* (2018). A análise física revelou que consiste em 89,9% de areia, 7,1% de argila e 3,0% de silte, indicando textura arenosa.

A análise do solo foi realizada e apresentava as seguintes características químicas: fósforo 5 mg/dm³; matéria orgânica 3 mg/dm³; pH 5,2; potássio 1,7 mmolc/dm³; cálcio 15 mmolc/dm³; magnésio 4 mmolc/dm³; H+Al 13 mmolc/dm³; CTC 34 mmolc/dm³; soma de bases 21 mmolc/dm³; e saturação da CTC por bases (V%) 61%. Essa caracterização serviu de base para adubação dos vasos visando um bom desenvolvimento das espécies avaliadas.

Os adubos foram utilizados nas seguintes dosagens por vaso: para o milho, aplicação de 80 g de Ureia diluída em 1,5 L de água, divididos em 3 aplicações. Para as leguminosas, 8 g de Ureia diluídas em 4,5 L de água aplicada em uma vez na semeadura. Para todos os vasos: 125 g de KCl diluídos em 6 litros de água, divididos em 3 aplicações, e 445 g de Super Fosfato Simples aplicados na preparação de 320 litros de solo, necessários para enchimento de todos os vasos.

A vinhaça foi coletada em usina sucroenergética da região de Dracena-SP em frascos de vidro estéril. Posteriormente, o volume foi acondicionado em geladeira a 4 °C.

9.2 Herbicida tebuthiuron

O herbicida tebuthiuron foi adquirido em estabelecimento comercial no município de Dracena-SP pelo produto comercial Combine[®] 500SC - Dow AgroSciences Industrial Ltda.

9.3 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, no esquema fatorial 2x2x4 com cinco repetições, ligado à dose recomendada de tebuthiuron pelo produto comercial Combine[®] 500SC (ausência e presença), ao volume de vinhaça geralmente utilizado na lavoura canavieira (ausência e presença), e às quatro espécies vegetais com potencial agrícola de utilização na reforma de canaviais (milho (*Pennisetum typhoides*), mucuna-cinza (*Mucuna pruriens* L. DC.), feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) e feijão-guandu (*Cajanus cajan*)).

9.4 Preparo das unidades experimentais

Os vasos utilizados como unidades experimentais foram anteriormente ocupados pelas espécies potencialmente fitorremediadoras (feijão-de-porco, feijão-guandu, mucuna-cinza e milho) conforme Artigo 1. Dez dias após a coleta do material vegetal dessas espécies, foi realizada a semeadura de dez sementes da espécie sentinela, *Crotalaria juncea*.

Foi realizado o desbaste no 10º dia após a semeadura (DAS) e conduzida uma planta por vaso. Esses foram irrigados diariamente por microaspersão a 6 mm/h durante 60 minutos,

sendo 30 minutos pela manhã e 30 minutos ao final do dia, para manutenção das condições adequadas para o desenvolvimento vegetal.

9.5 Avaliação do desenvolvimento vegetal

O desenvolvimento da planta foi avaliado de acordo com as seguintes análises semanais: (I) diâmetro do colo em mm obtido com auxílio de um paquímetro; (II) altura da planta em cm com auxílio de uma régua; e (III) número de folhas. Este monitoramento periódico foi realizado por 45 dias e resultou em seis avaliações.

Ao final do experimento (t45), a planta de cada tratamento foi separada para determinações da biomassa: massa fresca das partes aérea (MFPA) e radicular (MFR) e massa seca das partes aérea (MSPA) e radicular (MSR).

A separação de parte aérea e raiz se deu pelo corte do colmo rente ao solo. As raízes foram lavadas para que todo o solo fosse removido. Após a separação, cada fração foi pesada separadamente, embaladas em saco de papel e colocadas em estufa de circulação forçada de ar a 65°C, por 72 horas, e novamente pesadas.

9.6 Bioensaios de ecotoxicidade

Bioensaios foram preparados a fim de monitorar o potencial ecotoxicológico de cada tratamento no decorrer do período. Assim, a fitotoxicidade das amostras foi determinada nos tempos inicial (t0) e final (t50) utilizando como organismo-teste sementes de alface (*Lactuca sativa*), segundo Sobrero e Ronco (2004). A determinação do efeito fitotóxico de cada tratamento foi realizada em seis replicatas a partir do extrato aquoso (solubilizado), de acordo a NBR 10.006 (ABNT, 2004).

Os testes de ecotoxicidade foram preparados em placas de Petri com papel filtro, contendo 2,0 mL do solubilizado e 10 sementes de alface. Em seguida, as placas foram envolvidas com filme de PVC o que evitava a perda de umidade e incubadas a 20 ± 2 °C por 120 h ao abrigo da luz.

Controles positivo (CP) e negativo (CN) foram preparados utilizando sulfato de zinco 0,05 M, que promovem a inibição da germinação de sementes (SOBRERO. RONCO, 2004) e água deionizada, respectivamente, para testar a sensibilidade das sementes.

Assim, foram determinadas: a germinação das sementes, o alongamento da raiz e do hipocótilo ($\geq 0,1$ mm) e o índice de germinação (GI - Germination Index) que combina a

germinação de sementes (%G) e alongamento da raiz (%R) relativos ao CN. O GI foi utilizado para avaliar a toxicidade das amostras de solo no organismo-teste, conforme a Equação 1 (LABOURIAU; AGUDO, 1987):

$$GI = ((\%G) \times (\%R)) / 100 \quad [1]$$

Os resultados estão expressos em “1-GI”, o que indica que valores acima de zero resultam em prejuízos à germinação e ao desenvolvimento do organismo-teste, enquanto valores negativos representam benefícios a *Lactuca sativa* nos bioensaios, visto que CN é o ensaio referência com valor zero.

9.7 Forma de análise dos resultados

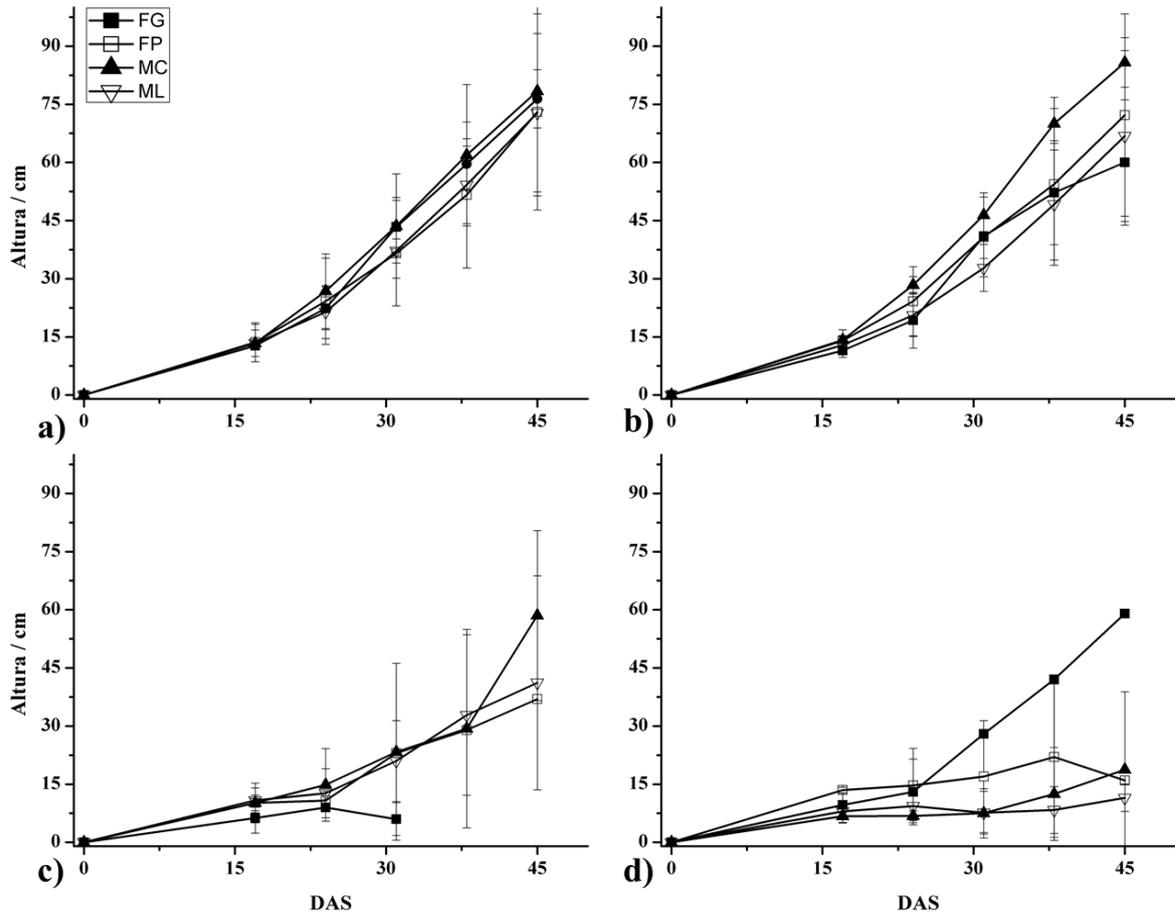
Os resultados foram analisados efetuando-se a análise de variância, teste de Tukey a 5,0% de probabilidade para a comparação de médias, utilizando o software Microcal Origin 8.0.

