

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

VICTOR HUGO CRUZ

**TOLERÂNCIA DE ADUBOS VERDES ASSOCIADOS A INOCULANTES
MICROBIANOS EM SOLO COM TEBUTHIURON**

**Ilha Solteira
2023**

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

VICTOR HUGO CRUZ

**TOLERÂNCIA DE ADUBOS VERDES ASSOCIADOS A
INOCULANTES MICROBIANOS EM SOLO COM TEBUTHIURON**

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

Especialidade: Sistemas de Produção

Orientador: Prof. Dr. Paulo Renato Matos Lopes

Ilha Solteira
2023

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

C957t Cruz, Victor Hugo.
Tolerância de adubos verdes associados a inoculantes microbianos em solo com tebuthiuron / Victor Hugo Cruz. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2023
102 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Especialidade: Sistemas de Produção, 2023

Orientador: Paulo Renato Matos Lopes
Inclui bibliografia

1. Bioaugmentação. 2. Ecotoxicidade. 3. Feijão-de-porco. 4. Fitorremediação. 5. Mucuna-cinza.


Raiane da Silva Santos

Supervisora Técnica de Seção
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
CRB/8 - 9999



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Ilha Solteira

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Tolerância de adubos verdes associados a inoculantes microbianos em solo com tebuthiuron

AUTOR: VICTOR HUGO CRUZ

ORIENTADOR: PAULO RENATO MATOS LOPES

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Agronomia, especialidade: Sistemas de Produção pela Comissão Examinadora:

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

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

Prof. Dr. LEONARDO GOMES DE VASCONCELOS (Participação Virtual)
UFMT

Ilha Solteira, 23 de fevereiro de 2023

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço imensamente à Santíssima Trindade pelo dom da vida e inteligência;

À minha família, Jucileia Cristina Cruz, Luiz Carlos da Cruz, Vilma de Campos Cruz, Ana Carolina de Campos Cruz, Daniele Santana da Cruz Araújo, Laércio Esquerdo, Igor Fabiano Araújo e demais familiares pelo apoio em todos os momentos difíceis que passei;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo Renato Matos Lopes pela paciência, confiança, preocupação, e em especial, pela sua amizade;

Aos membros da banca do Exame Geral de Qualificação e da Defesa de Dissertação, Prof. Dr. Leandro Tropaldi (FCAT/Unesp) e Prof. Dr. Leonardo Gomes de Vasconcelos (UFMT);

Aos professores da FCAT/Unesp, especialmente ao Prof. Evandro Pereira Prado;

Aos Prof. Dr. Vitor Correa de Mattos Barretto, Prof. Dr. Ronaldo Cintra Lima, Prof. Dr. Ronaldo da Silva Viana que contribuíram significativamente com este trabalho;

Aos funcionários da FCAT/Unesp, Alan Roger Cenerine Carvalho, Fábio Ribeiro da Silva, Arnaldo Carneiro da Silva, Mirian Alves de Faria, Heloísa Noemi Bello, Gustavo Faccin, Andréia da Silva Pepeliskof e Carlos Eduardo Gandolfi por todo o suporte técnico e amizade;

Ao meu melhor amigo Bruno Rafael de Almeida Moreira, pelos conselhos, companheirismo, diversos momentos felizes e também pela análise na íntegra de dados do meu experimento;

Aos meus melhores amigos, Edivaldo Wilson de Lima, Yanca Araujo Frias e Artur Bernardeli Nicolai, pelos conselhos, companheirismo e diversos momentos felizes;

Aos meus amigos e membros do GAIA (FCAT/Unesp) e de outros grupos pesquisas, em especial a Thalia Silva Valério, Munick Beato Aragão e Alexandre Ninhaus Silveira;

Aos meus melhores amigos de infância e adolescência, Denis Henrique Catelan Cardoso, Jennifer Natsumi Yamamoto, Gustavo Fávaro Lopes e Carla Alves pelos conselhos, incentivos e diversos momentos felizes;

À FAPESP (Processo 2021/01884-6) por todo suporte financeiro;

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Sistema de Produção da FEIS/Unesp, pela oportunidade;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), que financia o Programa de Pós-Graduação em Agronomia;

À empresa MicroGreen - Soluções Biotecnológicas, por ceder os inoculantes microbianos; e

Enfim, agradeço a todos e todas que contribuíram direta ou indiretamente pelo desenvolvimento da pesquisa!

“Religião e ciência andam juntas. Como disse antes, a ciência sem religião é manca e a religião sem ciência é cega. Elas são interdependentes e têm um objetivo comum – a busca da verdade”

Albert Einstein

RESUMO

O intuito dessa pesquisa foi avaliar a tolerância e a capacidade de fitorremediação da mucuna-cinza (*Mucuna pruriens* L. var. *Pruriens*) e feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* L.) associado a inoculantes microbianos em solo com o herbicida tebuthiuron. A pesquisa foi executada entre setembro/2021 e março/2022, sob delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial triplo, com sete replicatas, resultando no total 126 unidades experimentais. Foram considerados os seguintes fatores: (1º) Tebuthiuron: ausência ou dose recomendada (TBT); (2º) Inoculante microbiano: ausência, líquido (Liq) ou sólido (Sol); 3º (Plantas): ausência, mucuna-cinza (MP) ou feijão-de-porco (CE). Como espécie sentinela foi utilizada a crotalária (*Crotalaria juncea*). Ao longo do período experimental foram avaliados a altura e a biomassa seca da planta. O potencial ecotoxicológico das amostras de solo também foi avaliado temporalmente por meio do índice de germinação de sementes de alface. Os dados de biomassa seca foram avaliados por meio da análise de variância (ANOVA a 5% de probabilidade) e teste de comparação de médias (Tukey a 5% de probabilidade). Para a elaboração do modelo não-linear de *Gompertz* utilizou-se os dados de altura (MP, CE e crotalária) e o índice de germinação da alface. As análises estatísticas foram realizadas através dos softwares R, *GraphPad Prism* e *Microsoft Excel*® 2019. A longo prazo, a atenuação natural pode dissipar paulatinamente o herbicida tebuthiuron do solo, e isso é perceptível nos bioensaios ecotoxicológicos, pois foram obtidos resultados satisfatórios no índice de germinação final (0,96) e na velocidade de crescimento ($k=0,0314$). A *M. pruriens* foi tolerante ao herbicida tebuthiuron, em virtude do seu rápido estabelecimento ($k = 0,109$) quando comparado a *C. ensiformis* ($k = 0,069$). Além disso, essa espécie pode ser considerada uma fitorremediadora do herbicida tebuthiuron, em virtude dos resultados obtidos no cultivo de *C. juncea* (taxa específica de crescimento = 0,0330; biomassa seca: 3,52 g) e bioensaios ecotoxicológicos (velocidade de crescimento = 0,0632), quando comparado aos tratamentos com *C. ensiformis*. Consequentemente, os resultados mostraram que *C. ensiformis* tem maior dependência da bioaugmentação do que *M. pruriens*. Assim, notou-se que o efeito fitotóxico em *C. juncea* foi reduzido em CE + Liq/Sol + TBT (CE + Liq +

TBT = 6,27 g > CE + Sol + TBT = 6,21 g), além de ser observado melhor desempenho vegetal de *L. sativa* em CE + Sol + TBT ($k = 0,0480$) e CE +Liq + TBT ($k = 0,0422$). Portanto, os achados dessa pesquisa evidenciam que o cultivo de potenciais fitorremediadores associado a bioaugmentação podem reduzir os efeitos antagônicos do herbicida tebuthiuron no ecossistema, seja ele edáfico ou aquático.

Palavras-chave: bioaugmentação, ecotoxicidade, feijão-de-porco, fitorremediação, mucuna-cinza.

ABSTRACT

The aim of this research was to evaluate the tolerance and capacity of phytoremediation of velvet bean (*Mucuna pruriens* L. cv. Pruriens) and jack bean (*Canavalia ensiformis* L.) associated with microbial inoculants in soil with the herbicide tebuthiuron. The research was carried out between September/2021 and March/2022, under completely randomized design, in a triple factorial scheme, with seven replicates, resulting in 126 experimental units. The following factors were considered: (1°) Tebuthiuron: absence or recommended dose (TBT); (2°) Microbial inoculant: absence, liquid (Liq) or solid (Sol); (3°) Plants: absence, velvet bean (MP) or jack bean (CE). Sunn hemp (*Crotalaria juncea*) was used as sentinel species. Throughout the experimental period, plant height and dry biomass were evaluated. The ecotoxicological potential of the soil samples was also evaluated temporally throughout of the lettuce seed germination index. The dry biomass data were evaluated using analysis of variance (ANOVA at 5% probability) and comparison of average test (Tukey at 5% probability). For the elaboration of the *Gompertz* non-linear model, the data of plant height and dry biomass were evaluated (MP, CE and sunn hemp), and the germination index of lettuce were used. Statistical analyses were performed using R, GraphPad Prism and Microsoft Excel® 2019 software. In the long term, natural attenuation can gradually dissipate the herbicide tebuthiuron from the soil, and this is noticeable in the ecotoxicological bioassays, as satisfactory results were obtained in the final germination index (0.96) and growth speed ($k=0.0314$). *M. pruriens* was tolerant to the herbicide tebuthiuron due to its rapid establishment ($k = 0.109$) when compared to *C. ensiformis* ($k = 0.069$). Furthermore, this species can be considered a phytoremediator of the herbicide tebuthiuron due to the results obtained in *C. juncea* cultivation (specific growth rate = 0.0330; dry biomass: 3.52 g) and ecotoxicological bioassays (growth velocity = 0.0632) when compared to treatments with *C. ensiformis*. Consequently, the results showed that *C. ensiformis* has greater dependence on bioaugmentation than *M. pruriens*. Thus, to note that the phytotoxic effect on *C. juncea* was reduced in CE + Liq/Sol + TBT (CE + Liq + TBT = 6.27 g > CE + Sol + TBT = 6.21 g), and better plant performance of *L. sativa* was observed in CE + Sol + TBT ($k = 0.0480$) and CE

+Liq + TBT ($k = 0.0422$). Therefore, the findings of this research show that the cultivation of potential phytoremediators associated with bioaugmentation can reduce the antagonistic effects of the herbicide tebuthiuron in the ecosystem, whether edaphic or aquatic.

Keywords: bioaugmentation, ecotoxicity, jack bean, phytoremediation, velvet bean.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Tonalidades referentes aos níveis toxicológicos dos pesticidas padronizados pelo IBAMA.....	24
Figura 2	- Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena. (A) Imagem importada de um satélite; e (B) Fachada da faculdade.....	39
Figura 3	- Produtos adquiridos para instalação experimental. (A) Herbicida tebuthiuron; (B) Inoculante líquido; e (C) Inoculante sólido.....	40
Figura 4	- Sementes das espécies potencialmente fitorremediadoras. (A) <i>M. pruriens</i> e (B) <i>C. ensiformis</i>	41
Figura 5	- Sementes de <i>C. juncea</i>	42
Figura 6	- Sementes de <i>L. sativa</i>	42
Figura 7	- Insumos agrícolas utilizados na correção do solo. (A) Calcário; (B) Ureia, superfosfato simples e cloreto de potássio; (C) Mistura dos insumos agrícolas no solo; e (D) Umedecimento do solo.....	44
Figura 8	- Separação de vasos para inoculação microbiana.....	45
Figura 9.	- Aplicação do herbicida tebuthiuron.....	46
Figura 10	- Experimento com as espécies vegetais. (A) Sementes de <i>C. ensiformis</i> e <i>M. pruriens</i> (B) Semeadura nos vasos. (C) Cultivo das espécies vegetais em DIC.....	47
Figura 11	- Imagem meramente ilustrativa mostrando o desenvolvimento de <i>M. pruriens</i> entre 0 DAS e 14 DAS.....	48
Figura 12	- Plantas sendo removidas dos vasos, pesadas e secadas. (A) Lavagem das plantas de <i>C. juncea</i> ; (B) Planta de <i>M. pruriens</i> dentro da bandeja; (C) Planta de <i>M. pruriens</i> vista longitudinalmente; (D) Conferência do comprimento da <i>M. pruriens</i> ; (E)	49

	Aferição da biomassa fresca de <i>M. pruriens</i> ; e (F) Plantas dispostas em estufa para secagem.....	
Figura 13	- Metodologias para extração do solubilizado de solo. (A) Coleta do solo; (B) Adição de 25 g de solo em frascos Erlenmeyer; (C) Adição de água deionizada em frascos Erlenmeyer; (D) Homogeneização da solução; e (E) Extrato aquoso formado.....	51
Figura 14	- Preparo dos bioensaios ecotoxicológicos. (A) Disposição de 10 sementes de <i>L. sativa</i> em placas de Petri com papel filtro qualitativo; (B) Adição de 2,0 mL do solubilizado nas placas de Petri; (C) Solução de sulfato de zinco pronto para ser adicionado na placa referente ao Controle Positivo; (D) Bancada laboratorial com equipamentos utilizados no preparo dos bioensaios; e (E) Placas de Petri prontas para serem destinadas à BOD.....	52
Figura 15	- Triângulo textural do solo.....	56
Figura 16	- Efeitos fitotóxicos em tratamentos e tempos da <i>M. pruriens</i> . (A) 10 DAS; (B) 20 DAS; e (C) 30 DAS.....	58
Figura 17	- Efeitos fitotóxicos em diferentes tratamentos e tempos do <i>C. ensiformis</i> . (A) 30 DAS; (B) 40 DAS; e (C) 60 DAS.....	59
Figura 18	- Exemplo de uma curva de Gompertz juntamente com seus parâmetros e forma de interpretação.....	60
Figura 19	- Desenvolvimento cinético de <i>M. pruriens</i> (MP) e <i>C. ensiformis</i> (CE) como potenciais fitorremediadores do herbicida tebuthiuron (TBT) no solo com inoculantes sólido (Sol) ou líquido (Liq) a partir do modelo de <i>Gompertz</i>	62
Figura 20	- Produção de biomassa seca de <i>M. pruriens</i> (MP) e	65

	<i>C. ensiformis</i> (CE) em solo associado ou não com tebuthiuron (TBT) e/ou inoculantes sólido (Sol) ou líquido (Liq) após 70 DAS.....	
Figura 21	- Desenvolvimento cinético da altura de <i>C. juncea</i> como espécie bioindicadora em solo com tebuthiuron (TBT) e inoculantes sólido (Sol) ou líquido (Liq) a partir do modelo de <i>Gompertz</i> . Ref – solo controle de referência sem adubo verde e inoculantes.....	68
Figura 22	- Desenvolvimento cinético de <i>C. juncea</i> como espécie bioindicadora em solo com tebuthiuron (TBT) e inoculantes sólido (Sol) ou líquido (Liq) a partir do modelo de <i>Gompertz</i>	69
Figura 23	- Produção de biomassa fresca e seca de <i>C. juncea</i> em solo associado ou não com tebuthiuron (TBT), inoculantes sólido (Sol) ou líquido (Liq) e/ou as diferentes plantas <i>M. pruriens</i> (MP) e <i>C. ensiformis</i> (CE) após 63 DAS. Ref – solo controle de referência sem adubo verde e inoculantes.....	73
Figura 24	- Desenvolvimento cinético do índice de germinação de <i>L. sativa</i> nos bioensaios de ecotoxicidade em amostras de solo com tebuthiuron (TBT) e inoculantes sólido (Sol) ou líquido (Liq) a partir do modelo de <i>Gompertz</i> . Ref – solo controle de referência sem adubo verde e inoculantes.....	77
Figura 25	- Desenvolvimento cinético do índice de germinação de <i>L. sativa</i> nos bioensaios de ecotoxicidade em amostras de solo com tebuthiuron (TBT) e inoculantes sólido (Sol) ou líquido (Liq) a partir do modelo de <i>Gompertz</i>	78
Figura 26	- Dinâmica de efeitos aleatórios (tebuthiuron) e fixos (adubos verdes – <i>M. pruriens</i> e <i>C. ensiformis</i> ; e inoculantes microbianos – líquido e sólido) sobre a	81

taxa específica do índice de germinação (IG) de *L. sativa* nos bioensaios de ecotoxicidade nas amostras de solo.....

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Principais estados produtores de cana-de-açúcar no Brasil.....	21
Tabela 2	- Herbicidas utilizados em áreas produtoras de cana-de-açúcar.....	23
Tabela 3	- Espécies vegetais em áreas de cana-de-açúcar que o herbicida tebuthiuron pode controlar.....	25
Tabela 4	- Características físico-químicas do herbicida tebuthiuron.....	26
Tabela 5	- Espécies testadas para fitorremediar o herbicida tebuthiuron em solos agrícolas.....	30
Tabela 6	- Espécies eficientes na fitorremediação do herbicida tebuthiuron em solos agrícolas.....	31
Tabela 7	- Espécies sensíveis ao herbicida tebuthiuron.....	34
Tabela 8	- Identificação dos tratamentos conforme a sua sigla.....	43
Tabela 9.	- Análise química do solo antes e após o pré-cultivo de <i>C. ensiformis</i> e <i>M. pruriens</i>	57
Tabela 10	- Parâmetros dos modelos cinéticos de Gompertz para a altura de <i>M. pruriens</i> (MP) e <i>C. ensiformis</i> (CE) como potenciais fitorremediadores de tebuthiuron (TBT) no solo com inoculantes sólido (Sol) ou líquido (Liq).....	63
Tabela 11	- Parâmetros dos modelos cinemáticos do tipo Gompertz para a altura de <i>C. juncea</i> como espécie bioindicadora em do tebuthiuron (TBT) no solo com <i>M. pruriens</i> (MP) e <i>C. ensiformis</i> (CE) e inoculantes líquido (Liq) ou sólido (Sol).....	70
Tabela 12	- Parâmetros dos modelos cinéticos de Gompertz para o índice de germinação de <i>L. sativa</i> nos bioensaios de ecotoxicidade em amostras de solo com tebuthiuron (TBT) e inoculantes sólido (Sol) ou	79

líquido (Liq) associados ou não às diferentes plantas, tanto para a *M. pruriens* (MP) e *C. ensiformis* (CE).....

SUMÁRIO

1	REVISÃO DE LITERATURA	20
1.1	Cana-de-açúcar: panorama histórico e econômico	20
1.2	Plantas daninhas: efeitos prejudiciais e métodos de controle.....	21
1.2.1	Herbicidas: panorama de utilização e tipos de classificação	22
1.2.2	Tebuthiuron: características e riscos ambientais	24
1.3	Despoluição ambiental: métodos remediatórios de pesticidas	27
1.3.1	Biorremediação: contextualização e benefícios ambientais	27
1.3.2	Fitorremediação: contextualização, vantagens e desvantagens	28
1.3.3	Bioaumentação: contextualização, vantagens e desvantagens	32
1.4	Comportamento ambiental de pesticidas: contextualização.....	33
1.4.1	Cultivo de plantas bioindicadoras: contextualização e espécies utilizadas 34	
1.4.2	Bioensaios ecotoxicológicos: contextualização, inferências metodológicas 35	
2	OBJETIVOS	38
2.1	Objetivo Geral	38
2.2	Objetivos específicos	38
3	MATERIAIS E MÉTODOS	39
3.1	Local e período de experimentação	39
3.2	Solo.....	39
3.3	Herbicida tebuthiuron e inoculantes microbianos.....	40
3.4	Espécies vegetais.....	41
3.4.1	Potenciais fitorremediadores	41
3.4.2	Planta bioindicadora.....	41
3.4.3	Organismo-teste	42
3.5	Delineamento experimental	42
3.6	Preparação das unidades experimentais	44
3.6.1	Correção da fertilidade e acidez do solo.....	44
3.6.2	Inoculação microbiana.....	44
3.6.3	Pulverização do herbicida	45
3.7	Semeadura das espécies vegetais.....	46
3.8	Avaliações nos experimentos	47
3.8.1	Espécies vegetais.....	47
3.8.2	Bioensaios ecotoxicológicos.....	50
3.9	Análise de dados	52

3.9.1	Tratamento prévio dos dados.....	52
3.9.2	Análise de variância e teste de comparação de médias.....	53
3.9.3	Modelagem de <i>Gompertz</i>	53
3.9.4	Análise multivariada do índice de germinação	54
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
4.1	Caracterização química do solo.....	56
4.2	Desenvolvimento de mucuna-cinza e feijão-de-porco.....	58
4.2.1	Parâmetros morfométricos: altura.....	58
4.2.2	Acúmulo de biomassa.....	63
4.3	Desenvolvimento de crotalária	65
4.3.1	Parâmetros morfométricos: altura.....	65
4.3.2	Acúmulo de biomassa.....	71
4.4	Bioensaios ecotoxicológicos	73
4.4.1	Índice de germinação.....	73
4.4.2	Análise multivariada do índice de germinação	80
5	CONCLUSÃO	82
	REFERÊNCIAS	83

1 INTRODUÇÃO

O tebuthiuron (1-(5-tert-butyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)-1,3-dimethylurea) é um herbicida sistêmico, não seletivo, pertencente à família das fenilureias, que tem sido frequentemente aplicado em canaviais (FANG; SHEN; CHEN, 2012; QIAN *et al.*, 2017). Quando este herbicida é diretamente pulverizado no solo, sua ação pré-emergente pode ser capaz de eliminar plantas de folhas estreitas e largas (ROMAN *et al.*, 2005), através da inibição da fotossíntese (HUSSAIN *et al.*, 2015), por meio do bloqueio do fluxo de transporte de elétrons no fotossistema II nas membranas dos tilacóides. No entanto, características físico-químicas pertencentes a este herbicida, tais como alta solubilidade em água (2,50 g L⁻¹), fácil disseminação entre os perfis edáficos e elevada persistência ambiental (até 18 meses), podem causar contaminação dos ecossistemas aquáticos e terrestres (PPDB, 2023), afetando negativamente organismos não-alvos (SARAPIROM *et al.*, 2022). Por tais motivos, a implementação da biorremediação é necessária (FERREIRA *et al.*, 2022).

A biorremediação é uma técnica que usufrui de atividades biológicas para eliminar quaisquer pesticidas, seja ele em meio aquoso ou sólido (LUO *et al.*, 2017). Nesse sentido, a atenuação natural executada pela microbiota indígena é a principal via de dissipação dos herbicidas do fotossistema II (MERCURIO *et al.*, 2015). Embora esta técnica seja naturalmente eficaz para degradar os pesticidas, algumas adversidades bióticas ou abióticas podem interferir negativamente na eficiência da taxa de degradação, sendo necessária o uso estratégias suplementares (ZANGANEH *et al.*, 2022).

Segundo Lima *et al.* (2022), a fitorremediação é uma das estratégias mais úteis para remediar solos contaminados com herbicida tebuthiuron. Espécies vegetais como *Canavalia ensiformis* L., *Cajanus cajan* (L.) Millsp., *Mucuna pruriens* L. var. *Pruriens*, *Pennisetum typhoides* (Burm.f.) Stapf & C.E.Hubb e *Stizolobium aterrimum* Piper & Tracy mostraram ser tolerantes ao tebuthiuron e suficientemente capazes de remediar solos contaminados com o tal herbicida (BELO *et al.*, 2007; FERREIRA *et al.*, 2021b; MENDES *et al.*, 2021; PIRES *et al.*, 2008). Sendo assim, alguns autores definiram que a fitorremediação pode ser dividida em 7 categorias, tais como fitoextração, rizofiltração, fitoestabilização, rizodegradação, rizodegradação, fitovolatilização,

fitoestimulação e fitodegradação (AMMERI *et al.*, 2022; PARWEEN *et al.*, 2018; SUSARLA; MEDINA; MCCUTCHEON, 2002). No entanto, a fitorremediação pode não ser tão eficiente quanto o esperado, sendo necessário o uso de estratégias combinadas, como por exemplo a bioaumentação (ANDREOLLI *et al.*, 2015; LOPES *et al.*, 2022).

Na bioaumentação, cepas microbianas de fungos ou/e bactérias são adicionadas no solo para aumentar a taxa de degradabilidade dos pesticidas (ANDREOLLI *et al.*, 2015). Os microrganismos devem ser caracterizados por tais funcionalidades: alta resistência às concentrações elevadas de pesticidas; adaptabilidade às condições de estresse, bem como alterações de pH e variações de temperatura; baixa ou nenhuma competição com a microbiota nativa; e principalmente; eficiente na degradação de pesticidas (AYOTAMUNO; KOGBARA; AGORO, 2009; KHAN *et al.*, 2013).

Portanto, a combinação de fitorremediação e bioaumentação pode aumentar a degradabilidade de pesticidas no solo, diminuindo, portanto, as limitações de cada técnica. Além disso, utilizar plantas bioindicadoras e realizar bioensaios ecotoxicológicos podem ser úteis para avaliar o nível de toxicidade ambiental que o tebuthiuron oferece ao ecossistema após o processo de biorremediação (ROCHA *et al.* 2018; FERREIRA *et al.*, 2021b).

Contudo, poucos estudos foram encontrados na literatura que relaciona técnicas de fitorremediação e bioaumentação para remover pesticidas, principalmente o herbicida tebuthiuron. As pesquisas normalmente focam na sua dispersão em sistemas aquáticos e nos efeitos agudos ou crônicos causados em diversos animais (CCANCCAPA *et al.*, 2016; MERCURIO *et al.*, 2015; MERCURIO *et al.*, 2016 Logo, esta pesquisa teve como proposta de estudo: o cultivo e avaliação da tolerância dos potenciais fitorremediadores; o cultivo e avaliação de efeitos fitotóxicos do herbicida na planta bioindicadora (*Crotalaria juncea* L. cv. Comum) após a biorremediação; e a realização de bioensaios ecotoxicológicos com sementes de *Lactuca sativa* L. antes, durante e após a biorremediação, para monitoramento ambiental da molécula estudada..

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Cana-de-açúcar: panorama histórico e econômico

Pertencente à família *Poaceae*, a cana-de-açúcar (*Saccharum spp*) é uma gramínea perene oriunda da Ásia tropical (GENTILE *et al.*, 2015; SINGH *et al.*, 2015). Essa espécie possui um caule longo e espesso, que possui a capacidade de alcançar cinco metros de altura e seis centímetros de diâmetros (SILVA *et al.*, 2022). Devido ao seu mecanismo fotossintético do tipo C4, essa gramínea é capaz de transformar de forma eficiente fontes luminosas em energia bioquímica, possibilitando acumular altos teores de açúcares solúveis, como a sacarose e frutose (SINGH *et al.*, 2020), cujas características são essenciais ao setor sucroenergético (SILVA, 2016).

Além disso, a cana-de-açúcar pode se adaptar às distintas condições climáticas e fisiográficas (RODRIGUES *et al.*, 2022), fatores estes, que a torna uma importante cultura agrícola, sendo cultivada em mais de 200 países ao redor do mundo (HUANG *et al.*, 2020).

