

INSTITUTO FEDERAL DE MINAS GERAIS – CAMPUS SÃO JOÃO EVANGELISTA

BACHARELADO EM AGRONOMIA

Evandro Rocha Pereira

**FITORREMEDIAÇÃO EM SOLOS CONTAMINADOS COM RESÍDUOS DO
HERBICIDA DICLOSULAM**

São João Evangelista - MG

2024

EVANDRO ROCHA PEREIRA

**FITORREMEDIAÇÃO EM SOLOS CONTAMINADOS COM RESÍDUOS DO
HERBICIDA DICLOSULAM**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso Bacharelado em Agronomia do Instituto
Federal de Ciência e Tecnologia de Minas Gerais –
Campus São João Evangelista para obtenção do grau
de Bacharel em Agronomia.

Orientador: Me. Alisson José Eufrásio de Carvalho

São João Evangelista - MG

2024

P436f Pereira, Evandro Rocha.

Fitorremediação em solos contaminados com resíduos do herbicida diclosulam / Evandro Rocha Pereira – 2024.

51f.: il.

Orientador: Me. Alisson José Eufrásio de Carvalho.

Trabalho de Conclusão de Curso (bacharelado em Agronomia) – Instituto Federal Minas Gerais. *Campus* São João Evangelista, 2024.

1. Efeito residual. 2. Leguminosas. 3. Bioensaio. 4. Bradyrhizobium. I. Pereira, Evandro Rocha. II. Instituto Federal de Minas Gerais *Campus* SJE. III. Título.

CDD 631.8

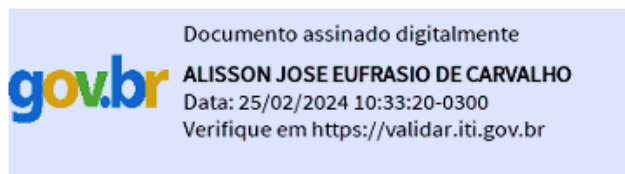
Catálogo: Esther Soares Cunha - CRB-6/MG-003372/P

Evandro Rocha Pereira

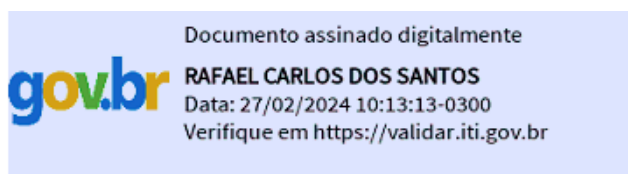
FITORREMEDIAÇÃO EM SOLOS CONTAMINADOS COM RESÍDUOS DO HERBICIDA DICLOSULAM

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso Bacharelado em Agronomia do Instituto
Federal de Ciência e Tecnologia de Minas Gerais –
Campus São João Evangelista para obtenção do grau
de Bacharel em Agronomia.

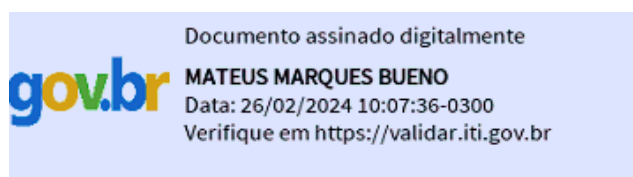
Aprovado em: 22/01/2024 pela banca examinadora:



Orientador Prof. Me. Alisson José Eufrásio de Carvalho
Instituto Federal de Minas Gerais – IFMG



Prof. Dr. Rafael Carlos dos Santos
Instituto Federal de Minas Gerais – IFMG



Prof. Dr. Mateus Marques Bueno
Instituto Federal do Sul de Minas Gerais – IFSULDEMINAS

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me permitir passar por cada dia durante esta jornada e me dar forças para superar todos os desafios.

Agradeço aos meus pais, Elizabete e Divino, aos meus irmãos, Leandro e Ernando, as minhas tias, Tereza e Francisca, que estiveram ao meu lado a todo o momento e não mediram esforços para que eu pudesse concluir mais este desafio.

Agradeço também a todos os demais familiares que de alguma forma me auxiliaram e me incentivaram durante este percurso.

Agradeço aos meus amigos, que formei durante todos esses anos e se tornaram como família, compartilhando ao meu lado momentos felizes e momentos difíceis, sem hesitarem em me auxiliar quando era possível. Muito obrigado a Bárbara, Danielle, Denisson, James, Josiane, Ilana, Marcos Paulo, Marcos Túlio, Sarah, Túlio Rodrigues, Vinícius, e Yuri.

Agradeço ao meu professor e orientador Me. Alisson José Eufrásio de Carvalho, por não medir esforços para me repassar todo o conhecimento técnico ao longo destes anos e me auxiliar sempre que possível, inclusive sendo indispensável para realização e conclusão deste trabalho.

Agradeço a todos os companheiros de curso, amigos, e funcionários do IFMG, que auxiliaram na condução deste trabalho, dedicando seus tempos livres para que pudesse concluir esta tarefa na maior perfeição possível.

Agradeço ao IFMG Campus São João Evangelista, pela oportunidade concedida de ingressar neste curso e por todo o suporte fornecido. E um muito obrigado especial a todos os professores, funcionários, e colegas de faculdade, que dedicaram seus tempos a me transmitir ensinamentos valiosos, propiciando bons momentos e boas histórias, que sem dúvidas levarei para toda a vida.

RESUMO

Os herbicidas são produtos que mesmo empregados corretamente, seguindo as recomendações, podem-se apresentar como empecílio ao estabelecimento de culturas susceptíveis, devido aos efeitos residuais que algumas destas moléculas apresentam no solo. Desta forma, alternativas para eliminar estes resíduos do solo são necessárias, sendo uma das opções a utilização de plantas com potencial fitorremediador, que serão capazes de retirar os resíduos bioativos do solo. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a capacidade de fitorremediação de resíduos do herbicida diclosulam no solo, aplicado na dose de 41,7 g.ha⁻¹, com o uso das espécies *Canavalia ensiformes*, *Crotalaria spectabilis*, *Mucuna pruriens*, e as combinações destas espécies, também inoculando as sementes com a bactéria *Bradyrhizobium elkanii* BR 2003, posteriormente, também se objetivou verificar a eficiência de fitorremediação destas leguminosas por meio da realização de bioensaio com sorgo (*Sorghum bicolor*). O experimento de campo foi instalado em delineamento em blocos ao acaso (DBC), em esquema fatorial 4x8, sendo o fator 1 correspondente aos níveis de substrato com e sem a presença do diclosulam e do inoculante, e o fator 2 correspondente às 8 combinações de plantas, organizado em 4 repetições e totalizando 128 unidades experimentais. O experimento do bioensaio com sorgo foi instalado da mesma forma do experimento de campo, todavia com 4 repetições em triplicata e totalizando 384 unidades experimentais. Foram realizadas, para os dois experimentos, avaliações de fitotoxicidade, além da coleta das plantas para secagem em estufa e determinação da massa seca de parte aérea. Com base no experimento de campo, a *Crotalaria spectabilis* e seu cultivo em consorcio com a *Mucuna pruriens* são as plantas com maior potencial para fitorremediar o diclosulam. O sorgo se mostrou como uma boa opção de planta bioindicadora para o herbicida em questão, permitindo concluir que os plantios das três leguminosas em consórcio são mais eficientes na fitorremediação do que seu plantio isolado, uma vez que diminuíram a intoxicação observada no sorgo e não reduziram a massa seca da parte aérea quando comparada a testemunha. A utilização da bactéria *Bradyrhizobium elkanii* BR 2003 como inoculante das sementes reduziu a intoxicação observada no sorgo, não sendo eficiente nas próprias leguminosas.

Palavras-chave: Efeito residual. Leguminosas. Bioensaio. *Bradyrhizobium*.

ABSTRACT

Herbicides are products that, even if used correctly, following recommendations, can present an obstacle to the establishment of susceptible crops, due to the residual effects that some of these molecules present in the soil. Therefore, alternatives to eliminate these residues from the soil are necessary, one of the options being the use of plants with phytoremediation potential, which will be capable of removing bioactive residues from the soil. The objective of the present work was to evaluate the phytoremediation capacity of residues of the herbicide diclosulam in the soil, applied at a dose of 41.7 g.ha⁻¹, using the species *Canavalia ensiformes*, *Crotalaria spectabilis*, *Mucuna pruriens*, and combinations of these species, also inoculating the seeds with the bacterium *Bradyrhizobium elkanii* BR 2003, subsequently, the aim was also to verify the phytoremediation efficiency of these legumes by carrying out a bioassay with sorghum (*Sorghum bicolor*). The field experiment was carried out in a randomized block design (RBD), in a 4x8 factorial scheme, with factor 1 corresponding to the substrate levels with and without the presence of diclosulam and the inoculant, and factor 2 corresponding to the 8 combinations of plants, organized in 4 replications and totaling 128 experimental units. The bioassay experiment with sorghum was installed in the same way as the field experiment, however with 4 replications in triplicate and totaling 384 experimental units. For both experiments, phytotoxicity assessments were carried out, in addition to collecting the plants for drying in an oven and determining the dry mass of the aerial part. Based on the field experiment, *Crotalaria spectabilis* and its cultivation in intercrop with *Mucuna pruriens* are the plants with the greatest potential to phytoremediate diclosulam. Sorghum proved to be a good bioindicator plant option for the herbicide in question, allowing us to conclude that planting the three legumes in consortia is more efficient in phytoremediation than their isolated planting, since they reduced the intoxication observed in sorghum and did not reduce the dry mass of the aerial part when compared to the control. The use of the bacterium *Bradyrhizobium elkanii* BR 2003 as a seed inoculant reduced the intoxication observed in sorghum, but was not efficient in the legumes themselves.

Key-words: Residual effect. Legumes. Bioassay. *Bradyrhizobium*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fórmula estrutural do Diclosulam.	16
Figura 2 - Imagem de satélite (Google Earth - 2021) (A) e vista área (B) da área experimental no IFMG-SJE.....	22
Figura 3 - Croqui da área experimental.	23
Figura 4 - Roçada mecanizada (A) e construção dos canteiros (B).	24
Figura 5 - Demarcação das parcelas e subparcelas experimentais.	24
Figura 6 - Sistema de irrigação por aspersão montado na área experimental.	25
Figura 7 - Aplicação do herbicida Diclosulam na área experimental.	25
Figura 8 - Inoculante <i>Bradyrhizobium elkanii</i> cepa BR 2003 (A). Processo de inoculação e homogeneização com solução em água açucarada (B). Sementes de <i>Canavalia ensiformes</i> em processo de secagem (C). Sementes de <i>Crotalaria spectabilis</i> inoculadas e prontas para plantio (D).....	26
Figura 9 - Semeadura a lanço das espécies leguminosas na área experimental.	27
Figura 10 - Demarcação da área de corte com 0,5 x 0,5 m (A) e materiais utilizados para coleta de plantas (B).	28
Figura 11 - Bioensaios em casa de vegetação, sendo época de implantação (A) e disposição dos copos plásticos (B).	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características físico-químicas da área experimental (Profundidade 0-20 cm).	23
Tabela 2 - Escala de Alam (1974) para avaliação de fitotoxicidade em plantas.	28
Tabela 3 - Resumo da análise de variância (ANOVA) para intoxicação de plantas submetidas a solo contendo resíduos do herbicida diclosulam.	31
Tabela 4 - Intoxicação de espécies fitorremediadoras cultivadas em solo contendo resíduos de diclosulam.	32
Tabela 5 - Intoxicação da combinação de espécies fitorremediadoras em solo contendo resíduos do herbicida diclosulam.	34
Tabela 6 - Intoxicação de espécies com potencial de fitorremediação em solo contendo resíduos do herbicida diclosulam avaliado até os 60 dias após a semeadura.	34
Tabela 7 - Toxicidade de plantas com potencial de fitorremediação em função dos níveis de substrato em solo contendo resíduos do herbicida diclosulam.	35
Tabela 8 - Toxicidade de plantas com potencial de fitorremediação em função dos tempos de avaliação em solo contendo resíduos do herbicida diclosulam.	36
Tabela 9 - Toxicidade de combinações de espécies fitorremediadoras em função dos tempos de avaliação em solo contendo resíduos do herbicida diclosulam.	37
Tabela 10 - Resumo da análise de variância (ANOVA) para produção de massa seca de plantas submetidas a solo contendo resíduos do herbicida diclosulam.	37
Tabela 11 - Resumo da análise de variância (ANOVA) para intoxicação do sorgo semeado em solo submetido ao herbicida diclosulam e fitorremediado com leguminosas.	38
Tabela 12 - Intoxicação do sorgo semeado em solos contendo resíduos do herbicida diclosulam.	39
Tabela 13 - Intoxicação do sorgo em solos semeados com combinações de leguminosas e contendo resíduos do herbicida diclosulam.	40
Tabela 14 - Intoxicação do sorgo semeado em solos contendo resíduos de diclosulam em avaliações realizadas até os 21 dias após a semeadura.	40
Tabela 15 - Intoxicação do sorgo semeado em solos fitorremediados com diferentes combinações de leguminosas em função dos níveis de substrato contendo resíduos do herbicida diclosulam.	41
Tabela 16 - Intoxicação do sorgo ao longo do tempo em função dos níveis de substrato contendo resíduos do herbicida diclosulam.	42

