

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

YANCA ARAUJO FRIAS

**DESEMPENHO DE *Mucuna pruriens* NA FITORREMEDIAÇÃO DE SOLO COM
VINHAÇA E TEBUTHIURON**

Ilha Solteira

2021

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

YANCA ARAUJO FRIAS

DESEMPENHO DE *Mucuna pruriens* NA FITORREMEDIAÇÃO DE SOLO COM VINHAÇA E TEBUTHIURON

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

Especialidade: Sistemas de Produção.

Prof. Dr. Paulo Renato Matos Lopes
Orientador

Prof. Dr. Rafael Simões Tomaz
Co-orientador

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

F897d Frias, Yanca Araújo.
Desempenho de mucuna pruriens na fitorremediação de solo com vinhaça e
tebuthiuron / Yanca Araujo Frias. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2021
74 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de
Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Sistemas de Produção, 2021

Orientador: Paulo Renato Matos Lopes

Coorientador: Rafael Simões Tomaz

Inclui bibliografia

1. Biorremediação. 2. Crotalaria juncea. 3. Ecotoxicidade. 4. Herbicida.

Rafael da Silva Santos
Rafael da Silva Santos

Supervisora Técnica de Seção
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao usuário e Documentação
Departamento Técnico de Biblioteca e Documentação
CRB/3 - 9000

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Desempenho de *Mucuna pruriens* na fitorremediação de solo com vinhaça e tebuthiuron.

AUTORA: YANCA ARAUJO FRIAS

ORIENTADOR: PAULO RENATO MATOS LOPES

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

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Paulo", with a stylized flourish at the end.

Prof. Dr. PAULO RENATO MATOS LOPES (Participação Virtual)
Departamento de Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena - UNESP

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Leandro", with a stylized flourish at the end.

Prof. Dr. LEANDRO TROPALDI (Participação Virtual)
Departamento de Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena - UNESP

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Eduardo Beraldo de Moraes", with a stylized flourish at the end.

Prof. Dr. EDUARDO BERALDO DE MORAIS (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental / Universidade Federal de Mato Grosso - UFMT

Ilha Solteira, 22 de fevereiro de 2021

AGRADECIMENTOS

A Deus!

A minha família, Paulo Sérgio, Lucimara e Euller Lucas por todo o suporte e confiança;

Ao meu namorado, Juan Henrique, por me incentivar a realizar meus sonhos;

Aos meus orientadores, Prof. Dr. Paulo Renato e Prof. Dr. Rafael, pela confiança, dedicação, paciência, preocupação, e especialmente, por sua amizade;

Aos professores da FCAT e da FEIS, em especial ao Prof. Dr. Ronaldo Cintra Lima, Prof. Dr. Reges Heinrichs, Prof. Dr. Evandro Pereira Prado e Prof. Dr. Leandro Tropaldi, que contribuíram significativamente com este trabalho;

Aos funcionários da FCAT, em especial ao Alan Roger, por todo o suporte técnico;

Aos meus colegas de mestrado, Adriano e Jashon, pela disponibilização dos materiais para o experimento;

Aos meus amigos, Bruno Rafael, Edivaldo Wilson e Victor, pelas risadas e puxões de orelha;

Aos amigos e membros do GAIA e do CEBAF, em especial Laura, Munick, Thalia, Arthur, Vitória e João Paulo;

A República As Erradas, Andressa, Laura e Pietra, pelo ombro amigo, conselhos, incentivo e comemorações.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade.

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

*"Duas estradas se bifurcaram no meio da minha vida,
Ouvi um sábio dizer.
Peguei a estrada menos usada.
E isso fez toda a diferença cada noite e cada dia".
(Larry Norman)*

RESUMO

O tebuthiuron é um herbicida muito usado na cultura de cana-de-açúcar que apresenta alta persistência no solo e elevado potencial tóxico. Adicionalmente, em áreas canavieiras, a vinhaça também é frequentemente utilizada em práticas de fertirrigação. Contudo, ambos podem ocasionar impactos ao meio ambiente. Dessa maneira, o objetivo desse trabalho foi avaliar o desempenho da mucuna-cinza (*Mucuna pruriens* L. DC.) como adubo verde na rotação de cultura da cana e na remediação de tebuthiuron em solo com vinhaça. A eficiência do processo de fitorremediação foi avaliada quanto: ao desenvolvimento vegetal e à ecotoxicidade do meio. Para isso, um experimento foi conduzido em casa de vegetação utilizando vasos com solo, com doses de tebuthiuron: zero, 0,25x, 0,50x, 0,75x, e a dose recomendada (1,00x); e volumes de vinhaça: ausência, 0,50x, 1,0x e o 2,0x. A *Crotalaria juncea* foi utilizado como espécie sentinela no estudo sobre fitorremediação, sendo determinado o diâmetro do colo, a altura da planta e o número de folhas; e, massa fresca e seca final. A ecotoxicidade das amostras de solo nos tratamentos foi determinada nos tempos inicial (zero) e final (140 dias), utilizando sementes de *Lactuca sativa* como organismos-teste. Conforme seu desenvolvimento vegetal, maior efeito negativo foi encontrado na presença de uma e de duas vezes o volume recomendado de vinhaça, ocasionando mortalidade e até a não germinação de sementes, concluindo que a utilização da mucuna-cinza não pode ser indicada para uso como adubo verde em solo com alta concentração desses compostos. Ainda, conforme o desenvolvimento de *C. juncea*, observa-se que, a presença de vinhaça e tebuthiuron no solo foi prejudicial para o desenvolvimento da planta. A análise de quantificação de tebuthiuron no solo revelou que a concentração foi menor nas unidades experimentais que não receberam aplicação de vinhaça. Quanto ao teste de ecotoxicidade, a presença da vinhaça no solo apresentou um potencial tóxico para sementes de *L. sativa* no início das avaliações, entretanto, na avaliação tardia (t140), esse efeito foi reduzido.

Palavras-chave: biorremediação. *Crotalaria juncea*. Ecotoxicidade. Herbicida.

ABSTRACT

Tebuthiuron is a herbicide widely used in sugarcane culture that presents high persistence in soil and high toxic potential. Additionally, in sugarcane growing areas, vinasse is also frequently used in fertigation practices. However, both can cause impacts on the environment. Thus, the objective of this study was to evaluate the performance of velvet bean (*Mucuna pruriens* L. DC.) as a green manure in sugarcane crop rotation and in the remediation of tebuthiuron in soil with vinasse. The efficiency of the phytoremediation process was evaluated in terms of plant development and ecotoxicity of the medium. For this, an experiment was conducted in a greenhouse using pots with soil, with doses of tebuthiuron: zero, 0.25x, 0.50x, 0.75x, and the recommended dose (1.00x); and vinasse volumes: absence, 0.50x, 1.0x, and 2.0x. *Crotalaria juncea* was used as a sentinel species in the phytoremediation study, and neck diameter, plant height, and number of leaves were determined, as well as final fresh and dry mass. The ecotoxicity of the soil samples in the treatments was determined at the initial (zero) and final (140 days) times, using *Lactuca sativa* seeds as test organisms. According to their plant development, the greatest negative effect was found in the presence of one and two times the recommended volume of vinasse, causing mortality and even non-germination of seeds, concluding that the use of velvet bean cannot be indicated for use as a green manure in soil with a high concentration of these compounds. Also, according to the development of *C. juncea*, the presence of vinasse and tebuthiuron in the soil was harmful to the development of the plant. The quantification analysis of tebuthiuron in the soil revealed that the concentration was lower in the experimental units that did not receive vinasse application. As for the ecotoxicity test, the presence of stillage in the soil presented a toxic potential for *L. sativa* seeds at the beginning of the evaluations, however, in the late evaluation (t140), this effect was reduced.

Keywords: Bioremediation. *Crotalaria juncea*. Ecotoxicity. Herbicide.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Fórmula estrutural do herbicida tebuthiuron.....	18
Figura 2	- Fluxograma do processo de produção de etanol e subprodução de vinhaça.....	19
Figura 3	- Efeito do herbicida tebuthiuron sobre o desenvolvimento da <i>Mucuna pruriens</i>	30
Figura 4	- Análise de regressão para a altura (cm) de <i>Mucuna pruriens</i> durante o período em diferentes concentrações* de tebuthiuron e vinhaça no solo.....	34
Figura 5	- Análise de regressão para o diâmetro (mm) de <i>Mucuna pruriens</i> durante o período em diferentes concentrações* de tebuthiuron e vinhaça no solo.....	36
Figura 6	- Análise de regressão para o número de folhas de <i>Mucuna pruriens</i> durante o período em diferentes concentrações* de tebuthiuron e vinhaça no solo.....	38
Figura 7	- Análise de correlação para altura (H), diâmetro (D), número de folhas (NF), comprimento de raiz (CR), massas frescas de parte aérea (MFPA) e radicular (MFR) e massas secas de parte aérea (MSPA) e radicular (MSR) de <i>Mucuna pruriens</i> após 63 DAS em diferentes concentrações de tebuthiuron e vinhaça no solo.....	41
Figura 8	- Altura média (cm) de <i>Crotalaria juncea</i> durante o desenvolvimento vegetal por 42 dias nas amostras de solo com tebuthiuron e vinhaça.....	50
Figura 9	- Diâmetro médio (mm) de <i>Crotalaria juncea</i> durante o desenvolvimento vegetal por 42 dias nas amostras de solo com tebuthiuron e vinhaça.....	50
Figura 10	- Número de folhas médio de <i>Crotalaria juncea</i> durante o desenvolvimento vegetal por 42 dias nas amostras de solo com tebuthiuron e vinhaça.....	50
Figura 11	- Análise de correlação para comprimento de raiz (CR), biomassa frescas de parte aérea (MFPA) e radicular (MFR) e biomassas secas de parte aérea (MSPA) e radicular (MSR) de <i>Crotalaria juncea</i> após 42 DAS após processo de fitorremediação do solo..	52

APÊNDICES

Figura 12	- <i>Mucuna pruriens</i> no tratamento controle.....	65
Figura 13	- <i>Mucuna pruriens</i> no tratamento 0,50-0,75 VT.....	65
Figura 14	- <i>Crotalaria juncea</i> no tratamento controle.....	66
Figura 15	- <i>Crotalaria juncea</i> no tratamento 0,00-1,00 VT.....	66
Figura 16	- Perda de folhas da <i>C. juncea</i> no tratamento 2,00-0,50 VT.....	67
Figura 17	- Sementes sem emergência de <i>C. juncea</i> no tratamento 0,50-1,00 VT.....	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Composição química do solo utilizado.....	25
Tabela 2	- Análise de variância dos parâmetros morfológicos de <i>Mucuna pruriens</i> após 63 DAS: altura (H) e diâmetro das plantas (D), e número de folhas (NF).....	28
Tabela 3	- Comparação de médias dos parâmetros morfológicos de <i>Mucuna pruriens</i> durante o período de 63 dias: altura (H) e diâmetro das plantas (D) e número de folhas (NF).....	29
Tabela 4	- Comparação de médias da altura (H), do diâmetro (D) e do número de folhas (NF) de <i>Mucuna pruriens</i> em diferentes concentrações de tebuthiuron e vinhaça no solo.....	31
Tabela 5	- Comparação de médias da altura (cm) de <i>M. pruriens</i> durante o período em diferentes concentrações de tebuthiuron e vinhaça no solo.....	33
Tabela 6	- Comparação de médias de diâmetro (mm) de <i>Mucuna pruriens</i> durante o período em diferentes concentrações de tebuthiuron e vinhaça no solo.....	35
Tabela 7	- Comparação de médias do número de folhas de <i>Mucuna pruriens</i> durante o período em diferentes concentrações de tebuthiuron e vinhaça no solo.....	37
Tabela 8	- Comparação de médias da massa fresca da parte aérea (MFPA), das massas secas da parte aérea (MSPA) e radicular (MSR) e do comprimento da raiz (CR) de <i>Mucuna pruriens</i> após 63 DAS em diferentes concentrações de tebuthiuron e vinhaça no solo.....	39
Tabela 9	- Análise de variância das amostras de solo para quantificar resíduos de tebuthiuron após 140 dias de experimento.....	53
Tabela 10	- Comparação de médias da concentração de resíduo de tebuthiuron no solo ($\mu\text{g/g}$) ao final do período de 140 dias nos tratamentos avaliados.....	54
Tabela 11	- Análise de variância dos valores de 1-GI para <i>Lactuca sativa</i> nos bioensaios de ecotoxicidade para os tratamentos no tempo inicial (t_0) e tempo final de experimento (t_{140}).....	55

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

%G	Percentual de germinação de sementes em relação ao controle negativo
%R	Percentual de alongamento de raiz em relação ao controle negativo
CR	Comprimento de raiz
CTC	Capacidade de troca catiônica
DAS	Dias após a semeadura
GI	Índice de germinação (<i>Germination index</i>)
ha	Hectare
H+Al	Hidrogênio + Alumínio
KCl	Cloreto de potássio
MFPA	Biomassa fresca da parte aérea
MFR	Biomassa fresca de raiz
MSPA	Biomassa seca de parte aérea
MSR	Biomassa seca de raiz
pH	Potencial hidrogeniônico
PSII	Fotossistema II (<i>Photosystem II</i>)
PTPI	Período Total de Prevenção da Interferência
SB	Soma de bases
T	Tebuthiuron
t0	Tempo zero
t140	Tempo final de 140 dias
V%	Saturação da CTC por bases
V	Vinhaça

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	Cana-de-açúcar.....	17
2.2	Tebuthiuron.....	17
2.3	Vinhaça.....	18
2.4	Biorremediação.....	20
2.5	Fitorremediação.....	21
2.6	Ecotoxicidade.....	21
3	OBJETIVOS	23
3.1	Objetivo Geral.....	23
3.2	Objetivos Específicos.....	23
4	ARTIGO 1 – PRODUÇÃO DE <i>Mucuna pruriens</i> EM SOLO COM TEBUTHIURON E VINHAÇA	24
4.1	Introdução.....	24
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	25
4.2.1	Coleta de solo e vinhaça.....	25
4.2.2	Herbicida tebuthiuron e espécie vegetal.....	26
4.2.3	Delineamento experimental.....	26
4.2.4	Preparo das unidades experimentais.....	26
4.2.5	Avaliação do desenvolvimento vegetal.....	27
4.2.6	Análise estatística dos dados.....	27
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.4	CONCLUSÃO	41
5	ARTIGO 2 - FITORREMEDIAÇÃO DE SOLO COM TEBUTHIURON E VINHAÇA POR <i>Mucuna pruriens</i> UTILIZANDO <i>Crotalaria juncea</i> COMO ESPÉCIE BIOINDICADORA E <i>Lactuca sativa</i> EM BIOENSAIOS DE ECOTOXICIDADE	42
5.1	Introdução.....	42
5.2	MATERIAL E MÉTODOS	43
5.2.1	Coleta de solo e de vinhaça.....	43

5.2.2	Herbicida tebuthiuron e espécies vegetais.....	44
5.2.3	Delineamento experimental.....	44
5.2.4	Preparo das unidades experimentais.....	45
5.2.5	Avaliação do desenvolvimento vegetal – <i>Crotalaria juncea</i>	45
5.2.6	Bioensaios de ecotoxicidade.....	45
5.2.7	Quantificação de tebuthiuron nas amostras de solo.....	46
5.2.8	Análise estatística dos dados.....	47
5.2.8.1	Parâmetros de desenvolvimento de <i>C. juncea</i>	47
5.2.8.2	Quantificação de tebuthiuron nas amostras de solo.....	48
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.3.1	Parâmetros de desenvolvimento de <i>C. juncea</i>	49
5.3.2	Quantificação de tebuthiuron nas amostras de solo.....	53
5.3.3	Bioensaios de ecotoxicidade.....	55
6	CONCLUSÃO	57
	REFERÊNCIAS	58
	APÊNDICES	65
	Apêndice A – Fotos do desenvolvimento vegetal de <i>Mucuna pruriens</i> (ARTIGO 1).....	65
	Apêndice B – Fotos do desenvolvimento vegetal de <i>Crotalaria juncea</i> (ARTIGO 2).....	66

1 INTRODUÇÃO

No solo, a contaminação refere-se principalmente as substâncias tóxicas que excedem a capacidade de carga do solo, afetando assim a produção vegetal e animal, bem como a qualidade de águas subterrâneas que, no final, afetam a saúde e o bem-estar humano (WEI *et al.*, 2021). Dentre as principais causas de contaminação do solo estão os resíduos industriais e pesticidas aplicados a terras agrícolas.

Entre os diversos métodos de controle que envolvem essa cultura, o controle químico é amplamente utilizado no manejo de plantas daninhas devido à sua praticidade de utilização e eficiência. No Brasil, o Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT), do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, detém informações para a cultura da cana-de-açúcar onde estão registrados cerca de 52 ingredientes ativos de herbicidas (BRASIL, 2021), no qual grande parte dessas moléculas são recomendadas para aplicações em pré-emergência e pós-emergência inicial, sendo o principal destino o solo. Dentre eles, o tebuthiuron é um herbicida inibidor do fotossistema II (PSII) que possui ação sistêmica e pertence ao grupo químico das ureias, sendo aplicado em pré-emergência como alternativa no controle químico das culturas de cana-de-açúcar (MENDES *et al.*, 2021).

O processamento da cana-de-açúcar para fabricação de açúcar e etanol gera diversos subprodutos com características físico-químicas distintas entre si, dentre os quais se destaca a vinhaça.

A vinhaça é um líquido derivado da destilação do vinho, que é resultante da fermentação do caldo da cana-de-açúcar ou melaço (CETESB, 2015). Sua composição química depende do material de origem (mosto), sendo necessário avaliação periódica de parâmetros tais como pH, potássio, cálcio, cloreto, entre outros.

Utilizada na fertirrigação da lavoura, a vinhaça é aplicada na superfície do solo (zona não saturada), promovendo o acréscimo de matéria orgânica e, conseqüentemente, a agregação das partículas do solo (SOTO, BASSO, KIANG, 2017).

Entretanto, a aplicação dessa prática depende dos seus valores de CTC (cmolc dm^{-3}) e concentração de potássio do solo (K_s) (cmolc/dm^3) e concentração de

potássio da vinhaça (Kvi) em kg de K₂O/m³ (CETESB, 2015), já que esse composto é rico em nutrientes e matéria orgânica, e pode causar impactos negativos ao solo e às águas subterrâneas.