10 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dezessete dias após a semeadura, avaliações dos parâmetros morfológicos da *Crotalaria juncea* foram realizadas semanalmente até o 45º DAS. O acompanhamento da altura nos diferentes tratamentos está apresentado na Figura 5 e os resultados no tempo final (t45) analisados estatisticamente estão na Tabela 6.

O monitoramento do desenvolvimento vegetal nos tratamentos também foi realizado para o diâmetro das plantas e o número de folhas e está apresentado nas Figuras 6 e 7, respectivamente.

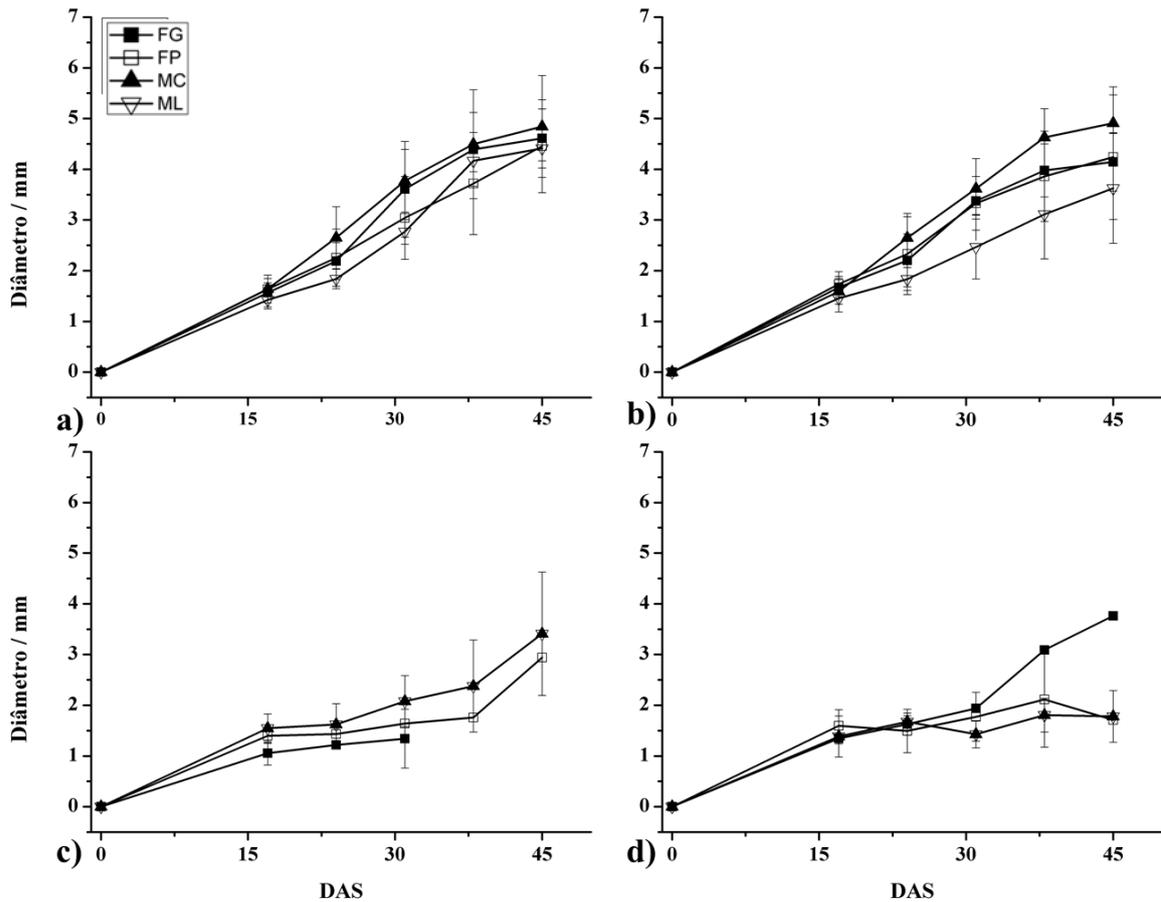
Figura 5. Altura de *C. juncea* durante o desenvolvimento vegetal por 45 dias.



Legenda: a) T-V-; b) T-V+; c) T+V-; d) T+V+. Composição dos tratamentos: T (tebuthiuron), V (vinhaça), + (presença) e - (ausência). Solo anteriormente ocupado durante 50 dias por espécies potencialmente remediadoras: FG – Feijão-guandu, FP – Feijão-de-porco, MC – Mucuna-cinza, e ML – Milheto.

Fonte: Próprio autor

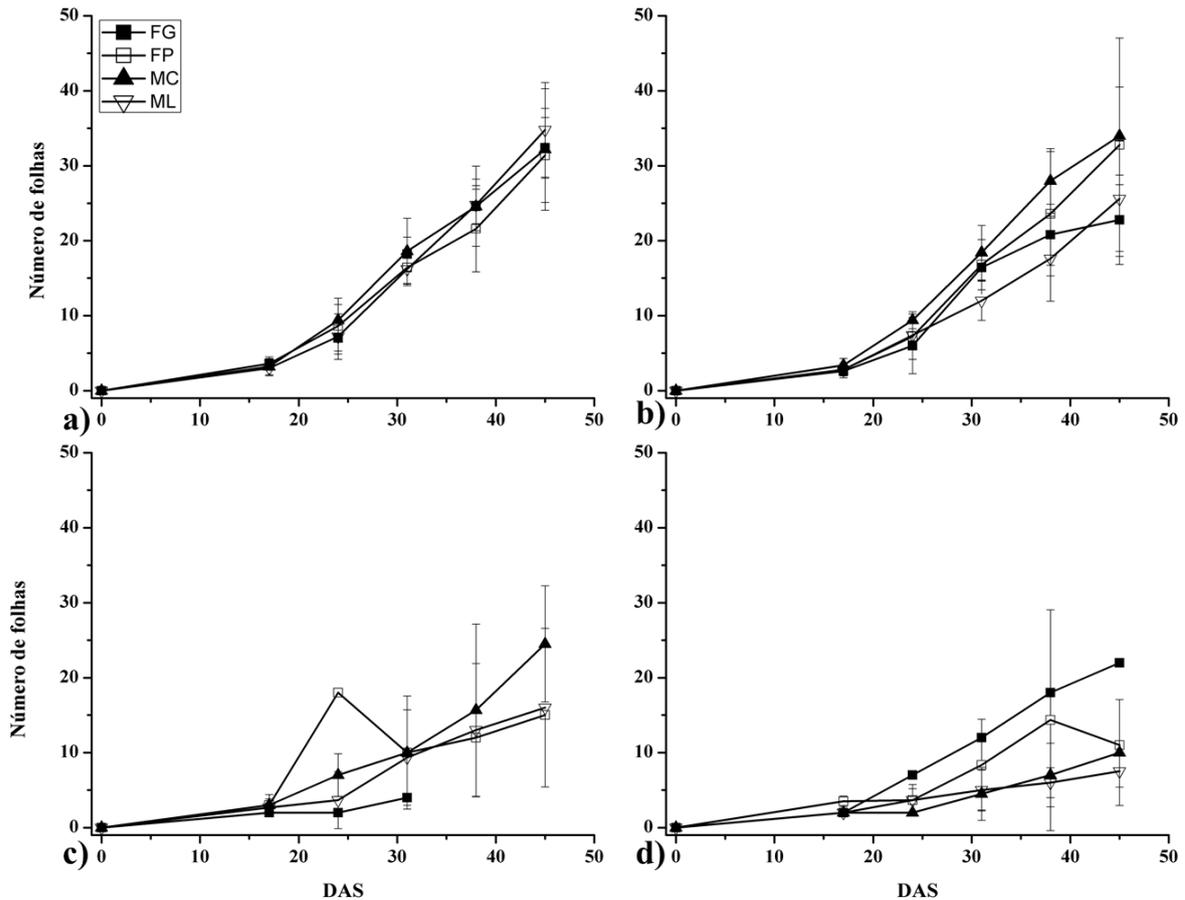
Figura 6. Diâmetro de *C. juncea* durante o desenvolvimento vegetal por 45 dias.



Legenda: a) T-V-; b) T-V+; c) T+V-; d) T+V+. Composição dos tratamentos: T (tebuthiuron), V (vinhaça), + (presença) e - (ausência). Solo anteriormente ocupado durante 50 dias por espécies potencialmente remediadoras: FG – Feijão-guandu, FP – Feijão-de-porco, MC – Mucuna-cinza, e ML – Milheto.

Fonte: Próprio autor

Figura 7. Número de folhas de *C. juncea* durante o desenvolvimento vegetal por 45 dias.