Embora seja compreendido que o principal objetivo da cana-de-açúcar é a obtenção de açúcar e etanol, tal cultura produz subprodutos de valor agregado como bagaço, torta de filtro, vinhaça, melaço, entre outros resíduos, que podem ser utilizados na agricultura e agroindústria (GENTILE *et al.*, 2015; MEHNAZ, 2013). Portanto, tais produtos e subprodutos da cana-de-açúcar torna-a matéria-prima chave em países subdesenvolvidos, proporcionando crescimento sócio-ecôno-ambiental (HUANG *et al.*, 2020; SINGH *et al.*, 2020).

Em contexto global, estima-se que seu cultivo esteja distribuído em área superior a 26 milhões de hectares, sendo que o Brasil é o principal produtor, responsável 38% da produção global, seguido pela Índia e China (COSTA *et al.*, 2021). Além disso, o setor sucroenergético brasileiro é responsável por 50% das exportações mundiais, e se articula como o segundo maior provedor de etanol, atrás somente dos Estados Unidos (MARIN *et al.*, 2019). Em concordância a tais afirmações, segundo dados da CONAB (2020), o Brasil exportou 18, 95 milhões de toneladas de açúcar e 1,9 milhões de litros de etanol na safra 2019/2020.

Nesse sentido, os canaviais brasileiros concentram-se na região Centro-Sul, com maior destaque ao estado de São Paulo (**Tabela 1**), em que nas

últimas décadas ocorreu um crescente avanço de lavouras canavieiras devido a abertura de novas áreas e pelo arrendamento de terras que eram destinadas à criação de gado (PALLUDETO *et al.*, 2018). De acordo com Rudorff *et al.* (2010), a capacidade produtiva do estado de São Paulo equivale a 80% da produção indiana, além de ser superior ao somatório de outros quatro grandes produtores mundiais (China, Tailândia, Paquistão e México).

Tabela 1. Principais estados produtores de cana-de-açúcar no Brasil

Estado	Área plantada (ha)	Produção (t)
São Paulo	5.540.511	425.617.093
Goiás	946.985	75.315.239
Minas Gerais	944.051	72.968.836
Mato Grosso do Sul	727.753	52.245.291
Paraná	597.198	41.658.888
Alagoas	304.748	18.702.251
Mato Grosso	297.100	23.319.052
Pernambuco	228.177	12.138.197

Fonte: Silva *et al.* (2022)

No entanto, o lucro almejado por empresários agrícolas é definido pelos constantes e atualizados manejos adotados nos canaviais (BASSEY *et al.*, 2021). Logo, as condições climáticas, surgimento de patógenos, pragas e plantas daninhas devem ser frequentemente monitorados (BANDOPADHYAY *et al.*, 2018; ROGÉRIO; BORGES; MACHADO, 2020) para não reduzir a produtividade da cana de açúcar.

1.2 Plantas daninhas: efeitos prejudiciais e métodos de controle

Em virtude do seu alto poder de dispersão, rusticidade e resistência (SILVA *et al.*, 2018), as plantas daninhas são imbróglios cotidianamente enfrentado por agricultores canavieiros. Quando estão em alta densidade populacional, essas plantas podem competir com a cultura por espaço, luminosidade, nutrientes e água, além disso, algumas espécies podem exsudar substâncias fito-alelopáticas (DIAS *et al.*, 2007; MOSSIN *et al.*, 2019), e até mesmo serem hospedeiras de doenças ou insetos-pragas (NAZIR; JARIKO; JUNEJO, 2013). Nesse sentido, a presença abundante dessas plantas pode

comprometer a cana-de-açúcar em diversas esferas: altura, número de formação de perfilhos, acúmulo de biomassa, rendimento em açúcares solúveis e qualidade da planta (MENDES; SILVA, 2022).

Por isso, adotar medidas prévias pode evitar que as ervas daninhas afetem severamente os canaviais. Segundo Silva *et al.* (2022), Verma e Chatterjee (2021), a remoção manual, cultivo entre fileira e o controle químico, bem como os herbicidas são alguns métodos popularmente conhecidos que são realizados em lavouras canavieiras.

1.2.1 Herbicidas: panorama de utilização e tipos de classificação

Desde 2008, o Brasil é o maior consumidor mundial de pesticidas (RIGOTTO; VASCONCELOS; ROCHA, 2014), sendo que, de acordo com Sharma *et al.* (2019) a aplicação em áreas canavieiras corresponde em sua maioria a herbicidas (47,5%), seguido por inseticidas (29,5%), fungicidas (17,5%) e outros pesticidas (5,5%).

Os herbicidas representam uma das ferramentas mais utilizadas no setor sucroenergético (ZHOU; WANG; LUO, 2020), em virtude de sua rapidez de ação, praticidade, eficiência, períodos de controle, com uma gama de mecanismos de ação, grupos químicos e princípios ativos (GUIMARÃES *et al.*, 2022; VITI *et al.*, 2021). Na **Tabela 2** estão descritos quais são os herbicidas disponíveis para a cana-de-açúcar no Brasil, bem como seu mecanismo de ação, grupo químico e princípio ativo.

Além dos mecanismos de ação, também há outras formas de classificação dos herbicidas baseando-se no seu modo de entrada na planta e no nível de toxicidade ambiental (AKASHE; PAWADE; NIKAM, 2018). Segundo Randika *et al.* (2022), o modo de entrada do herbicida teoriza o contato entre a planta-alvo e a molécula. Nesse sentido, há três tipos de entrada: sistêmico, de contato e translaminar. Por outro lado, o nível de toxicidade evidencia o quão prejudicial o pesticida pode oferecer ao ecossistema aquático ou terrestre. A **Figura 1** ilustra os níveis de toxicidade ambiental dos pesticidas em diferentes colorações de acordo com IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis).

Tabela 2. Herbicidas utilizados em áreas produtoras de cana-de-açúcar

Mecanismo de ação	Grupo químico	Princípio ativo
Auxinas sintéticas	Ácido fenoxicarboxílico	2,4-D
	Ácido piridinocarboxílico	Picloram
Inibidores da biossíntese de carotenóides	Isoxazol	Isoxaflutole
	Tricetona	Mesotriona
	Isoxazolidinona	Clomazone
Inibidores da enzima Acetolactato Sintase (ALS)	Pirimidinil (tio) benzoate	Bispiribac-sódio
	Imidazolinonas	Imazapic
	Imidazolinonas	Imazapyr
	Triazolopirimidina	Diclosulam
	Sulfonilureia	Etoxissulfuron
	Sulfonilureia	Flazasulfuron
	Sulfonilureia	Halosulfuron-metil
	Sulfonilureia	Iodosulfuron-metil
	Sulfonilureia	Metsulfuron-metil
Inibidores da biossíntese de ácidos graxos e lipídios	Sulfonilureia	Trifloxysulfuron-sodium
	Cloroacetamida	Alachlor
Inibidores da 5-enolpiruvilshikimate-3-fosfato sintase (EPSP's)	Cloroacetamida	S-metolacoloro
	Glicina	Glifosato
Inibidores do fotossistema II	Triazina	Ametryn
	Triazina	Atrazina
	Triazinona	Hexazinona
	Triazinona	Metribuzin
	Ureia	Diuron
	Ureia	Tebuthiuron
Inibidores da Enzima Protoporfirinogênio Oxidase (PROTOX)	N-fenilftalimida	Flumioxazin
	Éter difenílico	Oxyfluorfen
	Oxadiazol	Oxadiazon
	Triazolinona	Amicarbazona
	Triazolinona	Carfentrazone-ethyl
	Triazolinona	Sulfentrazone
Inibidores de mitose	Dinitroanilina	Pendimetalina
	Dinitroanilina	Trifluralin
Inibidores do fotossistema I	Bipiridílio	Paraquat
Desconhecido	Organoarsênicos	Sodium hydrogen methylarsonate (MSMA)

Fonte: adaptado de Reis *et al.* (2019).

Figura 1. Tonalidades referentes aos níveis toxicológicos dos pesticidas padronizados pelo IBAMA



Fonte: Própria autoria (2023)

Por isso que a disponibilidade de diferentes moléculas e a seleção prévia destas, são importantes peças na agricultura que facilitam a vida dos produtores, evitando futuros prejuízos nas lavouras canavieiras (CARVALHO *et al.*, 2005).

1.2.2 Tebuthiuron: características e riscos ambientais

Dentre diversas moléculas disponíveis no mercado, encontra-se o tebuthiuron, um herbicida inibidor do fotossistema II (FSII) indicado para controlar plantas daninhas de folhas estreitas e largas durante a sua pré-emergência (WANG *et al.*, 2019), tal como descrito na **Tabela 3**.

Tal herbicida é uma molécula orgânica de ação sistêmica, pertencente ao grupo químico das fenilureias (QIAN *et al.*, 2017), que após pulverizá-lo no solo pode ser absorvido pelas raízes das plantas (LI *et al.*, 2019), translocado e acumulado em tecidos ou órgãos vegetais (PULLAGURALA *et al.*, 2018). Dentro do mecanismo do PSII, as moléculas de tebuthiuron ligam-se a um local específico da plastoquinona Qb sobre a proteína D1, bloqueando o transporte de elétrons da quinona Qa para a Qb (OLIVEIRA JÚNIOR, 2011). Esta ação resulta na paralisação fixativa de CO₂ e na produção de ATP e NADHP₂ (THOMAS *et al.*, 2020). Consequentemente, ocorre a peroxidação lipídica das membranas celulares e visualmente percebe-se o aparecimento de necroses foliar, que pode evoluir para seca e morte integral das plantas (SILVA *et al.*, 2014).

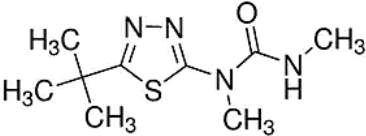
Tabela 3. Espécies vegetais comuns em áreas de cana-de-açúcar com indicação de controle por tebuthiuron.

Nome comum	Espécie
Amendoim-bravo	<i>Euphorbia heterophylla</i> L.
Beldroega	<i>Portulaca oleracea</i> L.
Capim-braquiária	<i>Urochloa decumbens</i> L. cv. Basilisk
Capim-carrapicho	<i>Cenchrus echinatus</i> L.
Capim-colchão	<i>Digitaria sanguinalis</i> L. Scop.
Capim-colonião	<i>Panicum maximum</i> Jacq. (PANMA)
Capim-marmelada	<i>Urochloa plantaginea</i> (Link) Hitchc.
Capim-pé-de-galinha	<i>Eleusine indica</i> . (L.) Gaertn
Carrapicho-rasteiro	<i>Acanthospermum australe</i> (Loefl.) O. Kuntze
Caruru-de-mancha	<i>Amaranthus viridis</i> L.
Corda-de-viola	<i>Ipomoea aristolochiaefolia</i> G.Don.
Falsa-serralha	<i>Emilia sonchifolia</i> (L.) DC EX.Winght
Guanxuma	<i>Sida rhombifolia</i> L.
Guanxuma-branca	<i>Sida glaziovii</i> . L. K. Schum.
Malva-branca	<i>Sida Cordifolia</i> L.
Picão-branco	<i>Galinsoga parviflora</i> Cav.
Picão-preto	<i>Bidens pilosa</i> L.
Poaia-branca	<i>Richardia brasiliensis</i> (Gomes)
Trapoeiraba	<i>Commelina benghalensis</i> L.

Fonte: COMBINE 500 SC (2019)

Apesar das vantagens agronômicas, o uso indiscriminado do tebuthiuron pode causar sérios danos ambientais. Conforme a **Tabela 4**, o herbicida é altamente solúvel em água (MERCURIO *et al.*, 2016) e pode facilmente ser transportando entre os perfis do solo (ROSSETTO; SANTIAGO, 2022). Por isso, a sua pulverização é recomendada em períodos que com menor probabilidade de ocorrer precipitações (COMBINE 500 SC, 2019). Além disso, tal molécula se apresenta com índice reduzido de sorção no solo devido ao seu baixo Kd (MATALLO *et al.*, 2005), cuja característica que sustenta a biodisponibilidade e mobilidade do herbicida, porém facilita na percolação ou lixiviação do produto em ecossistemas aquáticos e terrestres (IBAMA, 2019; TONIÊTO *et al.*, 2016; QIAN *et al.*, 2017).

Tabela 4. Características físico-químicas do herbicida tebuthiuron

Características	Componentes
Estrutura molecular	
Nome IUPAC	1-(5-tert-butyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)-1,3-dimethylurea
Fórmula molecular	C ₉ H ₁₆ N ₄ OS
Massa molecular	228,32 g mol ⁻¹
Ponto de fusão	162-164 °C
Solubilidade em água (Sw)	2,50 g L ⁻¹ a 20 °C
Pressão de vapor	3,0 x 10 ⁻⁷ mm Hg a 25 °C
Coeficiente de partição octanol/água (log Kow)	1,79
Efeito residual	12 a 18 meses
Constante de dissociação (pKA)	1,20
Coeficiente de sorção (Kd)	0,1 e 0,7 mL g ⁻¹

Fonte: PubChem (2021)

Outros parâmetros que podem intensificar a dispersão de tebuthiuron no ambiente são a textura edáfica e o teor de carbono no solo. De acordo com Pierri *et al.* (2022) e Teixeira *et al.* (2018), a sorção do herbicida é maior em solos argilosos quando comparado a solos arenosos em função do alto teor de carbono orgânico. Um estudo que avaliou o potencial de lixiviação do tebuthiuron em solos arenosos, mostrou que o herbicida é capaz de lixiviar em profundidade superior a 60 cm, indicando risco de contaminação em águas subterrâneas (SOUZA *et al.*, 2001). Segundo Bandeira *et al.* (2019) e Domene *et al.* (2012), a toxicidade ambiental dos pesticidas podem ser mais intensa em solos arenosos do que em solos argilosos.

Somado a isso, o período residual do respectivo pesticida é longo (**Tabela 4**), cuja característica é vantajosa no controle de plantas daninhas, porém pode intoxicar culturas utilizadas na rotação com a cana-de-açúcar (MEHDIZADEH *et al.*, 2019; WANG *et al.*, 2012). Além disso, o tebuthiuron é uma grande ameaça à saúde dos agricultores nas etapas de manuseio e pulverização do produto. Outro fator complicador pertinente a este herbicida é o

risco à segurança alimentar, pois os resíduos de tebuthiuron podem ser acumulados nos tecidos dos seres e transferidos posteriormente a níveis mais elevados das teias alimentares, prejudicando assim, os ecossistemas (GARCÍA-DELGADO *et al.* 2020; SILVA *et al.*, 2019; YERA *et al.*, 2020).

1.3 Despoluição ambiental: métodos remediatórios de pesticidas

Para atenuar a perturbação ambiental provocada pelo tebuthiuron, diversos métodos de remediação foram elaborados e executados por centros de pesquisas ambientais. Na literatura podem ser encontrados vários modos de remediação, tais como descrito abaixo.

Quanto ao local de ação:

- a) *Ex situ*: tratamento de pesticidas distante do ponto afetado em virtude de questões legislativas, éticas e/ou ambientais (SAM; ZABBEY, 2018; ZABBEY; SAM; ONYEBUCHI, 2017);
- b) *In situ*: tratamento de pesticidas no local afetado (KEMPA *et al.*, 2013; ODOH *et al.*, 2019).

Quanto aos tipos de remediação:

- a) Físicos: radiomarcagem (VITI *et al.*, 2021), termorremediação (DAVE; GHALY, 2011), foto-oxidação, lavagem do solo, incineração (AGARWAL; LIU, 2015), solidificação, vitrificação, encapsulamento, extração eletrocinética (LIU *et al.*, 2018), dentre outros;
- b) Químicos: imobilização química (LIU *et al.*, 2018), surfactantes (ZHENG; CHAI, 2016), dentre outros; e
- c) Biológicos: biorremediação (LIU *et al.*, 2018).

Contudo, a remediação *ex situ* e os métodos físico-químicos não são apenas caros, mas também provoca efeitos colaterais ao meio ambiente e, portanto, a implementação da remediação *in situ* e a biorremediação torna-se a solução mais eficaz e econômica para a despoluição ambiental (YANG *et al.*, 2009; WALLS, 2010).

1.3.1 Biorremediação: contextualização e benefícios ambientais

A biorremediação é uma abordagem tecnológica muito útil que visa utilizar diversos agentes bióticos, como fungos (micorremediação), alga

(fitorremediação), bactérias (bacterremediação), plantas (fitorremediação), anelídeos (vermirremediação), biomateriais porosos (bioadsorção), entre outros, para promover a recuperação ambiental (DAS; DASH, 2014; LUO *et al.*, 2017; ODOH *et al.*, 2019).

Tais agentes podem imobilizar o pesticida em suas estruturas (no caso da bioadsorção) ou transformá-los em moléculas inofensivas ao ambiente (ODUKKATHIL; VASUDEVAN, 2013). Além disso, pode até mesmo ocorrer a mineralização total da molécula produzindo água, (H₂O), monóxido de carbono (CO), dióxido de carbono (CO₂) e/ou metano (CH₄), através de fluxos enzimáticos (NWANKWEGU *et al.*, 2022; SINGH; WARD, 2004).

De acordo com Mercurio *et al.* (2016), a principal via de dissipação de herbicidas inibidores do FSII é por meio de processos microbiológico. Mercurio *et al.* (2015) evidenciaram que bactérias nativas podem degradar diuron, atrazina, hexazinona e tebuthiuron em ambientes aquáticos por meio de reações hidrolíticas. Tal processo denomina-se atenuação natural (LOPES *et al.*, 2022). No entanto, para o ecossistema edáfico, investigações aprofundadas sobre as rotas de metabolização microbiológica do herbicida tebuthiuron são escassas. Uma justificativa para isso é o alto grau de resistência do herbicida a processos microbiológicos com risco significativo e prolongado a organismos não-alvos (DAM *et al.*, 2004). Ainda assim, trabalhos recentes elencados a atenuação natural mostraram que o microbioma é eficientemente capaz de dissipar paulatinamente o herbicida tebuthiuron (FARIA *et al.*, 2019^{a, b}; LIMA *et al.*, 2022; NANTES *et al.*, 2022; NEVES *et al.*, 2021).

1.3.2 Fitorremediação: contextualização, vantagens e desvantagens

Embora a atenuação natural seja capaz de dissipar os pesticidas, o processo microbiológico pode ser demorado e, em alguns casos ineficaz, sendo necessária a complementação com demais estratégias de biorestauração, bem como a fitorremediação. Este processo utiliza plantas para remover, imobilizar ou decompor moléculas nocivas ao ambiente (GARCIA *et al.*, 2018). A popularidade de tal estratégia é devido a sua fácil adoção em ambientes contaminados (BHARDWAJ; RAJPUT; MISRA, 2019), expressando uma abordagem estritamente correta do ponto de vista econômico e ecológico

(BROWN *et al.*, 2017), além da maioria das plantas evitarem poluições secundárias (WEI *et al.*, 2021).

De acordo com Cheng *et al.* (2017) e Sarapirom *et al.* (2022), a fitorremediação pode ser dividida em mecanismos, tais como fitoextração, fitofiltração, fitoestabilização, fitovolatilização, fitodegradação e rizodegradação:

- a) Fitoextração: as plantas são capazes de absorver e acumular os pesticidas em seus órgãos e tecidos;
- b) Fitofiltração: absorção e acúmulo de pesticidas, principalmente em sistemas radiculares;
- c) Fitoestabilização: a imobilização de pesticidas ocorre por meio de exsudados vegetais ou pelas próprias raízes, reduzindo a disponibilidade da molécula no solo;
- d) Fitovolatilização: as plantas absorvem os pesticidas e libera-os na atmosfera. Durante este processo, a molécula pode ser transformada em um algo mais inofensivo ao ambiente;
- e) Fitodegradação: as plantas são capazes de absorver e metabolizar os pesticidas por meio de processos enzimáticos;
- f) Rizodegradação: os vegetais absorvem e degradam os pesticidas nos sistemas radiculares em conjunto com a comunidade microbiana edáfica. Tais órgãos sorvem e estabilizam os pesticidas e quando inativos adicionam matéria orgânica ao ambiente, o que pode aumentar a sorção das moléculas, estimulando indiretamente atividade microbiana.

Portanto, antes de implementar qualquer esquema fitorremediador, é preciso ter um pré-conhecimento das espécies que serão utilizadas (JUWARKAR; JAMBHULKAR, 2008). Segundo Arreghini *et al.* (2017) e Wei *et al.* (2021), os potenciais fitorremediadores devem possuir as seguintes características:

- 1. Tolerar altas concentrações dos pesticidas;
- 2. Rápida taxa de crescimento;
- 3. Alta produção de fitomassa;
- 4. Sistema radicular medianamente profundo;
- 5. Resistente à déficits hídricos, pragas e doenças;
- 6. Fácil descarte, colheita ou processamento;

7. Pouca ou nenhuma necessidade de fertilização;
8. Repulsivo à herbívoros e/ou onívoros, para evitar contaminações nas teias alimentares e;
9. Melhoria na qualidade química, física e biológica do solo.

Diante desses pré-requisitos, ao longo de décadas diversos autores testaram espécies vegetais (leguminosas, gramíneas e arbóreas) para avaliar a sua eficiência em remediar solos que estejam contaminados com o herbicida tebuthiuron (**Tabela 5**).

Tabela 5. Espécies testadas para fitorremediar o herbicida tebuthiuron em solos agrícolas

Nome comum	Nome científico	Categorização
Burra-leiteira	<i>Chamaesyce hyssopifolia</i> L.	Gramínea
Caruru-roxo	<i>Amaranthus hybridus</i> L.	Gramínea
Crotalária	<i>Crotalaria juncea</i> L. cv. Comum	Leguminosa
Crotalária	<i>Crotalaria spectabilis</i> (Roth.)	Leguminosa
Embaúba-prateada	<i>Cecropia hololeuca</i> (Miq.)	Arbórea
Erva-de-santa-luzia	<i>Chamaesyce hirta</i> L.	Gramínea
Feijão-de-porco	<i>Canavalia ensiformis</i> L.	Leguminosa
Feijão-guandu	<i>Cajanus cajan</i> (L.) Millsp	Leguminosa
Girassol	<i>Helianthus annuus</i> L.	Gramínea
Lab-lab	<i>Dolichos lablab</i> L.	Leguminosa
Milheto	<i>Pennisetum typhoides</i> (Burm.f.) Stapf & C.E.Hubb	Gramínea
Milheto	<i>Pennisetum glaucum</i> L. R.Br.	Gramínea
Mucuna-anã	<i>Mucuna deeringiana</i> L.	Leguminosa
Mucuna-cinza	<i>Mucuna pruriens</i> L. var Pruriens	Leguminosa
Mucuna-preta	<i>Stizolobium Aterrimum</i> Piper & Tracy	Leguminosa
Nabo	<i>Raphanus raphanistrum</i> L.	Leguminosa
Pau-pólvora	<i>Trema micranta</i> L.	Arbórea
Tremoço-branco	<i>Lupinus albus</i> L.	Leguminosa
Xique-xique	<i>Crotalaria incana</i> L.	Leguminosa

Fonte: Própria autoria (2023).

Nota-se que na maioria desses estudos, as espécies leguminosas foram as que mais se destacaram na fitorremediação do herbicida (**Tabela 6**). Tais

plantas são normalmente utilizadas como adubos verdes para recuperação ambiental, tanto no quadro florístico ou faunístico (TOZSER; MAGURA; SIMON, 2017; WONG, 2003).

Tabela 6. Espécies eficientes na fitorremediação do herbicida tebuthiuron em solos agrícolas

Nome científico	Categorização	Autores
<i>Cecropia hololeuca</i> (Miq.)	Arbórea	Bicalho e Langenbach (2013)
<i>Pennisetum glaucum</i> (L.) R.Br.	Gramínea	Ferreira <i>et al.</i> (2021b)
<i>Mucuna pruriens</i> L. cv Pruriens	Leguminosa	Ferreira <i>et al.</i> (2021b)
<i>Canavalia ensiformis</i> L.	Leguminosa	Mendes <i>et al.</i> (2021)
<i>Stizolobium aterrimum</i> Piper & Tracy	Leguminosa	Mendes <i>et al.</i> (2021)
<i>Stizolobium aterrimum</i> Piper & Tracy	Leguminosa	Pires <i>et al.</i> (2003)
<i>Canavalia ensiformis</i> L.	Leguminosa	Pires <i>et al.</i> (2005)
<i>Lupinus albus</i> L.	Leguminosa	Pires <i>et al.</i> (2005)

Fonte: Adaptado pelo próprio autor (2023).

Apesar dos inúmeros benefícios agronômicos e ambientais supracitados, a fitorremediação também tem suas desvantagens, como:

- a) longo período de despoluição ambiental (MAHAR *et al.*, 2016);
- b) lenta taxa de crescimento das plantas (MAHAR *et al.*, 2016);
- c) dificuldade de imobilização de alguns pesticidas (ODOH *et al.*, 2019);
- d) em casos severos, não é recomendado a sua implementação (ODOH *et al.*, 2019; SARAPIROM *et al.*, 2022);
- e) sazonalidade de cultivo (ODOH *et al.*, 2019; SARAPIROM *et al.*, 2022);
- f) morte de genótipos não adaptados ao ambiente (MENDES *et al.*, 2021);
- g) desafiador aos sistemas de produção na entressafra (FERREIRA *et al.*, 2021b; MENDES *et al.*, 2021), e;
- h) realização de pesquisas a longo prazo para encontrar plantas que possam lidar com os pesticidas (WEI *et al.*, 2021).

Portanto, para corrigir esses inconvenientes e melhorar a eficiência do processo remediativo, muitos pesquisadores têm aprimorado métodos

consorciados, bem como o *pool in situ* de microrganismos em solo contaminado com herbicidas (GIROLKAR; THAWALE; JUWARKAR, 2021; RAIMONDO *et al.*, 2020), cuja técnica denomina-se bioaugmentação (LOPES *et al.*, 2022).

1.3.3 Bioaugmentação: contextualização, vantagens e desvantagens

Tal estratégia utiliza microrganismos, seja ele autóctones, alóctones ou geneticamente modificados para aumentar a biodegradação dos pesticidas no ambiente (DAS; DASH, 2014; GOSWAMI *et al.*, 2018). A popularidade da bioaugmentação dá-se pela simplicidade de seu uso (LIU *et al.*, 2018), com custo relativamente baixo, gerando mínimo impacto ambiental (REHAN *et al.*, 2014).

Segundo Nwankwegu *et al.* (2022), o processo de bioaugmentação inicia-se através da identificação, seleção e reprodução de microrganismos existentes no local contaminando. Concluída essas etapas, a inoculação microbiana pode ser realizada. Outra forma de acelerar o processo biorremediatório é a inserção de microrganismos selvagens no local contaminado com pesticidas (PERRUCHON *et al.*, 2017). Ambas as situações são permitidas nessas áreas, desde que ocorre desequilíbrio ecológico no ecossistema.