A fitorremediação é uma proposta inovadora como método alternativo para a remoção de poluentes orgânicos e inorgânicos de solo e água, sendo o sucesso da técnica dependente da seleção criteriosa de plantas com características favoráveis (VASCONCELO *et al.*, 2020), e vem sendo amplamente estudada em solos brasileiros contaminados com herbicidas (BELO *et al.*, 2007; FERREIRA *et al.*, 2021; GALON *et al.*, 2017; MADALÃO *et al.*, 2012a; PIRES *et al.*, 2003; SOUTO *et al.*, 2015; VASCONCELO *et al.*, 2020).

Leguminosas utilizadas em rotação de cultura com a cana-de-açúcar, apresentam potencial de fitorremediar solos contaminados com herbicidas aplicados para o manejo de plantas daninhas dessa cultura (FERREIRA *et al.*, 2021; GALON *et al.*, 2017; VASCONCELO *et al.*, 2020). Diante disso, o intuito desse trabalho foi avaliar o potencial fitorremediador da espécie *Mucuna pruriens* (L.) DC cultivada em solo com tebuthiuron e vinhaça.

O presente trabalho foi dividido em dois artigos: Artigo 1 de perspectiva agronômica, no qual foi avaliado o comportamento de uma espécie vegetal, muito utilizada na agricultura como adubo verde (*Mucuna pruriens*), em solo com presença de tebuthiuron e vinhaça; e Artigo 2 de perspectiva ambiental, no qual foi analisado o potencial de remediação da espécie vegetal por meio do desenvolvimento de uma espécie sentinela (*Crotalaria juncea*); realizado o monitoramento do potencial ecotoxicológico do solo antes e após processo de fitorremediação utilizando sementes de *Lactuca sativa*, como organismo teste; e a análise residual do herbicida tebuthiuron no solo antes e após o processo e fitorremediação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cana-de-açúcar

Em meados da década de 1970, a cana-de-açúcar se tornou uma das principais lavouras cultivadas no Brasil, no qual o país foi pioneiro na implantação de programas de estímulo a biocombustível, com o Programa Nacional do Álcool – Proálcool (RODRIGUES; ROSS, 2020), incentivados pela produção de açúcar e etanol, principalmente.

Nos últimos anos, cresceu a busca por fontes renováveis de energia, que possam substituir em parte ou totalmente os derivados do petróleo (ABREU; NASCIMENTO, 2016), entrando em cena o surgimento de novos produtos derivados da cana-de-açúcar, como o bagaço, intensificando a importância da produção dessa cultura.

Nesse contexto, o Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar. Na safra 2020/2021, a área plantada foi de 1.160,0 mil hectares, utilizada predominantemente para a produção de açúcar e etanol. Nessa safra, foram colhidos aproximadamente 665 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, tendo sido produzidos 42 milhões de toneladas de açúcar e 30 milhões de m³ de etanol total. A maior produção concentra-se na região Centro-Sul do país, com cerca de 1.066,3 mil hectares plantados, onde a produtividade atingiu aproximadamente 611 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, 39 milhões de toneladas de açúcar e 28 milhões de m³ de etanol (CONAB, 2020).

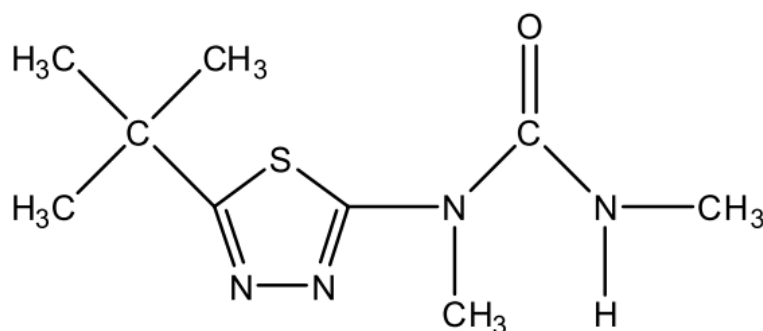
O plantio e o desenvolvimento da cultura envolvem as etapas de preparo do solo, o plantio de mudas e a prevenção a problemas fitossanitários (RODRIGUES; ROSS, 2020). Um dos fatores bióticos interferentes no cultivo são as plantas daninhas, as quais podem ocasionar perdas de produtividade de até 85% na lavoura, quando não controladas adequadamente (SABBAG *et al.*, 2017). Para isso, o controle químico de plantas daninhas, utilizando herbicidas que são aplicados na lavoura afim de que a cultura desenvolva inicialmente num ambiente livre da competição com plantas daninhas (SILVA *et al.*, 2018).

2.2 Tebuthiuron

Em cana-de-açúcar, o uso de herbicidas inibidores do fotossistema II é abundantemente empregado no manejo de plantas daninhas. Principalmente aplicados em pré-emergência, os herbicidas fazem parte desse mecanismo de ação pertencem a vários grupos químicos, como triazinas, triazinona, triazolinonas e ureias (TROPALDI *et al.*, 2017).

Dentre os herbicidas comercializados para cana-de-açúcar, destaca-se o tebuthiuron (1- (5-tert-butil-1,3,4-tiadiazol-2-il) -1,3-dimetilureia) que é usado para controlar espécies anuais de plantas daninhas tais como *Urochloa decumbens* (Stapf) R.D.Webster, *Commelina benghalensis* L., *Digitaria horizontalis* Willd., *Panicum maximum* Jacq., etc (BRASIL, 2021). Na Figura 1 é apresentado a fórmula estrutural do herbicida tebuthiuron.

FIGURA 1 – Fórmula estrutural do herbicida tebuthiuron.



Fonte: (ALVES; FERREIRA; LANZA, 2012).

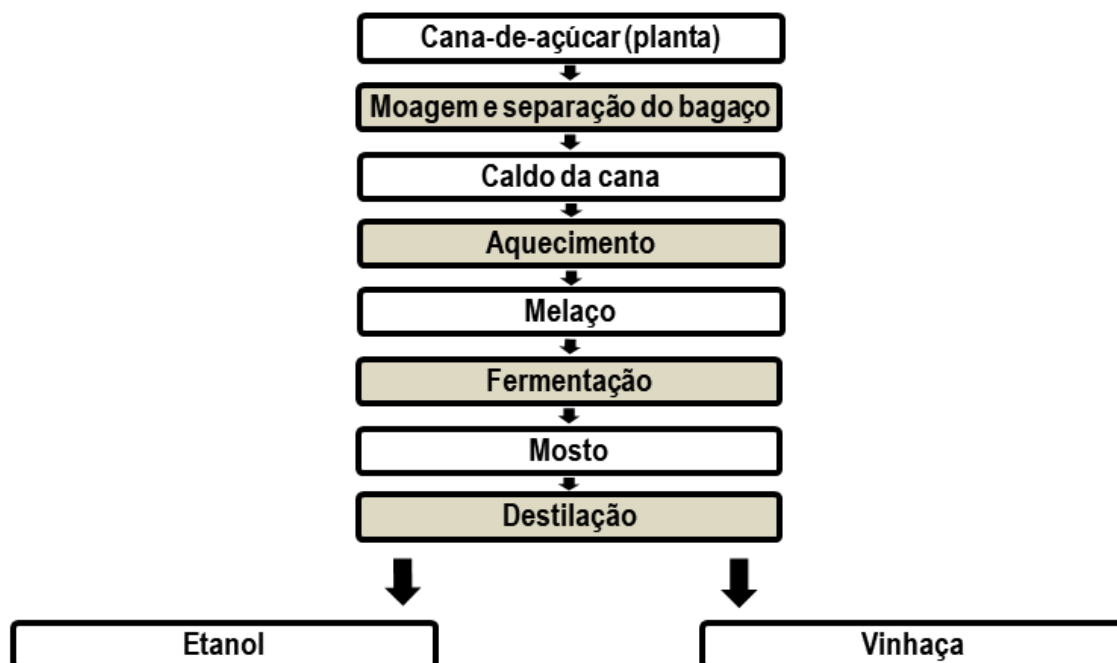
Esse herbicida possui meia-vida ($t_{1/2}$) entre 360 a 450 dias; alta solubilidade em água (2.500 mg L⁻¹ a 25 °C); coeficiente de partição octanol-água (log Kow) igual a 1,79, sendo considerado lipofílico; pressão de vapor de 0,27 mPA (25 °C); constante de dissociação (pKa) não ionizável, o que favorece a sua mobilidade no perfil do solo (MANCUSO; NEGRISOLI; PERIM, 2011; TONIETO, 2014). Além do mais, apresenta alta sorção às partículas de solo com maior teor de matéria orgânica. Portanto, a variação do comportamento dos herbicidas no solo em função deste atributo pode influenciar o risco de contaminação do ambiente (MENDES *et al.*, 2021).

2.3 Vinhaça

Na cadeia produtiva sucroalcooleira, têm-se a liberação de líquidos susceptíveis à fermentação, que formam um vinho. Destilando-se esse produto, recupera-se o etanol, mas é formada uma grande quantidade de um resíduo denominado de vinhaça (MORINI *et al.*, 2017). Para cada litro de etanol produzido, são gerados de 10 a 14 litros de vinhaça (CHRISTOFOLETTI *et al.*, 2013). Estimando a produção média de 30 milhões de litros de etanol na última safra, é possível calcular cerca de 300 milhões de litros de vinhaça produzidos em todo Brasil.

Devido à sua composição química originada do tipo de mosto, a presença deste resíduo na lavoura de cana-de-açúcar pode favorecer as condições de cultivo, cujo aplicação é denominada como fertirrigação (PINTO; ARAUJO, 2019; PRADO *et al.*, 2017). Na Figura 2 está apresentado o fluxograma do processo de produção de etanol e a subprodução de vinhaça.

FIGURA 2 – Processo de produção de etanol e subprodução de vinhaça.



Fonte: Adaptado (CHRISTOFOLETTI *et al.*, 2013).

A fertirrigação com vinhaça é uma prática adotada por grande parte das indústrias sucroalcooleiras. Existem inúmeros ensaios que comprovam os resultados positivos obtidos na produtividade agrícola, associados à economia de adubos

minerais (PINTO; ARAUJO, 2019; PRADO *et al.*, 2017; SOTO; CHANG; BASSO, 2017; SOUZA *et al.*, 2015), demonstrando-se como uma alternativa sustentável de reaproveitamento do resíduo.

Entretanto, se ultrapassar os seus limites de aplicação, que variam em função da CTC (cmolc dm^{-3}) e concentração de potássio do solo (Ks) (cmolc dm^{-3}) e concentração de potássio da vinhaça (Kvi) em kg de $\text{K}_2\text{O m}^{-3}$ (CETESB, 2015) poderá ser nociva ao meio ambiente (LIMA *et al.*, 2016; SOUZA *et al.*, 2015). Como exemplo, nos Estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul, a Cetesb dispõe da norma P4.231/2015 e o Imasul dispõe a Resolução Semade n. 19/2015, respectivamente, para critérios e procedimentos para aplicação de vinhaça no solo agrícola.

2.4 Biorremediação

Biorremediação é uma abordagem prática e rentável para resolver uma vasta gama de problemas de contaminação do solo (VASILYEVA *et al.*, 2020). Consiste na utilização de organismos que possuam a capacidade de modificar ou decompor determinados poluentes. Este processo pode ocorrer pela utilização dos contaminantes como substrato por certos seres vivos, convertendo-os em substâncias inertes (FASANELLA; CARDOSO, 2016). O grupo dos microrganismos representa os principais responsáveis neste processo, além disso, algumas plantas também estão sendo usadas como agentes na descontaminação (FRANCISCO; QUEIROZ, 2018).

As técnicas de biorremediação são classificadas em tratamentos *in situ*, sendo realizado diretamente no local contaminado, e *ex situ*, realizado fora do local de contaminação. Ambos os processos visam a mineralização completa ou a biotransformação dos contaminantes, ou seja, transformá-los em produtos com pouca ou nenhuma toxicidade, como CO_2 e água (ANDRADE; AUGUSTO; JARDIM, 2010).

O uso de microrganismos na degradação de compostos orgânicos é muito empregado principalmente na remediação de hidrocarbonetos de petróleo (BISOGNIN *et al.*, 2018; VIOTTI *et al.*, 2017). No que diz respeito aos agrotóxicos, Demichelli *et al.* (2018) encontraram resultados positivos no isolamento de microrganismos com potencial de degradação do herbicida glyphosate em solos da

região sul do Brasil. Da mesma forma, Santos *et al.* (2019b), em ensaios laboratoriais, identificaram microrganismos potencialmente degradadores do inseticida imidacloprido, com eficiência de 40% em efluente sintético de fazendas produtoras de uvas na região do Vale do São Francisco, e QU *et al.* (2018), utilizaram *Myriophyllum spicatum* na fitoextração e biodegradação de atrazina em sedimentos de um lago eutrófico.

Além disso, para estimular o crescimento microbiano e induzir a degradação de moléculas poluentes no solo, como os resíduos de agrotóxicos, é recomendado o cultivo de algumas espécies vegetais, favorecendo a microbiota capaz de (co)metabolizá-los (MELO *et al.*, 2017).

2.5 Fitorremediação

A fitorremediação é uma técnica de tratamento *in situ*, que objetiva a remediação de solo e água com contaminantes orgânicos e inorgânicos, utilizando-se plantas (YADAV *et al.*, 2018). Este processo está diretamente relacionado com a composição do solo, com a capacidade da planta em extrair estes compostos orgânicos e com a diversidade de microrganismos presentes no solo capazes de favorecer o processo (GALON *et al.*, 2017). Baseado nesse processo, Mishra, Kumar e Singh (2020) classificam a fitorremediação em:

- a) fitoextração (muito utilizado na biorremediação de metais pesados, em que os poluentes tóxicos se acumulam na planta);
- b) rizofiltração (os contaminantes lipofílicos são absorvidos pela planta através das raízes);
- c) fitoestabilização (imobilização de contaminantes orgânicos presentes no solo, os convertendo em não solúveis especialmente na zona das raízes, resultando na prevenção da erosão do solo);
- d) fitodegradação (degradação de poluentes pelas plantas); e
- e) fitoestimulação (degradação de contaminantes orgânicos na zona radicular com o envolvimento de atividade microbiana ou pelas raízes, ou ambos podem estar envolvidos).

Diversos trabalhos estudaram a aplicação da fitorremediação como tratamento de solos com presença de herbicidas, tais como: sulfentrazone (ALVES *et al.*, 2019; MADALÃO *et al.*, 2012b); atrazina, clorimuron-etil e sulfometuron-metil

(GALON *et al.*, 2017); fomesafen (ALVES *et al.*, 2019); e tebuthiuron (FERREIRA *et al.*, 2021; PIRES *et al.*, 2005). No entanto, sabendo-se que a degradação de compostos orgânicos pode gerar compostos intermediários mais tóxicos que a molécula original (ROCHA *et al.*, 2018), a avaliação do potencial ecotoxicológico no ambiente é importante para evidenciar o sucesso no processo de biorremediação (BANKS; SCHULTZ, 2005).

2.6 Ecotoxicidade

Ecotoxicologia é a ciência que estuda os efeitos tóxicos de substâncias poluentes ao meio ambiente. Assim, organismos-teste são utilizados em ensaios laboratoriais para a determinação da toxicidade de amostras ambientais. O procedimento se baseia em expor o organismo escolhido em diferentes concentrações de amostras para analisar e quantificar os efeitos tóxicos (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008).

Bioensaios de ecotoxicidade são ferramentas de avaliação que auxiliam na determinação do efeito de substâncias em contato com organismos-teste. Seus resultados podem variar desde mortalidade até alterações fisiológicas dependendo das características químicas do composto, da concentração, do tempo e frequência de exposição, do organismo-teste utilizado e também da fase do ciclo de vida deste (LIMA, 2017).

Um dos principais problemas para avaliação dos possíveis efeitos dos herbicidas no ambiente é o desenvolvimento de organismos sentinelas ou bioindicadores. A caracterização de um bioindicador requer uma série de informações sobre sensibilidade, ciclo reprodutivo, facilidade de operação e custo de otimização (SILVA *et al.*, 2012).

Alguns grupos de seres vivos podem ser classificados como bioindicadores em testes de qualidade terrestres: ácaros, anelídeos, colêmbolos, diplópodos, isópodos, vegetais, dentre outros (BARETTA *et al.*, 2010; GARCIA, 2004; MACCARI *et al.*, 2016; NIEMEYER *et al.*, 2009; SEGAT *et al.*, 2015; ZORTÉA *et al.*, 2015; ZORTÉA *et al.*, 2017).

Nos vegetais, *Lactuca sativa* L. (alface) apresenta-se como uma espécie muito utilizada pela simplicidade, boas características fisiológicas e alta sensibilidade à contaminação do meio (GONÇALVES *et al.*, 2016). Em relação à avaliação do

potencial ecotoxicológico de amostras de solo com agrotóxicos, pesquisas recentes reforçam a importância desses bioindicadores em protocolos experimentais de bioensaios (BERNARDINO, 2019; CHELINHO *et al.*, 2014; FERREIRA *et al.*, 2021; LEITÃO *et al.*, 2014).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar o potencial fitorremediador da mucuna-cinza (*Mucuna pruriens*) em solo contendo concentrações de tebuthiuron e vinhaça.

3.2 Específicos

- Avaliar o desenvolvimento vegetal da mucuna-cinza em solo com tebuthiuron e vinhaça;
- Monitorar o efeito da presença da mucuna-cinza no solo com associações tebuthiuron/vinhaça na germinação e no desenvolvimento da espécie bioindicadora *Crotalaria juncea*,
- Determinar o potencial ecotoxicológico do solo com tebuthiuron e vinhaça antes e após o processo de fitorremediação, utilizando sementes de alface como organismos-teste;
- Determinar a concentração final de tebuthiuron no solo após o processo de fitorremediação.

4 ARTIGO 1 – PRODUÇÃO DE *Mucuna pruriens* EM SOLO COM TEBUTHIURON E VINHAÇA

4.1 INTRODUÇÃO

No último relatório da safra 2020/2021 emitido pela União das Indústrias de cana-de-açúcar, somente no Centro-Sul do brasileiro, a produção de cana-de-açúcar no Brasil atingiu a marca de 597 milhões de toneladas.