Legenda: a) T-V-; b) T-V+; c) T+V-; d) T+V+. Composição dos tratamentos: T (tebuthiuron), V (vinhaça), + (presença) e - (ausência). Solo anteriormente ocupado durante 50 dias por espécies potencialmente remediadoras: FG – Feijão-guandu, FP – Feijão-de-porco, MC – Mucuna-cinza, e ML – Milheto.

Fonte: Próprio autor

O monitoramento da altura da espécie sentinela revelou que os maiores valores foram encontrados no tratamento controle (T-V- Figura 5a). Por outro lado, os menores resultados foram observados na presença de tebuthiuron e vinhaça (T+V+, Figura 5d).

O acompanhamento do diâmetro da *C. juncea* revelou que, assim como na altura, os maiores valores foram encontrados no tratamento controle (T-V-, Figura 6a). Por outro lado, os menores resultados foram observados na combinação dos compostos (T+V+, Figura 6d).

Quanto a avaliação do número de folhas, essa obteve maiores variações, tendo em vista que em determinados momentos as folhas caem, e depois voltavam a se desenvolver. Essa queda pode ser proveniente da fitotoxicidade que as plantas sofreram, como também do desenvolvimento natural de cada espécie (ROCHA *et al.*, 2010). Os maiores valores foram

encontrados na ausência de tebuthiuron e vinhaça (T-V-, Figura 7a) e os menores na presença de ambos (T+V+, Figura 7d).

Quando realizada a análise de variância para a altura em 45 DAS (Tabela 6), nota-se que a combinação dos compostos (T+V+) resultou em diferença estatística com o tratamento T-V+ e T-V+ para os vasos anteriormente ocupados por mucuna-cinza e milho. Pode-se observar também que, como as espécies feijão-guandu e feijão-de-porco em experimento anterior não se desenvolveram, demonstrando alta suscetibilidade a molécula do herbicida, a espécie sentinela também não se desenvolveu, indicando que provavelmente a molécula do herbicida ainda permanecia nesses vasos.

Diferentemente do exposto, Pires *et al.* (2008) indicam que as espécies feijão-de-porco e feijão-guandu, tomando como base a altura de plantas, foram as espécies que melhor remediaram o herbicida tebuthiuron, resultando em bons resultados para a espécie sentinela.

Igualmente ao realizado para os resultados da altura, a análise de variância para o diâmetro e número de folhas foi realizada no tempo final e pode ser observada na Tabela 6.

Para o diâmetro, foi observada diferença significativa para os vasos com mucuna-cinza e milho, entre o tratamento T+V+ e os tratamentos controle e T-V+. A combinação dos compostos resultou em uma queda de aproximadamente 63% no diâmetro do caule da espécie sentinela, comparado com a testemunha.

Entretanto, é importante observar que a presença isolada do herbicida, não diferiu dos demais tratamentos para nenhuma das espécies vegetais, podendo indicar que houve um nível de degradação da molécula desse herbicida, propiciando um desenvolvimento da *C. juncea* similar com o tratamento controle e T-V+.

Isso pode ter ocorrido devido ao fato que determinadas moléculas do herbicida ainda continuam no solo após o cultivo da espécie remediadora, sugerindo que houve uma redução dos efeitos tóxicos, mas não a remediação completa do composto no solo (FERRAÇO *et al.*, 2017).

A eficiência da remediação de herbicidas de forma significativa, foi observada por Ferrazzo *et al.* (2019) que ao avaliarem o crescimento e desenvolvimento de *P. glaucum*, notaram que, o cultivo prévio de *C. juncea* no solo contaminado com sulfentrazone contribuiu para aumentar a altura da espécie bioindicadora aos 25 e 42 dias após emergência,

independentemente da densidade avaliada, embora esse aumento seja menor quando comparado à altura de *P. glaucum* cultivada sem o herbicida

Por outro lado, Madalão *et al.* (2012b) em trabalho similar, utilizando o milho como planta indicadora e sulfentazone, que também é um herbicida, observaram que a presença desse composto teve efeito fitotóxico sobre a espécie sentinela, mesmo após o processo de utilização de plantas com potencial fitorremediador, as plantas de milho apresentaram brusca redução da altura e biomassa fresca e seca.

Na Tabela 6, para o número de folhas, a aplicação isolada dos compostos não revelou diferença com o tratamento controle (T-V-) para os vasos anteriormente ocupados por mucuna-cinza, como também os de milho. Porém, quando combinados (T+V+), houve uma redução significativa dessa variável, mostrando diferença significativa entre testemunha e tratamento T-V+, tanto para vasos anteriormente ocupados por mucuna-cinza, quanto para os de milho.

Franco *et al.* (2014) relataram que a fitorremediação foi efetiva pela espécie *Urochloa brizantha*, analisando-se o número de folhas, área foliar e altura das plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) utilizadas como cultura bioindicadora, observou-se tendência de acréscimo nos valores dessas variáveis, com o incremento no número de dias de crescimento da braquiária nos vasos. Dessa forma, quanto maior o tempo de permanência da braquiária, maior foi o potencial remediador da espécie.

Tabela 6. Análise de variância da altura, diâmetro e número de folhas de *C. juncea* após 45 DAS em vasos anteriormente ocupados por espécies vegetais. Composição dos tratamentos: T(tebuthiuron), V(vinhaça), + (presença) e - (ausência).

Espécies	Tratamentos			
	T- V-	T- V+	T+V-	T+V+
Altura (cm)				
Feijão-Guandu	74,60 Aa	60,00 Aa	*ND	*ND
Feijão-de-Porco	73,00 Aa	72,20 Aa	*ND	*ND
Mucuna-Cinza	78,40 Aa	85,80 Aa	58,50 Aab	18,75 Ab
Milho	72,80 Aa	66,80 Aa	57,00 Aab	11,5 Ab
Diâmetro do coleto / mm				
Feijão-Guandu	4,61 Aa	4,14 Aa	*ND	*ND
Feijão-de-Porco	4,46 Aa	4,24 Aa	*ND	*ND
Mucuna-Cinza	4,84 Aa	4,91 Aa	3,41 Aab	1,78 Ab
Milho	4,41 Aa	3,62 Aa	2,78 Aab	1,60 Ab

Número de folhas				
Feijão-Guandu	32,40 Aa	22,80 Aab	*ND	*ND
Feijão-de-Porco	31,40 Aa	32,80 Aa	*ND	*ND
Mucuna-Cinza	32,2 Aa	34,00 Aa	24,50 Aab	10,00 Ab
Milheto	34,80 Aa	25,60 Aa	22,00 Aab	7,50 Ab

Letras maiúsculas diferentes representam diferença significativa das médias entre os tratamentos na coluna e letras minúsculas diferentes representam diferença significativa das médias entre os tratamentos na linha (teste de Tukey a 5,0% de significância).

*ND (Não detectado, por morte da planta)

Fonte: Próprio autor

Aos 45 DAS, realizou-se a coleta da espécie vegetal e separação entre parte aérea e raiz para determinação da biomassa. Os resultados da análise de variância para as massas fresca e seca da parte aérea e raiz das espécies vegetais estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Análise de variância da massa fresca e seca da parte aérea e raiz de *C. juncea* em vasos anteriormente ocupados por espécies vegetais. Composição dos tratamentos: T(tebuthiuron), V(vinhaça), + (presença) e - (ausência).

Espécies	Tratamentos			
	T- V-	T- V+	T+V-	T+V+
Massa fresca PA				
Feijão Guandu	25,45 Aa	21,19 Aa	*ND	*ND
Feijão de Porco	23,35 Aa	30,8 Aa	*ND	*ND
Mucuna Cinza	29,75 Aa	34,55 Aa	11,99 Ab	2,35 Ab
Milheto	28,97 Aa	21,25 Bab	7,81 Ab	0,27 Ab
Massa seca PA				
Feijão Guandu	22,78 Aa	13,78 Ab	*ND	*ND
Feijão de Porco	23,96 Aa	15,66 Aa	*ND	*ND
Mucuna Cinza	7,88 Aa	6,9 Aa	2,23 Aab	0,36 Ab
Milheto	6,05 Aa	3,7 Bab	1,26 Ab	0,13 Ab
Massa fresca Raiz				
Feijão Guandu	5,23 Aa	4,33 Aa	*ND	*ND
Feijão de Porco	7,22 Aa	5,65 Aa	*ND	*ND
Mucuna Cinza	24,02 Aa	19,23 Aa	9,53 Aa	2,83 Ab
Milheto	19,08 Aab	24,48 Aa	6,7 Aab	0,07 Ab
Massa seca Raiz				
Feijão Guandu	2,15 Aa	1,34 Aa	*ND	*ND
Feijão de Porco	3,41 Aa	1,75 Aab	*ND	*ND
Mucuna Cinza	3,02 Aa	2,56 Aa	0,90 Aab	0,16 Ab
Milheto	1,94 Aab	2,74 Aa	0,45 Abc	0,02 Ac

Letras maiúsculas diferentes representam diferença significativa das médias entre os tratamentos na coluna e letras minúsculas diferentes representam diferença significativa das médias entre os tratamentos na linha (teste de Tukey a 5,0% de significância).