Na literatura científico-ambiental não há relatos da prática de bioaugmentação em solo com o herbicida tebuthiuron, no entanto, foram encontrados alguns estudos que identifica quais microrganismos atuam na biodegradação desse herbicida, além de possíveis rotas metabólicas formadas. De acordo com Sheldon *et al.* (1996), o gênero bacteriano gram-positivo *Streptomyces* tem a capacidade de degradar o tebuthiuron.

Mostafa e Helling (2003) também descobriram que os gêneros bacterianos *Methylobacterium*, *Rhodococcus*, *Paenibacillus* e *Microbacterium* podem dissipar tal pesticida.

Os sistemas de cultivo e também influenciam na taxa degradativa do herbicida. Esta afirmação pode ser comprovada por Lima *et al.* (2022), no qual os autores selecionaram potenciais microrganismos degradadores de tebuthiuron em diferentes de produção canavieira (cultivo convencional e plantio direto). Por meio do balanço respiratório, os autores concluíram que a

integração microbiana dos dois cultivos elevou a taxa degradativa do respectivo herbicida.

Complementarmente, foram encontrados outros estudos envolvendo a bioaugmentação associado ou não com a fitorremediação em solo com herbicidas do mesmo grupo químico do tebuthiuron (fenilureias). Yan *et al.* (2018) combinaram *Arabidopsis thaliana* L. com um gênero de alfaproteobactérias denominado *Sphingobium*, para mineralizar o intermediário de isoproturon (IPU; o PH típico). Houve benefícios mútuos nessa combinação, pois os exsudados da planta “nutriram” as cepas microbianas, e em troca, tal comunidade protegeu a planta da fitotoxicidade do herbicida, elevando assim, a eficiência de remoção do pesticida.

Alba, Esmeralda e Jaime (2022) concluíram que o bioaumento de *Ochrobactrum anthropi* potencializou a remoção do herbicida diuron. Trabalhando com essa mesma molécula, Duc *et al.* (2022) potencializou a sua degradação por meio de três cepas bacterianas (*Bacillus subtilis*, *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas* sp.) oriundas de áreas de produção canavieira.

Apesar desses celebres benefícios, a bioaugmentação possui algumas limitações que dificultam a recuperação quimio-ambiental do local afetado, tais como variação da biodisponibilidade do pesticida, dispersão limitada dos microrganismos inoculados na matriz do solo (SARAPIROM *et al.*, 2022), rápida diminuição da viabilidade microbiana, possível formação de metabólicos mais tóxicos que a molécula original durante a biorremediação (SINGH; WARD, 2004), possibilidade de competição por nutrientes entre o inoculado e a microbiota nativa (SINGH, 2018), alterações edafoclimáticas (temperatura, pH, oxigenação, umidade, potencial redox, salinidade, entre outros) (NWANKWEGU *et al.*, 2022; RANDIKA *et al.*, 2022).

Portanto, cada estratégia possui variabilidades funcionais ao efetuar a restauração ambiental e, para solucionar esses gargalos operacionais, a combinação da fitorremediação e bioaugmentação torna-se fundamental para uma depuração ambiental mais eficaz.

1.4 Comportamento ambiental de pesticidas: contextualização

Embora as estratégias de biorremediação sejam soluções sustentáveis à recuperação ambiental, a dissipação dos pesticidas não pode ser comprovada

somente por um único método analítico, pois algumas moléculas possuem elevada persistência no ambiente (SILVA *et al.*, 2019). Além disso, durante os processos remediatórios os pesticidas podem ser convertidos em compostos intermediários mais tóxicos do que a molécula original (HESHMATI *et al.*, 2020; NAG; RAIKWAR, 2011; ROCHA *et al.*, 2018).

Associado às diversas normativas que delimitam a quantidade residual de pesticidas na água e no solo, os efeitos deletérios das moléculas antes, durante e após a biorremediação devem ser mensurados, visto que essas análises auxiliam na tomada de decisão sobre os procedimentos a serem adotados em função de tal contaminação (PANICO *et al.*, 2022). Os métodos mais comuns realizados por centros de pesquisas são o cultivo *in situ* de plantas bioindicadoras e a realização de bioensaios ecotoxicológicos utilizando organismos-teste.

1.4.1 Cultivo de plantas bioindicadoras: contextualização e espécies utilizadas

Normalmente, o cultivo de plantas bioindicadoras (também denominada planta sentinela) se inicia após o término da biorremediação. Se a planta demonstrar efeitos fitotóxicos em suas estruturas vegetais, pode ser um indício da presença do pesticida no ambiente. Através de ensaios preliminares, foram encontradas algumas espécies sensíveis a este herbicida como descrito na tabela na **Tabela 7**.

Tabela 7. Espécies sensíveis ao herbicida tebuthiuron

Nome comum	Nome científico	Autores
Alface	<i>Lactuca sativa</i> L.	Ferreira et al. (2021 ^a)
Amendoim	<i>Arachis hypogaea</i> L.	Ferreira et al. (2021 ^a)
Aveia	<i>Avena sativa</i> L.	Ferreira et al. (2021 ^a)
Aveia-preta	<i>Avena strigosa</i> L.	Pires et al. (2005)
Braquiária	<i>Urochloa brizantha</i> (Hochst.) Stapf.	Ferreira et al. (2021 ^a)
Crotalária	<i>Crotalaria juncea</i> L. cv. Comum	Pires et al. (2008)
Pepino	<i>Cucumis sativus</i> L.	Faria et al. (2018)
Soja	<i>Glycine max</i> (L.) Merr.	Pires et al. (2006)
Sorgo	<i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench.	Ferreira et al. (2021 ^b)

Fonte: Adaptado pelo próprio autor (2023).

Sendo assim, Pires *et al.* (2005) compreenderam que apenas o fitorremediador feijão-de-porco conseguiu diminuir o efeito fitotóxico de tebuthiuron em plantas de aveia-preta, proporcionando maior altura às elas.

Pires *et al.* (2006) e (2008) em vossos trabalhos, revelaram que o cultivo prévio de feijão-de-porco, tremoço-branco e mucuna-preta garantiram à soja e crotalária maior altura de plantas, alta produção de biomassa e menor fitotoxicidade em suas estruturas vegetais.

Já nos estudos de Ferreira *et al.* (2021b), a mucuna-cinza e o milho em associação com a vinhaça como fonte de carbono, podem descontaminar o solo eficazmente possibilitando o desenvolvimento saudável da planta bioindicadora crotalária na presença de tebuthiuron residual.

1.4.2 Bioensaios ecotoxicológicos: contextualização, inferências metodológicas

Através dos bioensaios ecotoxicológicos, é possível estimar o grau de periculosidade ambiental dos pesticidas (ou seus metabólitos secundários) em organismos vivos.

Porém, antes de realizar qualquer bioensaio ecotoxicológico é preciso definir as etapas experimentais. Ao longo de décadas, vários autores como Aragão e Araújo (2006), Azevedo e Chasin (2004), Boock e Neto (2000), Martinez *et al.* (2019), Sobrero e Ronco (2004) pré-definiram as conduções dos experimentos: o primeiro passo é escolher o organismo a ser testado, podendo ele ser animal ou vegetal. Preferencialmente, este organismo tem que ser sensível ao contaminante, além de apresentarem fácil manejo e rápida obtenção de resultados; após a seleção do organismo-teste, determina-se a duração da sua exposição ao contaminante, como curta (aguda), intermediária (sub-crônica) e longa (crônica); posteriormente, são criterizados as principais vias de entrada dos pesticidas, tais como órgãos, tecidos ou células-alvo; por fim, são realizadas avaliações nos organismos testados:

- a) animais: reprodução, mecanismos de sobrevivência, metabolização, alimentação, alterações morfológicas internas ou externas (PELOSI; RÖMBKE, 2016; SŁAWSKI; SŁAWSKA, 2020);
- b) vegetais: fitointoxicação, normalidade de germinação, desenvolvimento aéreo e radicular (VECHIA *et al.*, 2021).

Salienta-se que durante a preparação experimental, o estabelecimento dos grupos-controle é imprescindível à obtenção e análise de dados. Um deles é a utilização do controle negativo, no qual o grupo amostral reflete à condição saudável, sem manifestação de efeitos deletérios.

Além disso, a fim de facilitar a comparação de resultados e possibilitar uma visão holística sobre tal molécula, metodologias e avaliações foram padronizadas por várias instituições, tais como a “Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE)”, a “Organização Internacional de Normalização (©)”, “Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT)”, “Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA)” entre outros. Logo, os experimentos ecotoxicológicos conduzidos com a mesma molécula em diferentes situações e/ou localidades podem ser comparados entre si.

Ao longo da revisão de literatura foram encontrados alguns trabalhos que vinculam o uso de estratégias de biorremediação do herbicida tebuthiuron e bioensaios ecotoxicológicos. Faria *et al.* (2019a) avaliaram a toxicidade do solo de manejo convencional em áreas de cana-de-açúcar, antes, durante e após o processo de atenuação natural. Os autores concluíram que a dose indicada pelo produto comercial não afetou negativamente o desenvolvimento do organismo-teste (alface). A explicação mais plausível, de acordo com os próprios autores é que talvez o solo de cultivo convencional utilizado nos ensaios experimentais possua material nutritivo (fertilizantes sintéticos, vinhaça e detritos vegetais) que pode ter contribuído positivamente na eficiência da atenuação natural.

Resultados semelhantes também foram encontrados por Neves *et al.* (2021) testando amostras de solo oriundo da produção orgânica. Segundo esses autores, a presença da vinhaça foi o fator determinante para a redução da toxicidade de amostras de solo em sementes de alface.

Por outro lado, Ferreira *et al.* (2021b) validaram a eficácia da fitorremediação (mucuna-cinza e milho) e bioestimulação (vinhaça) através da germinação normal de sementes de alface.

Os resultados de Nantes *et al.* (2022) mostraram que a atenuação natural em conjunto com a vinhaça foi capaz de reduzir a toxicidade do herbicida tebuthiuron e do inseticida tiametoxam no solo, pois houve o aumento

no índice de germinação das sementes de alface ao longo das análises temporais.

De acordo com o experimento de Lima *et al.* (2022), as amostras de solo contendo consórcio entre inóculos microbianos do sistema convencional e plantio direto, mineralizaram eficazmente o tebuthiuron, fazendo com que as sementes de alface tivessem maior porcentagem de germinação, além de estarem saudáveis ao longo do processo biorremediativo.

Em concordância ao cenário contextualizado, a combinação das técnicas de biorremediação e testes de verificação toxicológica é fundamental para compreender a dinâmica dos pesticidas no ambiente, e por fim, acelerar a recuperação ambiental em agroecossistemas, como as áreas de produção intensiva de cana-de-açúcar.

Durante a investigação do estado-da-arte das metodologias de remoção de tebuthiuron em solos agrícolas, não foram encontrados trabalhos publicados que utilizam a combinação da fitorremediação e bioaumentação para tal fim, o que torna essa pesquisa original e inédita. Além disso, o presente trabalho está fundamentado dentro dos “Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU, em especial ao 02 (Fome zero e agricultura sustentável), ao 12 (Consumo e produção responsável) e ao 15 (Vida terrestre).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a tolerância e capacidade de fitorremediação da mucuna-cinza (*Mucuna pruriens* L. var. *Pruriens*) e feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* L.) associado a inoculantes microbianos em solo com o herbicida tebuthiuron.

2.2 Objetivos específicos

Avaliar o desenvolvimento dos potenciais fitorremediadores mucuna-cinza e feijão-de-porco em solo com inoculante líquido ou sólido e tebuthiuron;

Avaliar o desenvolvimento da planta bioindicadora crotalária após o experimento biorremediatório.

Determinar o potencial ecotoxicológico das amostras de solo dos tratamentos antes, durante e após o experimento biorremediatório utilizando sementes de alface como organismo-teste.

Quantificar a concentração de tebuthiuron no solo antes e após o experimento biorremediatório.

Ajustar modelos matemáticos relacionando a presença ou ausência de plantas, herbicidas e inoculantes microbianos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local e período de experimentação

A pesquisa foi executada entre setembro/2021 e março/2022, na Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas (FCAT) – Câmpus de Dracena, Universidade Estadual Paulista (UNESP), tal como ilustrado na **Figura 2**.

Figura 2. Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena. (A) Imagem importada de um satélite; e (B) Portaria da faculdade.



Fonte: Google Imagens (2023).

O experimento de biorremediação e o cultivo de planta bioindicadora foram realizados em uma estufa agrícola do GAIA (Grupo de Ação em Impactos Ambientais) situado na Latitude-Oeste 21.457273 e Longitude-Sul 51.556369. Os bioensaios ecotoxicológicos foram desenvolvidos no laboratório também pertencente ao GAIA.

3.2 Solo

O solo classificado previamente como Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico foi adquirido de um estabelecimento da região de Dracena especializado na comercialização de produtos agrícolas e afins. Ressalta-se que nele não há indícios de qualquer tratamento fitossanitário nos últimos anos.

Após a sua aquisição, o solo foi encaminhado para a estufa agrícola, para que, posteriormente, algumas amostras fossem secas, peneiradas em

malha de 2,0 mm e acondicionadas em recipientes plásticos hermeticamente fechados para caracterização química. Além disso, ao final do período experimental, também foram coletadas amostras de solo para possível análise química. Tais informações foram disponibilizadas na **Tabela 9**.

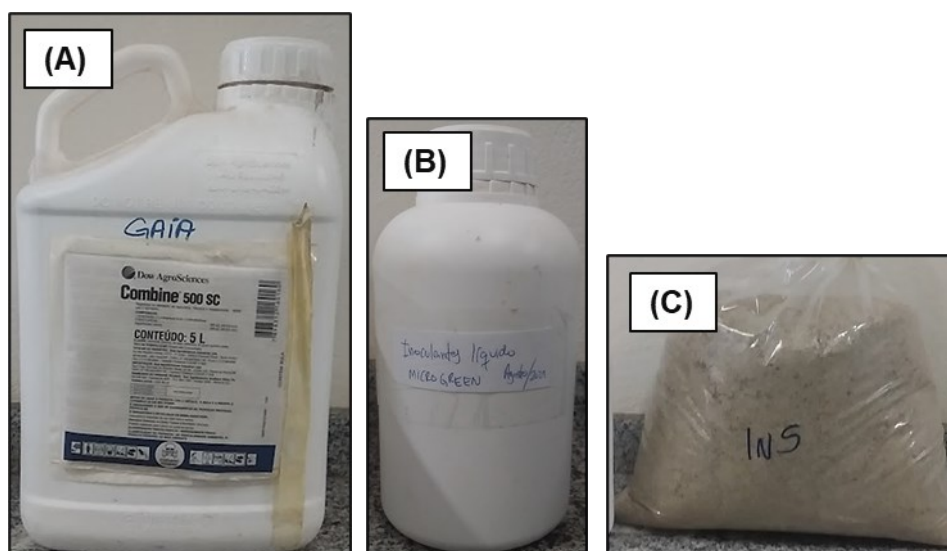
Estas determinações foram realizadas no Laboratório de Fertilidade do solo, do Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos, da Faculdade de Engenharia (FE) – Câmpus de Ilha Solteira/UNESP.

3.3 Herbicida tebuthiuron e inoculantes microbianos

O herbicida tebuthiuron (**Figura 3A**) obtido por meio do produto comercial COMBINE® 500 SC – Dow AgroSciences Industrial Ltda. (Lote: 041-14-2000).

Os inoculantes (**Figura 3B e 3C**) foram cedidos pela empresa MICROGREEN® Soluções Biotecnológicas Ltda., cuja aplicação é para a restauração da microbiota em solos agrícolas. Nesse sentido, utilizou-se inoculante líquido, que possui maior concentração de indivíduos bacterianos e inoculante sólido, com quantidade elevada de espécimes fúngicas.

Figura 3. Produtos adquiridos para instalação experimental. (A) Herbicida tebuthiuron; (B) Inoculante líquido; e (C) Inoculante sólido.



Fonte: Própria autoria (2021)

3.4 Espécies vegetais

3.4.1 Potenciais fitorremediadores

A mucuna-cinza e o feijão-de-porco foram escolhidos conforme a sua capacidade de remediar solos com pesticidas, principalmente o herbicida tebuthiuron, além de seu elevado potencial agrícola em melhorar a qualidade do solo, sendo que tais plantas, normalmente são utilizados como adubos verdes na rotação de cultura com a cana-de-açúcar (FERREIRA *et al.*, 2021b; MADALÃO *et al.*, 2016). As sementes dessas plantas foram adquiridas no estabelecimento agrícola SEMENTES PIRAI[®] Ltda., pela marca BR SEEDS (lote 01 para a mucuna-cinza e lote 19-1-20 para feijão-de-porco).

Figura 4. Sementes das espécies potencialmente fitorremediadoras. (A) *M. pruriens* e (B) *C. ensiformis* L.



Fonte: Própria autoria (2023)

3.4.2 Planta bioindicadora

As razões pelas quais escolheu-se a crotalária como planta bioindicadora fundamentam-se na elevada sensibilidade que esse vegetal possui quando o herbicida está presente, além da mesma ser cultivada no período que corresponde à reforma de canais (PIRES *et al.*, 2008). As sementes dessa espécie foram adquiridas na Sementes Pirai[®].

Figura 5. Sementes de *C. juncea*.



Fonte: Própria autoria (2023)

3.4.3 Organismo-teste

Para avaliação da toxicidade do solo, utilizou-se sementes de alface como organismo-teste de acordo com as recomendações de Sobrero e Ronco (2004). As sementes foram adquiridas em estabelecimento comercial da região de Dracena pelo produto Feltrin Sementes® (variedade: Alface Americana; Lote: 00831020000030).

Figura 6. Sementes de *L. sativa*



Fonte: Própria autoria (2023)

3.5 Delineamento experimental

A pesquisa foi planejada e conduzida em um delineamento inteiramente casualizado, com sete replicatas, sob esquema fatorial triplo, resultando no

total 126 unidades experimentais. Nesse sentido, foram considerados os seguintes fatores:

1º Fator: ausência ou presença da dose recomendada de tebuthiuron (2 níveis);

2º Fator: ausência de inoculantes microbianos, presença da dose recomendada de inoculante líquido ou inoculante sólido (3 níveis);

3º Fator: ausência de plantas potencialmente fitorremediadoras, presença de mucuna-cinza ou feijão-de-porco (3 níveis).

Para facilitar a identificação dos tratamentos na apresentação dos resultados, os fatores de variação (herbicida, inoculante e planta) foram nomeados com siglas, tal como descrito na **Tabela 8**.

Tabela 8. Identificação dos tratamentos conforme a sua sigla

Tratamento	Herbicida	Inoculante	Planta
T1	-	-	-
T2	-	-	MP
T3	-	-	CE
T4	-	Liq	-
T5	-	Liq	MP
T6	-	Liq	CE
T7	-	Sol	-
T8	-	Sol	MP
T9	-	Sol	CE
T10	TBT	-	-
T11	TBT	-	MP
T12	TBT	-	CE
T13	TBT	Liq	-
T14	TBT	Liq	MP
T15	TBT	Liq	CE
T16	TBT	Sol	-
T17	TBT	Sol	MP
T18	TBT	Sol	CE

Legenda: TBT – Tebuthiuron; Liq – Inoculante líquido; Sol – Inoculante sólido; MP – *Mucuna pruriens*; CE – *Canavalia ensiformis*.

Fonte: Própria autoria (2023)

3.6 Preparação das unidades experimentais

Ressalta-se que o preparo do solo nos vasos com diferentes configurações e os ensaios laboratoriais foram realizados conforme metodologia proposta Faria *et al.* (2019a, b), Ferreira *et al.* (2021b), Lima *et al.* (2022), Nantes *et al.* (2022) e Neves *et al.* (2021).

3.6.1 Correção da fertilidade e acidez do solo

Antes da instalação experimental, realizou-se a correção da acidez e fertilidade de 504 kg de solo por meio da aplicação de calcário (454 g), ureia (10 g), superfosfato simples (56 g) e cloreto de potássio (13 g) (**Figura 7**), para que posteriormente, vasos de aproximadamente 4 L fossem completamente preenchidos.

Figura 7. Insumos agrícolas utilizados na correção do solo. **(A)** Calcário; **(B)** Ureia, superfosfato simples e cloreto de potássio; **(C)** Mistura dos insumos agrícolas no solo; e **(D)** Umedecimento do solo.



Fonte: Própria autoria (2023).

3.6.2 Inoculação microbiana

Os inoculantes microbianos líquido (Liq) e sólido (Sol) foram adicionados e incorporados ao solo de acordo com as recomendações do fabricante. Sendo

assim, o inoculante sólido foi colocado na proporção $0,36 \text{ g vaso}^{-1}$ e o líquido aplicado a 50 mL vaso^{-1} . A aplicação de ambos os inoculantes foi realizada diretamente nos vasos de acordo com seus tratamentos.

Figura 8. Separação de vasos para inoculação microbiana.



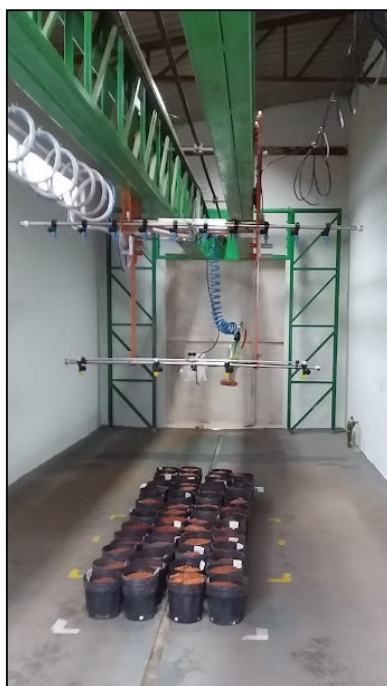
Fonte: Própria autoria (2021).

3.6.3 Pulverização do herbicida

Após três dias da incorporação do inoculante no solo, realizou-se a pulverização do herbicida COMBINE® na dose $2,0 \text{ L p.c. ha}^{-1}$ ($1000 \text{ g i.a. ha}^{-1}$), cujo dose é recomendado para solos de textura arenosa. As aplicações do produto ocorreram por meio de um pulverizador laboratorial constituído por 4 pontas de jato plano XR 11002 com pressão de 2 bar (vazão de $0,65 \text{ L min}^{-1}$), tal como ilustrado na **Figura 9**.

Seguindo as recomendações do fabricante, o tebuthiuron (TBT) foi pulverizado na velocidade de 5 km h^{-1} , com altura da barra de 0,75 m em relação ao topo dos vasos proporcionando um volume de aplicação de 156 L ha^{-1} . Durante pulverização, houve o monitoramento integral das condições ambientais do local, sendo que a temperatura e umidade registrada foi de $27,2^\circ\text{C}$ e 63%. É importante salientar que os tratamentos com ausência de tebuthiuron tinham o mesmo volume de água aplicado naqueles com a adição desses compostos.

Figura 9. Aplicação do herbicida tebuthiuron



Fonte: Própria autoria (2021).

3.7 Semeadura das espécies vegetais

Sete dias após a aplicação do herbicida, efetuou-se a semeadura de três sementes de feijão-de-porco (CE) e mucuna-cinza (MP) em cada vaso de acordo com o delineamento experimental, tal como ilustrado na **Figura 10A e 10B**. As plantas foram mantidas até o período de florescimento que corresponde 70 dias após a semeadura (DAS) (**Figura 10C**).

Após a retirada das espécies potencialmente fitorremediadoras, foi feito a semeadura de três sementes de crotalária em todas as unidades experimentais (vasos), sendo que a planta sentinela foi cultivada até o período de florescimento que corresponde aproximadamente 70 DAS.

Destaca-se que os vasos foram irrigados diariamente com objetivo de garantir boas condições de desenvolvimento aos vegetais. O sistema de irrigação da estufa agrícola foi composto por microaspersores verticalmente suspensos que funcionavam automaticamente 4 vezes por dia durante 50 minutos.

Figura 10. Experimento com as espécies vegetais. (A) Sementes de *C. ensiformis* e *M. pruriens* (B) Semeadura nos vasos. (C) Cultivo das espécies vegetais em DIC.



Fonte: Própria autoria (2021).

3.8 Avaliações nos experimentos

3.8.1 Espécies vegetais

Em todas as espécies vegetais (mucuna-cinza, feijão-de-porco e crotalária) mensurou-se semanalmente o desenvolvimento das plantas coletando dados de altura em cm com auxílio de uma trena (**Figura 11**).

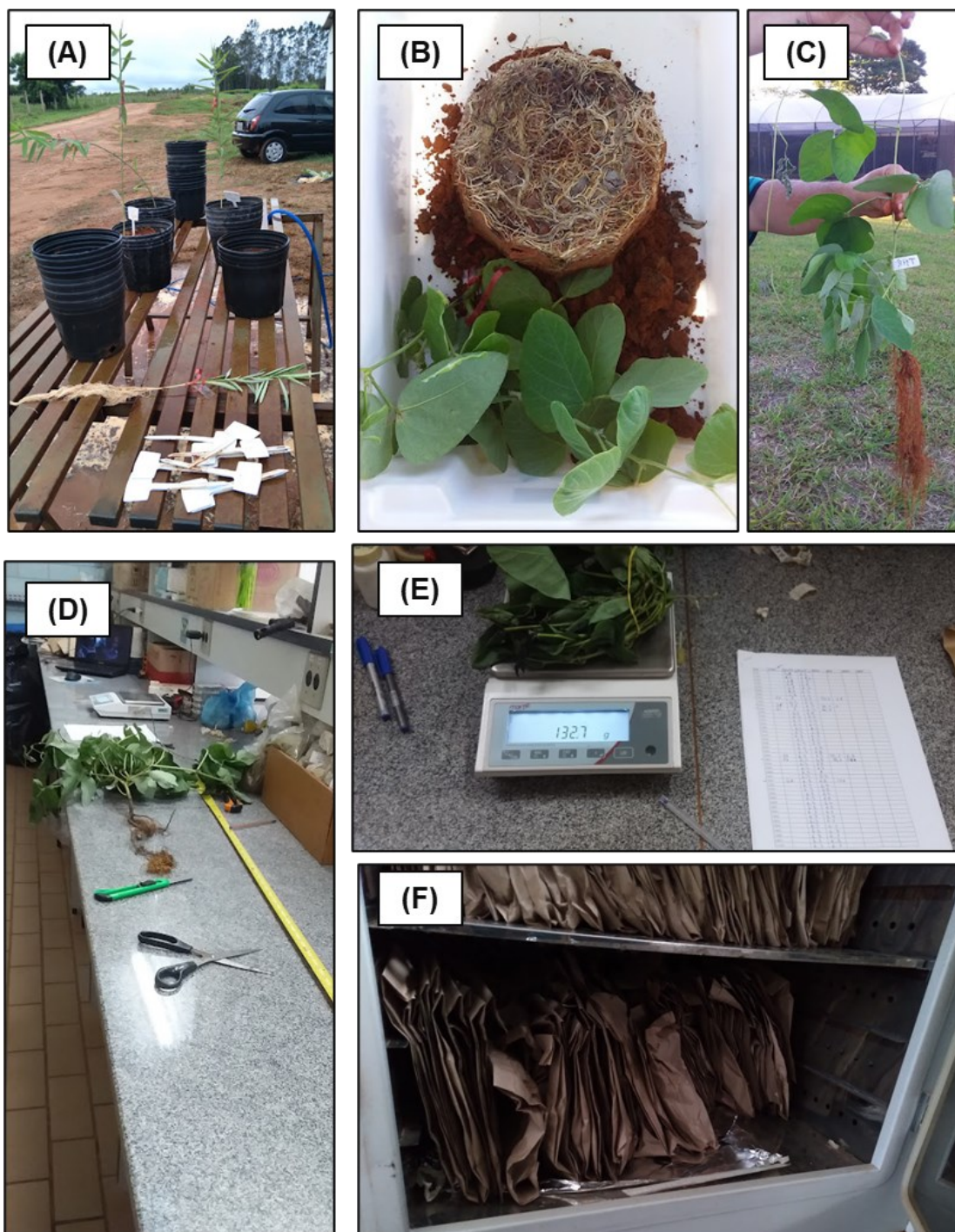
Figura 11. Imagem meramente ilustrativa mostrando o desenvolvimento de *M. pruriens* entre 0 DAS e 14 DAS.