Tabela 17 - Intoxicação do sorgo semeado em solos fitorremediados com diferentes combinações de leguminosas em função do tempo após a semeadura em solos contendo resíduos do herbicida diclosulam.	43
Tabela 18 - Resumo da análise de variância (ANOVA) para a massa seca do sorgo semeado em solo submetido ao herbicida diclosulam e fitorremediado com leguminosas.	44
Tabela 19 - Massa seca do sorgo semeado em solos contendo resíduos do herbicida diclosulam.....	45
Tabela 20 - Massa seca do sorgo semeado em solos fitorremediados com diferentes combinações de leguminosas em função dos níveis de substrato contendo resíduos do herbicida diclosulam.....	46

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	11
2.	REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
2.1	Herbicidas Pré-Emergentes	13
2.1.1	<i>Efeito Residual</i>	14
2.2	Diclosulam	15
2.3	Fitorremediação	16
2.4	Associação de bactérias do gênero <i>Bradyrhizobium elkanii</i> BR 2003 com leguminosas.....	19
2.5	Bioensaios	19
3.	METODOLOGIA	22
3.1	Caracterização da área e do experimento	22
3.2	Preparo da área.....	23
3.3	Aplicação do herbicida e inoculação das sementes	25
3.4	Avaliação de fitotoxicidade	27
3.5	Bioensaios com Sorgo	29
3.5.1	<i>Características avaliadas</i>	30
3.6	Análises estatísticas	30
4.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	31
4.1	Avaliação de intoxicação das leguminosas.....	31
4.2	Avaliação de massa seca das leguminosas	37
4.3	Avaliação de intoxicação do sorgo no estudo de bioensaio	38
4.4	Avaliação de massa seca do sorgo no estudo de bioensaio	43
5.	CONCLUSÃO	47
	REFERÊNCIAS	48

1. INTRODUÇÃO

O cenário agrícola atual busca uma melhora contínua da eficiência produtiva, para que as demandas nutricionais da humanidade sejam atendidas e o meio ambiente seja devidamente preservado, todavia, para melhorar a eficiência são necessários o uso de tecnologias no campo, sejam elas em fertilizantes, em melhoramento genético vegetal, e também em tecnologias de defensivos agrícolas para controlar as pragas cada vez mais frequentes (MANCUSO *et al.*, 2011). A utilização de defensivos agrícolas e sua importância nos sistemas agrícolas atuais são indiscutíveis, no entanto, é fundamental orientar sobre a conscientização em seus usos para que seja obtida qualidade no produto colhido e para que sejam preservados os recursos naturais que sustentam a produção agrícola, como o solo e a água (SOUZA, 2017).

Dentre os defensivos agrícolas, a classe mais utilizada são os herbicidas, com o objetivo de controle de plantas daninhas infestantes na área de crescimento da cultura de interesse econômico. De acordo com o SINDIVEG (2022) – Sindicato Nacional de Indústria de Produtos para Defesa Vegetal, o mercado nacional de defensivos agrícolas no ano de 2022 alcançou a marca de 20,7 milhões de dólares, sendo 37% deste montante equivalente a herbicidas, sendo aplicadas 1,2 toneladas de produtos, dos quais 49% foram herbicidas, e sendo a cultura da soja responsável por 54% das áreas que receberam defensivos agrícolas.

O solo acaba por ser o destino final de muitas das moléculas utilizadas na agricultura, e, que ao entrarem em contato com ele, estão sujeitas a processos físico-químicos que regulam seu tempo de persistência no ambiente (MANCUSO *et al.*, 2011). Os produtos com a maior capacidade de persistência no solo são os pré-emergentes, aplicados diretamente no solo com o objetivo de atingirem as sementes ou serem absorvidos pelas raízes, esta permanência no solo, chamada de efeito residual, enquanto está controlando daninhas, pode-se tornar prejudicial quando as moléculas permanecem ativas no momento de estabelecimento de uma cultura sucessora, e, neste caso, pode ocorrer o fenômeno conhecido como *carryover*, quando o residual de herbicida causa danos a cultura estabelecida posteriormente (PACHECO, 2017).

Um dos produtos pré-emergentes mais empregados na cultura da soja é o diclosulam, molécula lançada no mercado na safra 1997/98, que atua na inibição da enzima acetolactato sintase (ALS), e é empregada em pré-emergência com o objetivo de controlar daninhas eudicotiledôneas. Devido a seu efeito residual prolongado no solo, é capaz de causar

injúrias nas culturas subsequentes a safra de soja, tendo sido observado efeitos mais severos nas culturas do milho, girassol, algodão e sorgo (DAN *et al.*, 2011).

Como alternativa para os problemas ocasionados por efeitos residuais de herbicidas, além de processos complexos e onerosos de despoluição e descontaminação de solos, tem surgido como fonte de estudos um processo natural conhecido como fitorremediação, em que se utiliza de plantas tolerantes aos herbicidas presentes no solo e capazes de extrair suas moléculas do ambiente e eliminá-las por vias de degradação ou acúmulo no interior dos tecidos. Tais plantas podem ainda serem benéficas em processos de fixação biológica de nitrogênio (FBN), bem como podem servir como adubo verde e cobertura morta para o solo (MONQUERO *et al.*, 2013).

Durante um planejamento de safra sucedente a da soja, é importante conhecer se o solo encontra-se descontaminado e livre de residuais de herbicidas, e, no caso da utilização da fitorremediação, é importante mensurar se esta foi eficiente em remover resíduos do solo (MELO *et al.*, 2011). Com isso, uma alternativa que vem surgindo tem sido os bioensaios com plantas bioindicadoras da presença do herbicida no solo, vem sendo estudadas espécies medianamente sensíveis às moléculas do determinado herbicida, como o sorgo, o milho, a melancia, o pimentão, o pepino, dentre outras, sendo o foco identificar características agronômicas que denotem ou não se o produto foi fitorremediado e se o solo está seguro para estabelecimento de uma nova cultura susceptível (DAN *et al.*, 2010).

Diante do exposto, o presente estudo tem como objetivo avaliar a capacidade de plantas leguminosas em fitorremediar os resíduos da aplicação do herbicida diclosulam no solo, sendo elas a *Canavalia ensiformis*, a *Crotalaria spectabilis*, e a *Mucuna pruriens*, correlacionado e verificando se a inoculação destas sementes com bactérias do gênero *Bradyrhizobium elkanii* BR 2003 pode influenciar positivamente neste processo de degradação e remoção dos resíduos do herbicida do solo. Na sequência, verificar por meio da técnica de bioensaio se o sorgo (*Sorghum bicolor*), espécie bioindicadora, apresenta a capacidade de estabelecimento nos solos tratados pela fitorremediação.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Herbicidas Pré-Emergentes

Os herbicidas podem ser considerados como uma importante ferramenta de controle de plantas daninhas na propriedade, e, existe hoje no mercado uma grande variedade de produtos com diferentes formas de atuação, sendo uma delas os produtos de ação pré-emergente. Estes são caracterizados por sua capacidade em, sendo aplicados anteriormente à germinação das sementes de daninhas presentes no banco de sementes na área em questão, apresentarem efeito residual no solo capaz de inibir o processo de emergência das infestantes até que a cultura de interesse seja capaz de prosperar sem interferências (SANCHOTENE *et al.*, 2017).

O banco de sementes no solo é formado ao longo dos sucessivos anos de cultivo na área e é caracterizado pela sua alta capacidade de perpetuar as espécies de daninhas que de alguma forma ao longo do tempo depositaram sementes no solo (AMIN *et al.*, 2016). As plantas daninhas, de modo geral, apresentam alta rusticidade, alta capacidade de produção de sementes viáveis e longevas, capacidade de germinação descontínua ao longo do tempo, e adaptações para dispersar sementes de diferentes modos e distâncias (PITELLI, 1987).

Ainda segundo Amin *et al.* (2016), o banco de sementes deve ser manejado sob aspectos agronômicos e ecológicos, do ponto de vista agronômico, é importante analisar o manejo da cultura, do solo, e das daninhas, e, neste ponto, entra em questão o efeito residual dos herbicidas como importante ferramenta de manejo, onde os herbicidas pré-emergentes são os capazes de, observando as recomendações e características de cada produto, controlar o banco de sementes de forma desejável.

De acordo com Meschede *et al.* (2004), o manejo do banco de sementes e de plantas daninhas e suas interferências na cultura de interesse devem ser baseados também no índice PAI (Período Anterior a Interferência de Plantas Daninhas), esse índice é considerado de grande importância e necessita de bastante atenção, pois a cultura de interesse pode ser significativamente afetada após o período do PAI. Por exemplo, nos estudos conduzidos por estes mesmos autores acima, avaliando o índice PAI para a cultura da soja, foi observado que este período na soja foi de apenas 11 dias após a emergência, o que significa dizer que o controle precoce e talvez até em pré-emergência das daninhas pode ser fundamental para que a produtividade não seja afetada.

Os herbicidas pré-emergentes têm se mostrado como importantes ferramentas no manejo das plantas daninhas de forma a evitar reduções de produtividade causadas por competições por nutrientes, água e luz entre daninhas e cultura de interesse, uma das principais formas é através do aumento do período PAI, onde a possível interferência é retardada até que a cultura se estabeleça de forma predominante (MESCHÉDE *et al.*, 2004). Uma das principais características dos produtos pré-emergentes é o fato de apresentarem o chamado efeito residual, que permite que a molécula do herbicida permaneça íntegra no solo por um período de tempo, sendo de interesse agrônômico que este efeito tenha duração igual ou muito próxima ao ciclo total da cultura, porém, tem sido observados problemas de persistência deste efeito no solo por mais tempo, podendo afetar negativamente sucessões de cultura (DAN *et al.*, 2011).

2.1.1 Efeito Residual

O efeito residual pode ser descrito como a característica da molécula de manter-se íntegra, preservando os aspectos físicos, biológicos, e químicos por um período de tempo consideravelmente maior do que o tempo de aplicação do produto (OLIVEIRA *et al.*, 2001). Este fenômeno é considerado desejável enquanto a cultura de interesse está estabelecida no solo, porém, em casos em que os resíduos permanecem íntegros no solo mesmo após a retirada da cultura, estes podem se tornar prejudiciais ao estabelecimento do próximo cultivo, afetando seu crescimento e desenvolvimento (MANCUSO *et al.*, 2011).

De acordo com Amim *et al.* (2016), os herbicidas que apresentam longa ação residual no solo são capazes de afetar de forma significativa o balanço de entrada e saída de sementes de daninhas no banco de sementes de um determinado solo, pois, a aplicação dos produtos tem efeito direto na germinação das sementes, influenciando negativamente o ciclo de novas sementes na safra seguinte. O efeito residual pode ser considerado muito importante no sentido de inibir a principal fonte de entrada de sementes no sistema, que é a chamada “chuva de sementes”, uma vez que se a daninha não germina, ela não produz novas sementes (CARMONA, 1992).