**ND (Não detectado, por morte da planta)*

Fonte: Próprio autor

Na Tabela 7, estão os resultados onde para a parte área das plantas é demonstrado o efeito prejudicial para as espécies vegetais, principalmente para milho quando associado o herbicida com a vinhaça. Para mucuna-cinza, a aplicação isolada de tebuthiuron (T+V-), diferiu do tratamento controle (T-V-) e da aplicação isolada de vinhaça (T-V+). Já para milho, a aplicação isolada do herbicida diferiu apenas do tratamento controle.

Para massa seca da parte aérea, observa-se que para mucuna-cinza, a combinação dos compostos diferiu do tratamento controle e T-V+. Já para o milho, a aplicação isolada de tebuthiuron diferiu do tratamento controle.

Quanto a massa fresca da raiz, para os vasos anteriormente ocupados por mucuna-cinza, a aplicação isolada desses compostos, embora causasse redução dos valores, não apresentou diferença com o tratamento controle (T-V-), porém, a combinação dos compostos (T+V+) diferiu de todos os tratamentos. Já para o milho, a combinação dos compostos T+V+, diferiu apenas do tratamento T-V+.

Para a massa seca da raiz, os vasos anteriormente ocupados por mucuna-cinza e milho, apresentaram a mesma resposta, onde o tratamento T+V+ diferiu dos tratamentos T-V- e T-V+.

De forma semelhante, Franco *et al.*, (2015) observaram que a aplicação do picloram reduziu a massa da matéria seca das plantas de feijoeiro, cultivados em solos remediados por braquiária após a aplicação do herbicida, sendo que, a última dose do produto (32 g. ha⁻¹) causou a morte da planta bioindicadora. Ou seja, assim como no presente estudo, o herbicida causou dano a espécie indicadora, mesmo após processo de fitorremediação.

Diferentemente do exposto, em trabalho similar, Belo *et al.* (2016), observaram que a produção de massa fresca e seca da espécie indicadora *P. glaucum* foi maior, quando cultivada em solo previamente cultivado com espécies potencialmente fitorremediadoras, *C. juncea* e *C. ensiformis*.

Da mesma maneira, Madalão *et al.* (2012a) observaram um aumento na produção de biomassa quando *C. juncea* foi cultivada antes de *P. glaucum*, permitindo que a espécie bioindicadora se desenvolvesse em um solo previamente contaminado com o também herbicida sulfentrazone.

Ao utilizarem pepino, como planta bioindicadora, Galon *et al.* (2017) afirmam que os tratamentos envolvidos na fitorremediação de solo provocaram um menor acúmulo de massa seca da parte aérea do pepino, ou seja, não ocorreu a descontaminação completa do solo que foi tratado com os herbicidas *chlorimuron-ethyl* e *sulfometuron-methyl*, principalmente com o incremento das doses. Esses dados também corroboram com os observados para a fitotoxicidade e altura de plantas de pepino, onde os herbicidas apresentaram efeito prejudicial mesmo após o cultivo de espécies com potencial fitorremediador.

Por fim, Assis *et al.* (2010) verificaram que a espécie testada como fitorremediadora de solo *Eleusine coracana* (capim-pé-de-galinha-gigante) não foi eficiente em garantir pleno acúmulo de massa seca pelas plantas de soja, quando cultivadas em solo que recebeu duas doses do herbicida picloram (80 e 160 g ha⁻¹).

Na Tabela 8 estão representados resultados dos bioensaios de fitotoxicidade do extrato aquoso das amostras no tempo inicial (t0) e final (t45) onde pode ser observada a análise estatística dos dados a partir análise de variância das médias dos valores de 1-GI dos tratamentos, além dos controles negativo (CN), pelo teste de Tukey a 5,0% de probabilidade.

De acordo com a Tabela 8, é possível observar que o tratamento com tebuthiuron e sem vinhaça (T+V-) diferiu significativamente dos demais em t0. A presença isolada do herbicida resultou em maior toxicidade para *L. sativa*. No entanto, a adição da vinhaça (T+V+) reduziu a ecotoxicidade. Após a atenuação natural (t45), notou-se que os valores de 1-GI das amostras de solo não tiveram diferença estatística, com exceção do tratamento controle.

Na avaliação do efeito da atenuação natural na ecotoxicidade das amostras de solo, foi possível notar que a maioria dos tratamentos apresentaram menores prejuízos à germinação das sementes após 45 dias de biodegradação. No entanto, apenas FP T+V- e ML T+V- apresentaram diferença significativa para este resultado.

Tabela 8. Análise de variância dos valores de 1-GI para *Lactuca sativa* nos bioensaios de ecotoxicidade para os tratamentos no tempo inicial (t0) e após 50 dias de atenuação natural

(t50). Composição dos tratamentos T(tebuthiuron), V(vinhaça), + (presença) e - (ausência), CN (Controle negativo), C (Controle), FG (Feijão-guandu), FP (Feijão-de-porco), MC (Mucuna-cinza), e ML (Milheto).

Tratamentos	1-GI			
	Tempo inicial (t0)		Tempo final (t50)	
CN	0,0000	Aab	0,0000	Aa
C T-V-	0,0072	Aab	0,0096	Aab
C T-V+	-0,0961	Ab	-0,0179	Aab
C T+V-	0,2871	Aa	0,1723	Aa
C T+V+	0,0008	Aab	-0,0448	Ab
FG T-V-	0,0072	Aab	-0,0521	Aa
FG T-V+	-0,0961	Ab	-0,0589	Aa
FG T+V-	0,2871	Aa	0,1190	Aa
FG T+V+	0,0008	Aab	-0,0984	Aa
FP T-V-	0,0072	Aab	0,04845	Aa
FP T-V+	-0,0961	Ab	-0,085	Aa
FP T+V-	0,28707	Aa	0,0161	Ba
FP T+V+	0,00084	Aab	-0,0452	Aa
MC T-V-	0,0072	Aab	-0,0351	Aa
MC T-V+	-0,0961	Ab	0,1081	Aa
MC T+V-	0,2871	Aa	0,0240	Aa
MC T+V+	0,0008	Aab	-0,0645	Aa
MI T-V-	0,0072	Aab	0,11832	Aa
MI T-V+	-0,0961	Ab	-0,004	Aa
MI T+V-	0,28707	Aa	0,02133	Ba
MI T+V+	0,00084	Aab	-0,049	Aa

Letras maiúsculas diferentes representam diferença significativa das médias entre os tratamentos na coluna e letras minúsculas diferentes representam diferença significativa das médias entre os tratamentos na linha (teste de Tukey a 5,0% de significância).

Fonte: Próprio autor

Os resultados positivos na redução da ecotoxicidade, apresentados pela Tabela 8, podem estar relacionados com a adição de vinhaça ao solo.

De acordo com Prata *et al.* (2000, 2001), a vinhaça é uma fonte de carbono solúvel prontamente disponível. Assim, sua presença irá resultar no favorecimento do metabolismo dos micro-organismos presentes no solo, resultando em uma maior degradação dos agrotóxicos.

Villaverde *et al.* (2018) também corroboram com essa informação, afirmando que solos agrícolas apresentam grandes comunidades de micro-organismos com elevada diversidade, o que pode resultar em um maior potencial metabólico.

Por outro lado, Chang e Stritzke (1977) revelaram que o herbicida tebuthiuron apresenta alta disponibilidade e mobilidade em solos com baixos níveis de matéria orgânica e argila. Observou-se que até 40% do herbicida foi adsorvido quando aplicado em solo com maior concentração de matéria orgânica (4,8%), enquanto apenas 1% desta molécula estava adsorvida em solo com teor de 0,3%. Além disso, Pires *et al.* (1997) observaram que imazaquin apresentou maior adsorção em solos com maiores níveis de matéria orgânica e, conforme aumentava essa concentração, maior era a adsorção do herbicida.

Com relação aos tratamentos em que o tempo final resultou em diferença estatística do tempo inicial (Tabela 8), nota-se que, embora os valores tenham reduzido, esses ainda são positivos, indicando que a toxicidade da molécula diminuiu, porém, essa ainda existe.

Testes com sementes também foram utilizados para verificação de toxicidade tanto de herbicidas quanto de inseticidas, como exposto por Moore e Kroger (2010). Além disso, a eficiência do teste também foi confirmada por Faria *et al.* (2018) em trabalho onde os autores afirmam que a utilização desse método é viável, e sementes de pepino são ótimos bioindicadores de tebuthiuron, em concentração acima de $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$

O efeito tóxico sob sementes de *L. sativa* também foi observado por Martins e Pereira (2018), onde os efeitos fitotóxicos de um herbicida a base de picloram e 2,4-D foram avaliados. Nesse trabalho, os autores relatam que após 96 horas de exposição foram observadas uma média de 24,3 sementes germinadas no grupo controle enquanto que nas concentrações de 100%, 10%, 1% do herbicida a germinação foi inibida.