Fonte: Própria autoria (2021)

Aos 70 DAS, as plantas (mucuna-cinza, feijão-de-porco e crotalária) de cada tratamento foram retiradas cuidadosamente das unidades experimentais, lavadas e, em seguida, foram acondicionados em uma estufa de circulação forçada de ar a 65 °C por 72 horas, para que posteriormente, ocorresse coleta de informações sobre a biomassa seca (g). (**Figura 12**).

Figura 12. Plantas sendo removidas dos vasos, pesadas e secadas. **(A)** Lavagem das plantas de *C. juncea*; **(B)** Planta de *M. pruriens* dentro da bandeja; **(C)** Planta de *M. pruriens* vista longitudinalmente; **(D)** Conferência do comprimento da *M. pruriens*; **(E)** Aferição da biomassa fresca de *M. pruriens*; e **(F)** Plantas dispostas em estufa para secagem.



Fonte: Própria autoria (2021).

3.8.2 Bioensaios ecotoxicológicos

O monitoramento do potencial ecotoxicológico dos tratamentos foi realizado utilizando sementes de alface como organismo-teste nos tempos: 0 (inicial da mucuna-cinza e feijão-de-porco), 20, 40, 60, 70 (final da mucuna-cinza e feijão-de-porco) e 140 DAS (final da crotalária).

Nesse sentido, realizou-se cinco replicatas a partir do extrato aquoso (solubilizado) do solo, de acordo com a NBR 10006 (ABNT, 2004). O método baseou-se na dissolução de 25g de solo em 100 mL de água deionizada em frascos *Erlenmeyer* 250 mL. Posteriormente, esses frascos foram lacrados com plástico filme de PVC, agitados por cinco minutos em velocidade baixa (120 rpm) e incubadas em uma BOD sem iluminação interna a 20 ± 2 °C por 7 dias. As práticas metodológicas estão ilustradas na **Figura 13**.

Em seguida, segundo a metodologia experimental de Sobrero e Ronco (2004), realizou-se a aplicação de 2,0 mL do solubilizado em placas de Petri contendo papel filtro e 10 sementes de alface. As placas foram envolvidas com plástico filme de PVC para evitar perda de umidade, e estas, posteriormente, incubadas em uma BOD com iluminação interna controlada (fotoperíodo de 12 horas diárias de luz) a 20 ± 2 °C por 5 dias. Controles positivo (CP) e negativo (CN) também foram preparados utilizando sulfato de zinco a 0,05 M e água deionizada, respectivamente, para testar a sensibilidade das sementes (**Figura 14**).

Por fim, coletou-se informações em relação a germinação das sementes, alongamento do hipocótilo e da raiz. Através desses dados foi possível calcular o índice de germinação total das sementes de alface, conforme demonstrado na Equação 1 de Labouriau e Agudo (1987):

$$IG = \frac{G\% \times R\%}{100} \quad \text{Equação 1}$$

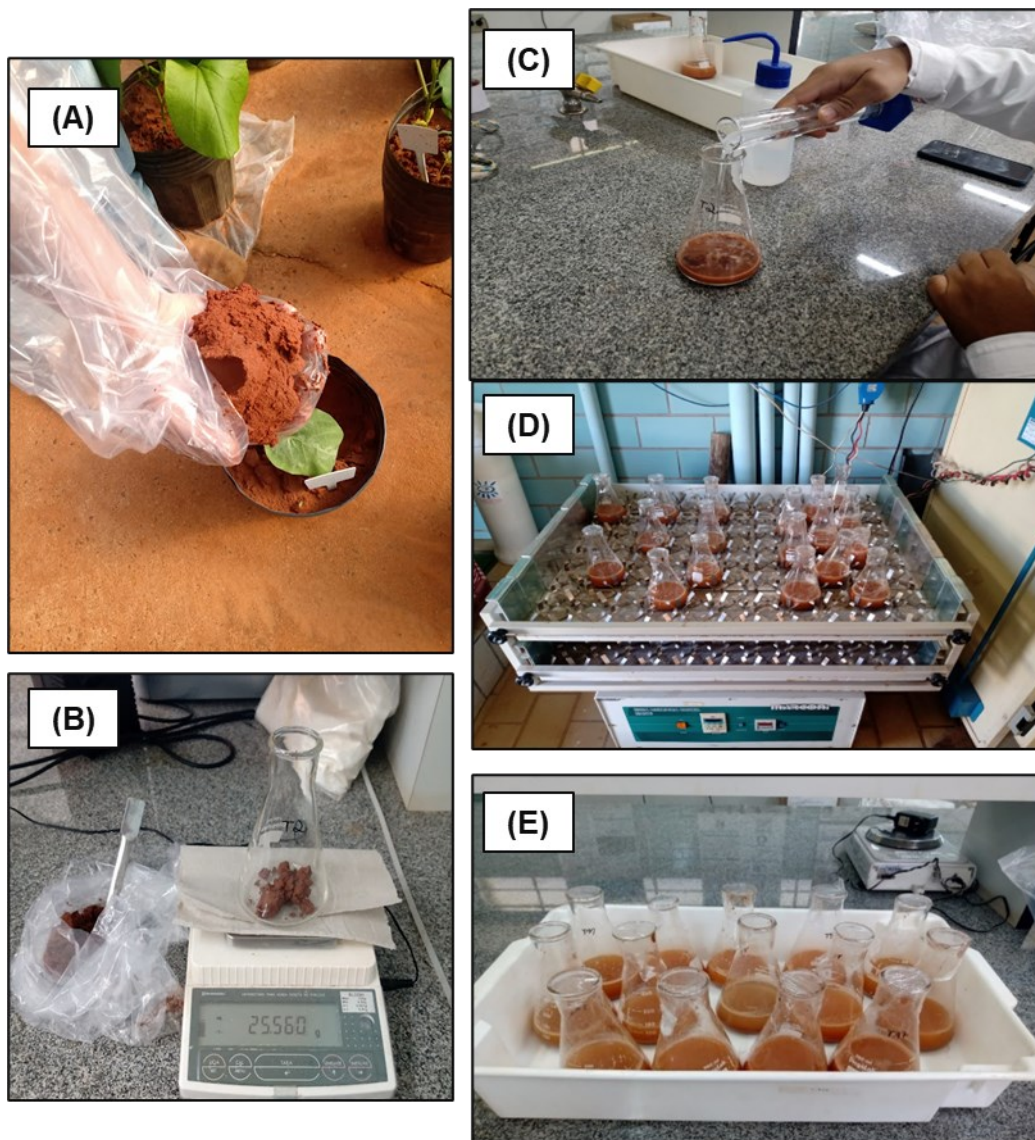
em que,

IG = Índice de germinação;

G% = germinação de sementes em relação ao CN; e

R% = alongamento da raiz em relação ao CN.

Figura 13. Metodologias para extração do solubilizado de solo. **(A)** Coleta do solo; **(B)** Adição de 25 g de solo em frascos *Erlenmeyer*; **(C)** Adição de água deionizada em frascos *Erlenmeyer*; **(D)** Homogeneização da solução; e **(E)** Extrato aquoso formado.



Fonte: Própria autoria (2021).

Figura 14. Preparo dos bioensaios ecotoxicológicos. (A) Disposição de 10 sementes de *L. sativa* em placas de Petri com papel filtro qualitativo; (B) Adição de 2,0 mL do solubilizado nas placas de Petri; (C) Solução de sulfato de zinco pronto para ser adicionado na placa referente ao Controle Positivo; (D) Bancada laboratorial com equipamentos utilizados no preparo dos bioensaios; e (E) Placas de Petri prontas para serem destinadas à BOD.



Fonte: Própria autoria (2021).

3.9 Análise de dados

As análises de dados foram realizadas através dos programas estatísticos *R Project*, *GraphPad Prism* e *Microsoft Excel*® 2019.

3.9.1 Tratamento prévio dos dados

Inicialmente, todos os dados foram submetidos ao teste de homocedasticidade e normalidade, por meio dos métodos estatísticos de Bartlett e Shapiro-Wilk.

3.9.2 Análise de variância e teste de comparação de médias

Os dados de biomassa seca total avaliados por meio de estatísticas descritivas vinculadas à análise de variância (ANOVA a 5% de probabilidade) e teste de comparação de médias (*Tukey* a 5% de probabilidade).

3.9.3 Modelagem de *Gompertz*

Caracterizado como modelo não-linear, a curva sigmoide de *Gompertz* permite visualizar o desenvolvimento das plantas em séries temporais. Sendo assim, através de variáveis vegetais e parâmetros estatísticos é possível determinar o momento exato em que tal espécie se mantém parcialmente ou totalmente estável (POMMERENING; MUSZTA, 2016).

Em virtude de sua fácil e didática interpretação, além da confiabilidade nos resultados gerados, a modelagem de *Gompertz* já foi aplicada em alguns estudos recentes do GAIA (Grupo de Ação em Impactos Ambientais) para avaliar biorremediação de solos agrícolas com pesticidas (FERREIRA *et al.*, 2021b; LIMA *et al.*, 2022; NANTES *et al.*, 2022). Portanto, como objetos de estudo para elaboração dos modelos foram utilizados dados de altura de plantas (mucuna-cinza, feijão-de-porco e crotalária) e, também o índice de germinação de sementes (alface). Dessa forma, a função de sigmoide de *Gompertz* foi ajustada para prever o que se poderia esperar em períodos superiores 0, 70, 140 e/ou 360 DAS.

Nesse sentido, no modelo de *Gompertz* com três parâmetros cinéticos, ou seja, α , β e κ foram utilizados, pois permitiram elaborar curvas não-lineares com diferentes formatos, angulações e séries temporais (Equação 2). Além disso, para adequação de tal modelo utilizou-se os critérios de informação *Akaike* (AIC), *Bayesiano* (BIC) e o coeficiente de determinação ajustado (r^2).

$$f_x = \alpha e^{-\beta e^{-\kappa x}} \quad \text{Equação 2}$$

em que,

f_x = altura ou índice de germinação;

x = tempo, em dias;

α = assíntota superior ou máximo desenvolvimento de altura e do índice de germinação;

β = ponto de inflexão;

k = taxa de crescimento específico;
 ake^{-1} = taxa de crescimento absoluto; e
 e = número de Euler.

3.9.4 Análise multivariada do índice de germinação

A análise multivariada consiste em um conjunto de métodos estatísticos que utiliza informações coletadas de várias origens, simultaneamente, para simplificar/facilitar a interpretação do fenômeno que está sendo estudado, ou encontrar padrões entre variáveis e até mesmo prever efeitos/mudanças que tal atributo terá sobre o outro.

Uma das análises multivariadas que é bastante utilizada em estudos biológicos é o modelo linear misto (DEMIDENKO, 2004; FAUSTO *et al.*, 2008; RESENDE *et al.*, 2001). Este método estatístico analisa simultaneamente os parâmetros populacionais (efeitos fixos) e coeficientes individuais (efeitos aleatórios) dentro de um experimento, parametrizando a dependência entre as variáveis repetidamente coletadas em um mesmo período temporal (LUCAMBIO, 2008).

Porém, antes de elaborar ou interpretar este modelo, é preciso compreender melhor o que são os efeitos fixos e aleatórios dentro de um experimento:

- a) Efeitos fixos: todos os níveis de um determinado fator que esteja presente no experimento ou análise. Ou seja, são informações compartilhadas por todos os indivíduos (BORGES *et al.* 2010; FREITAS *et al.*, 2014).
- b) Efeitos aleatórios: níveis de um fator do conjunto amostral que não presentes em sua totalidade. Ou seja, são específicos de um dos indivíduos (BORGES *et al.* 2010; FREITAS *et al.*, 2014).

Em concordância a tais explicações, nessa pesquisa, avaliou-se a dependência entre os fatores por meio do modelo linear misto. A composição para a elaboração de tal modelo encontra-se descrito na Equação 3 (WINTER, 2013):

$$\gamma = \alpha + \beta + \sum((t_i \times f_{i1}) + (t_i \times f_{i2})) + \varepsilon$$

Equação 3,

em que,

y = representa os termos aleatórios (adubo verde e inoculante);

α = intercepto global do modelo;

β = efeito aleatório (tebuthiuron);

t_i = tempo em DAS;

f_{i1} = efeito fixo₁ (adubo verde);

f_{i2} = efeito fixo₂ (inoculante); e

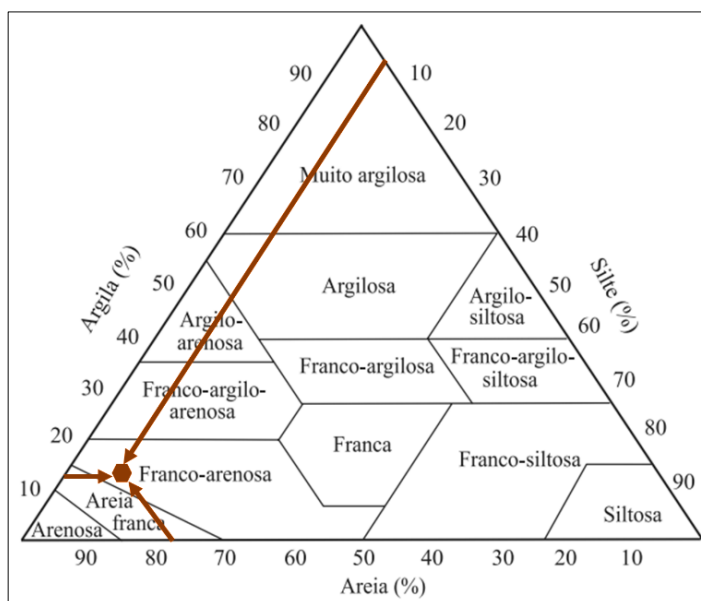
ε = resíduo.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização química do solo

Como descrito na seção anterior, a caracterização física e química do solo foi realizada e os resultados estão descritos na **Figura 15** e **Tabela 9**.

Figura 15. Triângulo textural do solo.



Fonte: Própria autoria (2023).

A **Figura 15** ilustra a classe textural do solo utilizado no experimento, que no qual se enquadrou como franco arenoso em virtude dos valores resultantes de sua análise: 140 g kg⁻¹ (14%) de argila, 795 g kg⁻¹ (79,5%), 64 g kg⁻¹ (6,4%) de silte. Em contraste, tais resultados podem indicar maiores benefícios à infiltração de água e desenvolvimento radicular dos vegetais (alta porosidade). Todavia, também podem contribuir na lixiviação de pesticidas hidrofílicos, com baixa capacidade de aderência em grânulos arenosos, como exemplo, o herbicida tebuthiuron. Por isso que a dose recomendada de pesticidas em solos arenosos é menor do que em argilosos. Caso a recomendação da bula do fabricante não for seguida corretamente, a contaminação de mananciais, lençóis freáticos, entre outros, pode ocorrer.

Tabela 9. Análise química do solo antes e após o pré-cultivo de *C. ensiformis* e *M. pruriens*.

Atributos	Unidade	Antes	Após	Situação
pH	-	4,0	7,5	Aumentou
Matéria Orgânica	g dm ⁻³	4,0	10	Aumentou
Potássio	mmolc dm ⁻³	0,3	1,6	Aumentou
Cálcio		6	51	Aumentou
Magnésio		2	23	Aumentou
Hidrogênio +		33	8	Reduziu
Alumínio				
Alumínio ³⁺		13	0	Reduziu
Fósforo		1	6	Aumentou
Enxofre	mg dm ⁻³	7	-	Não detectado
Boro		0,10	0,02	Reduziu
Cobre		0,1	0,2	Aumentou
Ferro		4	2	Reduziu
Manganês		1,8	1,2	Aumentou
Zinco		0,1	0,3	Aumentou
Soma de bases		8	75,6	Aumentou
Capacidade de troca catiônica	%	41	83,6	Aumentou
Saturação por bases		20	90	Aumentou
Saturação por alumínio		61	0	Reduziu

Fonte: Própria autoria (2021)

Como descrito na Tabela X, pós a correção química e o cultivo de mucuna-cinza e feijão-de-porco, os atributos químicos do solo melhoraram, pois ocorreu um aumento numérico dos parâmetros nutricionais, exceto do Alumínio³⁺, cujo elemento é fitotóxico e inibe o crescimento radicial (ECHART; CAVALLI-MOLINA, 2001).

As boas práticas agrícolas bem como, a correção química do solo e o cultivo de adubos verdes podem promover o aumento de microrganismos capazes de fixar o nitrogênio atmosférico (SAGRILO *et al.*, 2009). Em virtude de tais atividades, as plantas e a comunidade microbiana liberam alguns ácidos

orgânicos essenciais à solubilização de nutrientes e ao aumento da CTC (Capacidade de Troca Catiônica), e em consequência disso, os teores tóxicos de alumínio são reduzidos (CALEGARI, 2006).

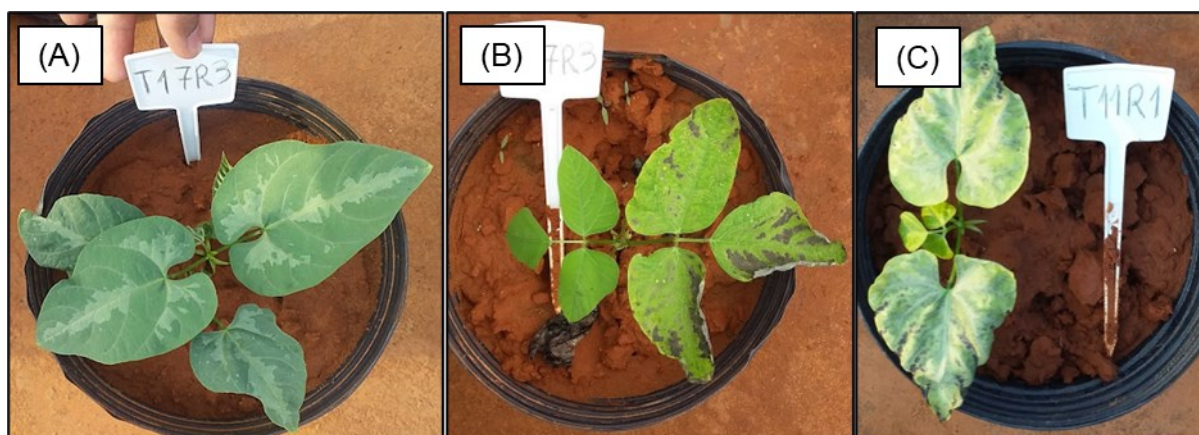
Nesse sentido, para execução da remediação de pesticidas em solos agrícolas, recomenda-se o uso de, não apenas plantas tolerantes à molécula alvo, mas também que elas sejam capazes de restaurar os atributos químicos, físicos e biológicos do sistema.

4.2 Desenvolvimento de mucuna-cinza e feijão-de-porco

4.2.1 Parâmetros morfométricos: altura

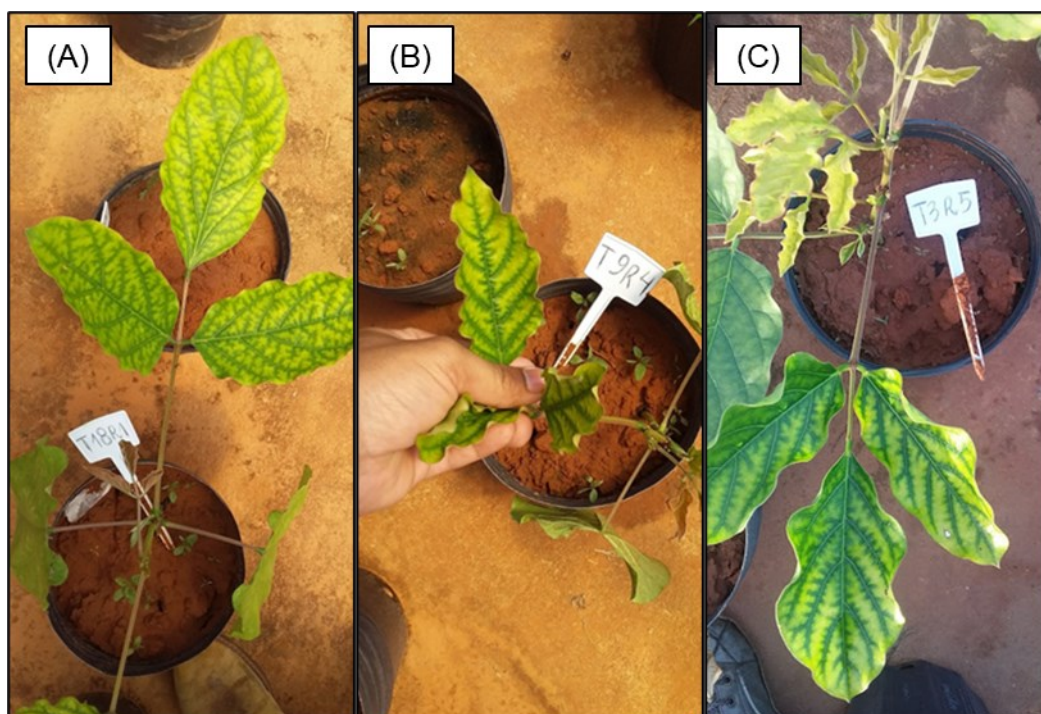
Nas **Figura 16** e **17** ilustram os efeitos deletérios do herbicida tebuthiuron nas plantas potencialmente fitorremediadoras (*M. pruriens* e *C. ensiformis*). Percebe-se que ambas as espécies sofreram bastante com a fitotoxicidade, apresentando clorose, e posteriormente, necrose em seus órgãos vegetais (folhas, parte dos caules).

Figura 16. Efeitos fitotóxicos em tratamentos e tempos da *M. pruriens*. **(A)** 10 DAS; **(B)** 20 DAS; e **(C)** 30 DAS.



Fonte: Própria autoria (2022)

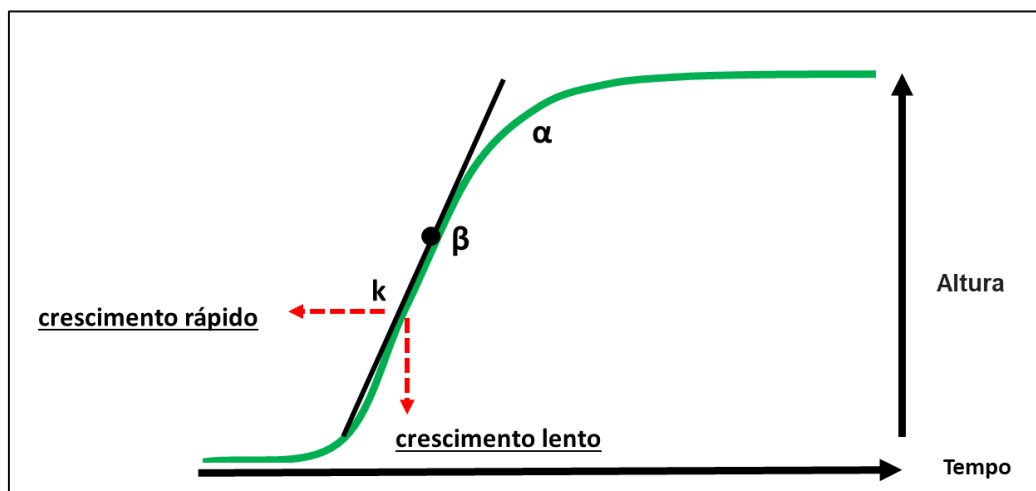
Figura 17: Efeitos fitotóxicos em diferentes tratamentos e tempos do *C. ensiformis*. (A) 30 DAS; (B) 40 DAS; e (C) 60 DAS.



Fonte: Própria autoria (2022).

Na **Figura 19**, que ilustra o desenvolvimento cinético dos potenciais fitorremediadores (*M. pruriens* e *C. ensiformis*) associados ou não aos inoculantes, observa-se que ao longo de 0 a 50 DAS, o crescimento de MP foi mais rápido que CE, pois a inclinação da curva desse primeiro tratamento foi menor. Portanto, compreende-se que quanto mais inclinada a curva do gráfico, maior quantidade de tempo para que o crescimento vegetal alcance o seu ápice (**Figura 18**). Além de análises gráficas, existem outros parâmetros listados na **Tabela 10** que podem comprovar a superioridade de uma planta: ápice de crescimento (α); ponto de “virada” da curva (β); taxa de crescimento específico (k) (**Figura 18**). Em relação aos valores da taxa de crescimento, compreende-se que quanto mais próximos de 1, mais rápido também será o crescimento vegetal, e tal situação pode ser visualizada em MP ($k=0,113$) e CE ($k= 0,075$).

Figura 18. Exemplo de uma curva de *Gompertz* juntamente com seus parâmetros e forma de interpretação.



Fonte: Própria autoria (2023).

Além disso, a interação planta-inoculante, não alterou completamente o comportamento das curvas, pois os tratamentos com MP obtiveram crescimento mais rápido que a CE. Por outro lado, foi constatado que MP + Sol cresce mais rápido que MP + Liq e/ou MP, resultados estes, diferentemente obtidos pela outra espécie testada (*C. ensiformis*), no qual CE + Liq cresceu mais rápido que CE + Sol e/ou CE.