Durante o cultivo da cana-de-açúcar, o uso de herbicidas é comum e fundamental para o manejo de plantas daninhas. Dentre os diversos agrotóxicos recomendados para cana-de-açúcar, destaca-se o herbicida tebuthiuron. Trata-se de um herbicida seletivo, recomendado para o controle de plantas infestantes monocotiledôneas e eudicotiledôneas, sendo utilizado em aplicações de pré-emergência para controle das principais espécies anuais infestantes da cultura (MORAES *et al.*, 2016).

Uma prática muito adotada por grande parte das indústrias sucroalcooleiras é a fertirrigação com vinhaça, visando a economia de adubos minerais e água na lavoura, e como um meio de disposição final adequado para esse resíduo. Devido à sua composição, a presença da vinhaça de cana *in natura* pode alterar as características do solo, promovendo modificações em suas propriedades físicas, químicas e hidráulicas. Algumas alterações das propriedades podem trazer benefícios à cultura devido a seu poder fertilizante, com resultados positivos na produtividade agrícola. No entanto, aspectos negativos como a salinização do solo e da água são algumas das implicações na disposição final desse resíduo (SOTO; BASSO; KIANG, 2017).

Outra ferramenta utilizada, é a melhoria das condições do solo com a utilização de espécies de leguminosas como meio cultural de proteção de solo, entre o período do preparo de solo e a semeadura. Além da expectativa de melhorar a fertilidade através da ciclagem de nutrientes e a decomposição da fitomassa produzida pelas espécies de rotação, quando estas plantas são incorporadas no solo (CAMPOS, 2018). Dentre tais espécies recomendadas para esse fim, está a *Mucuna pruriens*, no qual apresenta alta persistência de desenvolvimento quando na presença de tebuthiuron (FERREIRA *et al.*, 2021).

Assim, o objetivo deste artigo foi avaliar o desempenho de *Mucuna pruriens* como planta de cobertura em solo tratado com tebuthiuron associado à aplicação de vinhaça.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi instalada em casa de vegetação localizada no município de Dracena, coordenadas 21°28'57" latitude sul e 51°31'58" longitude oeste com altitude média de 400 m.

O período de realização foi entre maio e agosto de 2020 com médias de temperatura e umidade relativa do ar de 23,4 °C e 56,8%, respectivamente (EMA/FCAT - Estação Meteorológica de Dracena).

4.2.1 Coleta de solo e vinhaça

O solo utilizado no experimento é proveniente do campo experimental da FCAT - Unesp Dracena, foi coletado a cerca de 20 cm de profundidade, sendo peneirado em malha de 2,0 mm. De acordo com análise física, é constituído de 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 da espécie avaliada.

TABELA 1 – Composição química do solo utilizado.

Parâmetros	Valor	Unidade
pH	6,0	
Matéria orgânica	6	g/dm ³
Potássio	6,6	mmolc/dm ³
Cálcio	27	
Magnésio	27	
Hidrogênio + Alumínio	14	
Fósforo	2	mg/dm ³
Boro	0,13	
Cobre	0,9	
Ferro	2	
Manganês	0,3	
Zinco	0,1	
Saturação da CTC por bases (V%)	81	%
Soma de bases	61	mmolc/dm ³
Capacidade de troca catiônica (CTC)	75	

Fonte: Elaborado pela autora.

Os adubos foram utilizados nas seguintes dosagens para todos os vasos: 600 kg ha⁻¹ de Cloreto de Potássio (K₂O) e 5.100 kg ha⁻¹ de Super Fosfato Simples (P₂O₅). A vinhaça foi coletada em usina sucroalcooleira da região de Nova Andradina-MS, em recipiente de polietileno de alta densidade de 100 litros, sendo constituída por 20.000 mg/L de K e 17,73% de Brix, conforme análise de vinhaça concentrada.

4.2.2 Herbicida tebuthiuron e espécie vegetal

O herbicida tebuthiuron (Combine® 500SC, 500 g i.a. L, Dow AgroSciences Industrial Ltda.) foi utilizando, considerando-se a dose referência em bula de 1.000 g i.a. ha⁻¹, recomendada para solo de textura arenosa.

4.2.3 Delineamento experimental e tratamentos

O experimento foi conduzido sob delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, em esquema fatorial triplo 8 x 5 x 4. Foram considerados os fatores: (i) tempo, com 8 níveis: 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 e 63 DAS; (ii) dose de tebuthiuron, com 5 níveis: zero, 0,25x, 0,50x, 0,75x, e a dose de referência (1000 g i.a./há); e (iii) volume de vinhaça, com 4 níveis: ausência, 0,50x, 1,0x e o 2,0x, sendo o volume de vinhaça (1,0x) calculado em função do teor de potássio no solo, de acordo com Norma Técnica P4.231 (CETESB, 2015). Assim, foi considerado o volume 600 mL como o recomendado para o solo em questão. A aplicação foi realizada manualmente com a ajuda de recipientes volumétricos.

Assim, foram considerados 20 tratamentos em quatro repetições, totalizando 80 unidades experimentais. Para melhor interpretação dos resultados, os tratamentos são representados pela composição “x-y VT”, sendo “x” o volume de vinhaça (V) e “y” a dose do herbicida tebuthiuron (T) aplicado unidade experimental. Logo, o tratamento 2,0-1,00 VT indica a aplicação de duas vezes o volume de vinhaça (2,0x V) e a dose recomendada do tebuthiuron (1,00x T).

4.2.4 Preparo das unidades experimentais

Inicialmente, os vasos com 3,6 L, utilizados como unidades experimentais foram preenchidos com 3,0 dm³ de solo cada. Em seguida, os tratamentos com vinhaça receberam a aplicação deste composto de forma manual e uniforme, com

despejo superficial propondo simular a fertirrigação na lavoura. Foram considerados os volumes: ausência, 300 mL (0,50x), 600 mL (1,0x) e 1200 mL (2,0x).

No dia seguinte, foram realizadas a pulverização de tebuthiuron por meio de pulverizador costal pesquisa (Herbicat®) pressurizado por CO₂ equipado com duas pontas de jato plano XR 11002 na pressão de 200 kPa (vazão de 0,65 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 156 L ha⁻¹. As condições ambientais no momento das aplicações de herbicidas foram: temperatura de 23,5 °C e URar 50,9%, velocidade do vento de 2,2 m s⁻¹. Os tratamentos com ausência de vinhaça tiveram o mesmo volume de água aplicado naqueles com a adição desse composto.

Sete dias após a aplicação do herbicida, foi realizado o plantio de três sementes de mucuna-cinza por vaso. Foi realizado o desbaste no 14º dia após a semeadura (DAS) e conduzida uma planta por vaso. Esses foram irrigados diariamente com uma lâmina de água suficiente para a manutenção das condições adequadas para o desenvolvimento vegetal.

4.2.5 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, semanalmente, por 63 dias.

Aos 63 DAS, as plantas foram separadas para determinações da biomassa: comprimento de raiz (CR), massa fresca da parte aérea (MFPA) e radicular (MFR) e massa seca da parte aérea (MSPA) e radicular (MSR).

4.2.6 Análise estatística dos dados

Para análise de variância foi considerado um delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições em esquema fatorial triplo 8 x 5 x 4, sendo estes os fatores tempo, herbicida e vinhaça, respectivamente. Devido a dificuldade de interpretação, foi considerado cada nível do fator tempo como um experimento separadamente, considerando ainda um DIC com quatro repetições em esquema fatorial duplo 5 x 4, sendo estes, respectivamente, os fatores herbicida e vinhaça.

Para tais experimentos, foi realizada análise de variância considerando o modelo estatístico: $Y_{ijk} = m + A_i + B_j + AB_{ij} + e_{ijk}$; em que Y_{ijk} corresponde ao valor observado para a variável em estudo referente ao tratamento ij , na repetição k ; m , à média de todas as unidades experimentais para a variável em estudo; A_i , ao efeito do i -ésimo nível do fator dose de tebuthiuron no valor observado Y_{ijk} ; B_j , ao efeito do j -ésimo nível do fator Volume de Vinhaça, no valor observado Y_{ijk} ; e e_{ijk} , ao erro experimental. Para as características que apresentaram significância na análise de variância, foi procedido o teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$) para comparação das médias.

Para cada tratamento, dado pela combinação “x-y VT” foi considerado o modelo de regressão linear simples. Foi construída ainda a matriz de correlações associadas às características comprimento de raiz (CR), massa fresca das partes aérea (MFPA) e radicular (MFR) e massa seca das partes aérea (MSPA) e radicular (MSR).

Toda análise estatística foi realizada por meio de rotinas no Software livre R (R CORE TEAM, 2020).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância para os parâmetros morfológicos avaliados para *Mucuna pruriens* estão apresentados na Tabela 2.

TABELA 2 – Análise de variância dos parâmetros morfológicos de *Mucuna pruriens* após 63 DAS: altura (H) e diâmetro das plantas (D), e número de folhas (NF).

FV	gl	QM		
		H (cm)	D (mm)	NF
Tempo	7	713,25*	24,41**	11,21*
Vinhaça	3	15375,28**	87,97**	209,89**
Herbicida	4	14965,72**	46,74**	266,87**
Tempo x Vinhaça	21	210,44 ^{ns}	1,65 ^{ns}	8,68*
Tempo x Herbicida	28	219,84 ^{ns}	1,21 ^{ns}	3,99 ^{ns}
Vinhaça x Herbicida	12	3836,74**	7,13**	72,85**
Tempo x Vinhaça x Herbicida	84	103,82 ^{ns}	0,86 ^{ns}	3,48 ^{ns}
Resíduo	480	291,84	1,24	4,84
CV (%)		19,18	158,39	149,85
$\bar{x}$		13,79	1,26	1,77

Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: QM: quadrado médio. CV (%): Coeficiente de Variação. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; ^{ns} – não significativo.

Para os parâmetros morfológicos avaliados para *Mucuna pruriens* foi detectada significância para as características altura (H), diâmetro (D) e número de folhas (NF) em relação ao tempo de análise e à presença de vinhaça e do herbicida tebuthiuron (Tabela 2).

Os resultados do teste de Scott-Knott ($p < 0,05$) para comparação de médias das características morfológicas de *Mucuna pruriens* no decorrer do período avaliado estão dispostos na Tabela 3.

TABELA 3 – Comparação de médias dos parâmetros morfológicos de *Mucuna pruriens* durante o período de 14 a 63 dias: altura (H) e diâmetro das plantas (D) e número de folhas (NF).

DAS	Média		
	H (cm)	D (mm)	NF
14	10,89 b	2,03 a	2,27 a
21	15,47 a	1,93 a	2,11 a
28	17,49 a	1,66 a	2,00 a
35	16,40 a	1,20 b	1,95 a
42	15,42 a	1,07 b	1,72 a
49	14,44 a	0,96 b	1,38 a
56	10,55 b	0,66 c	1,35 a
63	9,66 b	0,59 c	1,32 a

Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$) para a mesma característica avaliada.

Foi verificada diferença significativa para os caracteres altura (H) e diâmetro (D) (Tabela 3). Aos 28 DAS, a altura de plantas atingiu seu ponto máximo perante o tempo de avaliação (17,49 cm), não diferenciando estatisticamente dos 21, 35, 42 e 49 DAS. Aos 56 DAS observa-se um declínio na altura de plantas, consequência da possível fitotoxicidade decorrente da presença de tebuthiuron no solo, que é inibidor do fotossistema II (Tabela 3). A Figura 3 ilustra o efeito do herbicida ao longo do tempo de desenvolvimento da planta no tratamento 0,0-1,00 VT. À esquerda a planta está aos 14 DAS e à direita aos 63 DAS. Houve redução de altura, diâmetro e número de folhas, sendo esse último evidenciado pela necrose e perda das folhas.

Os herbicidas inibidores do fotossistema II (PSII) causam o bloqueio do transporte de elétrons da Q_A para Q_B , peroxidando os lipídios, devido estarem ligados ao sítio da Q_B localizado na proteína D_1 o qual se localiza na membrana dos tilacóides dos cloroplastos (SILVA *et al.*, 2013).

Souza *et al.* (2009), avaliando a tolerância de diferentes cultivares de cana-de-açúcar a herbicidas aplicados em pós-emergência inicial da soqueira, observaram leves sintomas de intoxicação em todas as cultivares que receberam os tratamentos com tebuthiuron, sendo estes sintomas caracterizados por um leve amarelecimento nas folhas das plantas acompanhado de secamento nas pontas. Alves *et al.* (2018), trabalhando com diferentes doses de fomesafen, apresentaram redução da altura de plantas para a espécie *Crotalaria juncea*.

FIGURA 3 – Efeito do herbicida tebuthiuron sobre o desenvolvimento da *M. pruriens*



Fonte: Dados da própria autora (2020).

Já para a característica diâmetro (D), os dias iniciais (14, 21 e 28 DAS) foram estatisticamente iguais, demonstrando um bom desenvolvimento do caule das plantas logo no início do experimento. Porém, há uma redução desses valores no decorrer do monitoramento (Tabela 3). Galon *et al.* (2016), ao aplicar atrazina em diferentes variedades de sorgo, constataram que o herbicida não prejudicou as características altura e diâmetro. Ao contrário do herbicida flumioxazin, que ocasionou a redução do diâmetro das hastes de uma variedade.

Por fim, observa-se que as médias para número de folhas (NF) não se diferem estatisticamente no decorrer da avaliação do desenvolvimento da mucuna-cinza (Tabela 3).

As características morfológicas de mucuna-cinza durante em diferentes concentrações de tebuthiuron e vinhaça no solo foram reduzidas quando cultivadas em solo contendo as maiores concentrações (Tabela 4).

TABELA 4 – Comparação de médias da altura (H), do diâmetro (D) e do número de folhas (NF) de *Mucuna pruriens* em diferentes concentrações de tebuthiuron e vinhaça no solo.

Dose de tebuthiuron	Volume de vinhaça			
	0,0	0,5	1,0	2,0
H (cm)				
0,00	58,43 Aa	28,64 Ca	39,82 Ba	1,95 D
0,25	13,19 Bb	28,24 Aa	12,59 Bb	1,14 C
0,50	2,94 Bc	24,20 Aa	3,44 Bc	0,72 B
0,75	18,37 Ab	21,34 Aa	1,37 Bc	0,30 B
1,00	13,01 Ab	5,44 Bb	0,69 Bc	0,00 B
D (mm)				
0,00	3,54 Aa	2,79 Ba	1,86 Ca	0,71 D
0,25	1,56 Bb	2,42 Aa	1,56 Ba	0,34 C
0,50	0,61 Cc	1,79 Ab	1,06 Bb	0,30 C
0,75	1,83 Ab	1,44 Ab	0,42 Bc	0,14 B
1,00	1,16 Ac	1,27 Ab	0,47 Bc	0,00 B
NF				
0,00	8,34 Aa	4,03 Ba	3,59 Ba	0,72 C
0,25	1,22 Bb	4,28 Aa	1,84 Bb	0,37 C
0,50	0,44 Bb	3,50 Aa	1,25 Bb	0,25 B
0,75	0,94 b	1,50 b	0,53 c	0,12
1,00	0,62 b	1,44 b	0,32 c	0,00

Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: Letras maiúsculas e minúsculas comparam os resultados nas linhas e colunas, respectivamente (Scott-Knott, $p < 0,05$).

O tratamento controle (0,0-0,00 VT) obteve a média mais alta para as três características (58,43 cm para H; 3,54 mm para D; e 8,34 para NF), demonstrando que sem o efeito dos compostos, a planta foi capaz de se desenvolver adequadamente.

No tratamento 0,5-0,25 VT, não houve diferença estatística quando comparado com o tratamento controle (0,0-0,00 VT) para as três características. Tal resultado sugere que a baixa concentração de vinhaça é capaz de favorecer o desenvolvimento da planta por meio do fornecimento de nutrientes. Novo *et al.* (2008), avaliando o efeito do herbicida imazapic no controle de tiririca (*Cyperus rotundus* L.), observaram um aumento na biomassa fresca da parte aérea da planta, sugerindo que a adição da vinhaça ao solo pode ter elevado a disponibilidade de alguns nutrientes, o poder de retenção de cátions e a capacidade de retenção de água, estimulando também a atividade microbiana do solo. Esses autores relataram ainda que, quando se mistura herbicida em soluções nitrogenadas, pode ocorrer

sinergismo, antagonismo ou indiferença na ação do produto, quando comparada à ação isolada.

A partir da unidade experimental com 0,5x de vinhaça e 0,50x do herbicida (0,5-0,50 VT), foi possível observar uma brusca redução nas médias das características morfológicas, revelando que a sua associação em concentrações maiores foi prejudicial para o desenvolvimento de *Mucuna pruriens*. No tratamento 2,0-1,00 VT, as sementes de mucuna-cinza não germinaram, sugerindo que essas altas concentrações causaram a morte do embrião, em razão da toxicidade apresentada pelos tratamentos.

O desdobramento dos resultados para a altura das plantas durante o período de avaliação fora significativo somente para as primeiras semanas de avaliação do desenvolvimento vegetal (Tabela 5). Neste sentido, não houve diferença significativa entre as unidades experimentais com diferentes concentrações de tebuthiuron e vinhaça para os 42, 49, 56 e 63 DAS.

Aos 14 DAS, apenas as unidades experimentais 0,0-0,00 VT e 1,0-0,00 VT apresentaram bom crescimento inicial das plantas com 41,22 e 27,50 cm, respectivamente. A aplicação de tebuthiuron apresentou efeito negativo na ausência e quando presente 1,0x de vinhaça. Por outro lado, quando comparado na mesma dose do herbicida, o aumento no volume de vinhaça diminuiu a altura das plantas, principalmente nas maiores concentrações (1,0x e 2,0x V). Vale ressaltar que o tratamento 2,0-1,00 VT teve resultado nulo pela falta de germinação das sementes.

Resultados semelhantes foram encontrados na segunda e na terceira avaliação da altura de *Mucuna pruriens* em 21 e 28 DAS, respectivamente (Tabela 5). Em ambas as análises, a alta concentração de vinhaça promoveu menor crescimento das plantas, sendo encontrada mortalidade em 28 DAS para o tratamento 2,0-0,75 VT.