Outro ponto do efeito residual de herbicidas está em sua capacidade de permanecer no solo após findar o ciclo da cultura de interesse com potencial de causar danos e perdas de produtividade nas culturas estabelecidas posteriormente, quando este efeito negativo se confirma na cultura subsequente, o fenômeno é denominado como *carryover*. Também é válido ressaltar que resíduos do herbicida podem permanecer no solo por longos

períodos sem causar danos, o período de ocorrência do *carryover* compreende apenas o tempo em que houve danos prejudiciais à cultura posteriormente estabelecida (MANCUSO *et al.*, 2011).

O tempo potencial de duração do efeito residual depende do herbicida utilizado, das condições ambientais após a aplicação, do solo, já o potencial de ocorrência do fenômeno *carryover* depende também da sensibilidade da cultura em sucessão. Por isso, o planejamento é considerado chave para evitar problemas com as culturas subsequentes, sendo o ideal trabalhar com produtos cujo controle com efeito residual permaneça somente até o “fechamento” da cultura (MANCUSO *et al.*, 2011). De acordo com Oliveira *et al.* (2001), o “herbicida ideal” pode ser definido como aquele que controle as daninhas com a maior eficiência possível, evitando ao máximo que as daninhas afetem a cultura de interesse, mas dissipando seus efeitos residuais sem deixar vestígios concomitantemente a retirada da cultura de interesse da área, sem deixar danos ambientais, enfim, cumprindo todos os seus objetivos com o máximo de eficiência.

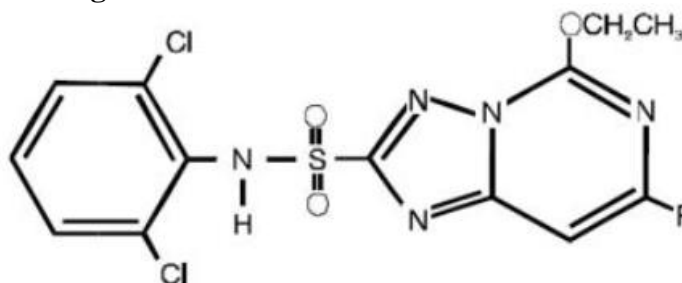
A disponibilidade de diferentes produtos comerciais e moléculas tem se tornado cada vez maior no país, logo, encontrar produtos que atendam as necessidades de controle e se enquadrem no conceito de “herbicida ideal” pode parecer fácil, mas não é, uma vez que os programas de desenvolvimento de novas moléculas normalmente focam mais na eficiência da molécula para combate do que na adequação de seu efeito residual às culturas de interesse. Portanto, tem se observado uma crescente preocupação por parte dos produtores e técnicos com relação aos problemas causados pelo longo efeito residual dos produtos e também com relação a contaminações no ambiente. Os herbicidas de ação residual têm ocasionado efeitos diretamente percebidos pelos produtores, entre eles, os sintomas de intoxicação e as reduções de produtividade nos cultivos subsequentes (MANCUSO *et al.*, 2011).

2.2 Diclosulam

O diclosulam é um produto amplamente difundido entre os produtores rurais, se trata de uma molécula seletiva para a cultura da soja e, quando aplicada em pré-emergência das daninhas e cultura, controla com eficiência satisfatória diversas plantas infestantes da cultura em questão, principalmente espécies dicotiledôneas (BARROS *et al.*, 2005). Este produto apresenta em sua composição a molécula (N - (2,6 - diclofenil) - 5 - ethoxi - 7 - fluoro (1,2,4) triazolo - [1,5c] - pirimidina - 2 - sulfonamida) (Figura 01), e pertence ao grupo químico das Triazolopirimidinas sulfonanilidas, apresentando mecanismo de ação inibidor da

enzima acetolactato sintase (ALS). Quando aplicado em pré-emergência no solo, o produto é absorvido pelas sementes e raízes e transloca-se via xilema e floema até as regiões meristemáticas (LEITE *et al.*, 2000).

Figura 1 - Fórmula estrutural do Diclosulam.



Fonte: Lavorenti *et al.* (2003)

O início da utilização desta molécula no Brasil se deu na safra de 1997/98, sendo considerada na época uma opção inovadora para o controle de daninhas eudicotiledôneas na cultura da soja. O diferencial do produto no seu lançamento, quando comparado a outros disponíveis na época, ocorre na possibilidade de utilização de doses muito baixas, variando na faixa de 25 a 35 g ha⁻¹ (RODRIGUES e ALMEIDA, 2005). Os efeitos morfológicos da ação do diclosulam nas plantas daninhas podem ser observados entre uma e duas semanas após sua aplicação, incluindo paralisação de crescimento, amarelecimento dos meristemas e redução do sistema radicular, sendo observadas raízes secundárias curtas, enroladas e enrugadas (PERIM, 2014).

O efeito residual e a persistência do herbicida no solo podem ser analisados pelo índice T_{1/2}, que significa tempo de meia vida, ou tempo que é necessário para que 50% da dose inicialmente aplicada da molécula seja degradada e não mais esteja disponível no solo (OLIVEIRA, 2002). Para o herbicida diclosulam, estudos de Lavorenti *et al.* (2003) demonstraram que a meia vida da molécula no solo variou de 67 dias para solos em sistema de plantio direto e de 87 dias para solos em plantio convencional. Ainda de acordo com estes autores, o efeito residual pode durar mais tempo a depender das condições edafoclimáticas, e, além disso, a molécula ainda pode causar danos às culturas subsequentes mesmo estando abaixo de sua meia vida no solo, a depender do grau de sensibilidade da espécie implantada na área.

2.3 Fitorremediação

A fitorremediação é uma alternativa de manejo que demonstra poder de resolução dos problemas relacionados a efeitos residuais de herbicidas pré-emergentes. De acordo com

Mancuso *et al.* (2011), está se dá como uma alternativa de grande interesse, pois apresentam possibilidade de remediação *in situ* dos contaminantes, sejam eles orgânicos ou até mesmo inorgânicos, como as moléculas de herbicidas, e, para Pires *et al.* (2006), também pode-se destacar o baixo custo do investimento e a capacidade das plantas despoluidoras também, quase sempre, apresentarem benefícios adicionais ao solo e a sua fertilidade, como por exemplo quando se utiliza leguminosas.

As plantas fitorremediadoras são caracterizadas por exibirem certa tolerância a determinados compostos, apresentando potencial para translocar os resíduos tóxicos para outras partes da planta com posterior volatilização ou degradação, ou ainda potencial para realizar degradação parcial ou completa, transformando compostos tóxicos em substâncias que podem ser combinadas ou ligadas a tecidos e metabolizadas pela planta (PIRES *et al.*, 2003).

O objetivo da fitorremediação se traduz em remover, imobilizar ou tornar os contaminantes do ecossistema inofensivos às culturas subsequentes, envolvendo o emprego de plantas com potencial remediador, a microbiota envolta na rizosfera, e substâncias amenizantes e auxiliares incorporadas ao solo, como corretivos de solo, fertilizantes, matéria orgânica, dentre outros compostos (MONQUERO *et al.*, 2013).

De acordo com Monquero *et al.* (2013), as plantas com potencial para serem utilizadas como fitorremediadoras devem apresentar algumas características de interesse, sendo algumas delas o porte alto, a alta produção de biomassa, o rápido crescimento, o fácil controle, e o sistema radicular profundo e vigoroso. Além disso, algumas outras características desejáveis incluem a capacidade transpiratória elevada, que se traduz em uma alta capacidade de carreamento do composto tóxico para a parte aérea e sua consequente metabolização ou acúmulo nos tecidos, e também é interessante que essas plantas apresentam alta exsudação nas raízes, pois isso contribui para o aumento da densidade de microrganismos na rizosfera e pode estimular a degradação das moléculas.

As plantas fitorremediadoras podem apresentar diversos mecanismos distintos para consumir os compostos tóxicos, e vários estudos ainda são necessários para definir com exatidão o comportamento de cada molécula diferente. No caso da fitorremediação de herbicidas, para Procópio *et al.* (2007), a fitodegradação seria o mecanismo mais desejável, uma vez que permite a completa mineralização do contaminante por esta via, e, além disso, permite a possibilidade de manter as plantas na mesma área em que ocorreu a fitorremediação, o que não é possível quando a planta apenas acumula o composto tóxico, e

isso permite aproveitar outros benefícios das fitorremediadoras, como seu potencial para adubação verde e formação de cobertura morta.

Para Costa *et al.* (2019), outra importante forma de eliminar contaminantes de herbicidas do solo, também ligada a fitodegradação, seria a rizorremediação, quando os microrganismos associados a rizosfera das plantas fitorremediadoras atuam de forma determinante na remoção dos compostos tóxicos do solo. De acordo com Souza (2017), o herbicida diclosulam é principalmente degradado no solo por via microbiana, ou seja, através da rizorremediação, logo, esta via da fitorremediação pode ser de grande importância para eliminar resíduos deste herbicida do solo, e, além disso, é importante destacar que a população microbiana responsável por essa degradação é composta principalmente por fungos e bactérias, que naturalmente estão presentes nas camadas mais superficiais do solo.

Diversas espécies de plantas, incluindo gramíneas e leguminosas, podem ser utilizadas para a fitorremediação de moléculas de herbicidas no solo, pode-se destacar alguns exemplos como, as espécies vegetais *Arachis pintoii*, *Brachiaria decumbens*, *Cajanus cajan*, *Canavalia ensiformis*, *Brachiaria brizantha* e *Crotalaria juncea*, que são amplamente estudadas quanto as suas tolerâncias à herbicidas residuais e suas capacidades de fitorremedia-los (SOUZA, 2017). De acordo com Monquero *et al.* (2013), as espécies *Cajanus cajan* e *Canavalia ensiformis* apresentaram potencial de remediar dosagens de até 70 g.ha⁻¹ de diclosulam em solos contaminados, sendo consideradas duas espécies promissoras em diminuir o efeito fitotóxico de diclosulam em culturas agrícolas sensíveis.

Além do potencial de fitorremediar moléculas residuais de herbicidas, essas plantas, principalmente as leguminosas, apresentam benefícios adicionais ao solo, um deles está ligado ao potencial de incremento de nitrogênio da atmosfera, podendo até substituir a adubação mineral em alguns casos, principalmente quando as raízes dessas plantas estão em associação com bactérias fixadoras de nitrogênio (FBN) dos gêneros *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* (EMBRAPA, 2009). Além disso, ainda segundo pesquisadores da EMBRAPA (2009), existem vantagens adicionais como a interferência positiva na física do solo, onde as nodulações geradas pelas bactérias influenciam ativamente promovendo descompactação do solo, maiores taxas de infiltração e retenção de água, maior densidade, porosidade, e estabilidade de agregados.

2.4 Associação de bactérias do gênero *Bradyrhizobium elkanii* BR 2003 com leguminosas

A associação de bactérias com leguminosas tende a ser benéfica para ambas as partes, tanto planta como solo, por diversos fatores, sendo o principal deles a fixação biológica de nitrogênio (FBN), todavia, falando em relação a fitorremediação de resíduos de herbicidas, a atividade microbiológica observada na região da rizosfera pode também ser responsável por um importante mecanismo de remoção/degradação de resíduos de herbicidas, sendo ele a rizodegradação/rizorremediação (COSTA, 2019).

O gênero *Bradyrhizobium elkanii* é um grupo de bactérias fixadoras de nitrogênio largamente estudado e avaliado como benéfico em gerar nódulos FBN em leguminosas, sendo que suas linhagens são consideradas bem adaptadas às diferentes regiões e biomas do país. Uma das cepas mais difundidas no país é a BR 2003, considerada uma eficiente fixadora de nitrogênio nas espécies de leguminosas *Crotalaria juncea*, *Crotalaria spectabilis*, *Cajanus cajan*, *Canavalia ensiformis*, e *Indigofera hirsuta*. Desta forma, o uso de inoculantes a base destas bactérias em tratamento de sementes anteriormente ao plantio tem se tornado frequente, pois garante uma boa colonização da rizosfera, o que irá potencializar o crescimento radicular e o vigor da planta como um todo (ZILLI *et al.*, 2020).