Em relação aos efeitos do herbicida (**Figura 19**), nota-se que houve redução de altura dos potenciais fitorremediadores quando se compara as com plantas-referência. Contudo, a associação MP + TBT manteve-se superior a CE + TBT em vários parâmetros, tais como rápido estabelecimento; valores de α e k também foram superiores ($51,69 > 20,27$; $0,109 > 0,069$). A sensibilidade de *C. ensiformis* perante o tebuthiuron já foram relatados por Belo *et al.* (2007) e Ferreira *et al.* (2021b), evidenciando que tal planta talvez seja intolerante e pouco capaz de fitorremediar solo com este herbicida.

Já os ensaios experimentais de Pires *et al.* (2005) e Mendes *et al.* (2021) demonstraram que a *C. ensiformis* pode suportar e até mesmo degradar o tebuthiuron, pois na rizosfera dessa planta existem microrganismos que podem auxiliar na degradação do herbicida.

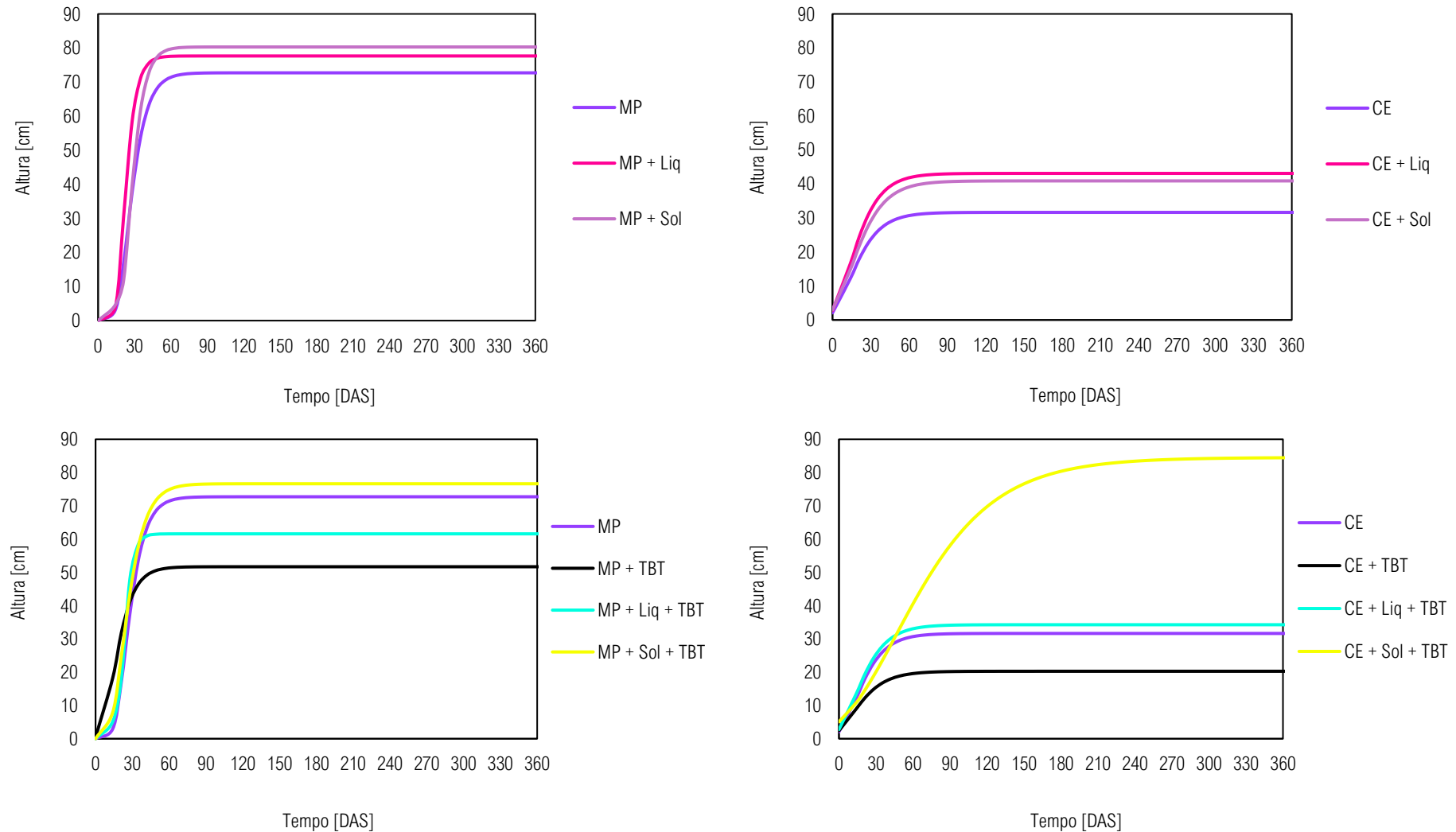
Tais resultados diferem dos encontrados nessa presente pesquisa em virtude de alguns fatores: localização da condução experimental, tipo de solo utilizado, umidade edáfica e aérea ar, temperatura ambiental, frequência de

luminosidade que podem interferir diretamente na eficiência de fitorremediação dos contaminantes; além disso, os autores não testaram a *M. pruriens*, espécie essa, que também mostrou resultados positivos à fitorremediação em outras pesquisas, tal como evidenciado por Ferreira *et al.* (2021b). Por isso que ao testar e escolher potenciais fitorremediadores é importante levar em consideração os fatores edafoclimáticos e observar o comportamento de tal espécie diante do pesticida (MADALÃO *et al.*, 2017).

Outro fator que demonstrou importante relevância nos tratamentos com o tebuthiuron foi a inoculação microbiana, pois a presença dos inoculantes atenuou os efeitos de sensibilidade nas espécies vegetais, condicionando rapidez em seu crescimento e/ou maior altura. Esses apontamentos podem ser perceptíveis em plantas de *C. ensiformis*, pois apenas CE + TBT obteve resultados inferiores aos demais tratamentos dessa mesma espécie.

Em alguns casos, os efeitos dos inoculantes foram distintos nas plantas. A interação MP + Sol + TBT apresentou uma inclinação da curva ligeiramente maior que MP + Liq + TBT e, além disso, também se constatou menor taxa de crescimento - k - (MP + Sol + TBT = 0,100 < MP + Liq + TBT = 0,227), indicando desenvolvimento mais lento dessa associação. Apesar disso, a altura máxima alcançada por MP + Sol + TBT foi maior (α = 76,63). No que diz a respeito da *C. ensiformis*, a associação CE + Liq + TBT garantiu maior taxa de crescimento específico (k = 0,071), no entanto, apenas CE + Sol + TBT proporcionou altura máxima (α = 84,52). Testes elencados à remediação combinada entre planta-microrganismos também trouxeram resultados positivos. Um experimento desenvolvido a campo por Zhang *et al.* (2020), mostrou que a aplicação do inóculo sólido bacteriano denominado *Cupriavidus* sp. YNS-85 associado com a espécie vegetal *Panax notoginseng* pode remediar solos contaminados com o fungicida pentacloronitrobenzeno. Tal experimento de campo evidenciou que as plantas apresentaram um bom desenvolvimento vegetativo na presença do fungicida, indicando que o inoculante diminuiu a sua sensibilidade perante a tal molécula e também auxiliou na co-remediação. Já uma combinação entre a espécie vegetal *Phaseolus vulgaris* L. e cepas de *Trichoderma* sp., conseguiu remover aproximadamente 80% do herbicida atrazina no solo em 40 dias (MADARIAGA-NAVARRETE *et al.*, 2017).

- 1 **Figura 19.** Desenvolvimento cinético de *M. pruriens* (MP) e *C. ensiformis* (CE) como potenciais fitorremediadores do herbicida
 2 tebuthiuron (TBT) no solo com inoculantes sólido (Sol) ou líquido (Liq) a partir do modelo de *Gompertz*.



- 3 Os hemisférios ocidental e oriental representam as diferentes plantas, respectivamente, MP e CE. Já os hemisférios norte e sul demonstraram o efeito da adição
 4 dos inoculantes e/ou do herbicida tebuthiuron, respectivamente. Fonte: Própria autoria (2022)

Tabela 10. Parâmetros dos modelos cinéticos de *Gompertz* para a altura de *M. pruriens* (MP) e *C. ensiformis* (CE) como potenciais fitorremediadores de tebuthiuron (TBT) no solo com inoculantes sólido (Sol) ou líquido (Liq).

Tratamentos	Complexidade			Adequacidade		
	α	β	k	r^2	AIC	BIC
MP	72,72	15,49	0,113	0,72 ^{ns}	63,96	65,17
MP + TBT	51,69	4,76	0,109	0,94*	63,96	65,17
MP + Liq	77,66	32,71	0,170	0,97*	69,10	70,31
MP + Sol	80,31	38,14	0,143	0,99**	56,33	57,54
MP + Liq + TBT	61,58	144,19	0,227	0,89*	78,80	80,01
MP + Sol + TBT	76,63	9,15	0,100	0,93*	75,82	77,04
CE	31,64	2,72	0,075	0,97*	46,29	47,50
CE + TBT	20,27	2,13	0,069	0,93*	44,71	45,92
CE + Liq	43,10	2,73	0,075	0,97*	53,67	54,88
CE + Sol	40,90	2,62	0,068	0,97*	50,41	51,62
CE + Liq + TBT	34,26	2,51	0,071	0,96*	49,03	50,24
CE + Sol + TBT	84,52	2,81	0,022	0,94*	60,08	61,29

Os parâmetros α , β e k denotam a assimetria superior, o ponto de inflexão e a decadência exponencial da taxa de crescimento específico, respectivamente;

$\beta = 1$ mantém o decréscimo relativo com o tempo constante;

$\beta > 1$ acelera o decréscimo relativo com o tempo;

$\beta < 1$ desacelera o decréscimo relativo com o tempo;

r^2 , coeficiente de determinação;

AIC, Akaike Information Criterion (Critério de Informação Akaike);

BIC, Bayesian Information Criterion (Critério de Informação Bayesiana);

Código significativo: * valor de $p < 0,05$; ** valor de $p < 0,01$; ^{ns} valor de $p > 0,05$.

Fonte: Própria autoria (2021).

4.2.2 Acúmulo de biomassa

Complementarmente, os resultados descritos na **Figura 20** indicaram que o acúmulo de biomassa seca de *M. pruriens* e *C. ensiformis* associados ou não com outros fatores de variação (inoculantes microbianos e herbicida) ao final do ciclo experimental (70 DAS). De maneira geral, a presença dos inoculantes sem o herbicida tebuthiuron aumentou o acúmulo de biomassa quando se compara com os outros tratamentos (apenas MP ou CE, neste caso). Em contrapartida, a adição isolada do herbicida deturvou o sistema,

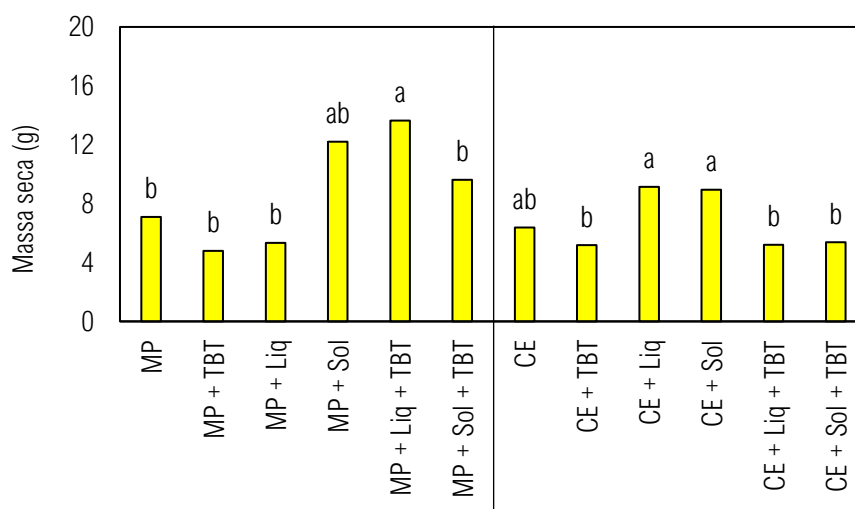
reduzindo a produção de fitomassa de ambas as espécies, principalmente em MP + TBT, apesar da mesma ter obtido maior altura após 70 DAS.

O herbicida afeta fotossíntese no decorrer do desenvolvimento vegetal. Se tal processo é prejudicado, não há eficiência na produção biomassa, deixando a planta vulnerável o que pode inviabilizar o processo de fitorremediação (CAMARGO *et al.*, 2011). Abdulrahman e Oladele (2017) explicaram que, quando a planta consegue se desenvolver sem estresses intensos, ocorre maior absorção de soluções nutritivas com consequente acúmulo elevado de biomassa, aumentando a sua capacidade de tolerar e remediar solos contaminados. Nesse sentido, torna-se mais eficiente a metabolização de poluentes em substâncias menos tóxicas (SAIER; TREVORS, 2010).

Quando se compara a ação dos inoculantes na presença ou ausência de herbicida no acúmulo de biomassa de *M. pruriens*, percebe-se que o inoculante líquido foi que mais contribuiu na produção fitomassa na presença de tebuthiuron, fornecendo melhor suporte à planta em comparação ao inoculante sólido, que foi afetado por tal pesticida, diminuindo seu efeito “fitoprotetor”. Estes resultados são contrários da *C. ensiformis*, pois a inoculação microbiana não aumentou a produção de fitomassa na presença do herbicida tebuthiuron, mesmo que esses inoculantes tenha contribuído nos valores elevados de altura.

Apesar dos resultados demonstrarem que a *M. pruriens* apresenta um enorme potencial para despoluir solo contendo o herbicida tebuthiuron, utilizar apenas variáveis como altura e acúmulo de biomassa para avaliar a eficiência da fitorremediação podem não ser muito confiáveis, pois existem inúmeros fatores não controlados que altera a biodisponibilidade e o comportamento ambiental do herbicida (CHRISTOFFOLETI *et al.*, 2009). Portanto, o cultivo de plantas bioindicadoras e a realização de bioensaios ecotoxicológicos são formas complementares de avaliar o processo de descontaminação ambiental (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Figura 20. Produção de biomassa seca de *M. pruriens* (MP) e *C. ensiformis* (CE) em solo associado ou não com tebuthiuron (TBT) e/ou inoculantes sólido (Sol) ou líquido (Liq) após 70 DAS



Legenda: letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística pelo teste Tukey a 5% na comparação dentre a mesma espécie vegetal. Fonte: Própria autoria (2022).

4.3 Desenvolvimento de crotalária

4.3.1 Parâmetros morfométricos: altura

O cultivo de uma planta bioindicadora (também denominada planta sentinela) pode indicar se mesmo após a biorremediação ainda existe resíduos de pesticidas no solo (OLIVEIRA *et al.*, 2014). Portanto, nesse experimento foi cultivado *C. juncea* logo após o ensaio de biorremediação e tais resultados podem ser visualizados nas **Figura 21** (sem cultivo prévio de plantas) e **22** (com cultivo prévio de plantas), além da **Tabela 11**. Em se tratando da **Figura 21**, o solo referência (Ref), que não houve algum cultivo prévio de plantas, inoculantes e herbicida, garantiu um tímido desenvolvimento para espécie bioindicadora, ficando apenas atrás do tratamento com inoculante (Liq), que apresentou uma taxa de crescimento mais rápida ($k=0,0582$) e maior altura ($\alpha=324,99$) em aproximadamente 60 DAS, tal como descrito na **Tabela 11**. Por outro lado, o inoculante sólido (Sol) pouco contribuiu no desenvolvimento da *C. juncea*, sendo comprovado pelo longo período de crescimento da planta ($k=0,0302$) até o alcance máximo em altura, que também foi inferior ($\alpha= 69,95$).

Já a presença apenas do herbicida (TBT) reduziu a velocidade de crescimento da espécie bioindicadora, e tal fato pode ser visualizado na **Figura**

19, em que a curvatura está muito inclinada, além da taxa de crescimento específico (k) também ter um valor mais baixo (0,0115) do que os demais tratamentos. Porém, mesmo que o crescimento de *C. juncea* seja lento, o tratamento TBT pode alcançar uma altura máxima superior a 100 cm, valor este, maior que o Sol e Liq + TBT, sendo que esses dois tiveram curvas de crescimento semelhantes. Um panorama diferente foi evidenciado pelo inoculante sólido, que conseguiu atenuar o efeito fitotóxico do tebuthiuron na planta sentinela.

Hipoteticamente, pode-se argumentar que para essa situação, os microrganismos do inoculante sólido expressiu sua função no experimento em virtude da adição do tebuthiuron no solo, servindo como colaborador na remediação juntamente com atenuação natural. Porém, nesse respectivo trabalho não foi identificado quais microrganismos podem ter contribuído na biorremediação. Na literatura até o momento, apenas os microrganismos *Methylobacterium*, *Microbacterium*, *Paenibacillus*, *Rhodococcus* (MOSTAFA; HELLING, 2003) e *Streptomyces* (SHELDON *et al.*, 1996) já tiveram sua capacidade de degradar o tebuthiuron.

Paralelamente, o cultivo prévio de *M. pruriens* e *C. ensiformis* (**Figura 22**) também influenciou diretamente no desenvolvimento da espécie sentinela. Neste caso, CE foi o tratamento que melhor beneficiou no desenvolvimento da planta sentinela em comparação a aqueles com MP. Essa afirmação pode ser visualizada na **Tabela 11**, em que os parâmetros α e k de CE são maiores que MP (178,13 > 156,35; 0,0149 > 0,0106). De acordo com especialistas, a *M. pruriens* é popularmente conhecida pela ótima capacidade de proteger o solo e, também pelos seus efeitos alelopáticos em plantas, dificultando o seu desenvolvimento no solo (ERASMO *et al.*, 2005). Então, possivelmente, as substâncias liberadas pela espécie potencialmente fitorremediadora pode ter prejudicado o desenvolvimento da planta sentinela, já que as condições nutricionais do solo estavam adequadas ao crescimento vegetal (**Tabela 11**).

Contudo, as interações das espécies potencialmente fitorremediadoras com os inoculantes microbianos trouxeram diferentes resultados ao desenvolvimento da *C. juncea*. O efeito deletério da *M. pruriens* ausenta-se quando tal planta se associa ao inoculante líquido (MP + Liq), pois a taxa de crescimento específico (0,0174) e a altura máxima (181,96) é maior que MP. O

mesmo não se pode afirmar ao tratamento CE + Liq, pois a associação causou efeito antagônico no desenvolvimento da planta bioindicadora, apresentando uma curva de crescimento menor que a planta-referência (CE).

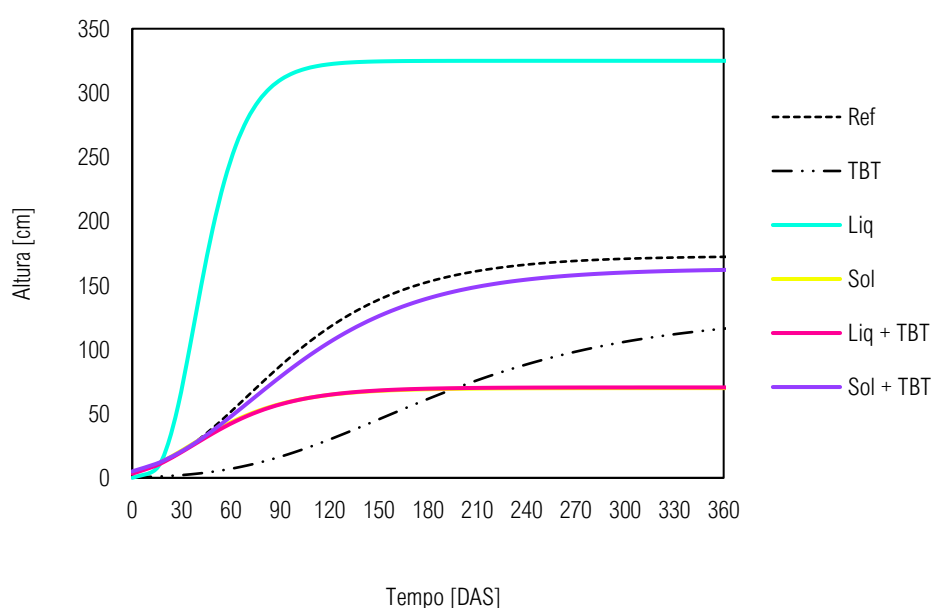
De modo similar, a associação do inoculante sólido com qualquer uma das espécies potencialmente fitorremediadoras, foi prejudicial para a planta bioindicadora, principalmente em MP + Sol, no qual o valor da altura máxima desse tratamento (42,01) é menor que os demais tratamentos. Resultado inverso foi obtido para a taxa de crescimento, pois tal parâmetro apresentou um valor maior que os outros testes ($k=0,0529$).

Ainda, analisando a **Figura 22** e **Tabela 11**, na presença do herbicida tebuthiuron em solo cultivado com os potenciais fitorremediadores, a espécie bioindicadora demonstrou alta fitotoxicidade e severa limitação de crescimento em relação as plantas-controle (MP e CE), obtendo valores máximo de altura entre 86,91 para MP + TBT e 115,67 para CE + TBT. Apesar disso, a taxa de crescimento ao longo da curva para *C. juncea* pós-cultivo de fitorremediadores e herbicida ainda foi maior que os testes-controle, obtendo valores entre 0,0330 para MP + TBT e CE + TBT para 0,0214. De acordo com Ferreira *et al.* (2021b), a explicação para tais adversidades pode ser tanto pela alta concentração de compostos fito-nocivos no solo e como também pela senescência natural dos potenciais fitorremediadores e da espécie sentinela, pois as plantas tornam-se metabólica e fisiologicamente ineficazes ao longo do tempo.

A presença do inoculante sólido reduziu o efeito fitotóxico do herbicida tebuthiuron, principalmente no tratamento MP + Sol + TBT, em virtude da rapidez de crescimento da planta sentinela ($k=0,0659$), tornando o delineamento da curva quase perpendicular à vertical, além da altura exorbitante alcançada por tal espécie ($\alpha=248,45$), demonstrando que tal associação pode ter reduzido a toxicidade do meio. Resultado este, foi parcialmente semelhante ao tratamento CE + Sol + TBT, pois somente o valor condicionado à altura foi maior ($\alpha=199,88$) em comparação aos demais testes com a mesma espécie potencialmente fitorremediadora (*C. ensiformis*). Logo, notou-se que a longo prazo, o inoculante sólido pode contribuir na dissipação do herbicida tebuthiuron.

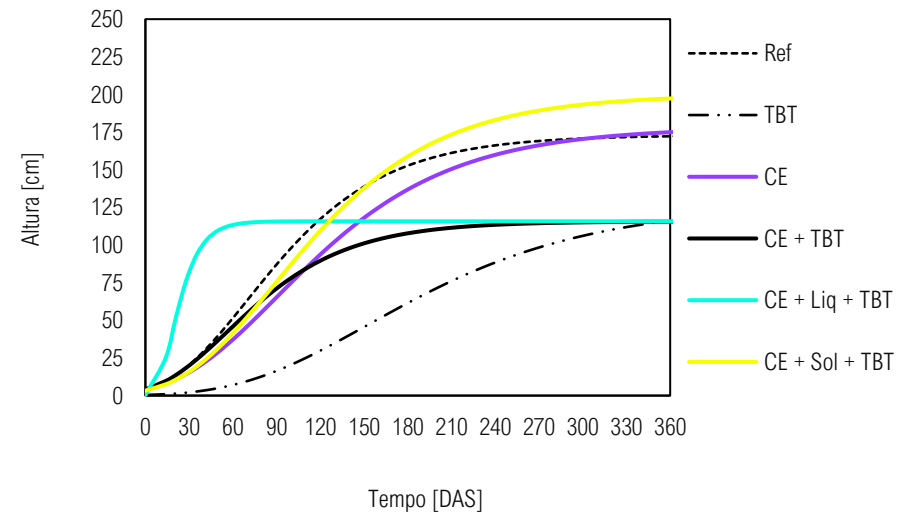
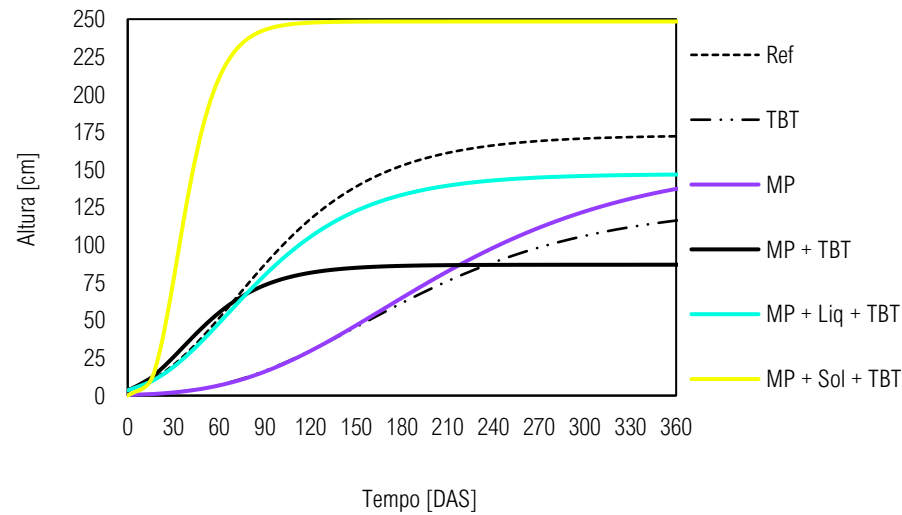
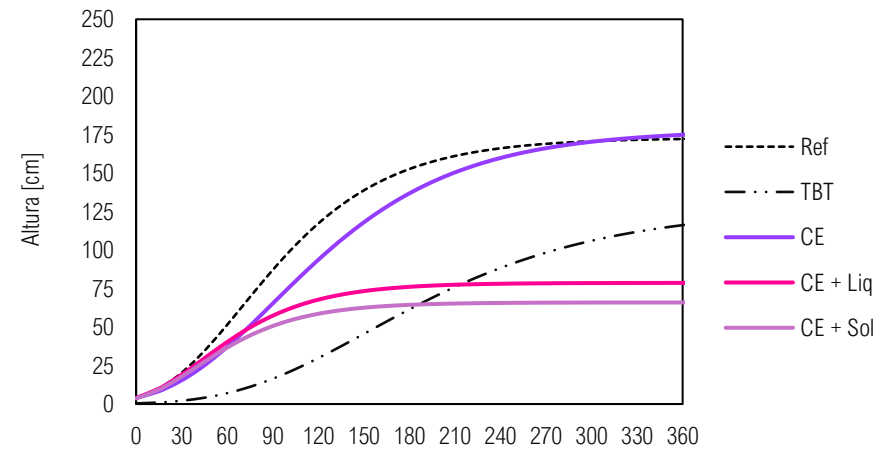
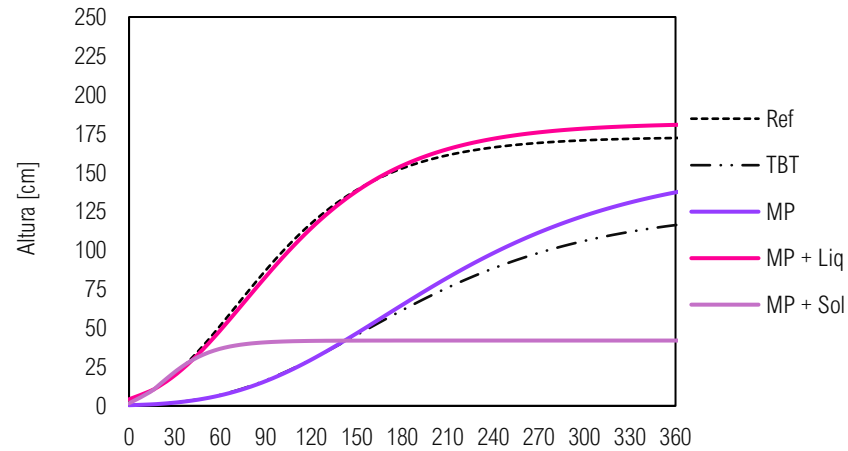
O inoculante líquido também demonstrou ser capaz de diminuir a fitotoxicidade na planta bioindicadora, porém com menor intensidade. A taxa da velocidade de crescimento da *C. juncea* foi maior somente no tratamento CE + Liq + TBT ($k=0,0930$), e valor da variável altura foi medianamente alto para MP + Liq + TBT ($\alpha=147,18$) em comparação aos demais testes com a mesma espécie potencialmente fitorremediadora (*M. pruriens*), dessa forma, evidenciando que mesmo com algumas limitações o inoculante líquido pode auxiliar na dissipação do herbicida tebuthiuron. Melo *et al.* (2019) também constataram que o consórcio microbiano associado a plantas fitorremediadoras também pode acelerar na dissipação de sulfentrazone. Neste caso, ao longo do experimento, a exatos 85 dias após o desbaste de plântulas, o consórcio bacteriano formado por seis isolados identificados como *Pseudomonas putida*, *P. lutea*, *P. plecoglossicida* e três isolados de *Pseudomonas* sp. inoculados em tratamentos contendo o cultivo misto de feijão-de-porco e girassol foram suficientes para reduzir toxicidade e injurias morfológicas na espécie bioindicadora sorgo.