Aos 35 DAS, o tratamento controle atingiu altura máxima durante as avaliações. Além disso, foi observado valores nulos nas unidades experimentais que receberam 2,0x volume de vinhaça (com exceção ao 2,0-0,00 VT), sendo decorrente das mortes dessas plantas.

TABELA 5 – Comparação de médias da altura (cm) de *M. pruriens* durante o período em diferentes concentrações de tebuthiuron e vinhaça no solo.

Dose de tebuthiuron	Volume de vinhaça			
	0,0	0,5	1,0	2,0
14 DAS				
0,00	41,22 Aa	8,22 B	27,50 Aa	1,35 B
0,25	11,00 Ab	15,62 A	8,00 b	1,37
0,50	11,27 Ab	20,70 A	4,22 Bb	1,55 B
0,75	19,10 Ab	17,42 A	2,37 Bb	1,30 B
1,00	20,05 Ab	4,37 B	1,10 Bb	0,00 B
21 DAS				
0,00	48,37 Aa	16,95 B	45,62 Aa	2,70 B
0,25	15,50 Bb	37,65 A	12,15 Bb	3,50 B
0,50	12,27 b	22,60	7,40 b	2,10
0,75	25,65 Ab	27,25 A	5,67 Bb	1,12 B
1,00	11,50 b	9,30	2,17 b	0,00
28 DAS				
0,00	61,40 Aa	33,40 A	52,42 Aa	4,02 B
0,25	16,52 Bb	43,72 A	20,42 Bb	4,25 B
0,50	0,00 b	23,90	9,30 b	2,10
0,75	24,30 Ab	29,40 A	2,95 Bb	0,00 B
1,00	11,62 b	8,97	1,17 b	0,00
35 DAS				
0,00	63,2 Aa	37,60 A	53,07 Aa	4,17 B
0,25	10,05 Bb	43,60 A	22,02 Bb	0,00 B
0,50	0,00 b	23,62	6,60 b	0,00
0,75	17,15 b	25,20	0,00 b	0,00
1,00	12,15 b	8,35	1,12 b	0,00

Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: Letras maiúsculas e minúsculas comparam os resultados nas linhas e colunas, respectivamente (Skott-Knott, $p < 0,05$).

Matos *et al.* (2015), avaliaram a disponibilidade de tebuthiuron na solução de diferentes solos saturados com água ou vinhaça, e identificaram que o tebuthiuron esteve mais disponível nos solos com a adição de vinhaça, quando comparado com a água. A vinhaça foi capaz de influenciar a sorção dos herbicidas em diferentes tipos de solo, promovendo a redução da capacidade de sorção do tebuthiuron e aumentando a sua concentração na solução do solo.

Madalão *et al.* (2012), analisando o desenvolvimento do milheto (*Pennisetum glaucum* (L.) R.Br.), em sucessão a diferentes espécies de leguminosas em solo com residual do herbicida sulfentrazone, observou que o *P. glaucum* apresentou brusca redução na altura a partir da dose de 200 g i.a. ha⁻¹, não se desenvolvendo na dose de 800 g i.a. ha⁻¹, em razão da elevada toxicidade apresentada pelo

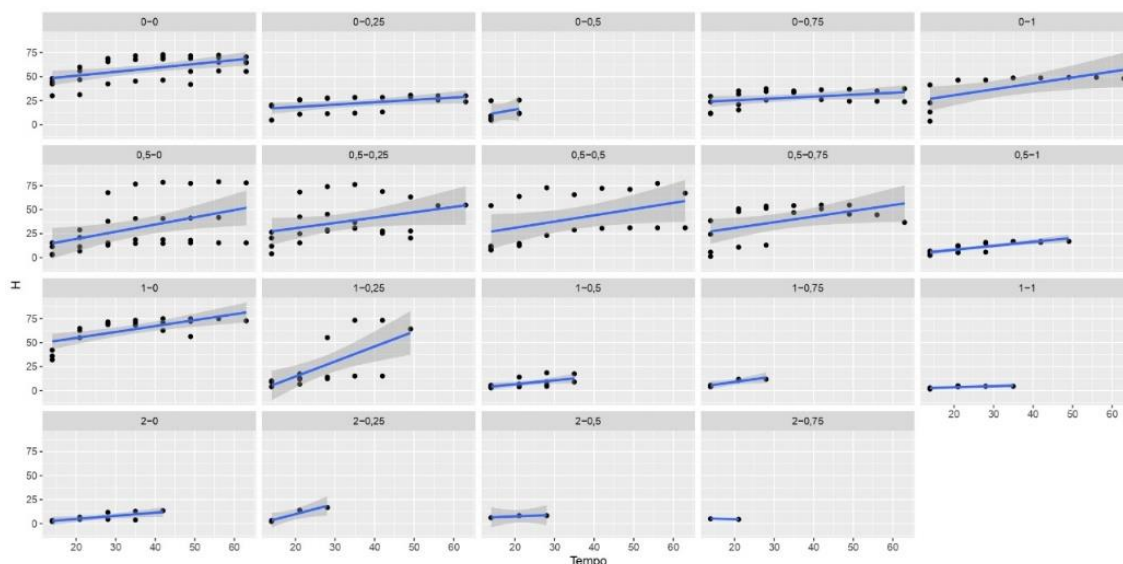
sulfentrazone. Nesse sentido, aplicações de tebuthiuron com doses superiores a 0,5x, também provocou impacto negativo na altura da *Mucuna pruriens* quando presente o tebuthiuron na ausência e com o volume recomendado de vinhaça (Tabela 5).

Soto, Chang e Basso (2017) revelaram que o volume de vinhaça aplicado no solo não deve ultrapassar a capacidade de retenção de íons que este possui, uma vez que as dosagens devem ser mensuradas de acordo com suas características. Este estudo pode explicar o efeito negativo da aplicação do dobro do limite de vinhaça apresentado na Tabela 5, cujo prejuízo ocasionou até a morte de plantas de *Mucuna pruriens*.

Os resultados da análise de regressão para a característica altura (cm) durante o período de avaliação em diferentes concentrações dos compostos no solo estão dispostos na Figura 4.

A análise de regressão (Figura 4) endossa os resultados na Tabela 5. Nos primeiros DAS, as plantas desenvolveram conforme o esperado para a altura, exceto em 0,0-0,50 VT, cujo resultado não foi significativo. Contudo, no decorrer do tempo, é possível observar a queda brusca na altura das plantas, devido a ação do tebuthiuron em associação com a vinhaça.

FIGURA 4 – Análise de regressão para a altura (cm) de *Mucuna pruriens* durante o período em diferentes concentrações* de tebuthiuron e vinhaça no solo (*concentrações x-y, sendo x o volume de vinhaça e y a dose de tebuthiuron).



Fonte: Dados da própria autora (2020).

Os resultados para o diâmetro das plantas de mucuna-cinza foram significativos apenas para o último dia de monitoramento do desenvolvimento vegetal – 63 DAS (Tabela 6), não havendo diferença significativa entre os demais períodos avaliados.

TABELA 6 – Comparação de médias de diâmetro (mm) de *Mucuna pruriens* durante o período em diferentes concentrações de tebuthiuron e vinhaça no solo.

Dose de tebuthiuron	Volume de vinhaça			
	0,0	0,5	1,0	2,0
63 DAS				
0,00	3,88 Aa	1,33 B	0,73 B	0,00 B
0,25	1,06 b	1,14	0,00	0,00
0,50	0,00 Bb	1,68 A	0,00 B	0,00 B
0,75	1,06 b	0,45	0,00	0,00
1,00	0,63 b	0,00	0,00	0,00

Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: Letras maiúsculas e minúsculas comparam os resultados nas linhas e colunas, respectivamente (Skott-Knott, $p < 0,05$).

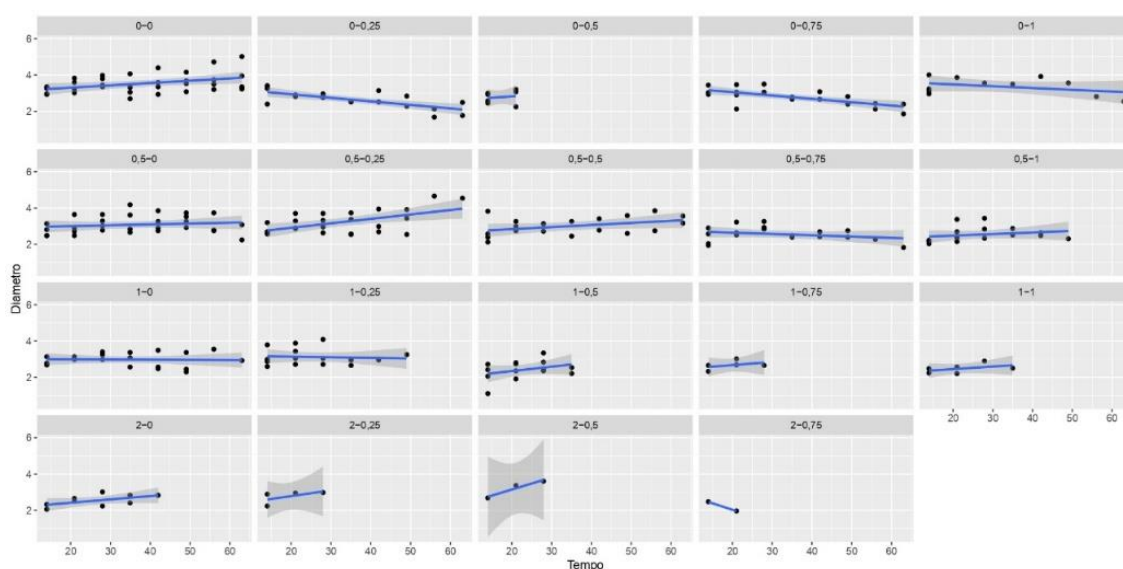
Pela Tabela 6, novamente se destaca as unidades experimentais com ausência dos compostos (0,0-0,00 VT), com a maior média para o diâmetro das plantas de *Mucuna pruriens* em 63 DAS. Ainda é possível observar resultados nulos

em vários tratamentos, principalmente quando aplicada alta concentração de vinhaça.

Alves *et al.* (2018) demonstraram que o uso do herbicida fomesafen em diferentes doses não apresentou diferença para o diâmetro do caule em crotalária, mucuna-preta e sorgo. O mesmo foi observado por Galon *et al.* (2016), sobre o diâmetro dos caules de sorgo após a aplicação da atrazina, que também é um herbicida inibidor do fotossistema II. Entretanto, a adição de tebuthiuron no solo sem vinhaça reduziu o diâmetro de *M. pruriens* em pelo menos 72,7% (Tabela 6).

Ferreira *et al.* (2021) avaliou os efeitos da combinação de vinhaça e tebuthiuron no solo sobre o diâmetro de *Canavalia ensiformis*, *Cajanus cajan*, *Mucuna pruriens* e *Pennisetum glaucum*. Neste estudo não foi observada diferença significativa para o diâmetro quando houve a aplicação isolada de vinhaça para as três primeiras espécies. Contudo, o milho obteve médias para altura, diâmetro e número de folhas bem acima das demais espécies na presença de vinhaça, tendo redução apenas quando combinado ambos os compostos.

FIGURA 5 – Análise de regressão para o diâmetro (mm) de *Mucuna pruriens* durante o período em diferentes concentrações* de tebuthiuron e vinhaça no solo (*concentrações x-y, sendo x o volume de vinhaça e y a dose de tebuthiuron).



Fonte: Dados da própria autora (2020).

Da mesma maneira como para a altura, a análise de regressão dos resultados do diâmetro das plantas nas diferentes concentrações de vinhaça e tebuthiuron no

solo (Figura 5) também corroboram com os dados demonstrados na Tabela 6. Foi observado um bom desenvolvimento das plantas nos primeiros dias de avaliação, tanto para o diâmetro (Figura 5) quanto para altura (Figura 4), uma vez que ambos os parâmetros estão correlacionados.

Já para os resultados para o número de folhas nas plantas foram significativos somente para as últimas semanas de avaliação do desenvolvimento vegetal, ou seja, 35, 42, 49, 56, 63 DAS (Tabela 7). Neste sentido, não houve diferença significativa entre as unidades experimentais com diferentes concentrações de tebuthiuron e vinhaça para os 14, 21 e 28 DAS. O maior número de folhas (NF) foi encontrado na unidade experimental de controle (0,0-0,00 VT). Porém, a aplicação do herbicida e/ou da vinhaça promoveram efeitos negativos no desenvolvimento foliar da mucuna-cinza (Tabela 7).

TABELA 7 – Comparação de médias do número de folhas de *Mucuna pruriens* durante o período em diferentes concentrações de tebuthiuron e vinhaça no solo.

Dose de tebuthiuron	Volume de vinhaça			
	0,0	0,5	1,0	2,0
35 DAS				
0,00	9,00 Aa	5,75 Ba	5,50 Ba	1,25 C
0,25	0,25 Bb	5,75 Aa	2,50 Bb	0,00 B
0,50	0,00 b	3,25 b	1,75 b	0,00
0,75	0,00 b	1,25 b	0,00 b	0,00
1,00	0,25 b	2,00 b	0,50 b	0,00
42 DAS				
0,00	10,00 Aa	4,50 B	4,25 B	0,50 C
0,25	1,00 b	5,00	2,25	0,00
0,50	0,00 b	3,00	0,00	0,00
0,75	0,50 b	1,25	0,00	0,00
1,00	0,25 b	2,00	0,00	0,00
49 DAS				
0,00	9,25 Aa	3,50 Ba	2,50 B	0,00 B
0,25	1,25 Bb	4,25 Aa	0,00 B	0,00 B
0,50	0,00 Bb	4,00 Aa	0,00 B	0,00 B
0,75	1,00 b	0,50 b	0,00	0,00
1,00	0,50 b	0,25 b	0,00	0,00
56 DAS				
0,00	11,00 Aa	2,75 B	2,50 B	0,00 B
0,25	1,25 b	3,75	0,00	0,00
0,50	0,00 b	4,00	0,00	0,00
0,75	1,25 b	0,00	0,00	0,00
1,00	1,00 b	0,00	0,00	0,00
63 DAS				
0,00	11,25 Aa	1,50 B	1,75 B	0,00 B
0,25	1,25 b	3,25	0,00	0,00
0,50	0,00 b	4,25	0,00	0,00
0,75	1,75 b	0,50	0,00	0,00
1,00	1,00 b	0,00	0,00	0,00

Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: Letras maiúsculas e minúsculas comparam os resultados nas linhas e colunas, respectivamente (Skott-Knott, $p < 0,05$).

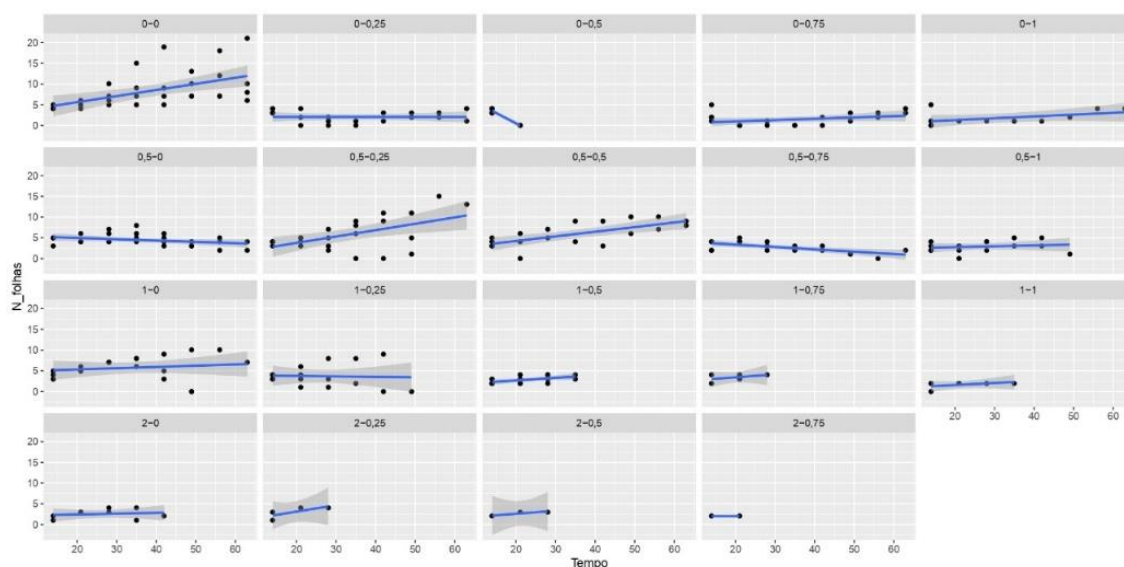
Nos tratamentos com ausência de vinhaça é evidenciado o efeito negativo do tebuthiuron pela diferença significativa (Tabela 7). Além disso, a presença de vinhaça promoveu resultados nulos nos maiores volumes utilizados a partir de 49 DAS. Esse dado que sugere que no volume adequado de vinhaça permitido para fertirrigação, conforme a Norma Técnica P4.231 (CETESB, 2015), é possível encontrar prejuízos para algumas espécies vegetais, visto que a vinhaça tem a

capacidade de reter a molécula do tebuthiuron por mais tempo no solo (MATOS *et al.*, 2015).

De modo diferente, nos tratamentos com aplicação de vinhaça e ausência do herbicida, as plantas obtiveram desenvolvimento satisfatório. Brito *et al.* (2013) estudaram a produção de fitomassa e acúmulo de nutrientes, com adição de vinhaça de cinco espécies de plantas utilizadas como adubos verdes: feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L.) DC.); crotalária (*Crotalaria juncea* L.); mucuna-preta (*Mucuna aterrima*); guandu-anão (*Cajanus cajan* L. Mill sp.) e milheto (*Pennisetum glaucum*). Os autores observaram que a adição de 12 m³ ha⁻¹ de vinhaça contribuiu significativamente para maior acúmulo de fitomassa e de nitrogênio na parte aérea das espécies avaliadas.

Os resultados da análise de regressão para a característica número de folhas durante o período de avaliação em diferentes concentrações dos compostos no solo estão dispostos na Figura 6.