2.5 Bioensaios

Como visto, a permanência de resíduos de herbicidas no solo pode ser considerada benéfica somente até o ponto onde ainda haja necessidade de controle das plantas daninhas infestantes, a partir do momento em que se retira a cultura de interesse, qualquer molécula ainda presente no solo é caracterizada como efeito residual e persistência do herbicida, podendo evoluir para o fenômeno *carryover* caso ocorra interferência em cultivos subsequentes (NUNES, VIDAL, 2009). A persistência de tais moléculas no solo é afetada por diversos fatores, dentre eles, a molécula pode sofrer com processos de adsorção, lixiviação, degradação, e transformações químicas ou biológicas no solo, e, ainda, também pode ocorrer absorção e decomposição por plantas fitorremediadoras (MENDES *et al.*, 2015).

Os métodos disponíveis para determinar se uma molécula de herbicida ainda persiste no solo podem ser onerosos e difíceis a depender da metodologia empregada, e essa é a principal desvantagem dos métodos laboratoriais utilizados para isso, que envolvem equipamentos sofisticados e de alto valor, como a espectrometria de massa e a cromatografia

(MELO *et al.*, 2010). Sendo assim, outra alternativa surge como possível solução para tais problemas, sendo ela, neste caso, o uso de plantas bioindicadoras (bioensaios), apresentando como vantagens o baixo custo de investimento, a possibilidade de detectar somente resíduos biologicamente ativos, ou seja, capazes de causar efeitos fitotóxicos nos cultivos subsequentes, sem necessidade de instrumentos onerosos e extrações complexas de resíduos do solo (NUNES, VIDAL, 2009).

De acordo com Monquero *et al.* (2008), os bioensaios tem sido utilizados por muitos pesquisadores como uma alternativa que alia baixo custo e alta precisão, consistindo em utilizar plantas sensíveis aos produtos testados, de forma que os possíveis resíduos da molécula ainda presentes no solo possam ser evidenciados por meio de alterações de características agronômicas na planta teste.

As plantas com potencial bioindicador da presença de herbicidas no solo devem apresentar certa sensibilidade à molécula em questão, porém, caso a sensibilidade ao herbicida seja muito elevada, a planta responderá em faixas de doses muito limitadas, sendo assim, para Nunes e Vidal (2009), a planta ideal deve apresentar-se como medianamente sensível ao herbicida em questão, para que seja indicadora e quantificadora da presença da molécula residual. Desta forma, pode-se dizer que há características consideradas desejáveis para escolha de plantas para bioensaios, que normalmente são encontradas em espécies cultivadas, como alta taxa de crescimento, ampla distribuição geográfica, e homogeneidade genética, pois com isso seria possível rápida visualização dos sintomas ocorridos, possibilidade de testar os mesmos resultados em mais estudos em outras regiões, e padronização dos sintomas perceptivos (DIESEL *et al.*, 2012).

As espécies vegetais com potencial bioindicador são várias, diferindo em si em relação à sensibilidade a um herbicida específico, por isso, são necessários diversos estudos a fim de determinar quais espécies são as mais adequadas para cada bioensaio com herbicidas diferentes (DIESEL *et al.*, 2019). Por exemplo, Ribeiro *et al.* (2019) avaliou a sensibilidade de melancia (*Citrullus lanatus*) como espécie bioindicadora e observou que se trata de uma planta com potencial para indicar a presença de resíduos de herbicidas como diclosulam, metribuzim e a mistura de imazapyr + imazapic no solo. Já Mendes *et al.* (2015), avaliando o potencial bioindicador de 5 espécies diferentes, sendo elas *Capsicum annuum* (Pimentão), *Cucumis sativus* (Pepino), *Crotalaria juncea* (Crotalaria), *Pennisetum glaucum* (Milheto) e *Sorghum bicolor* (Sorgo), observou que essas espécies apresentam potencial de indicar a presença de resíduos de diversas moléculas, como mesotrione e metribuzin.

No Brasil, o sorgo (*Sorghum bicolor*), tem se tornado destaque, principalmente na segunda safra, em substituição ao milho (*Zea mays*), tanto para formação de palha como para produção de grãos e silagem, dentre suas vantagens estão o investimento mais baixo, a menor necessidade pluviométrica para completar seu ciclo, e seu custo menor para substituir o grão de milho em diversas formulações de dietas. Contudo, como o sorgo acaba por muitas vezes entrando em sucessão aos cultivos de soja de primeira safra, ele se torna potencialmente susceptível a sofrer com efeitos residuais de herbicidas pré-emergentes empregados na soja, dentre eles, a molécula do diclosulam, por isso, seu emprego como bioindicador de resíduos de herbicidas no solo pode ser interessante para orientar as tomadas de decisões de quais herbicidas utilizar em casos em que a segunda safra com sorgo já está planejada, além disso, se trata de uma planta que atende todos os requisitos para ser utilizada como bioindicador, sendo necessário mais estudos para determinar quais moléculas afetam de forma mais significativa seu desenvolvimento (DAN *et al.*, 2010).

3. METODOLOGIA

3.1 Caracterização da área e do experimento

O presente trabalho foi conduzido no setor de Olericultura do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais, Campus São João Evangelista – IFMG-SJE (Figura 2). O município de São João Evangelista está localizado nas coordenadas UTM 23K 736207.29 m E e 7947253.00 m S, altitude média de 692 m, temperatura média anual de 20,1°C, precipitação pluviométrica média de 1.180 mm (SILVA, 2013). O experimento foi desenvolvido entre os meses de abril e junho de 2023.

Figura 2 - Imagem de satélite (Google Earth - 2021) (A) e vista área (B) da área experimental no IFMG-SJE.



Fonte: Próprio autor (2023).

O experimento de campo foi instalado em delineamento em blocos casualizados (DBC), em esquema fatorial 4 x 8, sendo o fator 1, os níveis de substrato e o fator 2, as combinações de plantas. Foi utilizado o arranjo com parcelas subdividas, sendo as parcelas as herbicidas e as subparcelas as combinações das espécies leguminosas. Foram utilizadas quatro repetições, totalizando 128 unidades experimentais (Figura 3).

Os níveis de substratos do fator 1 foram: nível 1 - diclosulam com inoculação das sementes; nível 2 - diclosulam sem inoculação das sementes; nível 3 - ausência de herbicida com inoculação das sementes; nível 4 - ausência de herbicida e de inoculação das sementes. Para o fator 2, as combinações foram: combinação 1 – *Canavalia ensiformes* + *Crotalaria spectabilis* + *Mucuna pruriens*; combinação 2 - *Canavalia ensiformes* + *Crotalaria spectabilis*; combinação 3 – *Canavalia ensiformes* + *Mucuna pruriens*; combinação 4 - *Crotalaria spectabilis* + *Mucuna pruriens*; combinação 5 - ausência de plantas; combinação 6

- *Canavalia ensiformes*; combinação 7 – *Mucuna pruriens*; combinação 8 - *Crotalaria spectabilis*.

Figura 3 - Croqui da área experimental.

Bloco 1	Diclosulan								/	Sem herbicida							
	Inoculados	5	3	1	4	2	8	7		6	2	4	1	3	5	7	6
	Não Inoculados	5	3	1	4	2	8	7	6	2	4	1	3	5	7	6	8
Bloco 2	Diclosulan								/	Sem Herbicida							
	Inoculados	5	3	2	4	1	7	8		6	1	3	2	4	5	6	8
	Não Inoculados	5	3	2	4	1	7	8	6	1	3	2	4	5	6	8	7
Bloco 3	Sem Herbicida								/	Diclosulan							
	Inoculados	2	1	3	5	4	7	8		6	1	4	2	3	5	6	8
	Não Inoculados	2	1	3	5	4	7	8	6	1	4	2	3	5	6	8	7
Bloco 4	Sem Herbicida								/	Diclosulan							
	Inoculados	3	5	2	1	4	7	8		6	5	1	2	3	4	8	7
	Não Inoculados	3	5	2	1	4	7	8	6	5	1	2	3	4	8	7	6

Dimensões de cada parcela: 1,70 x 13,2 m (22,44 m²);
 Dimensões das subparcelas: 1,70 x 1,65 m (2,8 m²);
 Espaçamento entre parcelas: 0,40 m.

Fonte: Próprio autor (2023).

3.2 Preparo da área

A área selecionada para implantação do experimento estava a pelo menos dois anos sem cultivo agrícola, sendo a última cultura de interesse implantada na área sendo a soja, para fins didáticos. Para o início dos trabalhos a área foi roçada com o auxílio de roçadeira acoplada ao trator, e o material orgânico foi incorporado através de aração e gradagem. Posteriormente foram preparados canteiros com o auxílio do encanteirador, sendo construídos 8 canteiros com 1,70 m de largura x 26,8 m, e espaçamento entre eles de 0,4 m (Figura 4). Foi realizado análise de solo em laboratório do próprio instituto para conhecimento das propriedades físicas e químicas do solo, sendo este classificado como Latossolo Amarelo Eutrófico (Tabela 1).

Tabela 1 - Características físico-químicas da área experimental (Profundidade 0-20 cm).

Textura	Análise granulométrica (%)			pH ¹	M.O. ²	CTC (T) ³	V ⁴
	Argila	Silte	Areia	H ₂ O	dag kg ⁻¹	cmol _c dm ⁻³	%
Área	53,7	19,8	26,5	6,15	2,78	7,54	66,3

1 = pH em água; 2 = Matéria Orgânica; 3 = Capacidade de troca catiônica a pH 7,0; 4 = Índice de saturação de bases.

Fonte: Próprio autor (2023).

Figura 4 - Roçada mecanizada (A) e construção dos canteiros (B).



Fonte: Próprio autor (2023).

As parcelas experimentais foram demarcadas com uma área de 1,70 x 13,2 m (22,44 m²). No total, foram demarcadas 2 parcelas em cada canteiro, deixando um espaçamento de 0,4 m, para fazer a separação entre elas. A cada dois canteiros foi representado um bloco, sendo que, em um deles as sementes foram inoculadas com a estirpe de *Bradyrhizobium* BR 2003, e o outro sem inoculação. Em cada parcela foram demarcadas 8 subparcelas (referentes às 8 combinações de planta), e para cada uma, foi demarcada uma área de 1,70 x 1,65 m (2,8 m²) (Figura 5). Na área do experimento também foi instalado um sistema de irrigação por aspersão para aplicação diária de uma lâmina de 5 mm (Figura 6).

Figura 5 - Demarcação das parcelas e subparcelas experimentais.



Fonte: Próprio autor (2023).

Figura 6 - Sistema de irrigação por aspersão montado na área experimental.



Fonte: Próprio autor (2023).

3.3 Aplicação do herbicida e inoculação das sementes

Foi realizada a aplicação do herbicida antes da semeadura das sementes com auxílio de um pulverizador costal elétrico provido de barra de pulverização contendo um bico tipo leque Teejet 110.02 e com volume de aplicação de 250 L ha⁻¹ (Figura 5). O produto comercial utilizado foi o Spider 840 WG, sendo aplicado na dosagem de 41,7 g ha⁻¹.

Figura 7 - Aplicação do herbicida Diclosulam na área experimental.



Fonte: Próprio autor (2023).

O inoculante utilizado para a fixação biológica de nitrogênio foi o *Bradyrhizobium elkanii*, da cepa BR 2003 (SEMIA 6156), adquirido da coleção de culturas da Embrapa Agrobiologia. A inoculação ocorreu no mesmo dia da semeadura, com antecedência de duas horas, seguindo metodologia da EMPRAPA, que recomenda 50 g do inoculante para 10 kg sementes de *Mucuna pruriens*, 50 g para 2 kg sementes de *Crotalaria spectabilis*, e 50 g para 10 kg sementes de *Canavalia ensiformes*.

O procedimento transcorreu separadamente para cada espécie leguminosa, utilizando uma solução açucarada a 10% para umedecimento da superfície das sementes, para

em seguida, aplicar a dose indicada do inoculante, misturando bem, de forma que todas as sementes sejam envoltas pelo produto. Após a homogeneização, as sementes foram espalhadas sobre folhas de papel limpas para secagem (Figura 8).

As sementes das espécies leguminosas: crotalária (*Crotalaria spectabilis*), feijão de porco (*Canavalia ensiformis*) e mucuna-preta (*Mucuna pruriens*) foram adquiridas em casas especializadas. A semeadura foi a lanço, seguindo a densidade recomendada pela EMBRAPA, de 100 kg ha⁻¹ de sementes de *Mucuna pruriens*, 12 kg ha⁻¹ de sementes de *Crotalaria spectabilis*, e 100 kg ha⁻¹ sementes de *Canavalia ensiformis* (Figura 9).

