

AMANDA CRISTINA SOARES SILVA

**POTENCIAL DE FITORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS COM
RESÍDUOS DE DICLOSULAM EM FUNÇÃO DA INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS
SIMBIÓTICAS EM ESPÉCIES LEGUMINOSAS**

SÃO JOÃO EVANGELISTA

2023

AMANDA CRISTINA SOARES SILVA

**POTENCIAL DE FITORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS COM
RESÍDUOS DE DICLOSULAM EM FUNÇÃO DA INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS
SIMBIÓTICAS EM ESPÉCIES LEGUMINOSAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Federal de Minas Gerais – *Campus* São João Evangelista como exigência parcial para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientador(a): Me. Alisson José Eufrásio de Carvalho.

SÃO JOÃO EVANGELISTA

2023

FICHA CATALOGRÁFICA PARA TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

S586f

Silva, Amanda Cristina Soares.

Potencial de fito remediação de solos contaminados com resíduos de dioclosulam em função da inoculação de bactérias simbióticas em espécies leguminosas. [manuscrito] / Amanda Cristina Soares Silva. – São João Evangelista: Instituto Federal de Minas Gerais, 2023.
42 f.; il., color.

Orientador: Prof. Me. Alisson José Eufrásio de Carvalho.

Monografia (Graduação) – Instituto Federal de Minas Gerais –
Campus São João Evangelista, Bacharelado em Agronomia.

1. Solos - descontaminação. 2. Solos – resíduos herbicidas. 3. Simbiose
4. Herbicidas. 5. Fitorremediação I. Carvalho, Alisson José Eufrásio. II.
Instituto Federal de Minas Gerais – *Campus* São João Evangelista. III.
Título

CDD 631.8

Catálogo: Luciana Batista Neves - CRB-6/2000

AMANDA CRISTINA SOARES SILVA

**POTENCIAL DE FITORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS COM
RESÍDUOS DE DICLOSULAM EM FUNÇÃO DA INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS
SIMBIÓTICAS EM ESPÉCIES LEGUMINOSAS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Federal de
Minas Gerais – *Campus* São João
Evangelista como exigência parcial
para obtenção do título de Bacharel em
Agronomia.

Aprovada em 03/03/2023

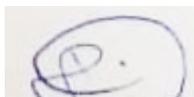
BANCA EXAMINADORA



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



Me. Ari Medeiros Braga Neto
Instituto Federal de Minas Gerais – IFMG



Me. Valdevino Pereira Silva
Instituto Federal de Minas Gerais - IFMG

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me deu forças e me guiou durante o meu caminho, não me abandonando nem por um momento.

Aos meus pais, Jovita e José Paulo, que acreditaram em mim e me deram todo o apoio necessário durante esta trajetória.

A minha tia Honorinda, minha prima Erica e todos os meus familiares que incentivaram durante todos esses anos.

Ao IFMG-SJE, que marcou a minha vida não apenas por meio da oportunidade de uma ótima formação profissional, mas também por meio de experiências únicas.

Ao professor e orientador Me. Alisson José Eufrásio de Carvalho, por todos os ensinamentos transferidos, ajuda e dedicação ao longo destes anos e durante a condução desse trabalho.

A Ana Lívia, Analice, Elias, Igor, Jackson, James, Josiel, Matheus, Paula, Thalita e todos aqueles que, em seu tempo livre, estiveram presentes durante a condução deste trabalho ajudando sempre que possível.

Aos meus amigos Agatha, Analice, Ana Lívia, Clinton, Jackson, Jucelia e Mariana com os quais compartilhei momentos felizes e tristes, que tornaram mais fácil essa longa caminhada e se tornaram uma família para mim.

Agradeço a todos que, mesmo aqui não citados, passaram por mim e contribuíram para que eu pudesse chegar até aqui.

RESUMO

O uso de herbicidas se mostra de grande importância nos mais diversos cultivos para o controle de plantas indesejadas. O diclosulam é um herbicida seletivo, residual, que pode prejudicar o estabelecimento de culturas subsequentes. Sendo assim, espécies fitorremediadoras são consideradas como alternativa para a retirada desses resíduos do solo. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a capacidade de fitorremediação de resíduos de diclosulam no solo com o uso de espécies leguminosas inoculadas com bactérias fixadoras de nitrogênio, assim como a combinação de espécies leguminosas. O experimento foi conduzido no setor de olericultura do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais, *Campus* São João Evangelista (IFMG – SJE). Sementes das espécies leguminosas crotalária (*Crotalaria spectabilis*), feijão de porco (*Canavalia ensiformis*) e mucuna-preta (*Mucuna pruriens*) foram inoculadas com *Bradyrhizobium elkanii* BR2003 (SEMIA 6156) - coleção de culturas da Embrapa Agrobiologia. O diclosulam foi aplicado na concentração de 41,7 g ha⁻¹ após o plantio das sementes. O experimento foi instalado em delineamento em blocos ao acaso (DBC), em esquema fatorial 4x8, sendo o fator 1 correspondente aos níveis de substrato: 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 sem inoculação das sementes e o fator 2 correspondente às combinações de plantas: feijão de porco + crotalária + mucuna (FP+CR+MU); feijão de porco + crotalária (FP+CR); feijão de porco + mucuna (FP+MU); crotalária + mucuna (CR+MU); ausência de plantas (AP); feijão de porco (FP); mucuna (MU) e crotalária (CR) em 4 repetições, totalizando 128 unidades experimentais. Foram feitas avaliações de fitotoxicidade de acordo com a escala de ALAM, além da coleta e secagem das plantas em estufa para determinação da massa seca de parte aérea. Ao final do experimento, pode-se concluir que a inoculação de bactérias não causou efeitos sobre a fitorremediação e que a mucuna-preta apresenta maior potencial de fitorremediação de resíduos do herbicida diclosulam.