FIGURA 6 – Análise de regressão para o número de folhas de *Mucuna pruriens* durante o período em diferentes concentrações* de tebuthiuron e vinhaça no solo (*concentrações x-y, sendo x o volume de vinhaça e y a dose de tebuthiuron).



Fonte: Dados da própria autora (2020).

Nota-se pela análise de regressão linear que o aumento no volume de vinhaça não promoveu maiores resultados para o número de folhas (Figura 6). E, as

maiores concentrações utilizadas promoveram fitotoxicidade e mortalidade às plantas.

Da mesma forma que o observado para altura (Figura 4) e diâmetro (Figura 5), a unidade experimental com ausência de vinhaça e com metade da dose recomendada do herbicida (0,0-0,50 VT) não apresentou significância.

Os resultados para comprimento de raiz (CR), massa fresca de parte aérea (MFPA) e massas secas de parte aérea (MSPA) e radicular (MSR) (Tabela 8). Ressalta-se que, pela mortalidade das plantas, as maiores concentrações da vinhaça estão com seus resultados nulos na Tabela 8.

TABELA 8 – Comparação de médias da massa fresca da parte aérea (MFPA), das massas secas da parte aérea (MSPA) e radicular (MSR) e do comprimento da raiz (CR) de *Mucuna pruriens* após 63 DAS em diferentes concentrações de tebuthiuron e vinhaça no solo.

Dose de tebuthiuron	Volume de vinhaça							
	0,0	0,5	1,0	2,0	0,0	0,5	1,0	2,0
	MFPA (g)				MSR (g)			
0,00	13,25 Aa	1,96 B	0,85 B	0,00 B	0,26 Aa	0,03 B	0,02 B	0,00 B
0,25	0,41 b	2,95	0,00	0,00	0,00 b	0,04	0,00	0,00
0,50	0,00 b	2,87	0,00	0,00	0,00 b	0,04	0,00	0,00
0,75	0,63 b	0,77	0,00	0,00	0,00 b	0,00	0,00	0,00
1,00	0,63 b	0,00	0,00	0,00	0,00 b	0,00	0,00	0,00
	MSPA (g)				CR (cm)			
0,00	7,92 Aa	1,92 B	0,58 B	0,00 B	14,3 Aa	1,87 B	2,75 B	0,00 B
0,25	0,20 b	2,28	0,00	0,00	4,12 b	3,50	0,00	0,00
0,50	0,00 b	1,06	0,00	0,00	0,00 Bb	6,22 A	0,00 B	0,00 B
0,75	0,00 b	0,00	0,00	0,00	3,80 b	2,25	0,00	0,00
1,00	0,00 b	0,00	0,00	0,00	2,25 b	0,00	0,00	0,00

Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: Letras maiúsculas e minúsculas comparam os resultados nas linhas e colunas, respectivamente, para a mesma característica (Skott-Knott, $p < 0,05$).

A MFR não foi estatisticamente significativa pelo teste de Skott-Knott à 5% de probabilidade, enquanto, a MSR apresentou significância somente para os tratamentos sem presença de tebuthiuron (Tabela 8).

Em relação a MFPA, os maiores valores de biomassa foram encontrados nas plantas cultivadas em solo sem a presença de herbicida. Neste contexto, Campos (2018) avaliou a biomassa fresca de *Mucuna pruriens* em solo argiloso com tebuthiuron e constatou tolerância intermediária da espécie a esse herbicida, decorrente da redução da biomassa quando cultivada sobre as maiores

concentrações. Porém, quando em solo arenoso, o autor não observou esse efeito negativo, determinando que para as condições e quantidades analisadas não foram suficientes para causar danos ao desenvolvimento de *M. pruriens*.

Em referência ao comprimento de raiz, o tratamento controle (0,0-0,00 VT) se destaca com o maior valor encontrado (14,3 cm), sendo no mínimo 2,3 vezes maior que o segundo (6,22 cm para 0,5-0,50 VT). Na ausência de vinhaça, o uso de tebuthiuron prejudicou o crescimento da raiz mesmo na menor dose (0,25x).

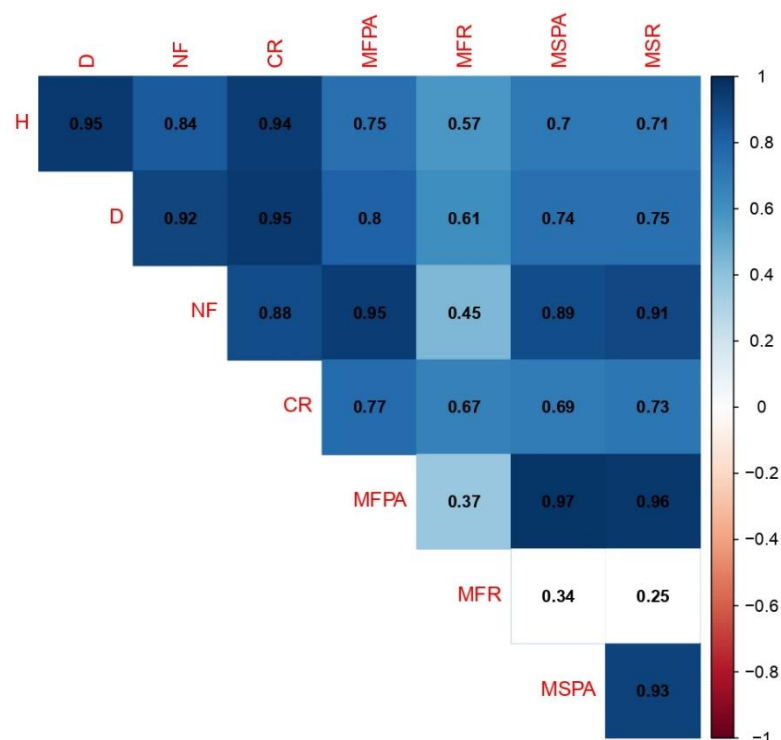
Após a comparação de todos os parâmetros avaliados no desenvolvimento da mucuna-cinza em solo com associações entre vinhaça e tebuthiuron, na Figura 7 está demonstrada a análise de correlação entre essas características. A interpretação da correlação indica que quanto mais azul, maior a semelhança entre os resultados.

É possível observar que a altura (H) e o diâmetro (D) representaram duas características muito correlacionadas no desenvolvimento da *Mucuna pruriens* (95%). A medida que a planta cresceu, seu caule também se desenvolveu visando manter uma boa sustentação. Correlação próxima também foi encontrada para comprimento de raiz (CR) em relação ao diâmetro (D) e à altura (H) com valores de 95% e 94%, respectivamente (Figura 7). Isto indica que o desenvolvimento radicular foi proporcional ao tamanho das plantas cultivadas nos vasos.

Vale destacar também as correlações da massa fresca da parte aérea (MFPA) com NF (95%), MSPA (97%) e MSR (96%). Quanto ao número de folhas, tem-se uma relação direta entre o crescimento foliar com a biomassa fresca disponível.

Os menores valores foram encontrados para MFR em relação MSPA (34%) e MSR (25%), como demonstrado na Figura 7. Como observado pela Tabela 8, os valores de MFR não apresentaram diferença estatística. Assim, esse pequeno resultado de correlação pode ser justificado pelo reduzido desenvolvimento radicular nas plantas, com exceção do tratamento controle.

FIGURA 7 – Análise de correlação para altura (H), diâmetro (D), número de folhas (NF), comprimento de raiz (CR), massas frescas de parte aérea (MFPA) e radicular (MFR) e massas secas de parte aérea (MSPA) e radicular (MSR) de *M. pruriens* após 63 DAS em diferentes concentrações de tebuthiuron e vinhaça no solo.



Fonte: Dados da própria autora (2020).

4.4 CONCLUSÃO

A associação de herbicida tebuthiuron com vinhaça no solo resultaram na redução dos parâmetros morfológicos da mucuna-cinza, principalmente quando utilizado 1,0x e 2,0x volumes de vinhaça. Quando aplicados isoladamente, foi observado um menor efeito negativo no desenvolvimento de *Mucuna pruriens*.

O efeito negativo da aplicação de tebuthiuron e vinhaça foi apresentado pela alta mortalidade de plantas ao longo do experimento. Além disso, as maiores concentrações utilizadas desses compostos (2,0-1,00 VT) não permitiu a germinação das sementes.

Portanto, a mucuna-cinza demonstrou ser muito sensível aos tratamentos com tebuthiuron e/ou vinhaça, e não é indicada para utilização como adubo verde na

reforma de canaviais em solo com a presença de altas concentrações de tebuthiuron e vinhaça.

5 ARTIGO 2 - FITORREMEDIAÇÃO DE SOLO COM TEBUTHIURON E VINHAÇA POR *Mucuna pruriens* UTILIZANDO *Crotalaria juncea* COMO ESPÉCIE BIOINDICADORA E *Lactuca sativa* EM BIOENSAIOS DE ECOTOXICIDADE

5.1 Introdução

Alguns herbicidas registrados para uso na agricultura apresenta atividade residual no solo, sendo importante para uso em situações onde o Período Total de Prevenção da Interferência (PTPI) das plantas daninhas sobre as culturas é longo (PROCÓPIO *et al.*, 2009). Entretanto, ao fim do PTPI, a presença do herbicida no solo passa a ser motivo de preocupação ambiental, podendo provocar intoxicação em culturas sucessivas (*carryover*), atingir águas subterrâneas (BELO *et al.*, 2007) e causar toxicidade a organismos não-alvo (PROCÓPIO *et al.*, 2014).

Logo, técnicas que englobam eficiência de descontaminação, simplicidade e menor custo na execução são alternativas para despoluir áreas contaminadas por substâncias orgânicas e inorgânicas. Exemplo disso tem-se a biorremediação que é caracterizada como uma técnica que objetiva descontaminar solo e água por meio da utilização de organismos vivos, como microrganismos e plantas (PIRES *et al.*, 2003).

Dentre estes métodos, a fitorremediação baseia-se no uso de vegetais para tratamento *in situ* de solos e água contaminados, sendo aplicável em locais que contenham poluentes orgânicos e/ou inorgânicos, como os pesticidas. Assim, estas moléculas podem ser absorvidas por suas raízes e sequestradas, degradadas, imobilizadas e/ou metabolizadas pelas mesmas (DIETZ; SCHNOOR, 2001).

Neste contexto, sabe-se do massivo uso de herbicidas para aumento de produtividade nas lavouras no controle de plantas daninhas. Contudo, essa prática apresenta grande potencial de contaminação ambiental (MENDES *et al.*, 2021).. Portanto, o tratamento de áreas com herbicidas por fitorremediação torna-se uma importante alternativa, destacando o tebuthiuron que foi um dos primeiros herbicidas a ser estudado nesta prática no Brasil (PIRES *et al.*, 2006; PROCÓPIO *et al.*, 2009).

Ao contrário dos herbicidas, a vinhaça é um resíduo aplicado em terras agrícolas como agentes indutores de crescimento (SOUZA *et al.*, 2015). Entretanto, Soto *et al.* (2017) afirmaram que, quando aplicada incorretamente, as

consequências ao meio ambiente não somente envolvem problemas de contaminação, mas também de interferência na dinâmica da água e em suas propriedades mecânicas, como resistência e deformação de solos saturados ou não saturados.

Sendo assim, a fitorremediação é uma alternativa viável de uso de plantas para a redução da toxidez de contaminantes no ambiente (DIETZ; SCHNOOR, 2001). Ferreira *et al.* (2021) estudaram diferentes espécies de plantas com potencial fitorremediador também em solo com tebuthiuron e vinhaça, e constataram que os vasos que anteriormente foram ocupados por *Mucuna pruriens* (L.) DC., permitiram um melhor desenvolvimento e produção de biomassa para a espécie bioindicadora *C. juncea* L.

Paralelamente, são empregadas ferramentas da ecotoxicologia para o monitoramento ambiental baseado na resposta de organismos a diferentes substâncias e compostos químicos (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008). Neste sentido, bioensaios de ecotoxicidade são empregados antes e após o tratamento biológico na avaliação de sua eficiência e no diagnóstico do efeito dos contaminantes e da técnica empregado frente aos organismos-teste (COELHO *et al.*, 2018).

Bioensaios de ecotoxicidade com sementes de alface (*Lactuca sativa*), de acordo com Sobrero e Ronco (2004), é um teste estático de toxicidade aguda (120 horas de exposição), no qual se pode avaliar os efeitos fitotóxicos de compostos puros ou misturas complexas sobre o processo de germinação das sementes e o desenvolvimento das plântulas durante os primeiros dias de crescimento. Sua principal vantagem é a ampla variedade de parâmetros de toxicidade, como a taxa de germinação, ganho de biomassa, alongamento de raízes e aspectos bioquímicos, além de apresentar baixo custo e possibilidade de serem realizados continuamente (RODRIGUES *et al.*, 2013).

Dessa maneira, o propósito desse artigo foi monitorar o efeito da presença da *M. pruriens* no solo com tebuthiuron e vinhaça no desenvolvimento da espécie bioindicadora *C. juncea*, bem como determinar a ecotoxicologia do solo nos tratamentos antes e após o processo de fitorremediação, utilizando *Lactuca sativa* L. como organismo-teste.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi instalada em casa de vegetação localizada no município de Dracena, coordenadas 21°28'57" latitude sul e 51°31'58" longitude oeste com altitude média de 400 m. O período de realização foi entre maio e agosto de 2020 com médias de temperatura e umidade relativa do ar de 23,4 °C e 56,8%, respectivamente (EMA/FCAT - Estação Meteorológica de Dracena).

5.2.1 Coleta de solo e de vinhaça

O solo utilizado no experimento é proveniente do campo experimental da FCAT - Unesp Dracena, foi coletado a cerca de 20 cm de profundidade, sendo peneirado em malha de 2,0 mm. 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: pH 6,0; matéria orgânica 6 g/dm³; potássio 6,6 mmolc/dm³; cálcio 27 mmolc dm⁻³; magnésio 27 mmolc dm⁻³; H+Al 14 mmolc dm⁻³; saturação da CTC por bases (V%) 81%; soma de bases 61 mmolc dm⁻³; e CTC 75 mmolc dm⁻³. Essa caracterização serviu de base para adubação dos vasos visando um bom desenvolvimento das espécies avaliadas.

Os adubos foram utilizados nas seguintes dosagens para todos os vasos: 600 kg ha⁻¹ de KCl e 5100 kg ha⁻¹ de Super Fosfato Simples. A vinhaça foi coletada em usina sucroalcooleira da região de Nova Andradina-MS, em recipiente de polietileno de alta densidade de 100 litros.

5.2.2 Herbicida tebuthiuron e espécies vegetais

O herbicida tebuthiuron foi adquirido em estabelecimento comercial pelo produto comercial Combine® 500SC - Dow AgroSciences Industrial Ltda.

A espécie vegetais mucuna-cinza (*Mucuna pruriens* L. DC) e *Crotalaria juncea* foram utilizadas para a fitorremediação e como espécie sentinela, respectivamente. Ambas foram adquiridas como sementes pela empresa Sementes

Pirai[®]. Para avaliação da ecotoxicidade, foram utilizadas sementes de alface mimosa *salad bowl*, da empresa Agristar[®].

5.2.3 Delineamento experimental

O experimento foi conduzido sob delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, em esquema fatorial 5 x 4 x 2. Foram considerados os fatores: (i) dose de tebuthiuron, com 5 níveis: zero, 0,25x, 0,50x, 0,75x, e a dose recomendada (1000 g i.a./ha); (ii) volume de vinhaça, com 4 níveis: ausência, 0,50x, 1,0x e o 2,0x; e (iii) a presença ou não da espécie fitorremediadora (*M. pruriens*). Logo, foram considerados 40 tratamentos em quatro repetições, totalizando 160 unidades experimentais.

O volume de vinhaça (1,0x V) foi calculado em função do teor de potássio no solo, de acordo com Norma Técnica P4.231 (CETESB, 2015). Assim, foi considerado o volume 600 mL como o recomendado para o volume do solo em questão. A aplicação foi realizada manualmente com a ajuda de recipientes volumétricos.

Para melhor interpretação dos resultados, os tratamentos são representados pela composição “x-y VT”, sendo “x” o volume de vinhaça (V) e “y” a dose do herbicida tebuthiuron (T) aplicado unidade experimental. Logo, o tratamento 2,0-1,00 VT indica a aplicação de duas vezes o volume de vinhaça (2,0x V) e a dose recomendada do tebuthiuron (1,00x T).

5.2.4 Preparo das unidades experimentais

Os vasos utilizados como unidades experimentais foram anteriormente ocupados pela espécie potencialmente fitorremediadora (mucuna-cinza), conforme Artigo 1. Sete 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 das plantas de *C. juncea* no 14º 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.

5.2.5 Avaliação do desenvolvimento vegetal – *Crotalaria juncea*

O desenvolvimento da planta foi avaliado de acordo com as seguintes análises: (I) diâmetro do colo, em mm, 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 aos 14, 21, 28, 35 e 42 DAS, no qual se iniciou o florescimento.

Ao final do experimento (42 DAS), a planta de cada tratamento foi separada para determinações da biomassa: biomassa fresca das partes aérea (MFPA) e radicular (MFR), biomassa seca das partes aérea (MSPA) e radicular (MSR) e comprimento de raiz (CR).

A separação de parte aérea e raiz se deu pelo corte do caule 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 cinco dias, e novamente pesadas.

5.2.6 Bioensaios de ecotoxicidade

Os bioensaios foram preparados a fim de monitorar o potencial ecotoxicológico dos tratamentos antes e após a presença *M. pruriens*. Assim, para cada tratamento o solo foi coletado dos vasos e homogeneizado. A fitotoxicidade dessas amostras de solo foi determinada nos tempos inicial (t₀) e final (t₁₄₀), utilizando como organismo-teste sementes de *L. sativa* (alface), segundo Sobrero e Ronco (2004). Essa análise foi realizada em quatro 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):

$$GI = \frac{(\%G) \times (\%R)}{100} \quad [1]$$

Os resultados estão expressos em “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 *L. sativa* nos bioensaios, visto que CN é o ensaio referência com valor zero.