Figura 8 - Inoculante *Bradyrhizobium elkanii* cepa BR 2003 (A). Processo de inoculação e homogeneização com solução em água açucarada (B). Sementes de *Canavalia ensiformis* em processo de secagem (C). Sementes de *Crotalaria spectabilis* inoculadas e prontas para plantio (D).



Fonte: Próprio autor (2023).

Figura 9 - Semeadura a lanço das espécies leguminosas na área experimental.



Fonte: Próprio autor (2023).

3.4 Avaliação de fitotoxicidade

A primeira avaliação de campo foi a toxicidade do herbicida nas espécies fitorremediadoras aos 15, 30, 45 e 60 dias após a sementeira (DAS), atribuindo notas de 0 a 100, em que 0 representa ausência de sintomas e 100 a morte da planta. As avaliações foram realizadas de acordo com a escala de ALAM (1974) (Tabela 02). Aos 60 DAS, após a realização da última avaliação, as plantas foram coletadas com o auxílio de um gabarito de 0,5 x 0,5 m (Figura 10). As plantas coletadas na área do gabarito foram cortadas e levadas para estufa à temperatura de 65 °C, até atingirem peso constante, para posterior determinação de massa seca.

Tabela 2 - Escala de Alam (1974) para avaliação de fitotoxicidade em plantas.

%	Sintomas	Descrição dos sintomas
0	Nenhum	Nenhum sintoma visível
3	Duvidoso	Parece apresentar algum sintoma
5	Leve	Sintoma leve com pequeno amarelecimento
10	Definido	Sintoma claro com amarelecimento visível
15	Definido sem dano econômico	Amarelecimento, clorose, engruvinhamento
20	Aceitável	Amarelecimento, clorose mais intensa, engruvinhamento
30	Limite aceitável	Aceitável comercialmente sem dano econômico
40	Severo	Clorose, engruvinhamento, necrose, queima, redução do porte
60	Muito severo	Redução de stand com 25% de morte
80	Extremamente severo	75% de morte de plantas
100	Total destruição	100% de morte de plantas

Fonte: Alam (1974).

Figura 10 - Demarcação da área de corte com 0,5 x 0,5 m (A) e materiais utilizados para coleta de plantas (B).



Fonte: Próprio autor (2023).

3.5 Bioensaios com Sorgo

O segundo momento do experimento compreende o bioensaio em casa de vegetação utilizando a planta-teste Sorgo (*Sorghum bicolor*) (Figura 11), experimento este que compreendeu as fases de coleta de amostras de solo em camadas de 5 cm de profundidade em todas as subparcelas do experimento de campo, após sua finalização, até o plantio do sorgo e coleta de dados. Este experimento foi conduzido em casa de vegetação localizada no Viveiro de Mudas do IFMG-SJE, utilizando-se de vasos de copos descartáveis de polietileno com capacidade de 0,3 dm³, sem perfurações, cujo objetivo foi evitar perdas de compostos e nutrientes por lixiviação.

O delineamento experimental utilizado foi o mesmo do experimento de campo, em blocos casualizados (DBC), em esquema fatorial 4 x 8, sendo o fator 1, os níveis de substrato e o fator 2, as combinações de plantas, com 4 repetições, em triplicata, totalizando 384 unidades experimentais. Para o arranjo das parcelas utilizou-se de parcelas subdividas, sendo as parcelas os herbicidas e as subparcelas as combinações das espécies leguminosas.

Após o preenchimento com o solo do campo, seis sementes foram semeadas por copo. Os copos receberam irrigação por microaspersão diariamente, de acordo com a necessidade, visando a manutenção da umidade que proporcionasse o desenvolvimento da cultura bioindicadora cultivada. Aos sete dias após a germinação do sorgo foi efetuado o desbaste das plantas, deixando três plantas por vaso. Também foi realizado o controle manual das plantas daninhas durante os 21 dias de cultivo.

Figura 11 - Bioensaios em casa de vegetação, sendo época de implantação (A) e disposição dos copos plásticos (B).



Fonte: Próprio autor (2023).

3.5.1 *Características avaliadas*

A toxicidade do herbicida Diclosulam nas plantas de sorgo foi avaliada aos 7, 14 e 21 dias após a semeadura, utilizando-se da escala de ALAM (1974) (Tabela 02), como referência. Aos 21 dias após a semeadura as plantas de sorgo foram coletadas para determinação da massa seca, após secagem em estufa com circulação de ar forçada (65 ± 2 °C) até atingir peso constante.

3.6 **Análises estatísticas**

As avaliações de sintomas de fitotoxicidade, tanto para as leguminosas em campo quanto para as plantas de sorgo em casa de vegetação, foram realizadas de forma visual por meio de estatística descritiva.

Todos os resultados obtidos em campo e em casa de vegetação, com relação aos sinais de fitotoxicidade e também aos resultados de massa seca das partes aéreas das plantas, foram submetidos à análise de variância para cada tratamento, utilizando o teste F a 5% de probabilidade. As variáveis que apresentaram efeito significativo pela ANOVA foram comparadas pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Avaliação de intoxicação das leguminosas

O resultado observado para as fontes de variação níveis de substrato, combinações, tempo, níveis de substrato x combinações, níveis de substrato x tempo, combinações x tempo foram significativas ($p < 0,05$) (Tabela 3). Somente a interação entre os três diferentes fatores não apresentou resultado significativo ($p < 0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3 - Resumo da análise de variância (ANOVA) para intoxicação de plantas submetidas a solo contendo resíduos do herbicida diclosulam.

FV	GL	QM
Bloco	3	108,22
Níveis de Substrato	3	11449,40**
Combinações	7	18281,77**
Tempo	3	123,21**
Níveis de Substrato x Combinações	21	6094,87**
Níveis de Substrato x Tempo	9	41,87**
Combinações x Tempo	21	10,61**
Níveis de Substrato x Combinações x Tempo	63	4,03 ^{ns}
Erro	381	4,83
Total	511	
CV (%)		26,84

CV: Coeficiente de variação; ns: não significativo; **: significativo a 1%.
Fonte: Próprio autor (2023).

As leguminosas cultivadas em solo contendo o resíduo do diclosulam apresentaram sintomas de intoxicação leve, com amarelecimento e clorose, situação não observada para as plantas cultivadas na ausência do herbicida, conforme escala de avaliação de ALAM (1974) (Tabela 2). Este resultado permite indicar a possibilidade das plantas cultivadas em comunidade ou de forma isolada em solo com resíduos de diclosulam serem utilizadas como potenciais fitorremediadoras. Resultados de intoxicação por diclosulam foram observados também por Silva (2019), que avaliou, entre diversas espécies, *Avena sativa*, *Canavalia ensiformes*, e *Mucuna aterrima* como sendo as espécies com maior potencial de fitorremediação de diclosulam, considerando ainda condições diferentes em relação ao clima e ao solo.

Nas combinações inoculação x herbicida foi possível perceber que a inoculação das sementes com a bactéria *Bradyrhizobium* BR 2003 não reduziu a intoxicação observada nas plantas leguminosas expostas ao resíduo do diclosulam (Tabela 04). Os resíduos do herbicida podem ter influenciado negativamente a capacidade de simbiose das plantas com as bactérias, de forma que os ganhos conhecidos na literatura para essa interação entre bactéria e leguminosa, não ocorreram ou não foram suficientes para reduzir a intoxicação observada nas plantas.

Com relação à utilização da bactéria *Bradyrhizobium* BR 2003 e sua capacidade em auxiliar a fitorremediação de moléculas residuais de herbicidas, outros trabalhos demonstram resultados positivos desta interação, diferindo em partes dos resultados observados no presente trabalho. Mielke *et al.* (2020), em seu trabalho sobre inoculação de *Bradyrhizobium* BR 2003 com *Canavalia ensiformes* para avaliar a capacidade de fitorremediação do herbicida sulfentrazone, observaram que a inoculação das sementes da leguminosa foi capaz de aumentar a altura de plantas na maior dose do herbicida no solo, e, também, de aumentar a massa seca das raízes em todos os tratamentos com a leguminosa inoculada. Além disso, no mesmo trabalho foram observados aumento da capacidade de fitorremediação das leguminosas, uma vez que nos solos onde foi semeada a leguminosa inoculada, o resíduo do herbicida quantificado foi em média 20% menor do que nos solos onde não houve a presença da bactéria. Por último, ao analisarem a intoxicação do milho em bioensaio, constataram que esta foi ligeiramente menor quando o milho foi semeado em solos com resíduos da inoculação com a bactéria em questão.

Tabela 4 - Intoxicação de espécies fitorremediadoras cultivadas em solo contendo resíduos de diclosulam.

Níveis de Substrato	Intoxicação (%)
SHNI	0,00 A
SHI	0,00 A
DNI	16,38 B
DI	16,39 B

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey.

SHNI: Sem herbicida e sementes não inoculadas; SHI: Sem herbicida e sementes inoculadas; DNI: Diclosulam e sementes não inoculadas; DI: Diclosulam e sementes inoculadas.

Fonte: Próprio autor (2023).

Com relação à avaliação de fitotoxicidade realizada de forma isolada em cada combinação de plantas leguminosas, foi possível observar que a *Canavalia ensiformes* apresentou a maior intoxicação dentre todas as leguminosas analisadas, com 3,02%. Já o

plântio isolado de *Crotalaria spectabilis* apresentou a menor intoxicação visível entre todas as leguminosas, seguido do plântio consorciado entre *C. spectabilis* e *Mucuna pruriens*, com valores de 1,5% e 1,67%, respectivamente (Tabela 5). Neste caso, todas as leguminosas e suas combinações, mesmo com diferenças estatísticas, apresentaram níveis de intoxicação relativamente baixos, o que pode indicar boa capacidade de fitorremediação do herbicida diclosulam, em especial para *C. spectabilis* isolada e o seu consórcio com a *Mucuna pruriens*.

Em trabalho realizado por Monquero e seus colaboradores (2013), avaliando um diverso grupo de espécies empregadas como adubos verdes e suas capacidades em fitorremediar diclosulam em duas diferentes doses, sendo uma das doses semelhante à empregada neste trabalho (0,035 kg ingrediente ativo.⁻¹), a espécie *Canavalia ensiformes* foi avaliada, juntamente com *Cajanus cajan*, *Mucuna aterrima*, e *Mucuna cinerea*, aos 45 dias após a semeadura, como as mais tolerantes ao herbicida diclosulam, diferindo em partes da análise encontrada no presente trabalho, em que o nível de intoxicação da espécie *Canavalia ensiformes* foi o maior entre as três espécies aqui analisadas, porém com reduzido nível de intoxicação.

Souza (2017) avaliou em seu trabalho o potencial de espécies em fitorremediar o herbicida diclosulam, com base em parâmetros como nível de clorofila na folha, altura de plantas, e massa seca da parte aérea e da raiz, com 45 dias após a semeadura, determinou que as espécies *Arachis pintoi*, *Canavalia ensiformes*, *Cajanus cajan* e *Crotalaria juncea*, foram as mais eficientes em tolerar os sintomas de intoxicação pelo efeito residual do herbicida diclosulam, apresentando menores níveis de sensibilidade à molécula, indicando que possivelmente existe um bom potencial fitorremediador por parte destas espécies.

A espécie *Crotalaria juncea*, assim como a *Crotalaria spectabilis*, avaliada no presente trabalho, são descritas por outros autores como espécies com grande potencial fitorremediador, inclusive para outras moléculas, como, por exemplo, a *C. juncea* é indicada por Maladão et. al. (2012), como a leguminosa com maior potencial em fitorremediar o herbicida sulfentrazone.

Tabela 5 - Intoxicação da combinação de espécies fitorremediadoras em solo contendo resíduos do herbicida diclosulam.

Combinações	Intoxicação (%)
8	1,50 A
4	1,67 AB
7	2,02 ABC
1	2,17 ABC
3	2,34 ABC
2	2,77 BC
6	3,02 C
5	50,00 D

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey.