Com isso, fazem-se necessárias novas avaliações com relação ao volume de vinhaça aplicado, dose de herbicida e até mesmo, maior tempo de atenuação natural.

11 CONCLUSÃO

Entre as espécies fitorremediadoras, de acordo com o desenvolvimento de *C. juncea*, observa-se que, embora mucuna-cinza e milho tenham apresentado resultados similares, os vasos que anteriormente foram ocupados por mucuna-cinza, permitiram um melhor desenvolvimento e produção de biomassa para a espécie bioindicadora.

Quanto ao teste de ecotoxicidade, a presença isolada do tebuthiuron no solo revelou um potencial tóxico para sementes de *L. sativa*, mas a aplicação da vinhaça junto ao herbicida favoreceu a redução dessa ecotoxicidade no tempo inicial.

12 CONCLUSÃO GERAL

A presença do herbicida resultou em morte de todas as plantas das espécies feijão-guandu e feijão-de-porco.

Mucuna-cinza e milho foram as espécies vegetais que apresentaram melhor desenvolvimento vegetal, entretanto, o solo anteriormente ocupado por mucuna-cinza foi o que possibilitou melhor desenvolvimento para a espécie bioindicadora (*Crotalaria juncea*), comparado com a amostra testemunha.

O milho apresentou o menor índice de mortalidade e o melhor desempenho quando associado tebutiuron com a vinhaça. Entretanto, apesar desses resultados para essa espécie, a utilização da mucuna-cinza foi a mais indicada para uso em reformas de canaviais como adubo verde baseado no desenvolvimento vegetal e nas vantagens que ela pode fornecer ao sistema, como fixação de N, quebra do ciclo de algumas doenças e de insetos praga, tendo em vista que não pertence a mesma família da cana-de-açúcar.

A adição isolada de vinhaça geralmente não resultou em diferença com o ensaio controle, entretanto, quando essa foi adicionada junto ao herbicida tebutiuron foram observados os menores valores para todas as variáveis analisadas. Já no teste de ecotoxicidade, a presença de vinhaça junto ao herbicida, resulta em redução da ecotoxicidade, mesmo que não significativa estatisticamente.

Testes de ecotoxicidade com utilização de sementes de alface mostrou-se uma alternativa barata e positiva para bioensaios com a presença do herbicida tebutiuron e vinhaça.

Ao comparar o desenvolvimento da planta com o das sementes, observa-se que, a espécie sentinela apresentou melhor desenvolvimento em vaso anteriormente ocupado por mucuna-cinza, já nos testes de ecotoxicidade, milho apresentou melhores valores, resultando em uma menor toxicidade para o organismo teste.

13 CONSIDERAÇÕES FINAIS

É importante ressaltar que nessa pesquisa, as espécies vegetais foram semeadas logo após a aplicação do herbicida. Já em situação real, o herbicida tebuthiuron é aplicado na fase inicial de cultivo da cana-de-açúcar e só após esse período que entrará alguma outra espécie no local.

A espécie vegetal mucuna-cinza permitiu um melhor desenvolvimento e produção de biomassa para a espécie bioindicadora (*C. juncea*). Porém, para ser indicada como espécie remediadora de solos com tebuthiuron e vinhaça, são necessários novos experimentos que podem contemplar maior número de plantas por vaso, diferentes doses do herbicida, e até mesmo um período de desenvolvimento vegetal mais extenso, o que permitira identificar com clareza o potencial dessa espécie como remediadora de solos de cana-de-açúcar.

Ressalta-se também que além do herbicida e da vinhaça outros compostos são aplicados durante o ciclo da cana-de-açúcar e esses podem interferir no comportamento ambiental da molécula do tebuthiuron.

Portanto, o presente estudo revelou o potencial fitorremediador de algumas espécies de interesse agrônômico e, conseqüentemente, a importância dessa alternativa de remediação no campo. Logo, novas abordagens experimentais podem ser conduzidas a partir deste ponto de partida, para avaliar os possíveis efeitos sinérgicos e/ou antagônicos dessas aplicações, alertando para os potenciais impactos ambientais associados a estas substâncias no solo.

REFERÊNCIAS

- ALI, H.; KHAN, E. ; SAJAD, M. A. Phytoremediation of heavy metals - concepts and applications. **Chemosphere**, Oxford, v. 91, n. 7, p. 869-881, 2013.
- ALVES, C.; GALON, L.; KAIZER, R. R.; HOLZ, C. M.; WINTER, F. L.; BASSO, F. J. M.; FORTE, C. T. Selection of Species with Soil Phytoremediation potential after the application of protox-inhibiting herbicides. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 36, p. 1-15, 2018.
- AMBROSANO, E. J.; CANTARELLA, H.; AMBROSANO, G. M. B.; SCHAMMAS, E. A.; DIAS, F. L. F.; ROSSI, F.; AZCÓN, R. Produtividade da cana-de-açúcar após o cultivo de leguminosas. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 4, p. 810-818, 2011.
- AMBROSANO, E. J.; FOLTRAN, D. E.; CAMARGO, M. S.; ROSSI, F.; SCHAMMAS, E. A.; SILVA, E. C. D.; DIAS, F. L. Acumulo de biomassa e nutrientes por adubos verdes e produtividade da cana-planta em sucessão, em duas localidades de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Dois Vizinhos, v. 8, n. 1, p. 199-209, 2013.
- AMBROSANO, E. J.; TRIVELIN, P. C. O.; CANTARELLA, H.; AMBROSANO, G. M. B.; SCHAMMAS, E. A.; GUIRADO, N.; ROSSI, F.; MENDES, P. C. D. MURAOKA, T. Utilization of nitrogen from green manure and mineral fertilizer by sugarcane. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, p. 534-542, 2005.
- ANDRADE, J. M. F. Impactos **Ambientais da agroindústria da cana-de-açúcar**: subsídios para a gestão. 2007. 131 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Gerenciamento Ambiental) - Escola Superior de Agricultura "Luis de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.
- ARAÚJO, L. C. A.; ORLANDA, J. F. F. Biodegradação do herbicida 2,4-D utilizando bactérias selecionadas do solo do cerrado maranhense. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 24, p. 21-32, 2014.
- ASSAD, L. Aproveitamento de resíduos do setor sucroalcooleiro desafia empresas e pesquisadores. **Ciência e Cultura**, Campinas, v. 69, n. 4, p. 13-16, 2017.
- ASSIS, R. L.; PROCÓPIO, S. O.; CARMO, M. L.; PIRES, F. R.; CARGNELUTTI FILHO, A.; BRAZ, G. B. P. Fitorremediação de solo contaminado com o herbicida picloram por plantas de capim pé de galinha gigante. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina grande, v. 14, n. 11, p. 1131-1135, 2010.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 10006**: Procedimento para obtenção de extrato solubilizado de resíduos sólidos. Rio de Janeiro, 2004. 7 p.
- AZUBUIKE, C. C.; CHIKERE, C. B.; OKPOKWASILI, G. C. Bioremediation techniques classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dordrecht, v. 32, n. 11, p. 180-, 2016.

- BANKS, M. K.; SCHULTZ, K. E. Comparison of plants for germination toxicity tests in petroleum-contaminated soils. **Water Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v. 167, p. 211- 219, 2005.
- BELO, A. F.; PIRES, F. R.; BONOMO, R.; CARGNELUTTI FILHO, A.; TENIS, L. H. O. Sulfentrazone phytoremediation under field conditions. **Revista Caatinga**, Mossoro, v. 29, n. 1, p. 119-126, 2016.
- BELO, F. A; COELHO, A. T. C. P.; FERREIRA, L. R.; SILVA, A. A.; SANTOS, J. B. Potencial de Espécies Vegetais na remediação de solo contaminado com sulfentrazone. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 29, n. 4, p. 821 - 828, 2011.
- BEYER, E. M.; DUFFY, M. J.; HAY, J. V.; SCHLUETER, D. D. Sulfunylureia. In: KEARNEY, P.C; KAUFMAN, D.D. (ed.). **Herbicides: chemistry, degradation, and mode of action**. New York: M. Dekker, 1988. p. 117-189.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **AGROFIT**. Brasília, DF, 2018. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 08 jul. 2019.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **AGROFIT**. Brasília, DF, 2019. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 08 jul. 2019.
- CARDOSO, E. J. B. N.; ALVES, P. R. Soil ecotoxicology. In: GHOSIA, B. (org.). **Ecotoxicology**. InTech, 2013. p. 27-50. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/ecotoxicology/soil-ecotoxicology>. Acesso em: 17 dez. 2019.
- CARMO, M. L.; PROCOPIO, S. O.; PIRES, F. R.; CARGNELUTTI FILHO, A.; BARROSO, A. L. L.; SILVA, G. P.; CARMO, E. L.; BRAZ, G. B. P.; SILVA, W. F. P.; BRAZ, A. J. B. P.; PACHECO, L. P. Seleção de plantas para fitorremediação de solos contaminados com picloram. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 26, n. 2, p. 301 - 313, 2008.
- CARVALHO, M. V. F. **Avaliação química e toxicológica de solo contaminado por hpas submetido à biodegradação pelo fungo basidiomiceto *Pycnoporus sanguineus***. 2010. 66 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2010.
- CAMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar. – Acomp. safra bras. cana, Safra 2017/18, v. 4, n. 3 - Terceiro levantamento, Brasília, p. 1-77, dezembro 2017.
- CAZETTA, S. A.; FORNASIERI FILHO, D.; GIROTTO, F. Composição, produção de matéria seca e cobertura do solo em cultivo exclusivo e consorciado de milho e crotalária. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v. 27, n. 4, p. 575-580, 2005.
- CHANG, S. S.; STRITZKE, J. J. Sorção, movimento e dissipação do tebutiuron nos solos. **Weed Science**, Cambridge, v. 25, n. 2, p. 184-187, 1977.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB.
Relatório de qualidade do ar no Estado de São Paulo. São Paulo, 2005.