5.2.7 Quantificação de tebuthiuron nas amostras de solo

Esta etapa foi realizada pela Central Analítica de Resíduos e Contaminantes da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP. Foram analisadas amostras do solo retirado dos vasos dos 40 tratamentos no tempo final (t140), e duas amostras no tempo inicial (t0): 0,0-0,50 VT e 0,0-1,00 VT.

Antes da extração, as amostras de solo foram secas usando uma estufa de circulação de ar forçada, a 30 ± 2 °C. Posteriormente, foram homogeneizadas em peneira de 1 mm e pesadas utilizando uma balança semi-analítica em frascos de polipropileno tipo Eppendorf de 2 mL. A extração de tebuthiuron das amostras de solo foi baseada no método QuEChERS miniaturizado, com modificações (MORENO-GONZÁLEZ *et al.*, 2018).

Resumidamente, 0,5 g de solo foi adicionado ao frasco tipo Eppendorf (2 mL) e 1,0 mL de acetonitrila (grau HPLC) foi adicionado. A mistura foi agitada por meio de um vortex vibratório multi reax (Heidolph®) por 2 minutos. Em seguida, foram adicionados 200 mg de sulfato de magnésio anidro, 50 mg de cloreto de sódio, 50 mg de citrato de trissódio diidratado e 250 mg de hidrogenocitrato de dissódio sesquiidratado e agitados novamente em vortex vibratório por mais 2 minutos. A amostra foi centrifugada por 10 min a 14000 rpm e 10 °C. Uma alíquota de 0,5 mL do sobrenadante foi transferida para um tubo concentrador e levada para evaporação até a completa secagem, sob fluxo de nitrogênio. O extrato foi reconstituído em 1,0 mL de fase móvel (metanol:água 50:50% v/v) e filtrado (0,45 µm, Millex-PVDF) diretamente no vial para posterior injeção no sistema de HPLC-UV/VIS para quantificação. A separação cromatográfica foi realizada em modo isocrático, com a fase móvel (metanol:água, 50:50% v/v) e fluxo de 1,0 mL min⁻¹, a

30 °C. A detecção do herbicida analisado foi realizada em comprimento de onda (λ) de 254 nm.

Os parâmetros de validação avaliados foram: linearidade, recuperação, repetibilidade (RSD - desvio padrão relativo), limite de detecção (LD) e quantificação (LQ). Para obtenção da linearidade do método analítico, foram utilizados extratos branco da matriz, aos quais foram adicionadas alíquotas da solução padrão, de forma a resultar nas concentrações compreendidas entre 0,015 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 0,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Para avaliação da recuperação e repetibilidade, foram realizadas cinco repetições de cada nível de fortificação estudado, num total de 2 níveis avaliados, sendo eles 0,1 $\mu\text{g g}^{-1}$ e 0,5 $\mu\text{g g}^{-1}$. O método validado mostrou-se satisfatório resultando em curva analítica linear na faixa de concentração estudada ($R^2 = 0,9993$) limite de detecção e quantificação 0,06 $\mu\text{g g}^{-1}$ e 0,1 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente, e recuperações compreendidas entre 74 e 93%, com desvio padrão relativo inferior a 20%.

As amostras foram analisadas em duplicata, utilizando-se curvas de calibração preparadas em extratos brancos da matriz, utilizando-se triplicatas de amostras fortificadas como controle do método analítico.

5.2.8 Análise estatística dos dados

5.2.8.1 Parâmetros de desenvolvimento de *C. juncea*

Foi considerado o modelo estatístico: $Y_{ijkl} = m + A_i + B_j + C_k + AB_{ij} + AC_{ik} + BC_{jk} + ABC_{ijk} + e_{ijkl}$; em que Y_{ijkl} corresponde ao valor observado para a variável em estudo referente ao tratamento ijk , na repetição l ; m , à média de todas as unidades experimentais para a variável em estudo; A_i , ao efeito do i -ésimo nível do fator dose de tebuthiuron no valor observado Y_{ijkl} ; B_j , ao efeito do j -ésimo nível do fator Volume de Vinhaça, no valor observado Y_{ijkl} ; C_k , ao efeito do k -ésimo nível do fator espécie vegetal, no valor observado Y_{ijkl} ; AB_{ij} , AC_{ik} e BC_{jk} correspondem aos efeitos das interações dupla das combinações dos respectivos níveis dos fatores no valor observado Y_{ijkl} ; ABC_{ijk} corresponde ao efeito da interação tripla dos respectivos níveis dos fatores no valor observado Y_{ijkl} ; e e_{ijkl} , ao erro experimental.

Adicionalmente, foi considerada análise de ajuste de modelo de superfície de resposta de segundo grau, considerando os mesmos parâmetros: doses de tebuthiuron (fator A); volume de Vinhaça (fator B); e espécie vegetal (fator C),

presença ou ausência. Dessa forma, foi avaliado o modelo: $Y_{ij} = b_0 + b_1A + b_2B + b_3A^2 + b_4B^2 + b_5AB$. Para as características que apresentaram significância na análise de variância, foi procedido o teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para comparação das médias.

Toda análise estatística foi realizada por meio de rotinas no Software livre R (R CORE TEAM, 2020).

5.2.8.2 Quantificação de tebuthiuron nas amostras de solo

Os resultados da quantificação de tebuthiuron nas amostras de solo foram utilizados para processo de ampliação de dados (*data augmentation*). Para tanto, foi considerado o valor observado como nível médio, associado a um desvio padrão arbitrário tomado por 0,008. Sob o conjunto de dados ampliados, foi realizada análises de variâncias, considerando as situações com *M. pruriens* e sem *M. pruriens*.

Valores simulados foram considerados uma variável aleatória $Y \sim N(\emptyset, \Sigma)$. Os dados foram transformados numa variável aleatória $Z \sim N(\emptyset, I)$ por meio da transformação linear $Z = F'Y$, onde F foi obtido por meio do processo de decomposição espectral de Σ , de tal forma que $\Sigma^{-1} = FF'$. O processo de amplificação consiste na simulação de novos valores de Y , considerando $Y \sim N(\emptyset, (F'^{-1})^{-1}Z)$. Um ficheiro de dados amplificados foi considerado para treinar as redes neurais artificiais.

Para simular um conjunto de dados, ou replicar uma estrutura de dados conhecida ou mesmo a expansão de um conjunto de dados baseado na estrutura do outro, é necessário ter um conjunto de dados com distribuição conhecida, e em princípio uma média igual a zero e variância igual a V . Para que tais requisitos sejam cumpridos, o procedimento habitual é recorrer à transformação de Box Muller. Para a simulação de dados, as variáveis consideradas são: $x = \sqrt{-2 \ln(RND)} \cos(2\pi RND)$ e $y = \sqrt{-2 \ln(RND)} \sin(2\pi RND)$; em que RND é um número aleatório.

Toda análise estatística foi realizada por meio de rotinas no Software livre R (R CORE TEAM, 2020).

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes de *Crotalaria juncea* não germinaram em grande parte das unidades experimentais, bem como muitas plantas morreram ao longo dos dias de avaliação. Fato esse ocasionado pela alta concentração de tebuthiuron e/ou vinhaça. Assim, ao final do experimento foram contabilizados poucos dados experimentais, sendo então utilizado o parâmetro médio das plantas sobreviventes para fins de análise estatística (Apêndice B).

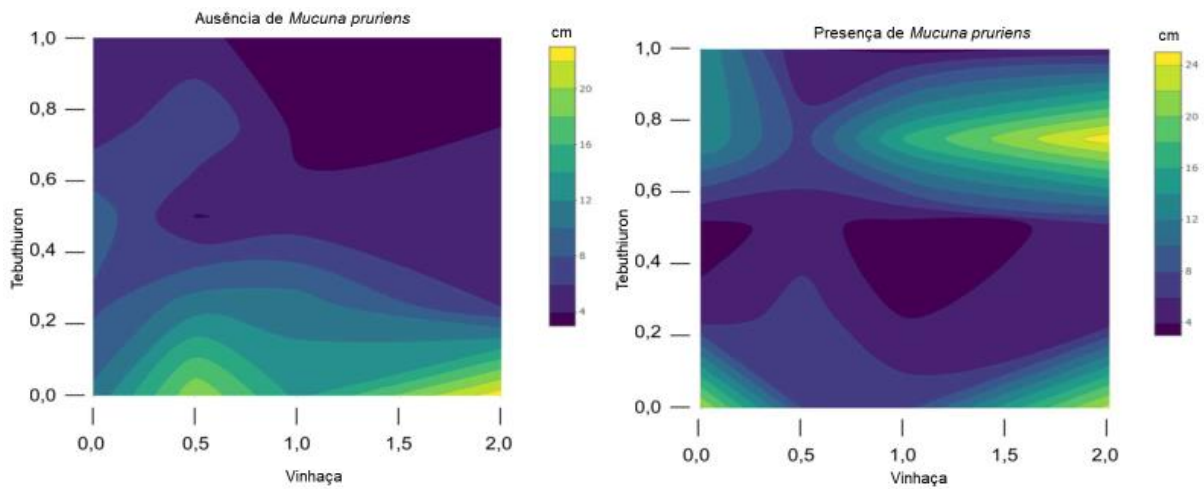
5.3.1 Parâmetros de desenvolvimento de *C. juncea*

Inicialmente, os resultados revelaram que a *Crotalaria juncea* foi afetada negativamente quando exposta às maiores concentrações de vinhaça e tebuthiuron (2,0-1,00 VT), uma vez que não ocorreu a emergência das plantas.

Neste contexto, tem-se resultados parecidos de não emergência no estudo recente de Alves *et al.* (2018), com o uso de fomesafen (0,0; 0,125; 0,25 e 0,5 kg ha⁻¹) e de sulfentrazone (0,0; 0,3; 0,6 e 1,2 kg ha⁻¹) em casa de vegetação, e das suas doses recomendadas de fomesafen (0,250 kg ha⁻¹) e de sulfentrazone (0,600 kg ha⁻¹) em campo para a análise de pré-emergência de quatro espécies de cobertura (*C. juncea*, *P. glaucum*, *M. pruriens* e *Sorghum bicolor* cv. Sudanense). Em casa de vegetação, os autores também reportaram que houve germinação das sementes nas diferentes doses de sulfentrazone. Já na aplicação de fomesafen, foi observado que metade e o dobro da dose recomendada (0,25 e 0,5 kg ha⁻¹, respectivamente) causou uma alta fitotoxicidade para as espécies, exceto para a *M. pruriens*, que apresentou lesões inferiores a 20%.

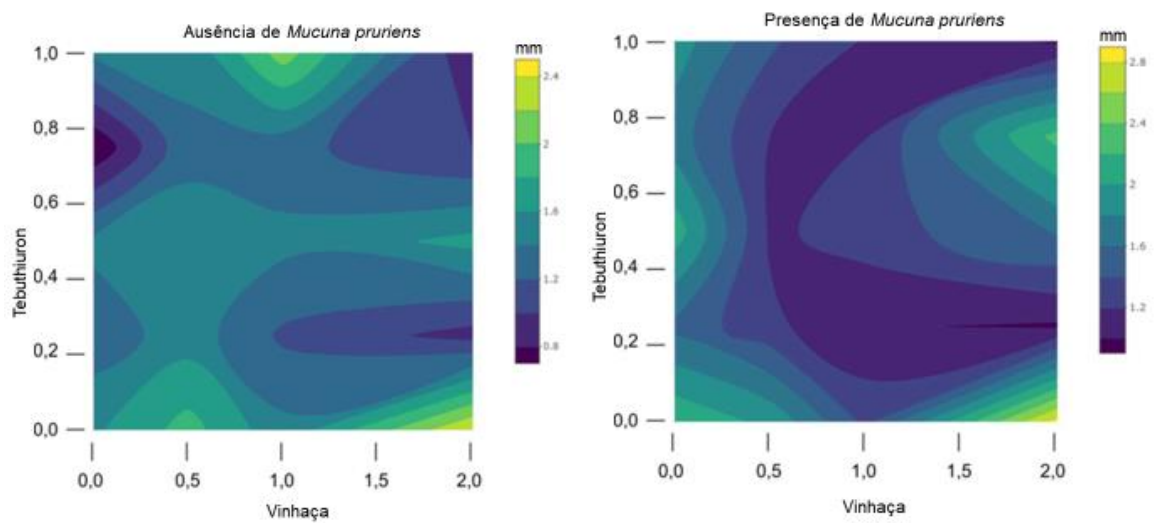
No presente estudo, o monitoramento da altura, do diâmetro e do número de folhas de *Crotalaria juncea* nas amostras de solo com diferentes concentrações de tebuthiuron e vinhaça está apresentado nas Figura 8, 9 e 10, respectivamente.

FIGURA 8 – Altura média (cm) de *Crotalaria juncea* durante o desenvolvimento vegetal por 42 dias nas amostras de solo com tebuthiuron e vinhaça.



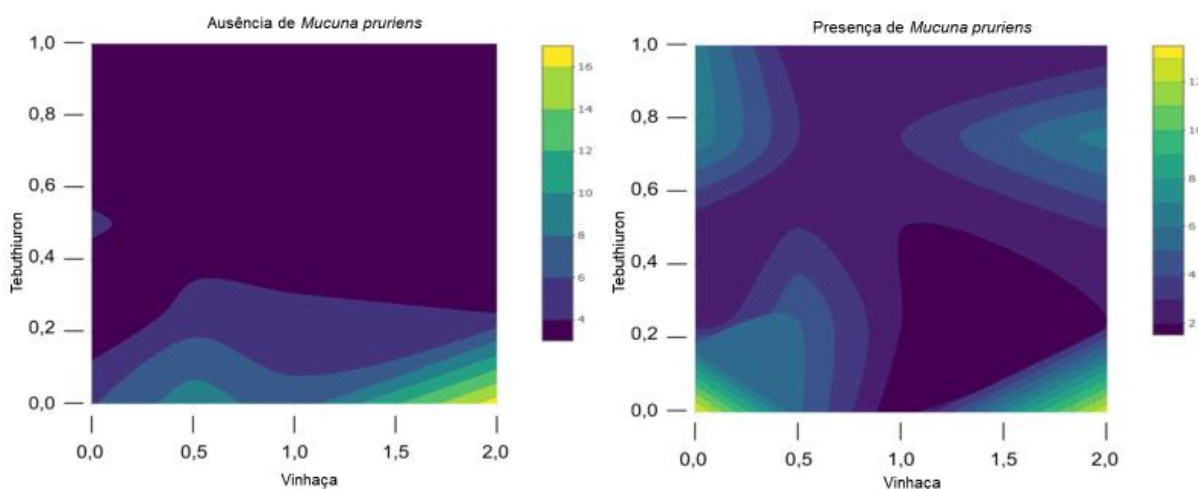
Fonte: Dados da própria autora (2020).

FIGURA 9 – Diâmetro (mm) de *Crotalaria juncea* durante o desenvolvimento vegetal por 42 dias nas amostras de solo com tebuthiuron e vinhaça.



Fonte: Dados da própria autora (2020).

FIGURA 10 – Número de folhas de *Crotalaria juncea* durante o desenvolvimento vegetal por 42 dias nas amostras de solo com tebuthiuron e vinhaça.



Fonte: Dados da própria autora (2020).

Para a altura, foi possível observar que os maiores valores foram encontrados no tratamento controle (0,0-0,00 VT, Figura 8), independente da presença ou ausência de *M. pruriens*. Diferentemente, a presença simultânea da vinhaça e do herbicida promoveu uma redução desse parâmetro nas plantas.

O acompanhamento do diâmetro da *C. juncea* revelou que, assim como na altura, os maiores valores foram encontrados no tratamento controle (0,0-0,00 VT, Figura 9). Podendo ser observado um menor resultado para os tratamentos com presença de vinhaça e herbicida. Por outro lado, esse parâmetro se manteve constante quanto ao desenvolvimento das plantas, não diferindo entre si nos tratamentos com a presença dos compostos.

Quanto à avaliação do número de folhas (Figura 10), os tratamentos com a presença dos compostos apresentaram os menores resultados, tendo em vista que em determinados momentos as folhas caíram.

O maior número de folhas foi encontrado no tratamento controle (0,0-0,00 VT, Figura 10), independente da presença de *M. pruriens*, e o menor resultado foi para 1,0-1,00 VT.

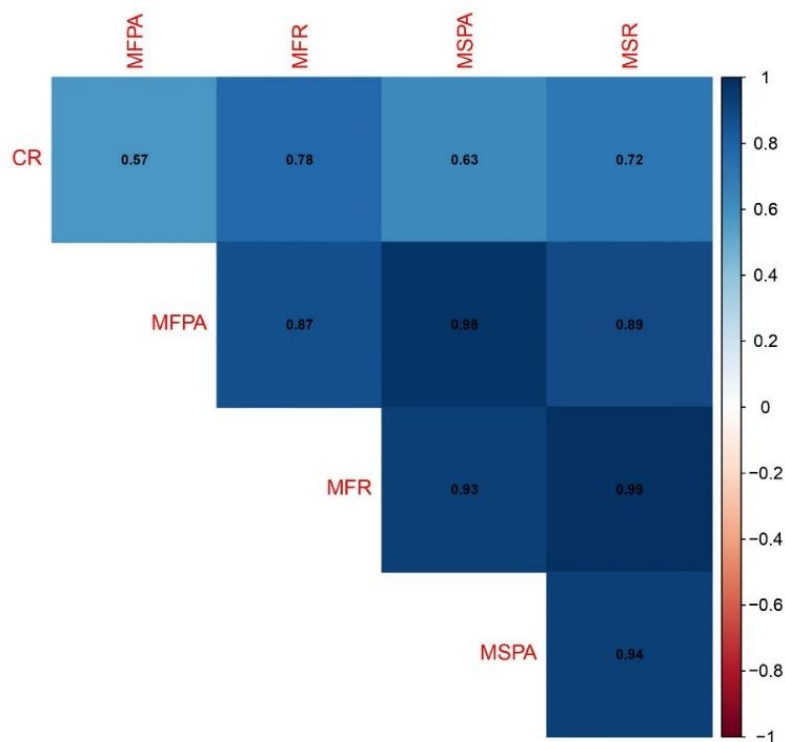
Aos 42 DAS, realizou-se a coleta da espécie vegetal e separação entre parte aérea e raiz para determinação da biomassa. A análise estatística não foi significativa para desse conjunto de dados, devido à alta mortalidade das plantas e a não emergência das sementes de *C. juncea*.