Combinação 1 – *Canavalia ensiformes* + *Crotalaria spectabilis* + *Mucuna pruriens*; combinação 2 - *Canavalia ensiformes* + *Crotalaria spectabilis*; combinação 3 – *Canavalia ensiformes* + *Mucuna pruriens*; combinação 4 - *Crotalaria spectabilis* + *Mucuna pruriens*; combinação 5 - ausência de plantas; combinação 6 - *Canavalia ensiformes*; combinação 7 – *Mucuna pruriens*; combinação 8 - *Crotalaria spectabilis*.

Fonte: Próprio autor (2023).

O fator tempo mostrou-se atuante em influenciar o nível de intoxicação das leguminosas com o resíduo do herbicida diclosulam, de forma que foi observada uma média crescente de intoxicação das plantas ao longo do período analisado (Tabela 6), o que pode indicar que as leguminosas não sofreram paralização de crescimento e não deixaram de captar recursos da solução do solo mesmo sob estresse causado pela intoxicação, demonstrado que existe a possibilidade de que essas leguminosas estavam em uma curva crescente de absorção do resíduo e sua acumulação nos tecidos vegetativos da planta.

Tabela 6 - Intoxicação de espécies com potencial de fitorremediação em solo contendo resíduos do herbicida diclosulam avaliado até os 60 dias após a semeadura.

Tempo (DAS)	Intoxicação (%)
15	6,92 A
30	8,23 B
45	8,28 B
60	9,32 C

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey.

DAS: Dias após a semeadura.

Fonte: Próprio autor (2023).

As interações entre as combinações de plantas leguminosas e os níveis de substrato demonstraram que, quando houve a presença do resíduo do diclosulam e as

sementes das leguminosas foram inoculadas, foi possível observar diferenças estatísticas significativas entre as combinações de plantas (Tabela 7), sendo observado novamente o menor nível de intoxicação para o plantio isolado da *Crotalaria spectabilis* seguido do seu plantio em consórcio com a *Mucuna pruriens*, e sendo observado também o plantio isolado de *Canavalia ensiformes* como a leguminosa mais sensível ao diclosulam dentre todas analisadas.

Ainda de acordo com a Tabela 7, na presença do resíduo do herbicida diclosulam com sementes que não foram inoculadas com a bactéria *Bradyrhizobium* BR 2003, as diferentes combinações de planta não diferiram entre si com relação ao percentual de intoxicação. Da mesma forma, quando se compara o fator inoculação de sementes dentro de cada combinação de leguminosas, não há diferenças significativas na intoxicação das plantas nos dois diferentes níveis de substrato.

Tabela 7 - Toxicidade de plantas com potencial de fitorremediação em função dos níveis de substrato em solo contendo resíduos do herbicida diclosulam.

Combinações	Níveis de substrato			
	DI	DNI	SHI	SHNI
Intoxicação (%)				
1	4,45 bABC	4,24 bA	0,00 aA	0,00 aA
2	5,48 bBC	5,64 bA	0,00 aA	0,00 aA
3	4,44 bABC	4,94 bA	0,00 aA	0,00 aA
4	3,39 bAB	3,30 bA	0,00 aA	0,00 aA
5	100,00 bD	100,00 bB	0,00 aA	0,00 aA
6	6,50 bC	5,60 bA	0,00 aA	0,00 aA
7	4,33 bABC	3,78 bA	0,00 aA	0,00 aA
8	2,49 bA	3,53 bA	0,00 aA	0,00 aA

Médias seguidas por letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

SHNI: Sem herbicida e sementes não inoculadas; SHI: Sem herbicida e sementes inoculadas; DNI: Diclosulam e sementes não inoculadas; DI: Diclosulam e sementes inoculadas.

Combinação 1 – *Canavalia ensiformes* + *Crotalaria spectabilis* + *Mucuna pruriens*; combinação 2 - *Canavalia ensiformes* + *Crotalaria spectabilis*; combinação 3 – *Canavalia ensiformes* + *Mucuna pruriens*; combinação 4 - *Crotalaria spectabilis* + *Mucuna pruriens*; combinação 5 - ausência de plantas; combinação 6 - *Canavalia ensiformes*; combinação 7 – *Mucuna pruriens*; combinação 8 - *Crotalaria spectabilis*.

Fonte: Próprio autor (2023).

Avaliando a interação entre o tempo e os níveis de substrato, foi possível observar que, para as plantas submetidas à presença de resíduos do herbicida diclosulam, os níveis de intoxicação foram crescentes ao longo do período de avaliação (Tabela 8), indicando que

estas plantas possivelmente estariam absorvendo os resíduos do solo constantemente durante o seu período de crescimento, sem prejudica-lo.

Tabela 8 - Toxicidade de plantas com potencial de fitorremediação em função dos tempos de avaliação em solo contendo resíduos do herbicida diclosulam.

Tempo	Níveis de substrato			
	DI	DNI	SHI	SHNI
Intoxicação (%)				
15	13,89 aA	13,81 aA	0,00 bA	0,00 bA
30	16,37 aB	16,56 aB	0,00 bA	0,00 bA
45	16,37 aB	16,75 aB	0,00 bA	0,00 bA
60	18,90 aC	18,38 aC	0,00 bA	0,00 bA

Médias seguidas por letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

SHNI: Sem herbicida e sementes não inoculadas; SHI: Sem herbicida e sementes inoculadas; DNI: Diclosulam e sementes não inoculadas; DI: Diclosulam e sementes inoculadas.

DAS: Dias após a semeadura.

Fonte: Próprio autor (2023).

Para a avaliação das combinações de espécies fitorremediadoras e seus níveis de intoxicação ao longo do tempo, foi possível observar que não houve diferenças estatísticas entre as combinações até os 45 dias de avaliação, sendo que, aos 60 dias, o plantio isolado de *Canavalia ensiformes* sobressaiu em relação aos demais com o maior nível de intoxicação avaliado, seguido pelos plantios consorciados de *Canavalia ensiformes* e *Crotalaria spectabilis* e *Canavalia ensiformes* e *Mucuna pruriens*. Por outro lado, o plantio isolado de *Crotalaria spectabilis*, apresentou o menor nível de intoxicação mesmo aos 60 dias após o plantio (Tabela 9).

Avaliando cada combinação de plantas leguminosas separadamente com relação ao tempo após o plantio, foi possível observar que apenas o plantio consorciado das três espécies leguminosas, e o plantio isolado da *Crotalaria spectabilis* mantiveram constantes com relação ao nível de intoxicação durante os tempos avaliados. O plantio isolado de *Canavalia ensiformes*, embora apresentasse intoxicação zero na primeira avaliação, possivelmente devido ao período de germinação e emergência mais tardio, foi o que mais demonstrou intoxicação nas avaliações subsequentes, alcançando 6,16% aos 60 dias após o plantio. As demais combinações de plantas demonstraram intoxicação crescente ao longo do tempo, sendo substancialmente maiores aos 45 e 60 dias do que no período inicial de avaliação (Tabela 9).

Tabela 9 - Toxicidade de combinações de espécies fitorremediadoras em função dos tempos de avaliação em solo contendo resíduos do herbicida diclosulam.

Combinações	Tempo (DAS)			
	15	30	45	60
Intoxicação (%)				
1	1,28 aA	1,96 aA	2,19 aA	3,25 aAB
2	1,19 aA	2,78 abA	3,25 bA	3,90 bBC
3	0,63 aA	2,22 abA	2,72 bA	3,81 bBC
4	0,72 aA	1,31 abA	1,75 abA	2,91 bAB
5	50,00 aB	50,00 aB	50,00 aB	50,00 aD
6	0,00 aA	3,44 bA	2,50 bA	6,16 cC
7	0,81 aA	2,19 abA	1,94 abA	3,17 bAB
8	0,78 aA	1,97 aA	1,91 aA	1,36 aA

Médias seguidas por letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Combinação 1 – *Canavalia ensiformes* + *Crotalaria spectabilis* + *Mucuna pruriens*; combinação 2 - *Canavalia ensiformes* + *Crotalaria spectabilis*; combinação 3 – *Canavalia ensiformes* + *Mucuna pruriens*; combinação 4 - *Crotalaria spectabilis* + *Mucuna pruriens*; combinação 5 - ausência de plantas; combinação 6 - *Canavalia ensiformes*; combinação 7 – *Mucuna pruriens*; combinação 8 - *Crotalaria spectabilis*.

DAS: Dias após a semeadura.

Fonte: Próprio autor (2023).

4.2 Avaliação de massa seca das leguminosas

Com relação à massa seca produzida pelas plantas leguminosas, os resultados observados para as fontes de variação níveis de substrato, combinações, e a interação entre os dois fatores, não foram significativos ($p < 0,05$) (Tabela 10).

Tabela 10 - Resumo da análise de variância (ANOVA) para produção de massa seca de plantas submetidas a solo contendo resíduos do herbicida diclosulam.

FV	GL	QM
Bloco	3	0,0261 ^{ns}
Níveis de Substrato	3	0,0112 ^{ns}
Combinações	7	0,0019 ^{ns}
Níveis de Substrato x Combinações	21	0,0119 ^{ns}
Erro	93	0,0101
Total	127	
CV (%)		35,87

CV: Coeficiente de variação; ns: não significativo.

Fonte: Próprio autor (2023).

4.3 Avaliação de intoxicação do sorgo no estudo de bioensaio

Para os estudos em bioensaios realizados com o plantio da cultura do sorgo (*Sorghum bicolor*) em amostras de solos das parcelas do experimento anterior, os resultados observados para a intoxicação da planta de sorgo para as fontes de variação níveis de substrato, combinações, tempo, e para as interações destes três fatores, foram todos significativos ($p < 0,05$) (Tabela 11).

Tabela 11 - Resumo da análise de variância (ANOVA) para intoxicação do sorgo semeado em solo submetido ao herbicida diclosulam e fitorremediado com leguminosas.

FV	GL	QM
Bloco	3	309,19*
Níveis de Substrato	3	31.827,34**
Combinações	7	628,37**
Tempo	2	11.695,17**
Níveis de Substrato x Combinações	21	372,01**
Níveis de Substrato x Tempo	6	4.459,01**
Combinações x Tempo	14	222,00*
Níveis de Substrato x Combinações x Tempo	42	162,68*
Erro	285	103,56
Total	383	
CV (%)		65,23

CV: Coeficiente de variação; ns: não significativo; **: significativo a 1%; *: significativo a 5%.

Fonte: Próprio autor (2023).

O sorgo cultivado em solo com resíduos de diclosulam apresentou sintomas visíveis de intoxicação, classificados como no limite do aceitável, situação não observada para as plantas cultivadas em solo com ausência do herbicida, conforme escala de avaliação de ALAM, (1974) (Tabela 2). As amostras de solo obtidas das parcelas em que houve inoculação das sementes das leguminosas cultivadas, mesmo com a presença do herbicida, demonstraram menor nível de intoxicação do sorgo quando comparada aos solos sem resíduos da bactéria *Bradyrhizobium* BR 2003 (Tabela 12).

De acordo com Perez (2023), avaliando a dinâmica de aplicação de diclosulam no solo e seus efeitos residuais ao longo do tempo nas culturas do milho, sorgo e feijão, foi constatado que, para a cultura do sorgo, o período seguro para seu plantio após aplicação do herbicida diclosulam no solo é delimitado por pelo menos 60 dias em solos argilosos, de

forma que mesmo o sorgo semeado apresentando sintomas leves de intoxicação até os 28 dias após a sua semeadura, não foram constatadas reduções de produtividade na cultura, o que foi diferente quando o sorgo foi semeado no mesmo dia da aplicação do diclosulam, em que se observaram reduções de mais de 40% na produtividade da cultura. Ainda segundo o autor, para solos arenosos, não foi possível determinar um período seguro para implantação do sorgo, visto que foram observados sintomas moderados de intoxicação e perdas de produtividade mesmo com a cultura sendo semeada aos 120 dias após aplicação do diclosulam.

Tabela 12 - Intoxicação do sorgo semeado em solos contendo resíduos do herbicida diclosulam.

Níveis de Substrato	Intoxicação (%)
SHI	0,00 A
SHNI	0,00 A
DI	27,95 B
DNI	34,45 C

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey.