CRUZ, J. M.; TAMADA, I. S.; LOPES, P. R. M.; MONTAGNOLLI, R. N.; BIDOIA, E. D. Biodegradation and phytotoxicity of biodiesel, diesel, and petroleum in soil. **Water, Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v. 225, p. 1962, 2014.

DUTRA, T. R.; MASSAD, M. D.; SOUZA OTONI, B. A.; SANTOS, A. R.; MENEZES, E. S.; SARMENTO, M. F. Q. Potencial fitorremediador de *Tecoma stans* em solo contaminado com herbicida diuron + hexazinone. **Agropecuária Científica no Semiárido**, Campina Grande, v. 13, n. 2, p. 106-112, 2017.

ESPANA-GAMBOA, E.; MIJANGOS-CORTES, J.; BARAHONA-PEREZ, L.; DOMINGUEZ-MALDONADO, J.; HERNÁNDEZ-ZARATE, G.; ALZATE-GAVIRIA, L. Alzate-Gaviria Vinasses: characterization and treatments. **Waste Management & Research**, London, v. 29, n. 12, p. 1235-1250, 2011.

FARIA, A. T.; SOUZA, M. F.; JESUS PASSOS, A. B. R.; SILVA, A. A., SILVA, D. V.; ZANUNCIO, J. C.; ROCHA, P. R. R. Tebuthiuron leaching in three Brazilian soils as affected by soil pH. **Environmental Earth Sciences**, Heidelberg, v. 77, n. 5, p. 214, 2018.

FASANELLA, C. C.; CARDOSO, E. J. B. N. Biorremediação. In: ANDREOTE F. D.; CARDOSO, E. J. B. N. (org.). **Microbiologia do solo**. 2. ed. Piracicaba: ESALQ, v. 1, p. 197-210, 2016.

FERRO, A. M.; SIMS, R. C.; BUGBEE, B. Hycrest crested wheatgrass accelerates the degradation of pentachlorophenol in soil. **Journal Environmental Quality**, Madison, v. 23, n. 2, p. 272-279, 1994.

FERRAÇO, M.; PIRES, F. R.; BELO, A. F.; CELIN FILHO, A.; BONOMO, R. Efeito da densidade populacional de *Canavalia ensiformis* na fitorremediação de solo contaminado com sulfentrazone. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 48, n. 1, p. 32-40, 2017.

FORBES, V. E.; FORBES T. L. **Ecotoxicology in teory and practice**. Londres: Chapman & Hall, 1994. 247 p.

FRANCO, M. H. R.; FRANÇA, A. C.; ALBUQUERQUE, M. T.; SCHIAVON, N. C.; VARGAS, G. N. Phytoremediation of soils contaminated with picloram by *Urochloa brizantha*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 4, p. 460-467, 2014.

FRANCO, M. H. R.; LEMOS, V. T.; AGUIAR, L. M.; FRANÇA, A. C.; FERREIRA, E. A.; SILVA, D. V. Características fisiológicas do feijoeiro cultivado em solos após fitorremediação do picloram. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, v. 14, n. 4, p. 315-325, 2015.

FUERST, E. P.; NORMAN, M. A. Interactions of herbicides with photosynthetic electron transport. **Weed Science**, Cambridge, v. 39, p. 458-464, 1991.

GALON, L.; FERNANDES, F. F.; ANDRES, A.; SILVA, A. F. D.; FORTE, C. T. Selectivity and efficiency of herbicides in weed control on sweet sorghum. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 46, n. 2, p. 123-131, 2016.

GALON, L.; NONEMACHER, F.; AGAZZI, L. R.; FIABANE, R. C.; FORTE, C. T.; FRANCESCHETTI, M. B.; PERIN, G. F. Fitorremediação de solo contaminado com herbicidas inibidores de FSII e de ALS. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, n. 16, v. 4, p.307-324, 2017.

GLÓRIA, N. A.; ORLANDO FILHO, J. **Aplicação de vinhaça como fertilizante**. São Paulo: Coopersucar, 1983. 38 p.

GRISOLIA, C. K. **Agrotóxicos: mutação, câncer e reprodução**. Brasília: Ed. da Universidade de Brasília, 2005.

GUIMARÃES, F. S.; CIAPPINA, A. L.; ANJOS, R. A. R.; SILVA, A.; PELÁ, A. Consórcio guandu-milho-braquiária para integração lavoura pecuária. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v. 4, p. 22-27, 2017.

HAGNER, M.; PENTTINEN, O. P.; PASANEN, T.; TIILIKKALA, K.; SETÄLÄ, H. Acute toxicity of birch tar oil on aquatic organisms. **Agricultural and Food Science**, Jokioinen, v. 19, n. 1, p. 24-32, 2010. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/42377675_Acute_toxicity_of_birch_tar_oil_on_aquatic_organisms. Acesso em: 17 dez. 2019.

HOARAU, Y. ;CARO, I.; GRONDIN, T. P. Sugarcane vinasse processing: toward a status shift from waste to valuable resource: a review. **Journal Water Process Engineering**, [s.l.], v. 24, p. 11-25, 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. **Manual para requerimento de avaliação ambiental: agrotóxicos e afins**. Brasília-DF: IBAMA, 2009. 180 p. 2009. Disponível em: <<http://ibama.gov.br/sophia/cnia/livros/ManualparaRequerimentodeAvaliacaoAmbiental.pdf>>. Acesso em: 20 abr. 2018.

IBRAHIM, S. I.; LATEEF, M. A.; KHALIFA, H. M. S.; MONEM, A. A. Phytoremediation of atrazine-contaminated soil using *Zea mays* (maize). **Annals of Agricultural Sciences**, Poznan, v. 58, n. 1, p. 69-75, 2013.

INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA - IEA. **Defensivos agrícolas: cana-de-açúcar**, 2008. Disponível em: <http://ciagri.iea.sp.gov.br/nia1/cadeia/cadeiaCana.aspx>. Acesso em: 08 maio 2018.

KÖPPEN, W. **Climatologia: conunestudio de los climas de latierra**. México: Fondo de Cultura Econômica, 1948. 479 p.

KUVA, M. A.; FERRAUDO, A. S.; PITELLI, R. A.; ALVES, P. L. C. A.; SALGADO, T. P. Padrões de infestação de comunidades de plantas daninhas no agroecossistema de cana-crua. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 26, n. 4, p. 549-557, 2008.

KUVA, M. A.; GRAVENA, R.; PITELLI, R. A.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; ALVES, P. L. C. A. Períodos de interferência das plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar: III - capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) e capim-colonião (*Panicum maximum*). **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, n. 1, p. 37-44, 2003.

LABOURIAU, L. G.; AGUDO, M. On the physiology of seed germination in *Salvia hispanica* L. I. Temperature Effects. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 59, p. 37-56, 1987.

LIMA, F. A.; SANTOS Jr., A. C.; MARTINS, L. C. ; SARROUH, B. ; LOFRANO, R. C. Z. Revisão sobre a toxicidade e impactos ambientais relacionados à vinhaça efluente da indústria sucroalcooleira. **Cadernos UniFOA**, Volta Redonda, v. 11, n. 32, p. 27-34, 2016.

LOPES, P. R. M.; MONTAGNOLLI, R. N.; DOMINGUES, R. F.; BIDOIA, E. D. Toxicity and biodegradation in sandy soil contaminated by lubricant oils. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 84, p. 454-458, 2010.

MADALÃO, J. C.; PIRES, F. R.; CARGNELUTTI FILHO, A.; NASCIMENTO, A. F.; CHAGAS, K.; ARAÚJO, R. S.; PROCÓPIO, S. O.; BONOMO, R. Susceptibilidade de espécies de plantas com potencial de fitorremediação do herbicida sulfentrazone. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 60, n. 1, p. 111-121, 2013.