Figura 21. Desenvolvimento cinético da altura de *C. juncea* como espécie bioindicadora em solo com tebuthiuron (TBT) e inoculantes sólido (Sol) ou líquido (Liq) a partir do modelo de Gompertz. Ref – solo controle de referência sem adubo verde e inoculantes.



Fonte: Própria autoria (2022).

- 1 **Figura 22.** Desenvolvimento cinético de *C. juncea* como espécie bioindicadora em solo com tebuthiuron (TBT) e inoculantes sólido (Sol)
 2 ou líquido (Liq) a partir do modelo de *Gompertz*.



- 3 Legenda: Os hemisférios ocidental e oriental representam as diferentes plantas, respectivamente, *M. pruriens* (MP) e *C. ensiformis* (CE). Ref – solo controle de
 4 referência sem adubo verde e inoculantes. Fonte: Própria autoria (2022).

Tabela 11. Parâmetros dos modelos cinemáticos do tipo *Gompertz* para a altura de *C. juncea* como espécie bioindicadora em do tebuthiuron (TBT) no solo com *M. pruriens* (MP) e *C. ensiformis* (CE) e inoculantes líquido (Liq) ou sólido (Sol).

Tratamentos	Complexidade			Adequacidade		
	A	β	k	r^2	AIC	BIC
MP	156,35	5,94	0,0106	0,98**	49,51	50,30
MP + TBT	86,91	3,29	0,0330	0,98**	45,17	45,96
MP + Liq	181,96	3,76	0,0174	0,98**	45,39	46,18
MP + Sol	42,01	3,23	0,0529	0,98**	41,15	41,94
MP + Liq + TBT	147,18	3,75	0,0202	0,99**	41,67	42,46
MP + Sol + TBT	248,45	8,52	0,0659	0,98**	54,98	55,77
CE	178,13	3,82	0,0149	0,96*	47,42	48,20
CE + TBT	115,67	3,34	0,0214	0,98**	46,18	45,39
CE + Liq	78,74	3,00	0,0250	0,97*	45,81	45,02
CE + Sol	66,01	2,91	0,0267	0,96*	47,20	47,98
CE + Liq + TBT	115,76	5,60	0,0930	0,97*	47,70	48,49
CE + Sol + TBT	199,88	4,11	0,0160	0,98**	43,88	44,67
Ref	172,93	3,78	0,0190	0,98**	44,72	45,51
Liq	324,99	8,91	0,0582	0,98**	51,98	52,77
Sol	69,95	2,95	0,0302	0,97*	48,00	47,21
TBT	127,47	5,76	0,0115	0,99**	44,82	45,61
Liq + TBT	70,50	3,08	0,0299	0,98**	42,20	42,99
Sol + TBT	163,15	3,47	0,0173	0,97*	50,26	51,05

Legenda: Os parâmetros α , β e k denotam a assimetria superior, o ponto de inflexão e a decadência exponencial da taxa de crescimento específico, respectivamente;

$\beta = 1$ mantém o decréscimo relativo com o tempo constante;

$\beta > 1$ acelera o decréscimo relativo com o tempo;

$\beta < 1$ desacelera o decréscimo relativo com o tempo;

r^2 , coeficiente de determinação;

AIC, *Akaike Information Criterion* (Critério de Informação Akaike);

BIC, *Bayesian Information Criterion* (Critério de Informação Bayesiana);

Código significativo: * valor de $p < 0,05$; ** valor de $p < 0,01$; ^{ns} valor de $p > 0,05$.

Fonte: Própria autoria (2022).

4.3.2 Acúmulo de biomassa

Ao comparar o tratamento-referência (Ref) apenas àqueles com os inoculantes, percebe-se que o Liq sem a presença das plantas promoveu o maior acúmulo de biomassa seca em plantas de *C. juncea* (**Figura 23**). Porém quando o herbicida foi adicionado no sistema, o acúmulo de biomassa seca da planta sentinela reduziu drasticamente. Tal fato demonstra a alta sensibilidade da *C. juncea* à concentração residual de tebuthiuron, mesmo após o período de 70 dias de atenuação natural. Um dos fatores que podem ter contribuído na persistência de tal molécula é alta quantidade de carga orgânica no solo (**Tabela 9**), pois quando tal atributo edáfico está em média/alta quantidade, a sorção do herbicida aumenta.

A bioaugmentação, no entanto, reduziu o efeito fitotóxico do herbicida na espécie bioindicadora, porém sem muita expressividade, fazendo com que os inoculantes tivessem eficiência semelhantes.

A ausência do herbicida tebuthiuron, em tratamentos que houve o pré-cultivo de *M. pruriens* e *C. ensiformis* com ou sem a inoculação microbiana também não foi significativamente positivo para o acúmulo de biomassa seca às plantas de *C. juncea*, como é evidenciado na **Figura 23**.

Em relação aos tratamentos contendo herbicida, percebe-se que o pré-cultivo com *C. ensiformis* não possibilitou um bom acúmulo de biomassa à planta sentinela, que inclusive retornou um dos valores mais baixos. Os resultados obtidos neste tratamento evidenciam fatos já abordados anteriormente, como a incapacidade de *C. ensiformis* em reduzir a concentração de tebuthiuron e seus metabólitos no solo (FERREIRA *et al.*, 2021b). Diferente dos resultados encontrados por Melo *et al.* (2019) e Oliveira *et al.* (2014), em que o pré-cultivo de *C. ensiformis* reduziu o efeito fitotóxico do herbicida sulfentrazone na planta bioindicadora. A atenuação natural (TBT), por outro lado, garantiu que a planta sentinela tivesse um acúmulo de massa significativamente positivo. Tal fato pode estar vinculado à bioestimulação do meio, pois antes de iniciar o experimento, o solo foi adubado com fertilizantes, que enriqueceu nutricionalmente o sistema, deixando-o disponível na solução do solo. Assim, a microbiota nativa pode ter se beneficiado pelo consumo dos nutrientes, aumentando sua capacidade dissipar o herbicida.

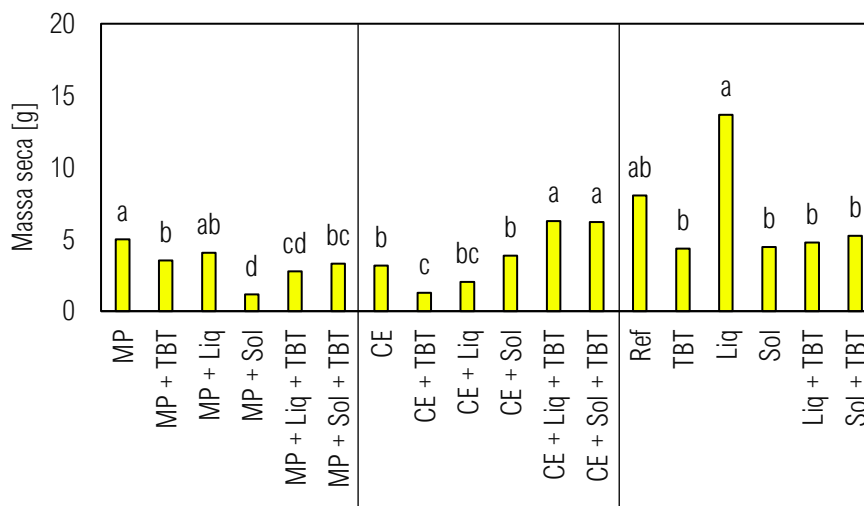
Complementarmente, a bioaugmentação contribuiu para redução da sensibilidade do herbicida em plantas de *C. juncea*. Em tratamentos que não houve o pré-cultivo de plantas, o Sol + TBT (5,25 g) e o Liq + TBT (4,78 g) se sobressaiu em relação ao TBT (4,36 g). No trabalho de Melo *et al.* (2019), o consórcio bacteriano em tratamento não que teve o pré-cultivo no solo contaminado com sulfentrazone proporcionou aumento na matéria seca do sorgo.

A associação planta-inoculante em solo com tebutiuron foi mais expressiva em tratamentos com *C. ensiformes*. O efeito fitotóxico em *C. juncea* foi reduzido em CE + Liq/Sol + TBT devido ao seu elevado acúmulo de massa seca (CE + Liq + TBT = 6,27 g > CE + Sol + TBT = 6,21 g > CE + TBT = 1,29 G). Os resultados positivos decorrentes da inoculação do solo com o cultivo de *C. ensiformis* possivelmente indicam maior contribuição e dependência desta espécie da associação. Melo *et al.* (2019) e Pires *et al.* (2005) explicaram que pelo fato de *C. ensiformis* permanecer em estágio vegetativo até o final do experimento, possivelmente, se o teste fosse realizado por mais tempo, esta espécie poderia apresentar maior capacidade de fitoestimulação, progredindo para uma rizodegradação do pesticida.

Por outro lado, a bioaugmentação em tratamentos pré-cultivados com *M. pruriens* não proporcionou um resultado expressivo. Por si só, a espécie potencialmente fitorremediadora conseguiu atenuar os efeitos fitotóxicos do tebutiuron na planta sentinela. Essa teoria pode ser afirmada pela **Figura 22**, em que MP + TBT (3,52 g) obteve valor de biomassa seca superior a MP + Sol + TBT (3,31 g) e MP + Liq + TBT (2,77 g). Hipoteticamente, o efeito antagônico da bioaugmentação pode estar relacionado a três fatores (MELO *et al.*, 2019; XIE *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2014):

1. Ineficiência da planta para estimular a comunidade microbiana natural e a adicionada;
2. Gasto de energia da planta ao tentar suportar o aumento da população microbiana;
3. Estabelecimento paulatino de um novo equilíbrio biológico do solo, em virtude da adição de microrganismos exógenos, comprometendo a dissipação do herbicida.

Figura 23. Produção de biomassa fresca e seca de *C. juncea* em solo associado ou não com tebuthiuron (TBT), inoculantes sólido (Sol) ou líquido (Liq) e/ou as diferentes plantas *M. pruriens* (MP) e *C. ensiformis* (CE) após 63 DAS. Ref – solo controle de referência sem adubo verde e inoculantes.



Legenda: Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística pelo teste Tukey a 5% na comparação dentre a mesma espécie vegetal. Fonte: Própria autoria (2022)

4.4 Bioensaios ecotoxicológicos

4.4.1 Índice de germinação

A eficiência do processo de biorremediação do solo pode ser comprovada por meio de bioensaios ecotoxicológicos. Nessa pesquisa utilizou-se de sementes de alface para avaliar o nível de toxicidade de tebuthiuron no solo, sendo este organismo-teste muito utilizado em pesquisas recentes devido a sua sensibilidade a ambientes perturbados (CAMPAGNA-FERNANDES *et al.*, 2016). Ainda, o efeito de importação de nutrientes do solo efetuados pelas espécies cultivadas anteriormente não atinge diretamente o desenvolvimento de sementes de alface, pois em seu estágio inicial, a nutrição dessa plântula é baseada no seu núcleo de reserva, denominado endosperma (e posteriormente, transformado em cotilédones), o que diminui a dependência externa por soluções nutritivas. Assim, o que impedirá a germinação e o desenvolvimento saudável de plântulas viáveis é a presença de potenciais inibidores, como os herbicidas aqui estudado.

Em amostras de solo que não houve o cultivo de espécies vegetais (Figura 24), apesar do tratamento referência (Ref) contemplar um índice de

germinação significativamente maior do que os demais sem a presença do herbicida nos tempos iniciais (0 a 40 DAS), a bioaugmentação com inoculante líquido (Liq) apresentou índice de germinação final superior a Ref e ao Sol ($0,95 > 0,92 > 0,89$). Além disso, o valor de k suporta os resultados encontrados (**Tabela 12**), no qual o Liq obteve uma velocidade de crescimento maior do que os tratamentos supracitados ($0,0305 > 0,0264 > 0,0225$). Isso se deve ao fato do inoculante líquido atuar como promotor de crescimento também para essa espécie.

Ao longo dos tempos (inicial e final), as amostras de solo composto apenas por TBT mostraram que o índice de germinação final (0,96) (Figura 6) e a velocidade de crescimento ($k=0,0314$) (**Tabela 12**) foram superiores ao tratamento Ref, indicando possível ação da atenuação natural para a redução da toxicidade em sementes de alface. Trabalhos recentes de Faria *et al.* (2019a, b), Lima *et al.* (2021) e Nantes *et al.* (2022), Neves *et al.* (2021) ajudam a suportar o conceito de que a eficiência da atenuação natural depende do tempo, pois a microbiota nativa pode dissipar gradualmente o pesticida, tornando a molécula menos tóxica ambientalmente, e assim, não dificultar o crescimento e desenvolvimento da alface.

Além disso, a participação dos inoculantes microbianos no solo com o tebuthiuron foi divergente, pois o índice de germinação e a velocidade de crescimento nos tratamentos com o Liq apresentaram valores maiores do que o Sol ($\alpha = 0,98 > 0,92$; $k = 0,0350 > 0,0264$) (**Tabela 12**). Complementarmente, em amostras de solo com o pesticida, o IG inicial é baixo, porém ao longo da curva o índice aumenta, principalmente onde tem a presença do Sol, sustentando a tese de que esse inoculante talvez possa contribuir na redução da ecotoxicidade da molécula.

O cultivo prévio de MP combinado com a semeadura e desenvolvimento de crotalária posteriormente influenciaram nitidamente no desenvolvimento da alface (**Figura 25**). O índice de germinação para esse tratamento foi menor que a Ref entre os tempos 0 e 40 DAS. Todavia, ao longo do tempo, o índice aumenta paulatinamente até a curva atingir valor igual a 0,99 (**Tabela 12**). O delineamento da curva também é outro elemento a ser considerado, pois a velocidade do crescimento (k) do tratamento com MP em relação a Ref é maior ($0,0477 > 0,0264$) (**Tabela 12**).

Ressalta-se que a **Figura 25** ilustra, entre os tempos 0 e 40 DAS, maior índice de germinação para TBT e Ref. Tais resultados foram obtidos pela estimativa do modelo aplicado. Ou seja, os valores não são reais e, sim estimados, com confiabilidade de acima de 90%.

Contudo, da mesma forma que ocorreu nos tratamentos constituídos por MP, pode-se notar que entre 0 e 40 DAS, o índice de germinação das sementes de *Lactuca sativa* para a Ref foi um pouco maior que a CE, porém, ao longo da curva esse panorama muda, no qual o cultivo de CE permitiu maior velocidade de crescimento das plântulas e melhor índice no final do processo experimental. A explicação mais plausível para tal eventualidade é que de alguma forma o cultivo das espécies leguminosas (MP e CE) ao longo do tempo podem ter melhorado os atributos químicos, físicos e biológicos do solo e consequentemente o desenvolvimento das plântulas de *L. sativa* pode ter sido beneficiado. Em relação a associação com os inoculantes microbianos sem a presença do TBT, a velocidade da curva de crescimento foi maior para MP + Sol ($k = 0,0632$) do que para MP ($k = 0,0477$) e MP + Liq ($k = 0,0466$). No entanto, os resultados do IG para estes tratamentos foram altos. Já em amostras de solo com tebuthiuron, a velocidade de germinação das sementes de alface foi maior ($k = 0,0632$) do que tratamentos cultivados somente com MP ($k = 0,0477$), todavia, o índice de germinação para a alface mostrou resultados contrários (MP = 0,99 > MP + TBT = 0,97).

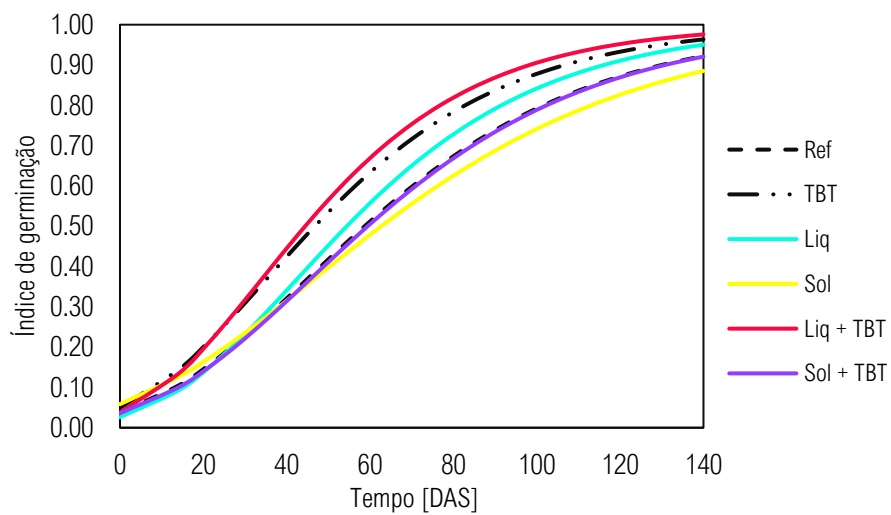
Situação semelhante pode ser visualizada em tratamentos que houve a associação entre fitorremediação, bioaumentação e herbicida: a velocidade de crescimento da curva de *Gompertz* foi maior no tratamento MP + TBT ($k = 0,0632$), seguido por MP + Liq + TBT ($k = 0,0509$) e MP + Sol + TBT ($k = 0,0462$). Porém, o índice de germinação foi maior para a bioaumentação, indicando que sua associação com MP pode reduzir o negativo impacto do tebuthiuron no desenvolvimento nas sementes de *L. sativa*. Segundo com Dietz e Schnoor (2001), algumas espécies de adubos verdes podem metabolizar herbicidas ou transformá-los em compostos menos tóxicos e, quando há a inserção da bioaumentação, a degradação molecular pode ser potencializada. Todavia, existem diversos fatores parcialmente controlados para possibilitar a redução dessa toxicidade, tais como pH, temperatura do solo, luminosidade, solutos e soluções.

A bioaumentação, sem a presença do tebuthiuron, também apresentou resultados positivos: o índice de germinação das sementes foi menor apenas em amostras de solo cultivados com CE; além disso, o inoculante sólido promoveu um crescimento de plântulas de *L. sativa* mais rápido que o líquido e CE ($k = 0,0488 > 0,0486 > 0,0400$).

A inclusão do tebuthiuron no solo provocou uma redução na velocidade do crescimento das plântulas ($k = 0,0386$) e no índice da germinação de sementes do organismo-teste (0,97) quando o compara com CE ($k = 0,0400$; 0,98) sem a presença dessa molécula. A solução para esse pequeno imbróglio sucedeu-se a partir da inoculação microbiana, no qual foi observado melhor desempenho vegetal do organismo teste em CE + Sol + TBT ($k = 0,0480$) e CE + Liq + TBT ($k = 0,0422$), além de resultar em um bom índice de germinação para ambos os tratamentos.

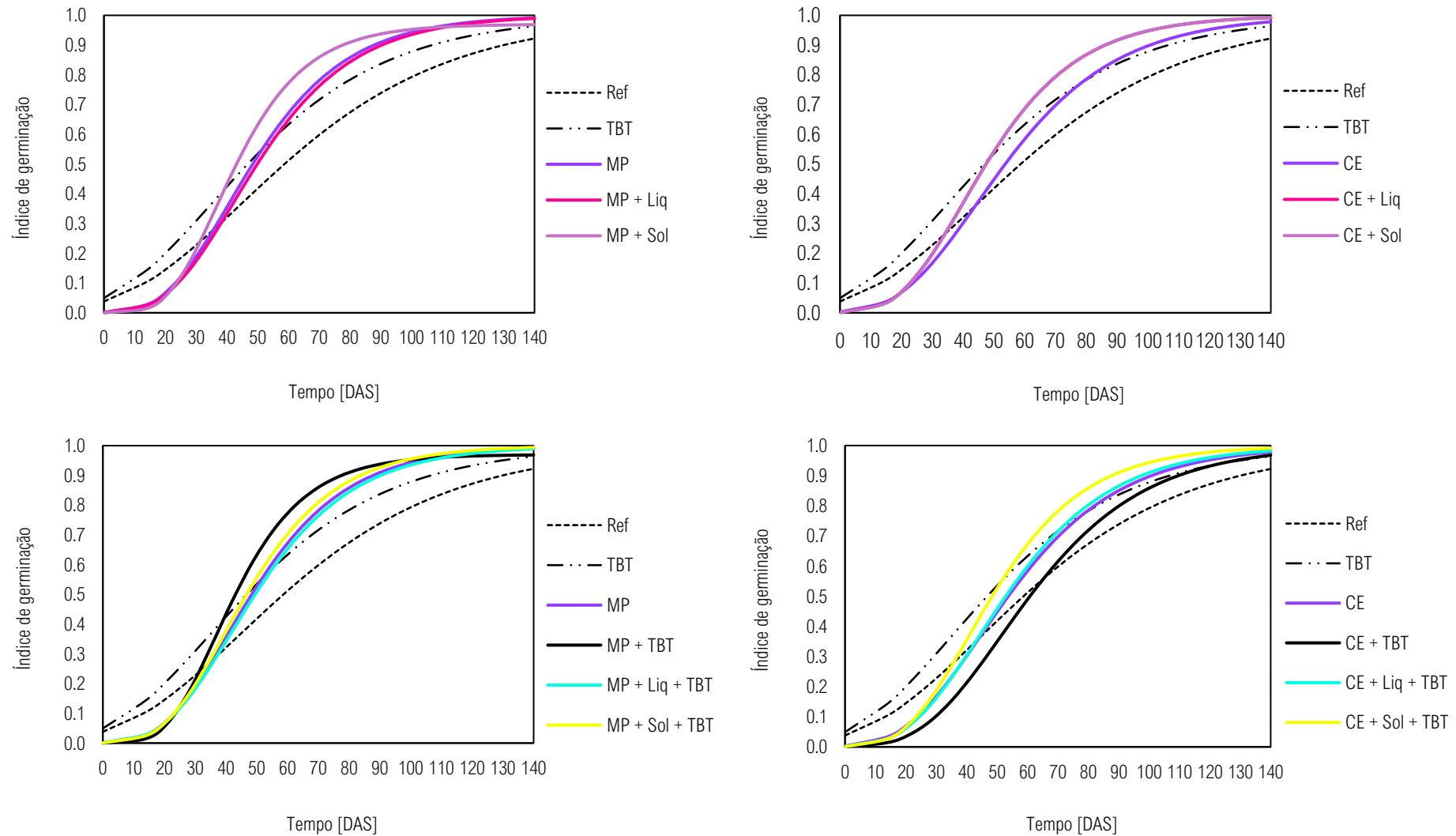
Ao avaliar a eficiência do processo temporal de redução da toxicidade nas amostras de solo em tratamentos constituídos apenas por CE, MP e Ref (Figura 6 e 7), é perceptível que as sementes do organismo-teste conseguiram se desenvolver melhor em situações que a *M. pruriens* estava sendo cultivada. Em concordância a estes resultados, Ferreira et al. (2021b) apresentaram um modelo experimental semelhante ao da presente pesquisa, utilizando sementes de *L. sativa* como organismo-teste em bioensaios de ecotoxicidade. Estes autores demonstraram um efeito positivo da associação de tebuthiuron junto ao cultivo de *M. pruriens*. Além disso, Ferreira et al. (2021b) concluíram que esta espécie vegetal foi superior a *C. ensiformis* na redução do potencial ecotoxicológico nestas amostras de solo.

Figura 24. Desenvolvimento cinético do índice de germinação de *L. sativa* nos bioensaios de ecotoxicidade em amostras de solo com tebuthiuron (TBT) e inoculantes sólido (Sol) ou líquido (Liq) a partir do modelo de Gompertz. Ref – solo controle de referência sem adubo verde e inoculantes.



Fonte: Própria autoria (2021).

- 1 **Figura 25.** Desenvolvimento cinético do índice de germinação de *L. sativa* nos bioensaios de ecotoxicidade em amostras de solo com
 2 tebutiuron (TBT) e inoculantes sólido (Sol) ou líquido (Liq) a partir do modelo de *Gompertz*.



- 3 Legenda: Os hemisférios ocidental e oriental representam as diferentes plantas, respectivamente, *M. pruriens* (MP) e *C. ensiformis* (CE). Ref – solo controle de
 4 referência sem adubo verde e inoculantes. Fonte: Própria autoria (2022).