SHNI: Sem herbicida e sementes não inoculadas; SHI: Sem herbicida e sementes inoculadas; DNI: Diclosulam e sementes não inoculadas; DI: Diclosulam e sementes inoculadas.

Fonte: Próprio autor (2023).

O sorgo semeado em solos anteriormente cultivados com as combinações de leguminosas se mostrou significativamente menos intoxicado, com médias em torno de 15%, quando comparado ao sorgo semeado em solos com ausência de plantas leguminosas, com intoxicação média de 23,33% (Tabela 13), o que pode demonstrar capacidade das leguminosas em extrair resíduos de diclosulam do solo a ponto de reduzir a intoxicação visível no cultivo posterior de sorgo.

Tabela 13 - Intoxicação do sorgo em solos semeados com combinações de leguminosas e contendo resíduos do herbicida diclosulam.

Combinações	Intoxicação (%)
4	11,12 A
1	13,11 A
2	13,89 A
3	14,79 A
7	15,59 A
6	16,04 A
8	16,93 A
5	23,33 B

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey.

Combinação 1 – *Canavalia ensiformes* + *Crotalaria spectabilis* + *Mucuna pruriens*; combinação 2 - *Canavalia ensiformes* + *Crotalaria spectabilis*; combinação 3 – *Canavalia ensiformes* + *Mucuna pruriens*; combinação 4 - *Crotalaria spectabilis* + *Mucuna pruriens*; combinação 5 - ausência de plantas; combinação 6 - *Canavalia ensiformes*; combinação 7 – *Mucuna pruriens*; combinação 8 - *Crotalaria spectabilis*.

Fonte: Próprio autor (2023).

O fator tempo mostrou-se atuante na capacidade de intoxicação do sorgo, sendo observado aumento expressivo da intoxicação ao longo dos três tempos avaliados (Tabela 14). Este rápido aumento do nível de intoxicação pode indicar uma alta capacidade de absorção de resíduos do herbicida diclosulam pela planta de sorgo, ou ainda uma alta sensibilidade da planta aos mínimos resíduos do herbicida, de forma que a intoxicação atingiu o limiar do aceitável, de acordo com a escala de ALAM (1974), em apenas 21 dias de cultivo.

Tabela 14 - Intoxicação do sorgo semeado em solos contendo resíduos de diclosulam em avaliações realizadas até os 21 dias após a semeadura.

Tempo (DAS)	Intoxicação (%)
7	4,93 A
14	18,48 B
21	23,39 C

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey.

DAS: Dias após a semeadura.

Fonte: Próprio autor (2023).

Com relação à intoxicação das plantas de sorgo cultivado em solos fitorremediados com diferentes combinações de leguminosas, os maiores níveis de intoxicação foram observados em solos em que não houve cultivo de leguminosas, seguido pelos solos com cultivo isolado de *Crotalaria spectabilis* (Tabela 15), o que pode indicar que,

embora a *Crotalaria spectabilis* tenha sido a leguminosa com os menores níveis de intoxicação pelo diclosulam durante seu cultivo, existe a possibilidade de que sua capacidade de retirar os resíduos do herbicida do solo seja realmente baixa.

Os solos com cultivo de leguminosas em consorcio, com exceção do plantio de *Canavalia ensiformes* e *Crotalaria spectabilis* com sementes não inoculadas, mostraram capacidade de intoxicar menos o sorgo do que os solos com cultivo isolado das leguminosas, de modo geral (Tabela 15). Os solos cultivados com *Canavalia ensiformes* e *Mucuna pruriens*, e *Crotalaria spectabilis* e *Mucuna pruriens*, demonstraram os menores níveis de intoxicação para a cultura do sorgo. O fator inoculação de sementes não afetou os níveis de intoxicação do sorgo semeado em nenhum dos solos cultivados com as diferentes combinações, exceto para o plantio consorciado de *Canavalia ensiformes* e *Mucuna pruriens*, em que a presença da bactéria no solo aliada as leguminosas reduziu a intoxicação observada no sorgo (Tabela 15).

Tabela 15 – Intoxicação do sorgo semeado em solos fitorremediados com diferentes combinações de leguminosas em função dos níveis de substrato contendo resíduos do herbicida diclosulam.

Combinações	Níveis de Substrato			
	DI	DNI	SHI	SHNI
Intoxicação (%)				
1	24,64 bAB	27,81 bAB	0,00 aA	0,00 aA
2	25,07 bAB	30,49 bAB	0,00 aA	0,00 aA
3	20,98 bA	38,20 cB	0,00 aA	0,00 aA
4	23,50 bAB	20,97 bA	0,00 aA	0,00 aA
5	35,00 bB	58,33 cC	0,00 aA	0,00 aA
6	31,48 bAB	32,68 bAB	0,00 aA	0,00 aA
7	29,02 bAB	33,33 bAB	0,00 aA	0,00 aA
8	33,93 bB	33,81 bB	0,00 aA	0,00 aA

Médias seguidas por letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

SHNI: Sem herbicida e sementes não inoculadas; SHI: Sem herbicida e sementes inoculadas; DNI: Diclosulam e sementes não inoculadas; DI: Diclosulam e sementes inoculadas.

Combinação 1 – *Canavalia ensiformes* + *Crotalaria spectabilis* + *Mucuna pruriens*; combinação 2 - *Canavalia ensiformes* + *Crotalaria spectabilis*; combinação 3 – *Canavalia ensiformes* + *Mucuna pruriens*; combinação 4 - *Crotalaria spectabilis* + *Mucuna pruriens*; combinação 5 - ausência de plantas; combinação 6 - *Canavalia ensiformes*; combinação 7 – *Mucuna pruriens*; combinação 8 - *Crotalaria spectabilis*.

Fonte: Próprio autor (2023).

Analisando a intoxicação das plantas de sorgo ao longo do tempo, de acordo com cada nível de substrato, foi possível observar também o comportamento crescente do nível de intoxicação durante os três tempos, de forma que os maiores níveis de intoxicação foram observados aos 21 dias (Tabela 16). Já aos 14 dias de cultivo do sorgo, os solos que foram fitorremediados com leguminosas não inoculadas apresentavam intoxicação maior para o sorgo, e aos 21 dias, o teor de intoxicação foi novamente avaliado como significativamente igual para os dois níveis de substrato (Tabela 16).

Tabela 16 - Intoxicação do sorgo ao longo do tempo em função dos níveis de substrato contendo resíduos do herbicida diclosulam.

Tempo (DAS)	Níveis de Substrato			
	DI	DNI	SHI	SHNI
Intoxicação (%)				
7	8,63 bA	11,10 bA	0,00 aA	0,00 aA
14	27,89 bB	46,04 cB	0,00 aA	0,00 aA
21	47,33 bC	46,21 bB	0,00 aA	0,00 aA

Médias seguidas por letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

SHNI: Sem herbicida e sementes não inoculadas; SHI: Sem herbicida e sementes inoculadas; DNI: Diclosulam e sementes não inoculadas; DI: Diclosulam e sementes inoculadas.

DAS: Dias após a semeadura.

Fonte: Próprio autor (2023).

Com relação à avaliação dos níveis de intoxicação do sorgo semeado em solos amostrados de cada nível de combinação em função do tempo, foi possível observar que, aos sete dias após a semeadura do sorgo, não havia diferenças significativas entre nenhuma das combinações de leguminosas fitorremediadoras, aos 14 dias após a semeadura, somente a amostra de solo com ausência de plantas (Combinação 5) demonstrou intoxicação significativamente maior (Tabela 17). Já aos 21 dias após a semeadura do sorgo, todas as amostras de solo em que foram cultivadas leguminosas em consórcio e, também, o cultivo isolado da leguminosa *Canavalia ensiformes*, demonstraram níveis de intoxicação para o cultivo de sorgo estatisticamente menores do que o sorgo semeado nas amostras de solo da combinação 5, com ausência de plantas fitorremediadoras (Tabela 17).

Para a intoxicação do sorgo ao longo do tempo de acordo com cada nível de combinação, foi observado um aumento crescente da intoxicação para o sorgo semeado em amostras de solo fitorremediado com *Crotalaria ensiformes*, enquanto que, para os demais níveis de combinação, foi observado aumento da intoxicação de 7 para 14 dias e estabilização aos 21 dias após o plantio do sorgo (Tabela 17).

Tabela 17 - Intoxicação do sorgo semeado em solos fitorremediados com diferentes combinações de leguminosas em função do tempo após a semeadura em solos contendo resíduos do herbicida diclosulam.

Combinações	Tempo (DAS)		
	7	14	21
Intoxicação (%)			
1	5,04 aA	14,09 bA	20,21 bA
2	5,74 aA	16,73 bA	19,19 bA
3	5,21 aA	18,44 bA	20,73 bA
4	4,03 aA	10,79 abA	18,54 bA
5	5,00 aA	31,25 bB	33,75 bB
6	7,81 aA	19,18 bA	21,13 bA
7	4,58 aA	17,60 bA	24,58 bAB
8	2,04 aA	19,79 bA	28,96 cAB

Médias seguidas por letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Combinação 1 – *Canavalia ensiformes* + *Crotalaria spectabilis* + *Mucuna pruriens*; combinação 2 - *Canavalia ensiformes* + *Crotalaria spectabilis*; combinação 3 – *Canavalia ensiformes* + *Mucuna pruriens*; combinação 4 - *Crotalaria spectabilis* + *Mucuna pruriens*; combinação 5 - ausência de plantas; combinação 6 - *Canavalia ensiformes*; combinação 7 – *Mucuna pruriens*; combinação 8 - *Crotalaria spectabilis*.

DAS: Dias após a semeadura.

Fonte: Próprio autor (2023).

4.4 Avaliação de massa seca do sorgo no estudo de bioensaio

Para as análises de massa seca das plantas de sorgo colhidas 21 dias após o plantio, os resultados observados para a fonte de variação níveis de substrato, e para a interação entre níveis de substrato e combinações, foram significativos ($p < 0,05$), enquanto o resultado observado para o fator combinações isolado foi não significativo ($p < 0,05$) (Tabela 18).

Tabela 18 - Resumo da análise de variância (ANOVA) para a massa seca do sorgo semeado em solo submetido ao herbicida diclosulam e fitorremediado com leguminosas.

FV	GL	QM
Bloco	3	0,0015 ^{ns}
Níveis de Substrato	3	0,0328 ^{**}
Combinações	7	0,0030 ^{ns}
Níveis de Substrato x Combinações	21	0,0099 ^{**}
Erro	93	0,0057
Total	127	
CV (%)		50,87

CV: Coeficiente de variação; ns: não significativo; **: significativo a 5%.

Fonte: Próprio autor (2023).

O sorgo colhido em solos fitorremediados para resíduos do herbicida diclosulam apresentou massa seca significativamente menor do que os materiais colhidos em amostras de solo sem a presença do herbicida (Tabela 19).

Em estudo avaliando o efeito residual de herbicidas aplicados no cultivo de soja no sorgo granífero semeado em sucessão, Dan *et al.* (2010) observaram clorose interneval nas folhas de sorgo após 28 dias de sua emergência, isso quando o sorgo foi semeado 115 dias após a aplicação do herbicida diclosulam na área experimental, e, também foi observada redução no peso das plantas em avaliação realizada 30 dias após a emergência, quando comparada a testemunha. O herbicida diclosulam também tem se mostrado consideravelmente fitotóxico para outras culturas, como, por exemplo, o girassol, em que, de acordo com um estudo de Brighenti *et al.* (2002), foram observadas reduções totais de estande do girassol mesmo quando o mesmo foi semeado 75 e 90 dias após a aplicação da molécula do diclosulam no solo. Segundo uma cartilha técnica da Embrapa (1999), deve ser respeitado um período de 18 meses para o plantio de girassol em áreas que sofreram aplicação do herbicida diclosulam.

Tabela 19 - Massa seca do sorgo semeado em solos contendo resíduos do herbicida diclosulam.

Níveis de Substrato	Massa seca (g)
DI	0,12 A
DNI	0,12 A
SHI	0,16 AB
SHNI	0,19 B

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey.