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**, Goiânia, v. 42, n. 4, p. 390-396, 2012a.

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

MADALÃO, J. C.; PIRES, F. R.; CARGNELUTTI FILHO, A.; NASCIMENTO, A. F.; CHAGAS, K.; ARAÚJO, R. S.; PROCÓPIO, S. O.; BONOMO, R. Susceptibilidade de espécies de plantas com potencial de fitorremediação do herbicida sulfentrazone. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 60, n. 1, p. 111-121, 2013.

MADALÃO, J. C.; PIRES, F. R.; NASCIMENTO, A. F.; CHAGAS, K.; CARGNELUTTI FILHO, A.; DE OLIVEIRA PROCÓPIO, S. Fitorremediação de solo contaminado com sulfentrazone em função do tempo de cultivo de *Canavalia ensiformis*. **Revista Agro@mbiente**, Boa Vista, v. 10, n. 1, p. 36-43, 2016.

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

MAZUTTI, M.; BENDER, J. P.; TREICHEL, H.; DI LUCCIO, M. Optimization of inulinase production by solid-state fermentation using sugarcane bagasse as substrate. **Enzyme and Microbial Technology**, Philadelphia, v. 39, n. 1, p. 56-59, 2006.

MELO, C. A. D.; SOUZA, W. M. D.; CARVALHO, F. P. D.; MASSENSINI, A. M.; SILVA, A. A. D.; FERREIRA, L. R., COSTA, M. D. Microbial activity of soil with

sulfentrazone associated with phytoremediator species and inoculation with a bacterial consortium. **Bragantia**, Campinas, v. 75 n. 2, p. 300-310, 2017.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA. **Plano Nacional de Agroenergia 2015-2016**. Secretaria de Produção e Agroenergia. 2. ed. revisada. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, 2016. 110 p.

MONQUERO, P. A.; CÔRREA, M. C.; BARBOSA, L. N.; GUTIERREZ, A.; ORZARI, I.; HIRATA, A. C. S. Seleção de espécies de adubos verdes visando à fitorremediação de diclosulam. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 31, n. 1, p. 127-135, 2013.

MONTAGNOLLI, R. N.; LOPES, P. R. M.; CRUZ, J. M.; CLARO, E. M. T.; QUITERIO, G. M.; BIDOIA, E. D. The effects of fluoride based fire-fighting foams on soil microbiota activity and plant growth during natural attenuation of perfluorinated compounds. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, Amsterdam, v. 50, p. 119-127, 2017.

MOORE, M. T.; KRÖGER, R. Effect of three insecticides and two herbicides on rice (*Oryza sativa*) seedling germination and growth. **Archives of environmental contamination and toxicology**, New York, v. 59, n. 4, p. 574-581, 2010.

MORILLO, E.; VILLAVERDE, J. Advanced technologies for the remediation of pesticide-contaminated soils. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 586, p. 576-597, 2017.

NASCIMENTO, A. **Eficácia de herbicidas aplicados em pré-plantio incorporado na cultura da cana-de-açúcar**. 2016. 37 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2016. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/134297/nascimento_a_me_ilha.pdf?sequence=3&isAllowed=y. Acesso em: 17 dez. 2019.

NUNES, M. R.; VELLOSO, A. C. X.; LEAL, J. R. Efeito da vinhaça nos cátions trocáveis e outros elementos químicos do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 16, n. 2, p.171-176, 1981.

OLIVA JÚNIOR, E. F. Os impactos ambientais decorrentes da ação antrópica na nascente do Rio Piauí. **Revista Eletrônica da Faculdade José Augusto Vieira**, Lagarto, v. 5, n. 7, p. 1-17, 2012.

OLIVEIRA JÚNIOR, R. S. Mecanismos de ação de herbicidas. In: OLIVEIRA JÚNIOR., R. S. *et al.* **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Ominipax, 2011. p. 141-192.

OLIVEIRA, M. F.; BRIGHENTI, A. M. Comportamento dos herbicidas no ambiente. In: OLIVEIRA JR, R. S; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Ominipax, 2011. Cap. 11. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4456133/mod_resource/content/1/Cap%2011%20-%20Comportamento%20de%20herbicidas%20no%20ambiente.pdf. Acesso em: 17 dez. 2019.

PEREZ-JONES, A.; INTANON, S.; MALLORY-SMITH, C. Molecular analysis of hexazinone-resistant shepherd's-purse (*Capsella bursa-pastoris*) reveals a novel psbA mutation. **Weed Science**, Cambridge, v. 57, p. 574-578, 2009.

PIRES, F. R.; OLIVEIRA PROCÓPIO, S. D.; BARBOSA DOS SANTOS, J.; SOUZA, C. M. D.; DIAS, R. R.. Avaliação da fitorremediação de tebuthiuron utilizando *Crotalaria juncea* como planta indicadora. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 39, n. 2, p. 245-250, 2008.

PIRES, F. R.; SOUZA, C. M.; CECON, P. R.; SANTOS, J. B.; TOTOLA, M. R.; PROCÓPIO, 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**, Campinas, v. 29, n. 4, p. 627-634, 2005a.

PIRES, F. R.; SOUZA, C. M.; SILVA, A. A.; CECON, P. R.; PROCÓPIO, S. O.; SANTOS, J. B.; FERREIRA, L. R. Fitorremediação de solos contaminados com tebuthiuron utilizando-se espécies cultivadas para adubação verde. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 23, n. 4, p. 711-717, 2005b.

PIRES, F. R., SOUZA, C. M., SILVA, A. A., QUEIROZ, M. E. L. R., PROCÓPIO, S. O., SANTOS, J. B., CECON, P. R. Seleção de plantas com potencial para fitorremediação de tebuthiuron. **Planta Daninha**, v. 21, n. 3, p. 451-458, 2003.

PIRES, F. R.; PROCÓPIO, S. O.; SOUZA, C. M.; SANTOS, J. B.; SILVA, G. P. Adubos verdes na fitorremediação de solos contaminados com o herbicida tebuthiuron. **Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 1, p. 92 - 97, 2006.

PIRES, N. D. M.; SILVA, J. F.; SILVA, J. B.; FERREIRA, L. R.; CARDOSO, A. A. Adsorção e lixiviação de trifluralin e imazaquin em diferentes solos. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 44, n. 253, p. 300-314, 1997. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/52855/1/Adsorcao-lixiviacao.pdf>. Acesso em: 17 dez. 2019.

PRATA, F.; LAVORENTI, A.; REGITANO, J. B.; TORNISIELO, V. L. Degradação e adsorção de diuron em solos tratados com vinhaça. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Campinas, v. 24, p. 217-223, 2000.

PRATA, F.; LAVORENTI, A.; REGITANO, J. B.; TORNISIELO, V. L. Degradação e sorção de ametrina em dois solos com aplicação de vinhaça. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 36, n. 7, p. 975-981, 2001.

PROCÓPIO, S. O.; CARMO, M. L.; PIRES, F. R.; CARGNELUTTI FILHO, A.; BRAZ, G. B. P.; SILVA, W. F. P.; BARROSO, A. L. L.; SILVA, G. P.; CAMO, E. L.; BRAZ, A. J. B. P. Fitorremediação de solo contaminado com picloram por capim-pé-de-galinha-gigante (*Eleusine coracana*). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 32, p. 2517 - 2523, 2008.

REDE, D. S. G. M. **Avaliação ecotoxicológica de solos contaminados por ibuprofeno**. 2011. 95 f. Tese (Doutorado) - Instituto Politécnico do Porto, Instituto Superior de Engenharia do Porto, Porto, 2011. Disponível em: https://recipp.ipp.pt/bitstream/10400.22/2732/1/DM_DianaRede_2011_MEQ.pdf Acesso em: 17 dez. 2019.

REZENDE, J. O. **Conseqüências da aplicação de vinhaça sobre algumas propriedades físicas de um solo aluvial: estudo de um caso**. 1979. 112 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1979.

ROCHA, R. S.; BEATI, A. A. G. F.; VALIM, R. B.; STETER, J. R.; BERTAZZOLI, R.; LANZA, M. R. V. Avaliação dos subprodutos de degradação do herbicida ametrina obtidos via processos oxidativos avançados. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, Tupã, v. 12, n. 1, p. 52-67, 2018.

RODRIGUES, M. N.; ALMEIDA, F. S. Tebutiuron e hexazinona. In: RODRIGUES, M. N.; ALMEIDA, F. S. (ed.). **Guia de herbicidas**. Londrina: IAPAR, 2011. p. 102-697.

ROSSETTO, R. Impacto ambiental: a cultura da cana, da degradação à conservação. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v. 1, n. 1, p. 80-85, 2004.

SALTON, J. C.; MIELNICZUK, J.; BAYER, C.; BOENI, M.; CONCEIÇÃO, P. C.; FABRÍCIO, A. C.; MACEDO, M. C. M; BROCH, D. L. Agregação e estabilidade de agregados do solo em sistemas agropecuários em Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 32, p. 11-21, 2008.