Entretanto, foi realizada uma análise de correlação entre as características de desenvolvimento da planta e sua biomassa (Figura 11). A interpretação da correlação indica que quanto mais azul, maior a semelhança entre os resultados.

É possível observar resultados positivos para todos os parâmetros de biomassa da *C. juncea* quando semeadas em sucessão de *M. pruriens*, destacando MFPA e CR, com estimativa maior em relação aos demais parâmetros avaliados (Figura 11). Além disso, MFPA e MFR apresentaram comportamento semelhante às avaliações de altura, diâmetro do colo e número de folhas.

Para MFPA, os maiores valores observados foram observados em 0,0-0,00 VT, 0,5-0,25 VT e 1,0-0,50 VT; sendo o menor para o tratamento com 2,0x o volume de vinhaça. Tal fato indica que nessa concentração, tal composto foi prejudicial para *C. juncea*.

FIGURA 11 – Análise de correlação para comprimento de raiz (CR), biomassa frescas de parte aérea (MFPA) e radicular (MFR) e biomassas secas de parte aérea (MSPA) e radicular (MSR) de *Crotalaria juncea* após 42 DAS após processo de fitorremediação do solo.



Fonte: Dados da própria autora (2020).

Quanto ao CR, o tratamento 0,0-0,00 VT foi maior tanto na presença quanto na ausência de *M. pruriens*, apresentando cerca de 20 cm de comprimento.

De forma semelhante, Ferraço *et al.* (2019) cultivaram *C. juncea* como planta fitorremediadora de solo com 0, 200 e 400 g i.a. ha⁻¹ do herbicida sulfentrazone, e utilizaram *P. glaucum* como planta bioindicadora. Os autores observaram que na ausência de cultivo prévio de *C. juncea*, as biomassas fresca e seca da parte aérea e da raiz de *P. glaucum* foram inferiores às aquelas obtidas com cultivo prévio.

Esta pesquisa recente corrobora com o presente estudo, indicando danos no cultivo posterior da espécie bioindicadora quando o herbicida está em associação com a vinhaça no solo. Em trabalho similar, Santos *et al.* (2019a) observaram que a produção de biomassa fresca e seca de *P. glaucum* foi maior quando cultivada em solo previamente ocupado por espécies potencialmente fitorremediadoras (*C. juncea* e *C. ensiformis*). Paralelamente, 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.

5.3.2 Quantificação de tebuthiuron nas amostras de solo

Inicialmente, foi realizada análise de variância das amostras de solo no t140 quanto à concentração residual do herbicida tebuthiuron no solo (Tabela 9).

TABELA 9 – Análise de variância das amostras de solo para quantificar resíduos de tebuthiuron após 140 dias de experimento

FV	gl	QM	
		Ausência de <i>M. pruriens</i>	Presença de <i>M. pruriens</i>
Vinhaça	3	1,46*	0,77*
Herbicida	4	1,37*	1,34*
Vinhaça x Herbicida	12	0,78*	0,41*
Resíduo	80	0,00002	0,00003
Total	99		
CV (%)		1,74	1,94
$\bar{x}$		0,28	0,27

Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: Nota: QM: quadrado médio. CV (%): Coeficiente de Variação. *p<0,001.

A partir da Tabela 9, observa-se que foi detectada significância para a concentração do herbicida em relação às amostras do solo com ausência e presença de *M. pruriens*. Neste sentido, houve interação significativa pelo teste de Tukey para os fatores ($p < 0,001$). Assim, fez-se a comparação das médias a partir do teste de Tukey ($p < 0,05$) acerca da concentração residual de tebuthiuron no solo aos t140 (Tabela 10).

Conforme esperado, nos tratamentos 0,00 T, que não recebeu aplicação do herbicida, a quantidade de resíduo do herbicida no solo detectada é nula (Tabela 10).

Quando se observa as amostras de solo sem vinhaça (0,0 V), a maioria dos resultados demonstrou-se com valor nulo na concentração residual do herbicida, independente da presença ou ausência da *M. pruriens*. Contudo, há exceção para os tratamentos 0,0-0,25 VT e 0,0-0,50 VT na presença de mucuna-cinza, nos quais foram detectados 0,14 e 0,09 μg de tebuthiuron por grama de solo, respectivamente. Salienta-se que estes valores foram bem baixos quando comparados com os demais tratamentos com aplicação de maiores volumes de vinhaça (Tabela 10).

TABELA 10 - Comparação de médias da concentração de resíduo de tebuthiuron no solo ($\mu\text{g/g}$) ao final do período de 140 dias nos tratamentos avaliados.

Dose de tebuthiuron	Volume de vinhaça							
	0,0	0,5	1,0	2,0	0,0	0,5	1,0	2,0
	Ausência de <i>M. pruriens</i>				Presença de <i>M. pruriens</i>			
0,00	0	0	0	0	0c	0d	0d	0e
0,25	0D	0,17Bc	0,16Cd	0,22Ac	0,14Ba	0Cd	0,18Ab	0,18Ac
0,50	0D	0,10Cd	0,60Bb	0,63Aa	0,09Db	0,38Ac	0,15Bc	0,14Cd
0,75	0D	0,45Ab	0,26Cc	0,34Bb	0Dc	1,20Aa	0,68Ca	0,75Bb
1,00	0D	0,62Ba	1,95Aa	0,20Cd	0Dc	0,39Bb	0,19Cb	1,06Aa

Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: Letras maiúsculas e minúsculas comparam os resultados nas linhas e colunas, respectivamente, para a mesma característica (Tukey, $p < 0,05$).

Na presença de *M. pruriens*, à medida que aumentou os volumes de vinhaça, o residual de tebuthiuron resistiu no solo, como mostra os resultados dos tratamentos 0,5-0,50 VT, 0,50-0,75 VT, 1,0-0,75 VT 2,0-0,75 VT e 2,0-1,0 VT (Tabela 10). Este resultado indica que a matéria orgânica presente no resíduo possa ter efeito positivo na retenção da molécula do herbicida quando em associação no solo, o que corrobora com o descrito por Mendes *et al.* (2021). Outra evidência do

presente estudo para este fato foi que as sementes de *M. pruriens* e *C. juncea* não emergiram na maioria dessas unidades experimentais.

Ferraço (2019) evidenciou a capacidade de *C. juncea* e *C. ensiformis* em reduzir os teores de sulfentrazone, quando comparados a solos não cultivados. Este resultado demonstra o potencial de culturas de interesse agrícola em fitorremediar solos com herbicidas.

Também estudando fitorremediação de solo com sulfentrazone, Trevisan *et al.* (2016) avaliaram o efeito da adição de composto orgânico juntamente ao plantio de *C. ensiformis*. Os autores não encontram resíduo do herbicida na parte aérea e nas raízes da planta, mas sua presença foi detectada em até 10 cm de profundidade no solo. Contudo, a concentração residual foi reduzida, revelando o efeito positivo da presença da espécie fitorremediadora no solo.

São necessários novos estudos na área de fitorremediação de solos com herbicidas utilizando técnicas quantitativas para evidenciar a redução da sua concentração residual em solos. Destacando-se o uso da cromatografia, cujos resultados complementam as avaliações realizadas com plantas indicadoras.

5.3.3 Bioensaios de ecotoxicidade

Resultados dos bioensaios de fitotoxicidade do extrato aquoso das amostras no tempo inicial (t_0) e final (t_{140}) estão apresentados na Tabela 11. Pode ser observada a análise estatística dos dados a partir análise de variância das médias dos valores de GI dos tratamentos, pelo teste de Scott-Knott a 5,0% de probabilidade.

TABELA 11 – Análise de variância dos valores do Índice de Germinação de *Lactuca sativa* nos bioensaios de ecotoxicidade para os tratamentos no tempo inicial (t0) e tempo final de experimento (t140).

Dose de tebuthiuron	Volume de vinhaça			
	0,0	0,5	1,0	2,0
	Tempo inicial (t0)			
0,00	0.0204 C	0.2380 Bb	0.7185 Aa	0.6548 Ab
0,25	-0.1228 C	0.3841 Bb	0.4822 Bb	0.6459 Ab
0,50	0.0027 C	0.3439 Bb	0.4861 Bb	0.9715 Aa
0,75	0.0184 B	0.5401 Aa	0.6166 Aa	0.6783 Ab
1,00	0.1576 B	-0.1679 Cc	0.6421 Aa	0.5803 Ab
	Tempo final (t140) para Presença de <i>M. pruriens</i>			
0,00	0.1398 Bb	0.3286 Ac	0.2826 Ab	0.1036 Bc
0,25	0.6185 a	0.5365 b	0.5584 a	0.4696 b
0,50	0.7028 Aa	0.3807 Bc	0.4995 Ba	0.3638 Bb
0,75	0.6087 Aa	0.5732 Ab	0.2533 Bb	0.2335 Bc
1,00	0.4871 Ba	0.7463 Aa	0.4638 Ba	0.6422 Aa
	Tempo final (t140) para Ausência de <i>M. pruriens</i>			
0,00	0.2649 Bb	0.4328 Ab	0.4525 A	0.1049 Bb
0,25	0.4927 Aa	0.2430 Bb	0.4712 A	0.0671 Bb
0,50	0.38945 b	0.5956 a	0.4786	0.5613 a
0,75	0.5608 Aa	0.4094 Ab	0.5328 A	0.2501 Bb
1,00	0.5754 Aa	0.3642 Bb	0.4008 B	0.7243 Aa

Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: Letras maiúsculas e minúsculas comparam os resultados nas linhas e colunas, respectivamente, para a mesma característica (Scott-Knott, $p < 0,05$).

Em relação ao tempo inicial – t0 (Tabela 11), não foi encontrado um padrão nos resultados quanto à dose de tebuthiuron. Observou-se ainda que, nas amostras de solo ausente de vinhaça (0,0 V), o efeito fitotóxico para as sementes de *L. sativa* não apresentou diferença significativa entre as doses do herbicida.

Entretanto, ao analisar os diferentes volumes de vinhaça antes do tratamento biológico (t0), nota-se que quanto maior é o volume de vinhaça utilizado, maior foi o efeito prejudicial ao organismo-teste, destacando o uso do dobro de volume desse resíduo orgânico (2,0 V) (Tabela 11).

Nesse caso, quando observado o tratamento 2,00-0,75 VT, o tempo inicial tem valor de 0,6783, com o decorrer do tempo esse valor diminui, ou seja, no t140 esse valor reduz para 0,2335 e 0,2501, na presença e ausência do cultivo de *M. pruriens*, respectivamente.

Após os 140 dias de atenuação natural, ou seja, sem a espécie vegetal *M. pruriens*, foi observado que os tratamentos não tiveram um padrão nos resultados ecotoxicológicos ao se comparar os diferentes volumes de vinhaça testados. Em

contrapartida, na Tabela 11 está evidenciado que a presença da mucuna-cinza geralmente favoreceu a redução do efeito fitotóxico na presença da vinhaça.

Quanto as doses de tebuthiuron, foi demonstrado resultado semelhante. Na ausência de *M. pruriens*, não há um padrão de redução ou aumento da ecotoxicidade de acordo com a concentração do herbicida. Este fato é evidenciado no uso de meia dose recomendada (0,50 T), cujos resultados apresentam-se maiores, menores e sem diferença significativa, dependendo do volume de vinhaça associado. Entretanto, foi revelado que a presença da mucuna-cinza promoveu benefícios na qualidade ecotoxicológica das amostras de solo em relação à dosagem de tebuthiuron, tendo em vista o padrão observado na Tabela 11 de maior efeito fitotóxico quando utilizado a dose recomendada (1,00 T). Entretanto, na ausência do tebuthiuron com 2,00x o volume de vinhaça, o tempo foi determinante na redução do valor de 0,6548 (t0), para 0,1036 e 0,1049 para presença e ausência do cultivo com mucuna-cinza, respectivamente. A presença da mucuna respondeu ao volume de vinhaça aplicado, quanto maior o volume adicionado menor foi o valor observado.

Na ausência do cultivo da mucuna, os valores para o tratamento 0,50x de tebuthiuron se mantiveram constantes independentemente do volume da vinhaça.

Portanto, notou-se que a associação de vinhaça e tebuthiuron promoveu em menor toxicidade para *L. sativa* (Tabela 11). Este que corrobora com o encontrado por Ferreira *et al.* (2021), que também analisaram a ecotoxicidade de tebuthiuron e vinhaça no solo em sementes de *L. sativa*. Os autores constataram que a presença isolada do herbicida resultou em maior toxicidade, entretanto, na adição da vinhaça esse efeito é reduzido.

Quando ao cultivo de *M. pruriens*, os resultados da Tabela 11 evidenciaram os benefícios na redução da ecotoxicidade nos tratamentos sem adição de vinhaça. É possível observar que a presença do subproduto da cana-de-açúcar promoveu maior prejuízo no início (t0), porém houve a redução desse efeito ao organismo-teste no decorrer do tempo.

Villaverde *et al.* (2017) afirmaram que o manejo da vinhaça pode interferir nas propriedades microbiológicas do solo de forma benéfica ou maléfica, dependendo da quantidade, forma e tempo de aplicação. Por outro lado, Mendes *et al.* (2021) ressaltaram que o tebuthiuron apresenta alta sorção às partículas de solo com maior teor de matéria orgânica. Portanto, a presença da vinhaça é capaz de reter mais

moléculas do herbicida na matriz ambiental. Este fato pode explicar o efeito prejudicial das amostras de solo na presença de ambos os compostos para as sementes de *L. sativa* do decorrer do tempo, como demonstrado pela Tabela 10.

6 CONCLUSÃO

O cultivo prévio de *M. pruriens* em solo com tebuthiuron e/ou vinhaça não influenciou o desenvolvimento da espécie bioindicadora *C. juncea*.

A *C. juncea* foi sensível na presença de tebuthiuron e/ou vinhaça nas doses/concentrações estudadas.

A associação com a vinhaça promoveu maior concentração residual de tebuthiuron no solo independente da presença de *M. pruriens*, destacando-se os tratamentos com o dobro de volume do resíduo orgânico – 2,0 V. Além disso, a ausência de vinhaça no solo permitiu que a concentração residual do herbicida fosse nula após 140 dias.

Quanto à ecotoxicidade, foi demonstrado um efeito prejudicial da vinhaça frente às sementes de *Lactuca sativa*. A vinhaça proporcionou a intoxicação do solo, no entanto, o tempo contribuiu para a dissipação do efeito. Na presença de tebuthiuron (0,50x), a vinhaça contribuiu para a redução da intoxicação do solo na avaliação tardia (t140), quando cultivado a mucuna nesse solo.

REFERÊNCIAS

- ABREU, Y. D.; NASCIMENTO, H. R. A produção da cana-de-açúcar e de etanol nas novas fronteiras agrícolas: o estado do Tocantins. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, v. 17, n. 27, p. 01-118, 2016.
- ALVES, S. A.; FERREIRA, T. C. R.; LANZA, M. R. V. Oxidação eletroquímica do herbicida tebutiuron utilizando eletrodo do tipo DSA. **Química Nova**, São Paulo, v. 35, n. 10, p. 1981-1984, 2012.
- ALVES, C.; GALON, L.; KAIZER, R. R.; HOLZ, C. M.; WINTER, F. L.; BASSO, F. J. M.; PERIN, G. F.; FORTE, C. T. Selection of Species with Soil Phytoremediation Potential After the Application of Protox-Inhibiting Herbicides. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 36, e018174765, 2018.
- ALVES, C.; GALON, L.; HOLZ, C. M.; KAIZER, R. R.; WINTER, F. L.; CONCENÇO, G.; NONEMACHER, F.; PERIN, G. F. Características fisiológicas de plantas hibernais com potencial fitorremediador sob influência dos herbicidas fomesafen e sulfentrazone. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 18, n. 1, p. 1–12, 2019.
- ANDRADE, J. DE A.; AUGUSTO, F.; JARDIM, I. C. S. F. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Eclética Química**, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 17–43, 2010.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 10006**: Procedimento para obtenção de extrato solubilizado de resíduos sólidos. Rio de Janeiro: ABNT, 2004. 7 p.
- BANKS, M. K.; SCHULTZ, K. E. Comparison of Plants for Germination Toxicity Tests in Petroleum-Contaminated Soils. **Water, Air, and Soil Pollution**, [s. l.], v. 167, n. 1, p. 211–219, 2005.
- BARETTA, D.; BROWN, G. G.; CARDOSO, E. J. B. N. Potencial de la macrofauna y de otras variables edáficas como indicadores de la calidad del suelo en áreas con *Araucaria angustifolia*. **Acta Zoológica Mexicana**, México, v. 26, p. 135-150, 2010.
- BELO, A. F.; SANTOS, E. A.; SANTOS, J. B.; FERREIRA, L. R.; SILVA, A. A.; CECON, P. R.; SILVA, L. L. Fitorremediação de solo adubado com composto orgânico e contaminado com trifloxysulfuron- sodium. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 25, n. 2, p. 251–258, 2007.
- BERNARDINO, M. M. **Comportamento e ecotoxicologia de pesticidas em solos do cerrado**. 2019. 77 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Rio Verde, 2019.
- BISOGNIN, R. P.; LOPEZ, D. A. R.; MULLER, M. V. G.; RIEGER, A. Análise do potencial microbiano de uma biopilha na biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 3, p. 517–526, 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários – AGROFIT**. Brasília, 2021. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons.

BRITO, M. F.; GALLO, A. S.; SOUZA, M. D. B; GUIMARÃES, N. F.; MERCANTE, F. M.; SILVA, R. F. Produção de fitomassa e extração de nutrientes por plantas de cobertura em Argissolo Vermelho, com adição de vinhaça. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 34, 2013, Florianópolis. **Anais [...]** [S.l.: s. n.], 2013.

CAMPOS, L. H. F. **Resíduos de herbicidas aplicados em cana-de-açúcar afetando adubos verdes e a cultura da soja em rotação**. 2018. 91 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2018.