SHNI: Sem herbicida e sementes não inoculadas; SHI: Sem herbicida e sementes inoculadas; DNI: Diclosulam e sementes não inoculadas; DI: Diclosulam e sementes inoculadas.

Fonte: Próprio autor (2023).

Com relação à massa seca do sorgo semeado em solos de cada nível de combinação de leguminosas em função dos níveis de substrato, foram observadas diferenças significativas somente no nível de substrato sem a presença do herbicida e sem a inoculação das sementes com a bactéria *Bradyrhizobium* BR 2003 (Tabela 20), de forma que a maior média de massa seca foi obtida do sorgo semeado em solos da combinação 5, e a menor média foi obtida em solos da *Canavalia ensiformes* e *Crotalaria spectabilis*, contudo, as demais combinações foram semelhantes estatisticamente as duas anteriormente citadas.

Analisando os diferentes níveis de substrato em função dos níveis de combinação, foi possível observar que na ausência de plantas (Combinação 5), a massa seca do sorgo semeado em solos que sofreram aplicação de diclosulam, independente de inoculação de sementes ou não, foi significativamente inferior a massa seca do sorgo semeado em solos sem a presença do herbicida (Tabela 20). Para as amostras de solo que foram cultivadas com *Canavalia ensiformes*, também foi observado o mesmo comportamento, de forma que nos solos com presença do herbicida diclosulam a massa seca do sorgo foi significativamente menor (Tabela 20), o que pode indicar que a *Canavalia ensiformes* de forma isolada não foi eficiente em remover o herbicida do solo.

Para as demais combinações de leguminosas, foi possível observar que não houve diferenças estatísticas para a massa seca do sorgo entre os níveis de substrato com a presença do herbicida diclosulam e os níveis sem herbicida (Tabela 20), o que indica que, mesmo com sintomas visíveis de intoxicação, o residual do herbicida após fitorremediação das leguminosas pode não ter sido capaz de afetar o crescimento do sorgo nestes casos em questão.

Tabela 20 - Massa seca do sorgo semeado em solos fitorremediados com diferentes combinações de leguminosas em função dos níveis de substrato contendo resíduos do herbicida diclosulam.

Combinações	Níveis de Substrato			
	DI	DNI	SHI	SHNI
	Massa seca (g)			
1	0,1435 aA	0,1218 aA	0,1008 aA	0,1663 aAB
2	0,1298 aA	0,1488 aA	0,1230 aA	0,1248 aA
3	0,1600 aA	0,1838 aA	0,1465 aA	0,1538 aAB
4	0,1045 aA	0,1675 aA	0,1543 aA	0,1968 aAB
5	0,0683 aA	0,0470 aA	0,1658 abA	0,2993 bB
6	0,0835 aA	0,1360 abA	0,2263 bA	0,2415 bAB
7	0,1468 aA	0,0730 aA	0,1960 aA	0,1610 aAB
8	0,1410 aA	0,1048 aA	0,1915 aA	0,1555 aAB

Médias seguidas por letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

SHNI: Sem herbicida e sementes não inoculadas; SHI: Sem herbicida e sementes inoculadas; DNI: Diclosulam e sementes não inoculadas; DI: Diclosulam e sementes inoculadas.

Combinação 1 – *Canavalia ensiformes* + *Crotalaria spectabilis* + *Mucuna pruriens*; combinação 2 - *Canavalia ensiformes* + *Crotalaria spectabilis*; combinação 3 – *Canavalia ensiformes* + *Mucuna pruriens*; combinação 4 - *Crotalaria spectabilis* + *Mucuna pruriens*; combinação 5 - ausência de plantas; combinação 6 - *Canavalia ensiformes*; combinação 7 – *Mucuna pruriens*; combinação 8 - *Crotalaria spectabilis*.

Fonte: Próprio autor (2023).

5. CONCLUSÃO

A crotalária (*Crotalaria spectabilis*) em cultivo isolado e também seu cultivo em consórcio com a mucuna (*Mucuna pruriens*) são as espécies leguminosas com maior potencial de fitorremediação do herbicida diclosulam.

O sorgo, empregado como planta bioindicadora, foi capaz de diferenciar os efeitos da fitorremediação de cada combinação de leguminosas, sendo recomendada como planta para bioensaios com resíduos do herbicida diclosulam.

Os cultivos em consórcio das três combinações de leguminosas, de forma geral, foram mais eficientes em fitorremediar os resíduos do diclosulam.

A inoculação de sementes com a bactéria *Bradyrhizobium* BR 2003, embora não tenha influenciado a intoxicação nas leguminosas cultivadas em campo, propiciou uma menor intoxicação nas plantas de sorgo cultivadas em sucessão.

REFERÊNCIAS

- AMIM, R. T. *et al.* **Banco de sementes do solo após aplicação de herbicidas pré-emergentes durante quatro safras de cana-de-açúcar.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, DF: v. 51, p. 1710–1719, 2016.
- BARROS, A. C. *et al.* **Tolerância de cultivares de soja aos herbicidas imazaquin, diclosulam e sulfentrazone, aplicados em solo de textura arenosa.** Revista Brasileira de Herbicidas, Goiânia, v. 4, p. 1-8, 2005.
- BRIGHENTI, A. M. *et al.* **Persistência e fitotoxicidade de herbicidas aplicados na soja sobre o girassol em sucessão.** Pesquisa agropecuária brasileira, Brasília, DF: v. 37, n. 4, p. 559-565, 2002.
- CARMONA, R. **Problemática e manejo de bancos de sementes de invasoras em solos agrícolas.** Planta Daninha, Brasília, DF: v. 10, 1992.
- COSTA, V. S. **Rizobactérias na Fitorremediação de Solos.** Monografia (Pós-graduação em Microbiologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019.
- DAN, H. A. *et al.* **Atividade residual de herbicidas pré-emergentes aplicados na cultura da soja sobre o milho cultivado em sucessão.** Planta Daninha, Viçosa, v. 29, p. 437–445, 2011.
- DAN, H. A. *et al.* **Residual activity of herbicides used in soybean agriculture on grain sorghum crop succession.** Planta Daninha, Viçosa, v. 28, p. 1087–1095, 2010.
- DIESEL, F. *et al.* **Bioassay for Determining Persistence of the Herbicide Saflufenacil in an Oxisol.** Planta Daninha, Porto Alegre, v. 37, p. 1-10, 2019.
- DIESEL, F. *et al.* **Seleção de espécies da família cucurbitaceae e chenopodiaceae para indicação da presença de saflufenacil no solo.** Pesticidas: Revista de ecotoxicologia e meio ambiente, Curitiba, v. 22, p. 35-42, 2012.
- EMBRAPA. **Manejo Agroecológico do Solo: os Benefícios da Adubação Verde.** Teresina, 2009.
- EMBRAPA. **Recomendações técnicas para a cultura da soja na região central do Brasil.** Circular Técnica nº 132, Londrina, 226p., 1999.
- LAVORENTI, A. *et al.* **Comportamento do diclosulam em amostras de um latossolo vermelho distroférico sob plantio direto e convencional.** Revista Brasileira de Ciências do Solo, Piracicaba, v. 27, n. 1, p. 183-190, 2003.
- LEITE, C. R. F. *et al.* **Sensibilidade de cultivares de soja (Glycine max) aos herbicidas diclosulam e flumetsulam.** Planta daninha, Londrina, v. 18, n. 1, 2000.

- RODRIGUES, B. N., ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 5ª ed. Londrina, Instituto Agronômico do Paraná, 2005.
- MALADÃO, J. C. *et al.* **Uso de leguminosas na fitorremediação de solo contaminado com sulfentrazone**. Pesquisa Agropecuária Tropical, Goiânia, v. 42, n. 4, p. 390-396, 2012.
- MANCUSO, M. A. C. *et al.* **Efeito residual de herbicidas no solo (Carryover)**. Revista Brasileira de Herbicidas, Botucatu, v. 10, p. 151-164, 2011.
- MELO, C. A. D. *et al.* **Efeito residual de sulfentrazone, isoxaflutole e oxyfluorfen em três solos**. Planta Daninha, Viçosa, v. 28, p. 835–842, 2010.
- MENDES, K. F. *et al.* **Seleção de plantas indicadoras para o monitoramento do mesotrione e metribuzin em solo argiloso**. Revista de Ciências Agroambientais, Alta Floresta, v. 13, p. 53-59, 2015.
- MESCHEDE, K. D. **Período Anterior a Interferência de Plantas Daninhas em Soja: Estudo de caso com Baixo Estande e Testemunhas Duplas**. Planta Daninha, Viçosa, v. 22, n. 2, p. 239-246, 2004.
- MIELKE, K. C. *et al.* **Does *Canavalia ensiformis* inoculation with *Bradyrhizobium* sp. enhance phytoremediation of sulfentrazone contaminated soil**. Chemosphere, Viçosa, v. 255, 2020.
- MONQUERO, P. A. *et al.* **Lixiviação de clomazone + ametryn, diuron + hexazinone e isoxaflutole em dois tipos de solo**. Planta Daninha, Viçosa, v. 26, p. 685–691, 2008.
- MONQUERO, P. A. *et al.* **Seleção de espécies de adubos verdes visando à fitorremediação de Diclosulam**. Planta Daninha, Viçosa, v. 31, n. 1, p. 127-135, 2013.
- NUNES, A. L., VIDAL, R. A. **Seleção de plantas quantificadoras de herbicidas residuais**. Pesticidas: Revista de ecotoxicologia e meio ambiente, Curitiba, v. 19, p. 19-28, 2009.
- OLIVEIRA, R. S. **Conceitos importantes no estudo do comportamento de herbicidas no solo**. Boletim informativo, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Rondônia, v.27, n.2, p.9-12, 2002.
- PACHECO, L. C. P. S. **Atividade de herbicidas pré-emergentes em solos do cerrado, na presença e ausência de resíduos orgânicos**. 2017. Dissertação (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017.
- PEREZ, L. L. **Dinâmica da mistura formulada de sulfentrazone com diuron e o herbicida diclosulam no solo e os efeitos residuais em milho, sorgo e feijão**. 2023. Tese (Doutorado) – USP, Piracicaba, 2023.
- PERIM, L. **Dinâmica, eficácia e seletividade do diclosulam em condições de cana crua**. 2014. Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Agrônomicas da UNESP, Botucatu, 2014.

- PIRES F. R. *et al.* **Seleção de Plantas com Potencial para Fitorremediação de Tebuthiuron.** Planta Daninha, Viçosa, v. 21, n. 3, p. 451-458, 2003.
- PIRES, F. R. *et al.* **Adubos verdes na fitorremediação de solos contaminados com o herbicida tebuthiuron.** Revista Caatinga, Mossoró, v. 19, n. 1, p. 92-97, 2006.
- PITELLI, R. A. **Competição e controle das plantas daninhas em áreas agrícolas.** Série Técnica IPEF, Piracicaba, v. 4, p. 1-24, 1987.
- PROCÓPIO, S. O. *et al.* **Desenvolvimento de Plantas de Feijão em Solo Contaminado com Trifloxysulfuron-Sodium após o Cultivo de Stizolobium aterrimum e Canavalia ensiformis.** Planta Daninha, Viçosa, v. 25, n. 1, p. 87-96, 2007.
- RIBEIRO, S. R. *et al.* **Sensibilidade da melancia ao residual de herbicidas pré-emergentes aplicados na cultura da soja.** Revista Brasileira de Herbicidas, Rio de Janeiro, v. 18, p. 669-675, 2019.
- SANCHOTENE, D. M. *et al.* **Desempenho de diferentes herbicidas pré-emergentes para controle de Euphorbia htererophylla na cultura da soja.** Perspectiva, Erechim, v. 41, p. 07-15, 2017.
- SILVA, C. T. **Potencial fitorremediador de plantas de cobertura e produção de bioetanol.** 2019. Tese (Doutorado) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2019.
- SOUZA, C. C. B. **Fitorremediação de solos com resíduo do herbicida diclosulam.** 2017. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.
- ZILLI, E. J. *et al.* **Draft Genome Sequence of Bradyrhizobium elkanii BR 2003, an Efficient Rhizobium Strain for Cajanus, Canavalia, Crotalaria, and Indigofera.** Microbiology Resource Announcement, Rio de Janeiro, v. 9, n. 11, 2020.