Tabela 12. Parâmetros dos modelos cinéticos de *Gompertz* para o índice de germinação de *L. sativa* nos bioensaios de ecotoxicidade em amostras de solo com tebuthiuron (TBT) e inoculantes sólido (Sol) ou líquido (Liq) associados ou não às diferentes plantas, tanto para a *M. pruriens* (MP) e *C. ensiformis*. (CE).

Tratamentos	Complexicidade			Adequacidade		
	A	β	k	r ²	AIC	BIC
MP	0,99	6,98	0,0477	0,98**	-11,64	-12,47
MP + TBT	0,97	10,09	0,0632	0,98**	-13,20	-14,04
MP + Liq	0,99	7,06	0,0466	0,98**	-13,15	-13,99
MP + Sol	0,97	10,09	0,0632	0,98**	-13,20	-14,04
MP + Liq + TBT	0,99	6,81	0,0462	0,98**	-11,94	-12,77
MP + Sol + TBT	0,99	7,49	0,0509	0,98**	-11,67	-12,51
CE	0,98	5,94	0,0400	0,98**	-11,13	-11,97
CE + TBT	0,97	7,25	0,0386	0,99**	-21,18	-22,02
CE + Liq	0,99	6,96	0,0486	0,98**	-10,72	-11,56
CE + Sol	0,99	7,03	0,0488	0,98**	-10,94	-11,77
CE + Liq + TBT	0,98	6,46	0,0422	0,98**	-12,94	-13,77
CE + Sol + TBT	0,99	7,06	0,0480	0,98**	-11,94	-12,77
Ref	0,92	3,27	0,0264	0,99**	-19,10	-19,93
Liq	0,95	3,65	0,0305	0,99**	-24,09	-24,92
Sol	0,89	2,84	0,0225	0,96*	-8,90	-9,73
TBT	0,96	3,01	0,0314	0,99**	-15,20	-16,03
Liq + TBT	0,98	3,28	0,0350	0,99**	-18,46	-19,29
Sol + TBT	0,92	3,33	0,0264	0,99**	-19,68	-20,51

Os parâmetros α , β e k denotam a assimetria superior, o ponto de inflexão e a decadência exponencial da taxa de crescimento específico, respectivamente;

$\beta = 1$ mantém o decréscimo relativo com o tempo constante;

$\beta > 1$ acelera o decréscimo relativo com o tempo;

$\beta < 1$ desacelera o decréscimo relativo com o tempo;

r², coeficiente de determinação;

AIC, *Akaike Information Criterion* (Critério de Informação Akaike);

BIC, *Bayesian Information Criterion* (Critério de Informação Bayesiana);

Código significativo: * valor de p < 0,05; ** valor de p < 0,01; ^{ns} valor de p > 0,05.

Fonte: própria autoria (2021).

4.4.2 Análise multivariada do índice de germinação

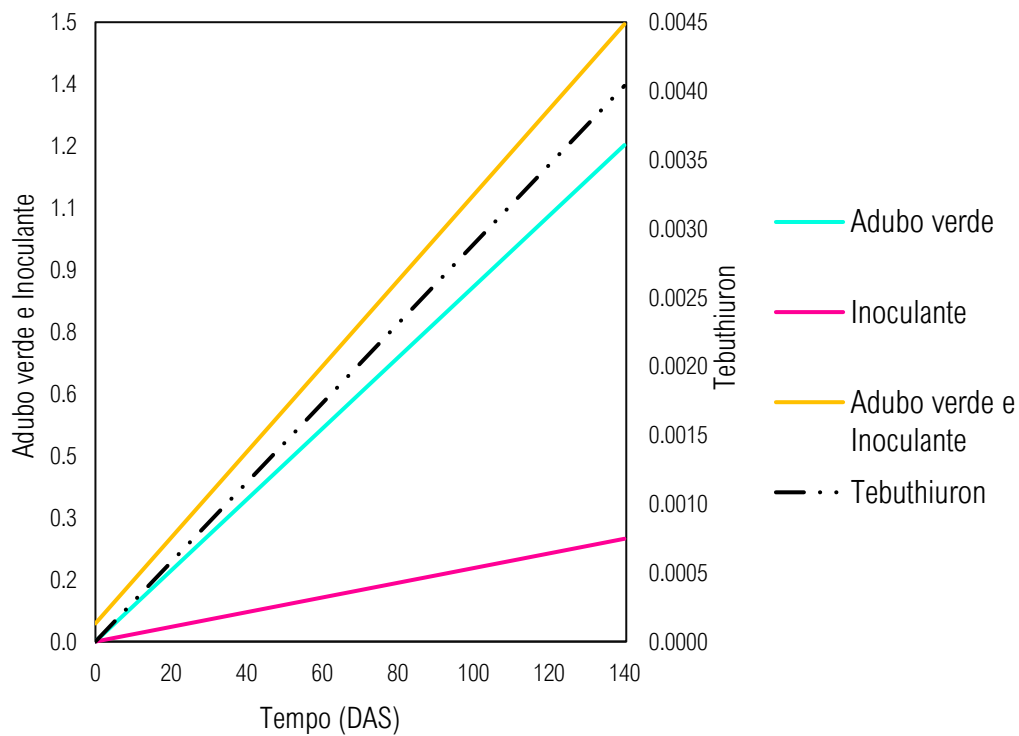
De acordo com a **Figura 26**, ao longo das análises temporais (0 a 140 DAS), o índice germinação das sementes de alface é comandado por três fatores de variação (tebuthiuron, adubo verde e inoculante microbiano).

Percebe-se que a linha retilínea elencado a associação entre adubo verde e inoculante está menos inclinada formando um ângulo de aproximadamente 45°. Isso significa que o índice de germinação das sementes foi mais influenciado por tal associação, evidenciando que na presença do tebuthiuron (efeito aleatório), o adubo verde e o inoculante (efeitos) pode permitir melhores índices na germinação do organismo teste (alta dependência).

Ao considerar ação isolada dos fatores de variação (adubo verde ou inoculante), percebe-se uma baixa contribuição dos inoculantes microbianos no índice de germinação das sementes (menor dependência), em virtude da elevada inclinação emanada por tal linha (angulação menor que 30°). Logo, considera-se que somente a bioaumentação no solo não é o suficiente para dissipar o tebuthiuron no solo, reduzindo assim a sua fitotoxicidade no organismo-teste (alta dependência). Fato totalmente contrário à presença de adubo verde, pois a inclinação de sua curva ao longo do tempo aproxima-se do ângulo de 45°, indicando que cultivo prévio das espécies vegetais pode ter reduzido a fitotoxicidade do herbicida no organismo teste.

Portanto, os achados dessa pesquisa evidenciam que o cultivo de potenciais fitorremediadores associado a bioaumentação podem reduzir os efeitos antagonicos do herbicida tebuthiuron no ecossistema, seja ele edáfico ou aquático.

Figura 26. Dinâmica de efeitos aleatórios (tebuthiuron) e fixos (adubos verdes - *M. pruriens* e *C. ensiformis*; e inoculantes microbianos – líquido e sólido) sobre a taxa específica do índice de germinação (IG) de *L. sativa* nos bioensaios de ecotoxicidade nas amostras de solo



Fonte: Própria autoria (2022).

5 CONCLUSÃO

A longo prazo, a atenuação natural pode dissipar paulatinamente o herbicida tebuthiuron do solo, e isso é perceptível nos bioensaios ecotoxicológicos, pois foram obtidos resultados satisfatórios no índice de germinação final (0,96) e na velocidade de crescimento ($k=0,0314$).

A *Mucuna pruriens* foi tolerante ao herbicida tebuthiuron, em virtude do seu rápido estabelecimento ($k = 0,109$) quando comparado a *Canavalia ensiformis* ($k = 0,069$). Além disso, essa espécie pode ser considerada uma fitorremediadora do herbicida tebuthiuron, em virtude dos resultados obtidos no cultivo de *C. juncea* (taxa específica de crescimento = 0,0330; biomassa seca: 3,52 g) e bioensaios ecotoxicológicos (velocidade de crescimento = 0,0632), quando comparado aos tratamentos com *C. ensiformis*.

Consequentemente, os resultados mostraram que *C. ensiformis* tem maior dependência da bioaugmentação do que *M. pruriens*. Assim, notou-se que o efeito fitotóxico em *C. juncea* foi reduzido em CE + Liq/Sol + TBT (CE + Liq + TBT = 6,27 g > CE + Sol + TBT = 6,21 g), além de ser observado melhor desempenho vegetal de *L. sativa* em CE + Sol + TBT ($k = 0,0480$) e CE + Liq + TBT ($k = 0,0422$).

Este respectivo trabalho trouxe como novidade, a associação entre fitorremediação e bioaugmentação para biorremediar o solo com a presença do tebuthiuron. Portanto, a interação sinérgica planta e microrganismo pode ser utilizada para o desenvolvimento de novas estratégias de biorremediação, reduzindo ou até mesmo eliminando as limitações da bioaugmentação e da fitorremediação quando implementadas individualmente.

REFERÊNCIAS

- ABDULRAHMAN, A. A.; OLADELE, F. A. Leaf size and transpiration rates in *Agave americana* and *Aloe vera*. **Phytologia Balcanica**, Sofia, v. 23, n. 1, p. 95–100, 2017, 2017.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **Procedimento para obtenção de extrato solubilizado de resíduos sólidos**. NBR 10006. Rio de Janeiro. ABNT, 2004.
- AGARWAL, A.; LIU, Y. Remediation technologies for oil-contaminated sediments. **Marine Pollution Bulletin**, Oxford, v. 101, n. 2, p. 483-490, 2015.
- AKASHE, M. M.; PAWADE, U. V.; NIKAM, A. V. Classification of Pesticides: A Review. **International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy**, Rampur, 9, 144-150, 2018.
- ALBA, L.-M.; ESMERALDA, M.; JAIME, V. Enhanced Biodegradation of Phenylurea Herbicides by *Ochrobactrum anthropi* CD3 Assessment of Its Feasibility in Diuron-Contaminated Soils. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, Basel, v. 19, n. 3, p. 1365, 2022.
- AMMERI, R. W.; HASSEN, W.; HIDRI, Y.; DI RAUSO SIMEONE, G.; HASSEN, A. Macrophyte and indigenous bacterial co-remediation process for pentachlorophenol removal from wastewater. **International Journal of Phytoremediation**, Philadelphia, v. 24, n. 3, p. 271–282, 2022.
- ANDREOLLI, M.; LAMPIS, S.; BRIGNOLI, P.; VALLINI, G. Bioaugmentation and biostimulation as strategies for the bioremediation of a burned woodland soil contaminated by toxic hydrocarbons: A comparative study. **Journal of Environmental Management**, London, v. 153, p. 121–131, 2015.
- ARAGÃO, M. A.; ARAÚJO, R.P.A. **Métodos de ensaios de toxicidade com organismos aquáticos**. In: ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. (ed.), *Ecotoxicologia Aquática Princípios e Aplicações*. Editora Rima: São Paulo, São Carlos, p. 117-147, 2006.
- ARREGHINI, S.; CABO, L.; SERAFINI, R.; IORIO, A. F. Effect of the combined addition of Zn and Pb on partitioning in sediments and their accumulation by the emergent macrophyte *Schoenoplectus californicus*. **Environmental Science and Pollution Research**, Berlin, v. 24, n. 9, p. 8098–8107, 2017.
- AYOTAMUNO, J. M.; KOGBARA, R. B.; AGORO, O. S. Biostimulation supplemented with phytoremediation in the reclamation of a petroleum contaminated soil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 25, n. 9, p. 1567–1572, 2009.
- AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. Rima, São Carlos-Brasil, 2004, 342 p.

BANDEIRA, F. O.; ALVES, P. R. L.; HENNIG, T. B.; SCHIEHL, A.; CARDOSO, E. J. B. N.; BARETTA, D. Toxicity of imidacloprid to the earthworm *Eisenia andrei* and collembolan *Folsomia candida* in three contrasting tropical soils. **Journal of Soils and Sediments**, Switzerland, v. 20, p. 1997–2007, 2019.

BANDOPADHYAY, S.; MARTIN-CLOSAS, L.; PELACHO, A. M.; Debruyne, J. M. Biodegradable plastic mulch films: Impacts on soil microbial communities and ecosystem functions, **Frontiers in Microbiology**, Switzerland, vol. 9, p. 819, 2018.

BASSEY, M. S.; KOLO, M. G. M.; DANIYA, E.; ODOFIN, A. J. Trash Mulch and Weed Management Practice Impact on Some Soil Properties, Weed Dynamics and Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) Genotypes Plant Crop Productivity. **Sugar Tech**, India, v. 23, n. 2, p. 395–406, 2021.

BELO, A. F.; SANTOS, E. A.; SANTOS, J. B.; FERREIRA, L. R.; SILVA, A. A.; CECON, P. R.; SILVA, L. L. Efeito da umidade do solo sobre a capacidade de *Canavalia ensiformis* e *Stizolobium aterrimum* em remediar solos contaminados com herbicidas. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 25, p. 239–249, 2007.

BHARDWAJ, P.; SINGH, K. R.; JADEJA, N. B.; PHALE, P. S.; KAPLEY, A. Atrazine Bioremediation and Its Influence on Soil Microbial Diversity by Metagenomics Analysis. **Indian Journal of Microbiology**, India, v. 60, n. 3, p. 388–391, 2020.

BICALHO, S. T. T.; LANGENBACH, T. The fate of tebuthiuron in microcosm with riparian forest seedlings. **Geoderma**, Amsterdam, v. 207–208, p. 66–70, 2013.

BOOCK, M. V.; NETO, J. G. M. Estudos toxicológicos do oxicloreto de cobre para tilápia vermelha (*OREOCHROMIS* sp.). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 67, n. 2, p. 215–221, 2000.

BORGES, V.; FERREIRA, P. V.; SOARES, L.; SANTOS, G. M.; SANTOS, A. M. M. Seleção de clones de batata-doce pelo procedimento REML/BLUP. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 4, p. 643–649, 2010.

BROWN, D. M.; OKORO, S.; van Gils, J.; van SPANNING, R.; BONTE, M.; HUTCHINGS, T.; LINDEN, O.; EGBUCHE, U.; BRUUN, K. B.; SMITH, J. W.N. Comparison of landfarming amendments to improve bioremediation of petroleum hydrocarbons in Niger Delta soils. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 596, p. 284–292, 2017.

CALEGARI, A. Plantas de cobertura. In: CASÃO JUNIOR, R.; SIQUEIRA, R.; MEHTA, Y. R.; PASSINI, J. J. (ed.). **Sistema plantio direto com qualidade**. Londrina: IAPAR, 2006. p. 55–73.

CAMARGO, D.; BISPO, K. L.; SENE, L. Associação de *Rhizobium* sp. a duas leguminosas na tolerância à atrazina. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 58, p. 425–431, 2011.

CAMPAGNA-FERNANDES, A. F.; MARIN, E. B.; PENHA, T. H. F. L. Application of root growth endpoint in toxicity tests with lettuce (*Lactuca sativa*). **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, Uberlândia, v. 11, n. 1, p. 27–32, 2016.

CARVALHO, S. J. P.; LOMBARDI, B. P.; NICOLAI, M.; LÓPEZ-OVEJERO, R. F.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; MEDEIROS, D. Curvas de dose-resposta para avaliação do controle de fluxos de emergência de plantas daninhas pelo herbicida imazapic. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 23, p. 535–542, 2005.

CCANCCAPA, A.; MASIÁ, A.; NAVARRO-ORTEGA, A.; PICÓ, Y.; BARCELÓ, D. Pesticides in the Ebro River basin: Occurrence and risk assessment. **Environmental Pollution**, Barking, v. 211, p. 414–424, 2016.

CHENG, J.; LEE, X.; GAO, W.; CHEN, Y.; PAN, W.; TANG, Y. Effect of biochar on the bioavailability of difenoconazole and microbial community composition in a pesticide-contaminated soil. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 121, p. 185–192, 2017.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; DAMIN, V.; CARVALHO, S.J.P.; NICOLAI, M. **Comportamento dos herbicidas aplicados ao solo na cultura da cana-de-açúcar**, Piracicaba: CP, 2009. 72 p.

COMBINE 500 SC: suspensão concentrada. São Paulo: Proventis Lifescience Defensivos Agrícolas, 2019. 1 bula de defensivo agrícola (15 p.). Disponível em: https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos_restritos/files/documento/2020-10/combine500sc0120.pdf. Acesso em: 30 ago. 2021

CONAB - **Boletim da Safra de Cana-de-açúcar**. (2020). Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar>. Acesso em: 30 ago. 2021.

COSTA, A. J. M.; KRONKA, M. S.; CORDEIRO-JUNIOR, P. J. M.; FORTUNATO, G. V.; DOS SANTOS, A. J.; LANZA, M. R. V. Treatment of Tebuthiuron in synthetic and real wastewater using electrochemical flow-by reactor. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, Lausanne, v. 882, p. 114978, 2021.

CORREA-GARCÍA, S.; PANDE, P.; SÉGUIN, A.; ST-ARNAUD, M.; YERGEAU, E. Rhizoremediation of petroleum hydrocarbons: a model system for plant microbiome manipulation. **Microbial Biotechnology**, United Kingdom, v. 11, p. 819–832, 2018.

DAM, R. A.; CAMILLERI, C.; BAYLISS, P.; MARKICH, S. J. Ecological risk assessment of tebuthiuron following application on tropical Australian wetlands. **Human and Ecological Risk Assessment**, New York, v. 10, n. 6, p. 1069–1097, 2004.

- DAS, S.; DASH, H. R. 1 - Microbial Bioremediation: A Potential Tool for Restoration of Contaminated Areas. *In*: DAS, S. (ed.). **Microbial Biodegradation and Bioremediation**. Oxford: Elsevier, 2014. p. 1–21.
- DAVE, D.; GHALY, A. E. Remediation Technologies for Marine Oil Spills: A Critical Review and Comparative Analysis. **American Journal of Environmental Sciences**, Dubai, v. 7, n. 5, p. 424–440, 2011.
- DEMIDENKO, E. Mixed Models: Theory and Applications. **Hoboken**, New Jersey: John Wiley & Sons, 2004.
- DIAS, A. C. R.; CARVALHO, S. J. P.; NICOLAI, M.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Problemática da ocorrência de diferentes espécies de capim-colchão (*Digitaria* spp.) na cultura da cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 25, n. 2, p. 489-499, 2007.
- DIETZ, A. C.; SCHNOOR, J. L. Advances in Phytoremediation. **Environmental Health Perspectives**, Durham, v. 109, p. 163–168, 2001.
- DOMENE, X.; CHELINHO, S.; CAMPANA, P.; ALCANIZ, J. M.; RÖMBKE, J.; SOUSA, J. P. Applying a GLM-based approach to model the influence of soil properties on the toxicity of phenmedipham to *Folsomia candida*. **Journal of Soils and Sediments**, Switzerland, v.12, p. 888–899, 2012.
- DUC, H. D.; THUY, N. T. D.; THANH, L. U.; TUONG, T. D.; OANH, N. T. Degradation of Diuron by a Bacterial Mixture and Shifts in the Bacterial Community During Bioremediation of Contaminated Soil. **Current Microbiology**, New York, v. 79, n. 1, p. 11, 2021.
- ECHART, C. L.; CAVALLI-MOLINA, S. Fitotoxicidade do alumínio: efeitos, mecanismo de tolerância e seu controle genético. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.3, p.531-541, 2001.
- ERASMO, E. L.; AZEVEDO, W. R.; SARMENTO, R. A.; CUNHA, A. M.; GARCIA, S. L. R. Potencial de espécies utilizadas como adubo verde no manejo integrado de plantas daninhas. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 22, p. 337–342, 2004.
- FARIA, A. T.; SOUZA, M. F.; ROCHA DE JESUS PASSOS, A. B.; DA SILVA, A. A.; SILVA, D. V.; ZANUNCIO, J. C.; ROCHA, P. R. R. Tebuthiuron leaching in three Brazilian soils as affected by soil pH. **Environmental Earth Sciences**, Heidelberg, v. 77, n. 5, p. 214, 2018.
- FARIA, M. A.; LOPES, P. R. M.; BIDOIA, E. D.; FERREIRA, L. C.; MONTAGNOLLI, R. N.; PRADO, E. P.; FERRARI, S. Influence of tebuthiuron and vinasse under soil microbiota activity in sugarcane crop. **International Journal of Development Research**, v. 09, n. 7, p. 28861-28865, 2019a.

FARIA, M. A.; LOPES, P. R. M.; BIDOIA, E. D.; FERREIRA, L. C.; VIANA, R. S.; PRADO, E. P.; BONINI, C. S. B. B.; TOMAZ, R. S. Vinasse and tebuthiuron application to sugarcane soil and its effects on bacterial community and ecotoxicity after natural attenuation. **International Journal of Development Research**, v. 09, n. 08, p. 28898-28904, 2019b.

FANG, Y.; SHEN, X.; CHEN, Y. Weed control and influence of the following crops with tebuthiuron in sugarcane fields. **Agrochemicals**, Basel, v. 12, p. 919-922, 2012.

FAUSTO, M. A.; CARNEIRO, M.; ANTUNES, C. M. F.; PINTO, J. A.; COLOSIMO, E. A. O modelo de regressão linear misto para dados longitudinais: uma aplicação na análise de dados antropométricos desbalanceados. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 3, p. 513-524, 2008.

FERREIRA, C. S. S.; SEIFOLLAHI-AGHMIUNI, S.; DESTOUNI, G.; GHAJARNIA, N.; KALANTARI, Z. Soil degradation in the European Mediterranean region: Processes, status and consequences. **Science of The Total Environment**, Amsterdam, v. 805, p. 150106, 2022.

FERREIRA, J. H. S.; QUEIROZ, M. C. M.; SILVA, I. P. F. E; MELO, C. A. D. Seleção de espécies bioindicadoras da presença de tebuthiuron no solo. **Agrarian**, Dourados, v. 14, n. 52, p. 203–212, 2021a.

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**, Lausanne, v. 8, 2021b.

FREITAS, I. L.; AMARAL JUNIOR, A. T.; VIANA, A. P.; PENA, G. F.; CABRAL, P. S.; VITTORAZZI, C.; SILVA, T. R. C. Ganho genético avaliado com índices de seleção e com REML/Blup em milho-pipoca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 48, n. 11, p. 1464-1471, 2014.

GARCÍA-DELGADO, C.; MARÍN-BENITO, J. M.; SÁNCHEZ-MARTÍN, M. J.; RODRÍGUEZ-CRUZ, M. S. Organic carbon nature determines the capacity of organic amendments to adsorb pesticides in soil. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 390, 2020.

GENTILE, A.; DIAS, L. I.; MATTOS, R. S.; FERREIRA, T. H.; MENOSSE M. MicroRNAs and drought responses in sugarcane, **Frontiers in Plant Science**, Switzerland, vol. 6, p. e58, 2015.

GIROLKAR, S.; THAWALE, P.; JUWARKAR, A. Bacteria-assisted phytoremediation of heavy metals and organic pollutants: challenges and future prospects. In: SAXENA, G.; SHAH, M. P.; KUMAR, V. (ed). **Bioremediation for environmental sustainability**. United States America: Elsevier, 2021. Cap 12, p. 247–267.

Google Imagens - Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena. Disponível em:

https://www.google.com/search?q=faculdade+de+ciencias+agr%C3%A1rias+e+tecnol%C3%B3gicas&rlz=1C1GCEA_enBR1035BR1035&source=Inms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEwiwpuHa3dz8AhW9qpUCHWU1Cs8Q_AUoA3oECAQBBQ&biw=1366&bih=625&dpr=1>. Acesso em: 16 jan. 2023.

GOSWAMI, M.; CHAKRABORTY, P.; MUKHERJEE, K.; MITRA, G.; BHATTACHARYYA, P.; DEY, S.; TRIBEDI, P. Bioaugmentation and biostimulation: a potential strategy for environmental remediation. **Journal of Microbiology and Experimentation**, Budapest, v. 6, n. 5, p. 223231, 2018.

GUIMARÃES, A. C. D.; DE PAULA, D. F.; MENDES, K. F.; SOUSA, R. N.; ARAÚJO, G. R.; INOUE, M. H.; TORNISIELO, V. L. Can soil type interfere in sorption-desorption, mobility, leaching, degradation, and microbial activity of the 14C-tebuthiuron herbicide? **Journal of Hazardous Materials Advances**, Amsterdam, v. 6, p. 100074, 2022.

HESHMATI, A.; KOMACKI, H. A.; NAZEMI, F.; KHANEGHAH, A. M. Persistence and dissipation behavior of pesticide residues in parsley (*Petroselinum crispum*) under field conditions. **Quality Assurance and Safety of Crops and Foods**, Wageningen, v. 12, p. 55-65, 2020.

HUANG, H.; ZHANG, C.; RONG, Q.; LI, C.; MAO, J.; LIU, Y.; CHEN, J.; LIU, X. Effect of two organic amendments on atrazine degradation and microorganisms in soil. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 152, 2020.

HUANG, J.; KHAN, M. T.; PERECIN, D.; COELHO, S. T.; ZHANG, M. Sugarcane for bioethanol production: potential of bagasse in Chinese perspective, **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, United Kingdom, vol. 133, p. 110296, 2020.

HUSSAIN, S.; ARSHAD, M.; SPRINGAEL, D.; SØRENSEN, S. R.; BENDING, G. D.; DEVERS-LAMRANI, M.; MAQBOOL, Z.; MARTIN-LAURENT, F. Abiotic and Biotic Processes Governing the Fate of Phenylurea Herbicides in Soils: A Review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, Boca Raton, v. 45, n. 18, p. 1947–1998, 2015.

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, 2019 **Relatórios de comercialização de agrotóxicos**, Brasília-Brasil.

JUWARKAR, A. A.; JAMBHULKAR, H. P. Phytoremediation of coal mine spoil dump through integrated biotechnological approach. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, n. 11, p. 4732–4741, 2008.

KEMPA, T.; MARSCHALKO, M.; YILMAZ, I.; LACKOVÁ, E.; KUBEČKA, K.; STALMACHOVÁ, B.; BOUCHAL, T.; BEDNÁRIK, M.; DRUSA, M.; BENDOVÁ, M. In-situ remediation of the contaminated soils in Ostrava city (Czech Republic) by steam curing/vapor. **Engineering Geology**, Amsterdam, v. 154, p. 42-55, 2013.

KHAN, S.; AFZAL, M.; IQBAL, S.; KHAN, Q. M. Plant–bacteria partnerships for the remediation of hydrocarbon contaminated soils. **Chemosphere**, Oxford, v. 90, n. 4, p. 1317–1332, 2013.

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

LIMA, E. W.; BRUNALDI, B. P.; FRIAS, Y. A.; ALMEIDA MOREIRA, B. R.; DA SILVA ALVES, L.; LOPES, P. R. M. A synergistic bacterial pool decomposes tebuthiuron in the soil. **Scientific Reports**, London, v. 12, n. 1, p. 9225-92236, 2022.