CHELINHO, S.; DOMENE, X.; CAMPANA, P.; ANDRÉS, P.; RÖMBKE, J.; SOUSA, J. P. Toxicity of phenmedipham and carbendazim to *Enchytraeus crypticus* and *Eisenia andrei* (Oligochaeta) in Mediterranean soils. **Journal of Soils and Sediments**, [s. l.], v. 14, n. 3, p. 584-599, 2014.

CHRISTOFOLETTI, C. A.; ESCHER, J. P.; CORREIA, J. E.; MARINHO, J. F. U.; FONTANETTI, C. S. Sugarcane vinasse: Environmental implications of its use. **Waste Management**, Elmsford, v. 33, n. 12, p. 2752–2761, 2013.

COELHO, M. P. M.; CORREIA, J. E.; VASQUES, L. I.; MARCATO, A. C. DE C.; GUEDES, T. DE A.; SOTO, M. A.; BASSO, J. B.; KIANG, C.; FONTANETTI, C. S. Toxicity evaluation of leached of sugarcane vinasse: Histopathology and immunostaining of cellular stress protein. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 165, p. 367–375, 2018.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO - CETESB. **P4.231: Vinhaça – critérios e procedimentos para aplicação no solo agrícola**. São Paulo: CETESB, 2015. 15 p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar**. Brasília, 2020. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar>.

DEMICHELLI, F. N.; MOURA, G. S.; FRANZENER, G.; BITENCOURT, T. B.; PASSOS, C. T.; CAZAROLLI, L. H. Caracterização de microrganismos isolados de solo contaminado com Glifosato na região sul do Brasil. *In*: Congresso Latino-americano de Agroecologia, 6, 2018, Brasília. **Anais [...]** Brasília: Cadernos de Agroecologia, v. 13, n. 1, 2018.

DIETZ, A. C.; SCHNOOR, J. L. Advances in phytoremediation. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v. 109, p. 163–168, 2001.

FERRAÇO, M.; BELO, A. F.; PIRES, F. R.; BONOMO, R.; FILHO, A. C. Phytoremediation of Contaminated Soil with Sulfentrazone by Different Density of *Crotalaria juncea*. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 37, e019185323, 2019.

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, 2016. p. 197-210.

FERREIRA, L. C.; MOREIRA, B. R. A.; MONTAGNOLLI, R. N.; PRADO, E. P.; VIANA, R. S.; TOMAZ, R. S.; CRUZ, J. M.; BIDOIA, E. D.; FRIAS, Y. A.; LOPES, P. R. M. Green Manure Species for Phytoremediation of Soil With Tebuthiuron and Vinasse. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 8, p. 613-642, 2021.

FRANCISCO, W. C.; QUEIROZ, T. M. DE. Biorremediação. **Nucleus**, Lahore, v. 15, n. 1, p. 249–256, 2018.

GALON, L.; FERNANDES, F. F.; ANDRES, A.; SILVA, A. F. DA; 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, v. 16, n. 4, p. 307–324, 2017.

GARCIA, M. V. **Effects of pesticides on soil fauna: development of ecotoxicological test methods for tropical regions**. [S. l.: s. n.], 2004. 281 p.

GONÇALVES, V. D.; COELHO, M. F. B.; CAMILI, E. C. Bioensaios em sementes de *Lactuca sativa* L. com extrato de folhas de *Kielmeyera coriacea* Mart. & Zucc. **Revista Internacional de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 6, n. 2, p. 160-170, 2016.

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.

LEITÃO, S.; CEREJEIRA, M. J.; VAN DEN BRINK, P. J.; SOUSA, J. P. Effects of azoxystrobin, chlorothalonil, and ethoprophos on the reproduction of three terrestrial invertebrates using a natural Mediterranean soil. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 76, p. 124-131, 2014.

LIMA, R. M. **Avaliação da radiação UVC, processos UV/H₂O₂ e fotofenton na degradação do agrotóxico clorpirifós com acompanhamento da ecotoxicidade**. 2017. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2017.

LIMA, F. DE A.; A SANTOS JUNIOR, 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.

MACCARI, A. P.; BARETTA, D.; PAIANO, D.; LESTON, S.; FREITAS, A.; RAMOS, F.; SOUSA, J. P.; KLAUBERG-FILHO, O. Ecotoxicological effects of pig manure on *Folsomia candida* in subtropical Brazilian soils. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 314, p. 113-120, 2016.

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.; NASCIMENTO, A. F.; CHAGAS, K.; PROCÓPIO, S. O.; ARAÚJO, R. S.; BONOMO, R.; TAUFNER, G. A. Seleção de espécies tolerantes ao herbicida sulfentrazone com potencial para a fitorremediação de solos contaminados. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 6, p. 2199–2214, dez. 2012b.

MAGALHÃES, D. P.; FERRÃO FILHO, A. S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, Rio de Janeiro, v.12, n.3, p.355-381, 2008.

MARTINEZ, C. O.; SILVA, C. M. M. S.; FAY, E. F.; ABAKERLI, R. B.; MAIA, A. H. N.; DURRANT, L. R. The effects of moisture and temperature on the degradation of sulfentrazone. **Geoderma**, Amsterdam, v.147, n.1, p.56-62, 2008.

MATOS, A. K. A.; CARBONARI, C. A.; VELINI, E. D.; GOMES, G. L. G. C.; TRINDADE, M. L. B.; MACEDO, G. C. Vinasse effect on herbicides clomazone and tebuthiuron availability in different kinds of soils. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 33, n. 4, p. 771–778, 2015.

MELO, C. A. D.; Souza, W. M.; de Carvalho, F. P.; Massenssini, A. M.; da Silva, A. A.; 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. 76, n. 2, p. 300–310, 2017.

MENDES, K. F.; WEI, M. C. F.; FURTADO, I. F.; TAKESHITA, V.; PISSOLITO, J. P.; MOLIN, J. P.; TORNISIELO, V. L. Spatial distribution of sorption and desorption process of ¹⁴C-radiolabelled hexazinone and tebuthiuron in tropical soil. **Chemosphere**, Oxford, v. 264, p. 128494, 2021.

MISHRA, S. K.; KUMAR, P. R.; SINGH, R. K. 3 - Transgenic plants in phytoremediation of organic pollutants. *In*: PANDEY, V. C.; SINGH, V. **Bioremediation of Pollutants**, [S. l.: s. n.]. 2020. p. 39–56.

MORAES, D. A. C.; SPADOTTO, C. A.; SARTORI, A. A. C.; ZIMBACK, C. R. L. Variabilidade espacial do risco de contaminação de águas subterrâneas por tebuthiuron em área de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 51, n. 12, p. 1992–1999, 2016.

MORENO-GONZÁLEZ, D.; ALCÁNTARA-DURÁN, J.; ADDONA, S. M.; BENEITO-CAMBRA, M. Multi-residue pesticide analysis in virgin olive oil by nanoflow liquid chromatography high resolution mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1562, p. 27-35, 2018.

MORINI, M. S. C.; SILVA, O. G. M.; ZAMBON, V.; NOCELLI, R. C. F. Cultura de cana-de-açúcar no Brasil: manejo, impactos econômicos, sociais e ambientais. In: FONTANETTI, C. S.; BUENO, O. C. (org.). **Cana-de-açúcar e seus impactos: uma visão acadêmica**. Bauru: Canal6, 2017. 275p.

NIEMEYER, J. C.; SANTOS, V. C.; ARAUJO, P. B.; DA SILVA, E. M. Reprodução de *Cubaris murina* (Crustacea: Isopoda) em condições de laboratório e seu uso em testes de ecotoxicidade. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 69, n. 1, p. 137-142, 2009.

NOVO, M. C. S. S.; VICTORIA FILHO, R.; LANGBECK, F. M.; LAGO, A. A.; DEUBER, R.; ROLIM, G. S. Interação de imazapic no sistema integrado palha de cana-de-açúcar, herbicida e vinhaça no crescimento inicial da tiririca. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 26, n. 2, p. 439–449, 2008.

PINTO, L. E. V.; ARAUJO, F. F. D. Uso de vinhaça como biofertilizante: efeito na nodulação, crescimento e acúmulo de nutrientes no cultivo da soja. **Colloquium Agrariae**, Presidente Prudente, v. 15, n. 5, p. 97–109, 2019.

PIRES, F. R.; Souza, C. M.; Silva, A. A.; Procópio, S. O.; Ferreira, L. R. Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 21, n. 2, p. 335–341, 2003.

PIRES, F. R.; Souza, C. M. de; Cecon, P. R.; Santos, J. B. dos; Tótola, 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**, Viçosa, MG, v. 29, n. 4, p. 627–634, 2005.

PRADO, E. A. F.; VITORINO, A. C. T.; MAUAD, M.; ENSINAS, S. C.; PAIM, L. R. Características tecnológicas da cana-de-açúcar sob aplicação de doses de vinhaça em Latossolo Vermelho distroférrico. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 16, n. 4, p. 386–395, 2017.

PROCÓPIO, S. O.; FERNANDES, M. F.; TELES, D. A.; SENA FILHO, J. G.; CARGNELUTTI FILHO, A.; RESENDE, M. A.; VARGAS, L. Toxicidade de herbicidas utilizados na cultura da cana-de-açúcar à bactéria diazotrófica *Herbaspirillum seropedicae*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 5, p. 2383–2398, 2014.

PROCÓPIO, S. O.; PIRES, F. R.; SANTOS, J. B.; SILVA, A. A. **Fitorremediação de solos com resíduos de herbicidas**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009. 32p.

QU, M.; LI, N.; LI, H.; YANG, T.; LIU, W.; YAN, Y.; FENG, X.; ZHU, D. Phytoextraction and biodegradation of atrazine by *Myriophyllum spicatum* and evaluation of bacterial communities involved in atrazine degradation in lake sediment. **Chemosphere**, Oxford, v. 209, p. 439–448, 2018.

ROCHA, R. S.; BEATI, A. A. G. F.; VALIM, R. B.; STETER, J. R.; BERTAZZOLI, R.; LANZ, 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, L. C. A.; BARBOSA, S.; PAZIN, M.; MASELLI, B. S.; BEIJO, L. A.; KUMMROW, F. Fitotoxicidade e citogenotoxicidade da água e sedimento de córrego urbano em bioensaio com *Lactuca sativa*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17, n. 10, p. 1099-1108, 2013.

RODRIGUES, G. S. DE S. C.; ROSS, J. L. S. **A trajetória da cana-de-açúcar no Brasil: perspectivas geográfica, histórica e ambiental**. Uberlândia: Editora Universidade Federal de Uberlândia, 2020.

SABBAG, R. dos S.; MONQUERO, P. A.; HIRATA, A. C. S.; SANTOS, P. H. V. Crescimento inicial de mudas pré brotadas de cana-de-açúcar submetidas a aplicação de herbicidas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, v. 16, n. 1, p. 38–49, 2017.

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C. dos; OLIVEIRA, V. A. de; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A. de; ARAUJO FILHO, J. C. de; OLIVEIRA, J. B. de; CUNHA, T. J. F. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5. ed., Brasília: Embrapa, 2018. 356 p.

SANTOS, E.; PIRES, F. R.; FERREIRA, A. D.; EGREJA FILHO, F. B.; MADALÃO, J. C. BONOMO, R.; ROCHA JUNIOR, P R. Phytoremediation and natural attenuation of sulfentrazone: mineralogy influence of three highly weathered soils. **International Journal of Phytoremediation**, Philadelphia, v. 21, n. 7, p. 652–662, 2019a.

SANTOS, R. D. da S.; SILVA, P. T. de S.; GAVA, C. A. T.; MONTEIRO, V. E. D.; MELO, M. C. Avaliação da biodegradação do inseticida imidacloprido em reator de bancada. **Revista Eletrônica de Gestão e Tecnologias Ambientais**, v. 7, n. 7, p. 45, 2019b.

SEGAT, J. C.; ALVES, P. R. L.; BARETTA, D.; CARDOSO, E. J. B. N. Ecotoxicological evaluation of swine manure disposal on tropical soils in Brazil. **Ecotoxicology Environmental Safety**, [s. l.], v. 122, p. 91-97, 2015.

SILVA, A. F.; CRUZ, C.; NETO, A. N.; PITELLI, R. A. Ecotoxicidade de herbicidas para a macrófita aquática (*Azolla caroliniana*). **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 30, n. 3, p. 541–546, 2012.

SILVA, G. S.; SILVA, A. F. M.; GIRALDELI, A. L.; GHIRARDELLO, G. A.; VICTORIA FILHO, R.; TOLEDO, R. E. B. Manejo de plantas daninhas no sistema de mudas pré brotadas de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, v. 17, n. 1, p. 86–94, 2018.

SILVA, I. P. F.; SILVA JUNIOR, J. F.; PUTTI, F. F.; LATORRE, D. O.; SCHIMIDT, A. P.; LUDWIG, R. Herbicidas inibidores do fotossistema II – parte II. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, Heidelberg, v. 7, n. 1, p. 12–22, 2013.

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.

SOTO, M. A.; CHANG, H.; BASSO, J. Impacto da fertirrigação da cana-de-açúcar por vinhaça nas propriedades físicas, químicas e hidráulicas do solo. In: FONTANETTI, C. S.; BUENO, O. C. (org.). **Cana-de-açúcar e seus impactos**: uma visão acadêmica. Bauru: Canal6, 2017. 275p.

SOUTO, K. M.; AVILA, L. A.; CASSOL, G. V.; MACHADO, S. L. O.; MARCHESAN, E. Phytoremediation of lowland soil contaminated with a formulated mixture of Imazethapyr and Imazapic. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 46, n. 1, p. 185–192, 2015.

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. Fertirrigação com vinhaça na produção de cana-de-açúcar. **Agropecuária Científica no Semiárido**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 7–12, 2015.

TONIETO, T. A. P. **Dinâmica dos herbicidas tebuthiuron e hexazinona 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.; ARALDI, R.; BRITO, I. P. F. S.; SILVA, I. P. F.; CARBONARI, C. A.; VELINI, E. D. Herbicidas inibidores do fotossistema II em pré-emergência no controle de espécies de capim-colchão. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, v. 16, n. 1, p. 30–37, 2017.

UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR. **Moagem de cana-de-açúcar e produção de açúcar e etanol**. [S. l.], 2020. Disponível em: <http://unicadata.com.br/>. Acesso em: 20 mar. 2021.

VASCONCELO, S. M. A.; JAKELAITIS, A.; PEREIRA, L. S.; OLIVEIRA, G. S.; SOUSA, G. D.; LIMA, S. F. Seleção de espécies tolerantes para a fitorremediação de solo contaminado com imazapic. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Recife, v. 19, n. 2, p. 149–158, 2020.

VASILYEVA, G.; KONDRASHINA, V.; STRIJAKOVA, E.; ORTEGA-CALVO, J. J. Adsorptive bioremediation of soil highly contaminated with crude oil. **Science of The Total Environment**, Amsterdam, v. 706, p. 135739, 2020.

VILLAVERDE, J.; RUBIO-BELLIDO, M.; MERCHÁN, F.; MORILLO, E. Bioremediation of diuron contaminated soils by a novel degrading microbial consortium. **Journal of Environmental Management**, London, v. 1, n. 188, p. 379–386, 2017.

VIOTTI, M. A. P.; COSTA, T. F.; AMARAL, W. D. M.; RODRIGUES, D. C. G. A. Biorremediação de solo contaminado por óleo lubrificante usado em biopilha de bancada. **Cadernos UniFOA**, Volta Redonda, v. 12, n. 34, p. 5–14, 2017.

WEI, Z.; LE, Q. V.; PENG, W.; YANG, Y.; YANG, H.; GU, H.; LAM, S. S.; SONNE, C. A review on phytoremediation of contaminants in air, water and soil. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 403, p. 123658, 2021.

YADAV, K. K.; GUPTA, N.; KUMAR, A.; REECE, L. M.; SINGH, N.; REZANIA, S.; KHAN, S. A. Mechanistic understanding and holistic approach of phytoremediation: A review on application and future prospects. **Ecological Engineering**, Oxford, v. 120, p. 274–298, 2018.

ZORTÉA, T.; BARETTA, D.; MACCARI, A. P.; SEGAT, J. C.; BOIAGO, E. S.; SOUZA, J. P.; SILVA, A. S. Influence of cypermethrin on avoidance behavior, survival and reproduction of *Folsomia candida* in soil. **Chemosphere**, Oxford, v. 122, p. 94-98, 2015.

ZORTÉA, T.; SEGAT, J. C.; MACCARI, A. P.; SOUSA, J. P.; SILVA, A. S.; BARETTA, D. Toxicity of four veterinary pharmaceuticals on the survival and reproduction of *Folsomia candida* in tropical soils. **Chemosphere**, Oxford, v. 173, p. 460-465, 2017.

APÊNDICE

Apêndice A – Fotos do desenvolvimento vegetal de *M. pruriens* (ARTIGO 1)

FIGURA 12 – *Mucuna pruriens* no tratamento controle



Fonte: Dados da própria autora (2020).

Figura 13 – *Mucuna pruriens* no tratamento 0,50-0,75 VT



Fonte: Dados da própria autora (2020).

Apêndice B – Fotos do desenvolvimento vegetal de *C. juncea* (ARTIGO 2)

FIGURA 14 – *Crotalaria juncea* no tratamento controle



Fonte: Dados da própria autora (2020).

FIGURA 15 – *Crotalaria juncea* no tratamento 0,00-1,00 VT



Fonte: Dados da própria autora (2020).

FIGURA 16 – Perda de folhas da *C. juncea* no tratamento 2,00-0,50 VT



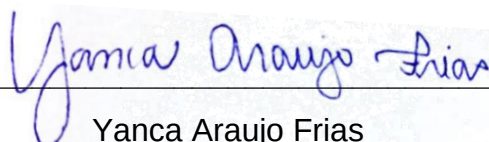
Fonte: Dados da própria autora (2020).

FIGURA 17 – Sementes sem emergência de *C. juncea* no tratamento 0,50-1,00 VT



Fonte: Dados da própria autora (2020).

**DESEMPENHO DE *Mucuna pruriens* NA FITORREMEDIAÇÃO DE SOLO COM
VINHAÇA E TEBUTHIURON**



Yanca Araujo Frias

Discente



Prof. Dr. Paulo Renato Matos Lopes

Orientador



Prof. Dr. Rafael Simões Tomaz

Co-Orientador

Ilha Solteira-SP
Fevereiro de 2021