SÁNCHEZ, V.; LÓPEZ-BELLIDO, F. J.; CAÑIZARES, P.; RODRÍGUEZ, L. Assessing the phytoremediation potential of crop and grass plants for atrazine-spiked soils. **Chemosphere**, Oxford, v. 185, p. 119-126, 2017.

SANDANIEL, C. R.; FERNANDEZ, L. B.; BARROSO, A. L. L. Controle de plantas daninhas em cana soca com herbicidas aplicados em pré-emergência. **Núcleo**, Ituverava, v. 5, n. 2, p. 1-10, 2008.

SANTOS, A. R.; SALES, M. L.; CAMPOLINO, M. L. Sementes de *Lactuca sativa* (alface) como bioindicador da toxicidade da água dos córregos urbanos JK e Interlagos, região sudeste de Sete Lagoas, MG. **Revista Brasileira de Ciências da Vida**, Sete Lagoas, v. 5, n. 1, p. 1-14, 2017.

SANTOS, E. A.; DUTRA C. M.; FERREIRA, L. R.; RODRIGUES DOS REIS, M.; CABRAL FRANÇA, A.; BARBOSA DOS SANTOS, J. Atividade rizosférica de solo tratado com herbicida durante processo de remediação por *Stizolobium aterrimum* **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 40, n. 1, p. 1-7, 2010.

SANTOS, G. G.; SILVEIRA, P. M. ; MARCHÃO, R. L.; PETTER, F. A.; BECQUER, T. Atributos químicos e estabilidade de agregados sob diferentes culturas de cobertura em Latossolo do Cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, Campina Grande, v. 16, p. 1171-1178, 2012.

SANTOS, H. G.; JOCOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBREARAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A.; FILHO, J. C. A.; OLIVEIRA, J. B; CUNHA, T. J. F. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: Embrapa, 2018. 531 p.

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 trifloxysulfuronsodium. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 22, n. 2, p. 223 - 330, 2004.

SANTOS, T. M. C.; SANTOS, M. A. L.; SANTOS, C. G.; SANTOS, V. R.; PACHECO, D. S. Efeito da fertirrigação com vinhaça nos microrganismos do solo. **Caatinga**, Mossoró, v. 22, n. 1, p. 155-160, 2009.

SCIVITTARO, W. B.; MURAOKA, T.; BOARETTO, A. E.; TRIVELIN, P. C. O. Utilização de nitrogênio de adubos verde e mineral pelo milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 24, n. 4, p.165-170, 2000.

SILVA, A. A.; ANTONINO, L.; VIVIAN, R.; OLIVEIRA JÚNIOR, R. S. Comportamento de herbicidas no solo. In: MONQUERO, P. A. (ed.). **Aspectos da biologia e manejo das plantas daninhas**. São Carlos: RiMa Editora, 2014. p. 167-216.

SILVA, A. M. P. **Fertirrigação com o uso da vinhaça na cultura da cana-de-açúcar e seu efeito no solo**. 2011. 40 f. Dissertação (Mestrado Profissional) - Programa de Mestrado Profissional em Produção e Gestão Agroindustrial, Universidade Anhanguera, UNIDERP, 2011.

SILVA, A. J. N.; RIBEIRO, M. R. Caracterização de um Latossolo Amarelo sob cultivo contínuo de cana-de-açúcar no estado de Alagoas: propriedades químicas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 21, n. 1, p. 677-684, 1997.

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**, Campinas, v. 73, n. 3, p. 292 - 299, 2014.

SILVA, J. P. N.; SILVA, M. R. N. **Noções da cultura da cana-de-açúcar**. Santa Maria: Ed. da Universidade Federal de Santa Maria, 2012. 105 p.

SILVA, M. A. S.; GRIEBELER, N. P.; BORGES, L. C. Uso de vinhaça e impactos nas propriedades do solo e lençol freático. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 11, n. 1, p. 108–114, 2007.

SINDHU, R.; GNANSOUNOU, E.; BINOD, P.; PANDEY, A. Bioconversion of sugarcane crop residue for value added products—An overview. **Renewable Energy**, Oxford, v. 98, p. 203-215, 2016.

SOBRERO, M. C.; RONCO, A. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.). In: MORALES; G. C. (ed). **Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: standerización; intercalibración; resultados y aplicaciones**. Mexico: IMTA, 2004. p. 71-79.

SOUZA, J. K. C.; MESQUITA, F. O.; DANTAS NETO, J.; SOUZA, M. M. A.; FARIAS, C. H. A.; MENDES, H. C.; NUNES, R. M. A.; SOUZA, J. K. C. Fertirrigação com vinhaça na produção de cana-de-açúcar. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, Campina Grande, v. 11, n. 2, p. 7-12, 2015.

SOUZA, L. A. D.; ANDRADE, S. A. L. D.; SOUZA, S. C. R. D.; SCHIAVINATO, M. A. Tolerância e potencial fitorremediador de *Stizolobium aterrimum* associada ao fungo micorrízico arbuscular *Glomus etunicatum* em solo contaminado por chumbo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 1441-1451, 2011.

SOUZA, L. D.; SANTOS, C. V S.; SOUZA, L. S.; PEREIRA, B. L S. **Resistência à penetração em Latossolo Amarelo dos Tabuleiros Costeiros; sob cobertura vegetal com leguminosas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2013. 28 p.

SOUZA, M. D.; BOEIRA, R. C.; GOMES, M. A. F.; FERRACINI, V. L.; MAIA, A. H. N. Adsorção e lixiviação de tebuthiuron em três tipos de solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 25, n. 4, p. 1053-1061, 2001 .

SOUZA, P. A.; NEGREIROS, M. Z.; MENEZES, J. B.; BEZERRA NETO, F.; SOUZA, G. L. F. M.; CARNEIRO, C. R.; QUEIROGA, R. C. F. Características químicas de alfaca cultivada sob efeito residual da adubação com composto orgânico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 23, p. 754-757, 2005.

SQUASSONI, V. L. **Monitoramento da comunidade de plantas daninhas na cana-de-açúcar e da eficiência de controle químico por meio de técnicas de análise multivariada de dados**. 2012. 88 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2012. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/96856/squassoni_vl_me_jabo.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 18 dez. 2019.

TAMADA, I. S.; LOPES, P. R. M.; MONTAGNOLLI, R. N.; BIDOIA, E. D. Toxicological evaluation of vegetable oils and biodiesel in soil during the biodegradation process. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 43, p. 1576-1581, 2012.

TIMOSSI, P. C.; WISINTAINER, C.; SANTOS, B. J.; PEREIRA, V. A.; PORTO, V. S. Supressão de plantas daninhas e produção de sementes de crotalária; em função de métodos de semeadura. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.41, n. 4, p. 525-530, 2011.

TONIETO, T. A. P. **Dinâmica dos herbicidas tebuthiuron e hexazina no sistema de cana crua**. 2014. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura , “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

TROPALDI, L.; VELINI, E. D.; CARBONARI, C. A.; ARALDI, R.; CORNIANI, N.; GIROTTO, M.; SILVA, I. P. F. Detecção da tolerância de diferentes espécies de capim-colchão a herbicidas inibidores do fotossistema II utilizando a técnica da fluorescência. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 5, p. 767-773, 2015.

TURPAULT, M. P.; GOBRAN, G. R.; BONNAUD, P. Temporal variations of rhizosphere and bulk soil chemistry in a Douglas fir stand. **Geoderma**, Amsterdam, v. 137, n. 3/4, p. 490-496, 2007.

VASCONCELLOS, M. C.; PAGLIUSO, D.; SOTOMAIOR, V. S. Fitorremediação: uma proposta de descontaminação do solo. **Estudos de Biologia**, Curitiba, v. 34, n. 83, p. 261-267, 2012.

VICTORIA FILHO, R.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Manejo de plantas daninhas e produtividade da cana. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v. 3, n. 1, p. 32-37, 2004.

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

VILLAVERDE; J.; KAH; M.; BROWN; C.D. Adsorption and degradation of four acidic herbicides in soils from southern Spain. **Pest Management Science**, Oxford, v. 64, n. 1, p. 703–710, 2008.

WANG, X.; HOU, X.; LIANG, S.; LU, Z.; HOU, Z.; ZHAO, X.; ZHANG, H. Biodegradation of fungicide tebuconazole by *Serratia marcescens* strain B1 and its application in bioremediation of contaminated soil. **International Biodeterioration & Biodegradation**, London, v. 127, p. 185-191, 2018.

14 APÊNDICE



Figura 8. Adubação do solo com o adubo Super Fosfato Simples



Figura 9. Aplicação de vinhaça aos tratamentos V+



Figura 10. Aplicação do herbicida tebuthiuron



Figura 11. Sintoma de fitotoxicidade em espécies vegetais.



Figura 12. Espécie de milho no tratamento controle com grande volume radicular



Figura 13. Espécie visualmente mais raquítica, comparada à testemunha, devido ao tratamento em que foi submetida.