LIU, L.; LI, W.; SONG, W.; GUO, M. Remediation techniques for heavy metal-contaminated soils: Principles and applicability. **Science of The Total Environment**, Amsterdam, v. 633, p. 206–219, 2018.

LI, Y.; SALLACH, J. B.; ZHANG, W.; BOYD, S. A.; Li, H. Insight into the distribution of pharmaceuticals in soil-water-plant systems. **Water research**, New York, v. 152, p. 38-46, 2019.

LOPES, P. R. M.; CRUZ, V. H.; DE MENEZES, A. B.; GADANHOTO, B. P.; MOREIRA, B. R. de A.; MENDES, C. R.; MAZZEO, D. E. C.; DILARRI, G.; MONTAGNOLLI, R. N. Microbial bioremediation of pesticides in agricultural soils: an integrative review on natural attenuation, bioaugmentation and biostimulation. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, Amsterdam, 2022.

LUO, R.; LI, J.; ZHAO, Y.; FAN, X.; ZHAO, P.; CHAI, L. A critical review on the research topic system of soil heavy metal pollution bioremediation based on dynamic co-words network measures. **Geoderma**, Amsterdam, v. 305, p. 281–292, 2017.

MADALÃO, J. C.; SILVA, A. A.; JUNIOR, W. D. A. O.; SARAIVA, D. T.; MELO, C. A. D.; LEONARDO, D. O herbicida sulfentrazone interfere na biomassa microbiana e na atividade da microbiota do solo. **Revista de Ciências Agrárias - Amazon Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, Belém, v. 59, n. 1, p. 54–59, 2016.

MADALÃO, J. C.; SOUZA, M. F.; SILVA, A. A.; SILVA, D. V.; JAKELAITIS, A.; PEREIRA, G. A. M. Action of *Canavalia ensiformis* in remediation of contaminated soil with sulfentrazone. **Bragantia**, Campinas, v. 76, p. 292–299, 2017.

MADARIAGA-NAVARRETE, A.; RODRÍGUEZ-PASTRANA, B. R.; VILLAGÓMEZ-IBARRA, J. R.; ACEVEDO-SANDOVAL, O. A.; PERRY, G.; ISLAS-PELCASTRE, M. Bioremediation model for atrazine contaminated agricultural soils using phytoremediation (using *Phaseolus vulgaris* L.) and a locally adapted microbial consortium. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, Philadelphia, v. 52, n. 6, p. 367–375, 2017.

MAHAR, A.; WANG, P.; ALI, A.; AWASTHI, M. K.; LAHORI, A. H.; WANG, Q.; LI, R.; ZHANG, Z. Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: a review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Cambridge, v. 126, p. 111–121, 2016.

MARIN, F. R.; EDREIRA, J. I. R.; ANDRADE, J.; GRASSINI, P. On-farm sugarcane yield and yield components as influenced by number of harvests, **Field Crops Research**, Amsterdam, vol. 240, p. 134-142, 2019.

MARTÍNEZ, L. C.; PLATA-RUEDA, A.; GONÇALVES, W. G.; FREIRE, A. F. P. A.; ZANUNCIO, J. C.; BOZDOĞAN, H.; SERRÃO, J. E. Toxicity and cytotoxicity of the insecticide imidacloprid in the midgut of the predatory bug, *Podisus nigrispinus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Cambridge, v. 167, p. 69–75, 2019.

MATALLO, M. B.; SPADOTTO, C. A.; LUCHINI, L. C.; GOMES, M. A. Sorption, degradation, and leaching of tebuthiuron and diuron in soil columns. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, Philadelphia, v. 40, n. 1, p. 39–43, 2005.

MEHDIZADEH, M.; IZADI-DARBANDI, E.; NASERI POUR YAZDI, M. T.; RASTGOO, M.; MALAEKEH-NIKOUEI, B.; NASSIRLI, H. Impacts of different organic amendments on soil degradation and phytotoxicity of metribuzin. **International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture**, Tehran, v. 8, p. 113–121, 2019.

MEHNAZ, S. Microbes—friends and foes of sugarcane, **Journal of Basic Microbiology**, Weinheim, vol. 53, no. 12, pp. 954-971, 2013.

MELO, C. A. D.; PASSOS, A. B. R. J.; MADALÃO, J. C.; SILVA, D. V.; MASSENSINI, A. M.; SILVA, A. A.; COSTA, M. D.; SOUZA, M. F. Bioaugmentation as an associated technology for bioremediation of soil contaminated with sulfentrazone. **Ecological Indicators**, Netherlands, v. 99, p. 343–348, 2019.

MENDES, K. F.; MASET, B. A.; MIELKE, K. C.; SOUSA, R. N. De; MARTINS, B. A. B.; TORNISIELO, V. L. Phytoremediation of quinclorac and tebuthiuron-polluted soil by green manure plants. **International Journal of Phytoremediation**, Philadelphia, v. 23, n. 5, p. 474–481, 2021.

MENDES, K. F.; SILVA, A. A. (org.) **Plantas daninhas: biologia e manejo**. São Paulo: Oficina de Textos, vol. 1, 2022, 160 p.

MERCURIO, P.; MUELLER, J. F.; EAGLESHAM, G.; FLORES, F.; NEGRI, A. P. Herbicide Persistence in Seawater Simulation Experiments. **PLOS ONE**, San Francisco, v. 10, n. 8, p. e0136391, 2015.

MERCURIO, P.; MUELLER, J. F.; EAGLESHAM, G.; O'BRIEN, J.; FLORES, F.; NEGRI, A. P. Degradation of Herbicides in the Tropical Marine Environment: Influence of Light and Sediment. **PLOS ONE**, San Francisco, v. 11, n. 11, p. e0165890, 2016.

MOSSIN, C. B.; HIJANO, N.; NEPOMUCENO, M. P.; CARVALHO, L. B.; ALVES, P. L. C. A. Interference Relationships Between Weeds and Sugarcane in the 'Plene' System. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 37, p. 1-7, 2019.

MOSTAFA, F. I. Y.; HELLING, C. S. Isolation and 16S DNA Characterization of Soil Microorganisms from Tropical Soils Capable of Utilizing the Herbicides Hexazinone and Tebuthiuron. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, Philadelphia, v. 38, n. 6, p. 783–797, 2003.

NAG, S. K.; RAIKWAR, M. K. Persistent organochlorine pesticide residues in animal feed. **Environmental monitoring and assessment**, Switzerland, v. 174, p. 327-335, 2011.

NANTES, L. S.; ARAGÃO, M. B.; MOREIRA, B. R. A.; FRIAS, Y. A.; VALÉRIO, T. S.; LIMA, E. W.; SILVA VIANA, R.; LOPES, P. R. M. Synergism and antagonism in environmental behavior of tebuthiuron and thiamethoxam in soil with vinasse by natural attenuation. **International Journal of Environmental Science and Technology**, Iran, 2022.

NAZIR, A.; JARIKO, G. A.; JUNEJO, M. A. Factors affecting sugarcane production in Pakistan, **Pakistan Journal of Commerce and Social Sciences**, Lahore, vol. 7, no. 1, p. 128-140, 2013.

NEVES, A. B. R.; CRUZ, V. H.; MOREIRA, B. R. A.; VIANA, R. S.; LOPES, P. R. M. Viabilidade da atenuação natural em solo de manejo orgânico contaminado com tebuthiuron. **Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 36, n. 2, p. 261–272, 2021.

NWANKWEGU, A. S.; ZHANG, L.; XIE, D.; ONWOSI, C. O.; MUHAMMAD, W. I.; ODOH, C. K.; SAM, K.; IDENYI, J. N. Bioaugmentation as a green technology for hydrocarbon pollution remediation. Problems and prospects. **Journal of Environmental Management**, London, v. 304, p. 114313, 2022.

ODUKKATHIL, G; VASUDEVAN, N. Toxicity and bioremediation of pesticides in agricultural soil. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, Amsterdam, v. 12, p. 421-444, 2013.

ODOH, C. K.; ZABBEY, N.; SAM, K.; EZE, C. N. Status, progress and challenges of phytoremediation-An African scenario. **Journal of Environmental Management**, London, v. 237, p. 365-378, 2019.

OLIVEIRA JÚNIOR, R.S. Mecanismos de ação de herbicidas. *In*: OLIVEIRA JÚNIOR, R.S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M.H. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax, p.141-192, 2011.

OLIVEIRA, M. A.; PIRES, F. R.; FERRAÇO, M.; BELO, A. F. The Validation of an Analytical Method for Sulfentrazone Residue Determination in Soil Using Liquid Chromatography and a Comparison of Chromatographic Sensitivity to Millet as a Bioindicator Species. **Molecules**, Basel, v. 19, n. 8, p. 10982–10997, 2014.

PALLUDETO, A. W. A.; TELLES, T. S.; SOUZA, R. F.; MOURA, F. R. Sugarcane expansion and farmland prices in São Paulo State, Brazil, **Agriculture and Food Security**, United Kingdom, vol. 7, no. 1, p. 1-12, 2018.

PANICO, S. C.; PANICO, S. C.; van GESTEL, C. A.; VERWEIJ, R. A.; RAULT, M.; BERTRAND, C.; BARRIGA, C. A. M.; MICHAEL, C.; FRITSCH, C.; GIMBERT, F.; PELOSI, C. Field mixtures of currently used pesticides in agricultural soil pose a risk to soil invertebrates. **Environmental Pollution**, Barking, v. 305, p. 119290, 2022.

PARWEEN, T.; BHANDARI, P.; SHARMA, R.; JAN, S.; SIDDIQUI, Z. H.; PATANJALI, P. K. Bioremediation: A Sustainable Tool to Prevent Pesticide Pollution. *In*: OVES, M.; ZAIN KHAN, M.; M.I. ISMAIL, I. (ed.). **Modern Age Environmental Problems and their Remediation**. New York, United States America: Springer International Publishing, p. 215–227, 2018.

PELOSI, C.; RÖMBKE, J. Are Enchytraeidae (Oligochaeta, Annelida) good indicators of agricultural management practices? **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 100, p. 255-263, 2016.

PERRUCHON, C.; PANTOLEON, A.; VEROUTIS, D.; GALLEGU-BLANCO, S.; MARTIN-LAURENT, F.; LIADAKI, K.; KARPOUZAS, D. G. Characterization of the biodegradation, bioremediation and detoxification capacity of a bacterial consortium able to degrade the fungicide thiabendazole. **Biodegradation**, Dordrecht, v. 28, p. 383-394, 2017.

Pesticide Properties DataBase (PPDB): **Tebuthiuron (Ref: EL 103)**. University of Hertfordshire, United Kingdom, 2023. Disponível em <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/614.htm#2>. Acesso em: 24 de fev. 2023.

PIERRI, L.; NOVOTNY, E. H.; PELLEGRINO CERRI, C. E.; JOSÉ DE SOUZA, A.; MATTOS, B. B.; TORNISIELO, V. L.; REGITANO, J. B. Accessing biochar's porosity using a new low field NMR approach and its impacts on the retention of highly mobile herbicides. **Chemosphere**, Oxford, v. 287, p. 132237, 2022.

PIRES, F. R.; PROCÓPIO, S. O.; SANTOS, J. B.; SOUZA, C. M.; DIAS, R. R. Avaliação da fitorremediação de tebuthiuron utilizando *Crotalaria juncea* como planta indicadora. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 39, n. 2, p. 245–250, 2008.

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

PIRES, F. R.; SOUZA, C. M.; CECOM, P. R.; SANTOS, J. B.; 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, p. 627–634, 2005.

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, p. 335–341, 2003.

POMMERENING, A.; MUSZTA, A. Relative plant growth revisited: Towards a mathematical standardisation of separate approaches. **Ecological Modelling**, Amsterdam, v. 320, p. 383–392, 2016.

PubChem – **Tebuthiuron Herbicide**. Disponível em:

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tebuthiuron>. Acesso em: 30 ago. 2021.

PULLAGURALA, V. L. R.; RAWAT, S.; ADISA, I. O.; HERNANDEZ-VIEZCAS, J. A.; PERALTA-VIDEA, J. R.; GARDEA-TORRESDEY, J. L. Plant uptake and translocation of contaminants of emerging concern in soil. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 636, p. 1585-1596, 2018.

QIAN, Y.; MATSUMOTO, H.; LIU, X.; LI, S.; LIANG, X.; LIU, Y.; ZHU, G.; WANG, M. Dissipation, occurrence and risk assessment of a phenylurea herbicide tebuthiuron in sugarcane and aquatic ecosystems in South China. **Environmental Pollution**, Barking, v. 227, p. 389–396, 2017.

RAIMONDO, E. E.; SAEZ, J. M.; APARICIO, J. D.; FUENTES, M. S.; BENIMELI, C. S. Coupling of bioaugmentation and biostimulation to improve lindane removal from different soil types. **Chemosphere**, Oxford, v. 238, 2020.

RANDIKA, J. L. P. C.; BANDARA, P. K. G. S. S.; SOYSA, H. S. M.; RUWANDEEPIKA, H. D.; GUNATILAKE, S. K. Bioremediation of pesticide-contaminated soil: a review on indispensable role of soil bacteria. **Journal of Agricultural Sciences – Sri Lanka**, Belihuloya, v. 17, n. 1, p. 19–43, 2022.

REHAN, M.; KLUGE, M.; FRÄNZLE, S.; KELLNER, H.; ULLRICH, R.; HOFRICHTER, M. Degradation of atrazine by *Frankia alni*, ACN14a: gene regulation, dealkylation, and dechlorination. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 98, n. 13, p. 6125–6135, 2014.

REIS, F. C.; VICTÓRIA, R.; ANDRADE, M. T.; BARROSO, A. a. M. Use of Herbicides in Sugarcane in the São Paulo State. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 37, p. 1-9, 2019.

RESENDE, M. D. V.; FURLANI JUNIOR, E.; MORAES, M. L. T.; FAZUOLI, L. C. Estimativas de parâmetros genéticos e predição de valores genotípicos no melhoramento do cafeeiro pelo procedimento REML/BLUP. **Bragantia**, Campinas, v. 60, n. 3, p. 185-193, 2001.

RIGOTTO, R. M.; VASCONCELOS, D. P.; ROCHA, M. M. Pesticide use in Brazil and problems for public health, **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, vol. 30, no. 7, pp. 1360-1362, 2014.

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

RODRIGUES, L. M.; FERREIRA, L. J. L.; BARROS, M. A.; MACEDO, M. R.; BARBOSA, R. N.; MOURA, T. S.; GODOY, F. R.; DELGADO, C. H. O. Efficacy of the herbicide indaziflam in the control of perennial weeds *Digitaria nuda*, *Rottboellia exaltata* and *Panicum maximum* in the initial development of sugarcane. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, São José dos Pinhais, v. 5, n. 2, p. 1882–1869, 2022.

ROGÉRIO, C.; BORGES, J.; MACHADO, J. A review and some reflections on farmers' adoption of sustainable agricultural practices worldwide, **Science of the Total Environment**, Amsterdam, vol. 729, p. 138831, 2020.

ROMAN, E. S.; VARGAS, L.; RIBEIRO, M. C. F. Efeito do teor de umidade do solo na seletividade e na Eficiência de carfentrazone-ethyl no controle de plantas daninhas na cultura de soja. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, v. 4, n. 2, p. 114–122, 2005.

ROSSETTO R.; SANTIAGO A. D. **Adubação: resíduos alternativos**. Embrapa Cana: Brasília-Brazil, 2022. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/cana/producao/correcao-e-adubacao/diagnose-das-necessidades-nutricionais/recomendacao-de-correcao-e-adubacao/adubacao-residuos-alternativos>. Acesso em: 12 dez. 2022.

RUDORFF, B. F. T.; AGUIAR, D. A.; SILVA, W. F., SUGAWARA, L. M., ADAMI, M.; MOREIRA, M. A. Studies on the rapid expansion of sugarcane for ethanol production in São Paulo State (Brazil) using Landsat data, **Remote Sensing**, Switzerland, vol. 2, no. 4, p. 1057-1076, 2010.

SAIER, M. H.; TREVORS, J. T. Phytoremediation. **Water, Air, and Soil Pollution**, Dordrecht, v. 205, n. 1, p. 61–63, 2010.

SAGRILO, E.; LEITE, L. F. C.; GALVÃO, S. R. S.; LIMA, E. F. **Manejo Agroecológico do Solo: os Benefícios da Adubação Verde**. Embrapa: Teresina, PI, 2009. 22 p. (Documentos, 193).

SAM, K.; ZABBEY, N. Contaminated land and wetland remediation in Nigeria: opportunities for sustainable livelihood creation. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 639, p. 1560-1573, 2018.

SARAPIROM, P.; WIRIYAAMPAIWONG, P.; RUEANGSAN, K.; PLANGKLANG, P.; TEERAKUN, M. The combination technique of bioaugmentation and phytoremediation on the degradation of paraquat in contaminated soil. **Asia-Pacific Journal of Science and Technology**, Khon Kaen, v. 27, n. 03, p. 27– 03, 2022.

SHARMA, A.; KALYANI, P.; TRIVEDI, V. D.; KAPLEY, A.; PHALE, P. S. Nitrogen-dependent induction of atrazine degradation pathway in *Pseudomonas* sp. strain AKN5. **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v. 366, n. 1, 2019.

SHELDON, P. J.; JOHNSON D. J; AUGUST, P. R.; LIU, H.W.; SHERMAN, D.H. Characterization of a Mitomycin-binding drug resistance Mechanism from the producing organism. **Bacteriol**, [s. l.], v. 179, n. 5, p. 1796-1804, 1999.

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

SILVA, D. A.; ALBUQUERQUE, J. D. A. A.; ALVES, J. M. A.; ROCHA, P. R. R.; MEDEIROS, R. D.; FINOTO, E. L.; MENEZES, P. H. S. Caracterização de plantas daninhas em área rotacionada de milho e feijão-caupi em plantio direto. **Scientia Agropecuária**, Piracicaba, v. 9, p. 7-15, 2018.

SILVA, D. A. M.; SILVA, S. A. M.; SILVA, S. T.; FÉLIX, H. R. M.; PESSOA, G. G. F. A.; ARAÚJO, J. R. E. S.; SILVA, J. H. B.; BULHÕES, L. E. L.; SANTOS, J. P. O. Riscos para a saúde do trabalhador e boas práticas de segurança do trabalho na aplicação de herbicidas em cana-de-açúcar. **Sistemas & Gestão**, Niterói, v. 17, n. 1, p. 80 -88, 2022.

SILVA, T. S.; DE FREITAS SOUZA, M.; MARIA DA SILVA TEÓFILO, T.; SILVA DOS SANTOS, M.; FORMIGA PORTO, M. A.; MARTINS SOUZA, C. M.; BARBOSA DOS SANTOS, J.; SILVA, D. V. Use of neural networks to estimate the sorption and desorption coefficients of herbicides: A case study of diuron, hexazinone, and sulfometuron-methyl in Brazil. **Chemosphere**, Oxford, v. 236, 2019.

SILVA, S. D. A. Introdução e Importância Econômica da Cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul. In: SILVA, S. D. A.; MONTERO, C. R. S.; SANTOS, R. C.; NAVA, D. E.; GOMES, C. B.; ALMEIDA, I. R. (ed.) **Sistema de produção de cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul**. Pelotas-Brasil: Embrapa, 2016. p. 17– 18.

SŁAWSKI, M; SŁAWSKA, M. Collembolan Assemblages Response to Wild Boars (*Sus scrofa* L.) Rooting in Pine Forest Soil. **Forests**, Switzerland, v. 11, n. 11, p. 1123, 2020.

SINGH, A.; LAL, U. R.; MUKHTAR, H. M.; SINGH, P. S.; SHAH, G.; DHAWAN, R. K. Phytochemical profile of sugarcane and its potential health aspects, **Pharmacognosy Reviews**, Bangalore, v. 9, no. 17, pp. e45, 2015.

SINGH, A.; WARD, O. P. Biodegradation and bioremediation, **Springer Science and Business Media**, Berlin, 2004.

SINGH, R. B.; MAHENDERAKAR, M. D.; JUGRAN, A. K.; SINGH, R. K.; SRIVASTAVA, R. K. Assessing genetic diversity and population structure of sugarcane cultivars, progenitor species and genera using microsatellite (SSR) markers, **Gene**, Amsterdam, vol. 753, p. e144800, 2020.

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, p. 71-79, 2004.

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

SUSARLA, S.; MEDINA, V. F.; MCCUTCHEON, S. C. Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination. **Ecological Engineering**, Oxford, v. 18, n. 5, p. 647–658, 2002.

TEIXEIRA, M. F. F.; SILVA, A. A.; NASCIMENTO, M. A.; VIEIRA, L. S.; TEIXEIRA, T.; SOUZA, M. Efeitos da adição de matéria orgânica a um latossolo vermelho-amarelo na sorção e dessorção de tebuthiuron. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 36, p. e018168639, 2018.

THOMAS, M. C.; FLORES, F.; KASERZON, S.; FISHER, R.; NEGRI, A. P. Toxicity of ten herbicides to the tropical marine microalgae *Rhodomonas salina*. **Scientific Reports**, London, v. 10, n. 1, p. 7612, 2020.

TONIÊTO, T. A. P.; PIERRI, L.; TORNISIELO, V. L.; REGITANO, J. B. Fate of tebuthiuron and hexazinone in green-cane harvesting system. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 64, n. 20, p. 3960–3966, 2016.

TOZSER, D.; MAGURA, T.; SIMON, E. Heavy metal uptake by plant parts of willow species: A meta-analysis. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 336, p. 101–109, 2017.

VECHIA, J. F. D.; PERES, L. R. S.; CASTRO, P. P.; CRUZ, C. Determinação de plantas indicadoras de resíduos de bentazona, atrazina e clomazona no solo. **Ciência e cultura**, Barretos, v. 17, p. e211707, 2021.

VERMA, S.; CHATTERJEE, S. Biodegradation of profenofos, an acetylcholine esterase inhibitor by a psychrotolerant strain *Rahnella* sp. PFF2 and degradation pathway analysis. **International Biodeterioration and Biodegradation**, Barking, v. 158, p. 105169, 2021.

VITI, M. L.; MENDES, K. F.; DOS REIS, F. C.; GUIMARÃES, A. C. D.; SORIA, M. T. M.; TORNISIELO, V. L. Characterization and Metabolism of Bound Residues of Three Herbicides in Soils Amended with Sugarcane Waste. **Sugar Tech**, India, v. 23, n. 1, p. 23–37, 2021.

WALLS, W.D. Petroleum refining industry in China, **Energy Policy**, Guildford, v. 38 p. 2110-2115, 2010.

WANG, J.; AWAYA, J.; ZHU, Y.; MOTOOKA, P. S.; NELSON, D. A.; LI, Q. X. Tests of hexazinone and tebuthiuron for control of exotic plants in Kauai, Hawaii. **Forests**, Switzerland, v. 10, n 7, p. 576, 2019.

WANG, J.; HIRAI, H.; KAWAGISHI, H. Biotransformation of acetamiprid by the white-rot fungus *Phanerochaete sordida* YK-624. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 93, n. 2, p. 831–835, 2012.

WANG, L.; CHI, X.-Q.; ZHANG, J.-J.; SUN, D.-L.; ZHOU, N.-Y. Bioaugmentation of a methyl parathion contaminated soil with *Pseudomonas* sp. strain WBC-3. **International Biodeterioration and Biodegradation**, Barking, v. 87, p. 116–121, 2014.

WEI, Z.; VAN LE, Q.; 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.

WINTER, B. **Linear models and linear mixed effects models in R with linguistic applications**. 2013. Disponível em: <https://arxiv.org/ftp/arxiv/papers/1308/1308.5499.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2023.

WONG, M. H. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. **Chemosphere**, Oxford, v. 50, n. 6, p. 775–780, 2003.

XIE, J.; HE, Z.; LIU, X.; LIU, X.; VAN NOSTRAND, J. D.; DENG, Y.; WU, L.; ZHOU, J.; QIU, G. GeoChip-Based Analysis of the Functional Gene Diversity and Metabolic Potential of Microbial Communities in Acid Mine Drainage. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 77, n. 3, p. 991–999, 2011.

YAN, X.; HUANG, J.; XU, X.; CHEN, D.; XIE, X.; TAO, Q.; HE, J.; JIANG, J. Enhanced and Complete Removal of Phenylurea Herbicides by Combinational Transgenic Plant-Microbe Remediation. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 84, n. 14, p. e00273-18, 2018.

YANG, S.-Z.; JIN, H.-J.; WEI, Z.; HE, R.-X.; JI, Y.-J.; LI, X.-M.; YU, S.-P. Bioremediation of Oil Spills in Cold Environments: A Review. **Pedosphere**, China, v. 19, n. 3, p. 371–381, 2009.

YERA, A.; NASCIMENTO, M. M.; ROCHA, G. O. D.; ANDRADE, J. B. D.; VASCONCELLOS, P. C. Occurrence of pesticides associated to atmospheric aerosols: hazard and cancer risk assessments. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Campinas, v. 31, p. 1317-1326, 2020.

ZABBEY, N.; SAM, K.; ONYEBUCHI, A. T. Remediation of contaminated lands in the Niger Delta, Nigeria: Prospects and challenges. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 586, p. 952-965, 2017.

ZANGANEH, F.; HEIDARI, A.; SEPEHR, A.; ROHANI, A. Bioaugmentation and bioaugmentation–assisted phytoremediation of heavy metal contaminated soil by a synergistic effect of cyanobacteria inoculation, biochar, and purslane (*Portulaca oleracea* L.). **Environmental Science and Pollution Research**, Berlin, v. 29, n. 4, p. 6040–6059, 2022.

ZHANG, N.; GUO, D.; ZHU, Y.; WANG, X.; ZHU, L.; LIU, F.; TENG, Y.; CHRISTIE, P.; LI, Z.; LUO, Y. Microbial remediation of a pentachloronitrobenzene-contaminated soil under *Panax notoginseng*: A field experiment. **Pedosphere**, China, v. 30, n. 4, p. 563–569, 2020.

ZHENG, Y.; CHAI, L. Y. Combined alkali precipitation and bioaugmentation process for the treatment of black liquor under alkaline condition. **Procedia Environmental Sciences**, Netherlands, v. 31, p. 715-724, 2016.

ZHOU, Z.; WANG, C.; LUO, Y. Meta-analysis of the impacts of global change factors on soil microbial diversity and functionality, **Nature communications**, United Kingdom, v. 11, p. 3072, 2020.

**TOLERÂNCIA DE ADUBOS VERDES ASSOCIADOS A INOCULANTES
MICROBIANOS EM SOLO COM TEBUTHIURON**



Eng. Agrônomo Victor Hugo Cruz

Discente



Prof. Dr. Paulo Renato Matos Lopes

Orientador

Ilha Solteira-SP
Fevereiro de 2023