Palavras-chave: Herbicida. *Bradyrhizobium*. *Carryover*.

ABSTRACT

The use of herbicides is of great importance in the most diverse crops for the control of unwanted plants. Diclosulam is a selective, residual herbicide that may impair the establishment of subsequent crops. Therefore, phytoremediation species are considered as an alternative for the removal of these residues from the soil. The objective of the present work was to evaluate the phytoremediation capacity of diclosulam residues in the soil using leguminous species inoculated with nitrogen-fixing bacteria, as well as the combination of leguminous species. The experiment was carried out in the vegetable sector of the Federal Institute of Education, Science and Technology of Minas Gerais, Campus São João Evangelista (IFMG – SJE). Seeds of the leguminous species sunn hemp (*Crotalaria spectabilis*), jack bean (*Canavalia ensiformis*) and velvet bean (*Mucuna pruriens*) were inoculated with *Bradyrhizobium elkanii* BR2003 (SEMIA 6156) - culture collection of Embrapa Agrobiologia. Diclosulam was applied at a concentration of 41.7 g ha⁻¹ after planting the seeds. The experiment was set up in a randomized block design (DBC), in a 4x8 factorial scheme, with factor 1 corresponding to the substrate levels: level 1 – diclosulam with seed inoculation; level 2 - diclosulate without seed inoculation; level 3 - absence of herbicide with seed inoculation; level 4 – absence of herbicide without seed inoculation and factor 2 corresponding to plant combinations: jack bean + sunn hemp + velvet bean (FP+CR+MU); jack bean + sunn hemp (FP+CR); jack bean + velvet bean (FP+MU); sunn hemp + velvet bean (CR+MU); absence of plants (AP); jack beans (FP); mucuna (MU) and sunn hemp (CR) in 4 replications, totaling 128 experimental units. Phytotoxicity assessments were carried out according to the ALAM scale, in addition to collection and drying of plants in a greenhouse to determine the dry mass of shoots. At the end of the experiment, it can be concluded that the inoculation of bacteria had no effect on phytoremediation and that velvet bean has a greater potential for phytoremediation of diclosulam herbicide residues.

Keywords: Herbicide. *Bradyrhizobium*. Carryover.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula estrutural do diclosulam.....	13
Figura 2. Imagem de satélite do local e vista aérea da área experimental, respectivamente....	18
Figura 3. Croqui da área experimental	19
Figura 4. Construção dos canteiros.	20
Figura 5. Demarcação das parcelas e subparcelas experimentais.	21
Figura 6. Inoculante.....	21
Figura 7. Pesagem do inoculante <i>Bradyrhizobium elkanii</i> , da cepa BR 2003.....	22
Figura 8. Pesagem da solução açucarada.....	22
Figura 9. Solução açucarada misturada às sementes de feijão de porco.	22
Figura 10. Sementes de feijão de porco espalhadas após inoculação.....	23
Figura 11. Sementes de <i>Crotalaria spectabilis</i> espalhadas após inoculação.	23
Figura 12. Semeadura	24
Figura 13. Preparo da calda.	24
Figura 14. Aplicação do herbicida.....	25
Figura 15. Irrigação na área.....	25
Figura 16. Gabarito utilizado para coleta	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características físico-químicas do solo da área experimental (0-20)	20
Tabela 2. Avaliação de fitotoxicidade de acordo com a escala de Alam (1974).....	26
Tabela 3. Resumo da análise de variância (ANOVA) com os dados dos atributos avaliados para sintomas de intoxicação de plantas.....	28
Tabela 4. Intoxicação de espécies fitorremediadoras em solo contendo resíduos do herbicida diclosulam.....	29
Tabela 5. Intoxicação da combinação de espécies fitorremediadoras em solo contendo resíduos do herbicida diclosulam.	29
Tabela 6. Intoxicação de espécies fitorremediadoras em solo contendo resíduos do herbicida diclosulam avaliada até os 60 dias após a semeadura.	30
Tabela 7. Toxicidade de plantas fitorremediadoras em função dos níveis de substrato em solo contendo resíduos do herbicida do diclosulam.....	30
Tabela 8. Toxicidade de plantas fitorremediadoras em função dos tempos de avaliação em solo contendo resíduos do herbicida do diclosulam.	31
Tabela 9. Resumo da análise de variância (ANOVA) para produção de massa seca de plantas submetidas a solo contendo resíduos do herbicida diclosulam.	31
Tabela 10. Produção de massa seca de espécies fitorremediadoras cultivadas em solo com resíduos de herbicida diclosulam.....	32
Tabela 11. Produção de massa seca para as espécies leguminosas submetidas a cultivo em comunidade e isoladas, em solo contendo resíduo de herbicida diclosulam.....	34
Tabela 12. Produção de massa seca de espécies leguminosas fitorremediadoras em função dos níveis de substrato com presença e ausência do herbicida diclosulam e com a inoculação e não inoculação da sementes com <i>Bradyrhizobium elkanii</i> , da cepa BR 2003.	35

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1	Uso de herbicidas no Brasil	12
2.2	Resíduos de herbicidas.....	12
2.3	Diclosulam	13
2.4	Espécies leguminosas na fitorremediação de solos contaminados com herbicidas	14
2.4.1	Crotalária	15
2.4.2	Feijão-de-porco	15
2.4.3	Mucuna-preta	16
2.5	Associação de bactérias do gênero <i>Bradyrhizobium elkanii</i> BR 2003 com leguminosas	16
3	MATERIAIS E MÉTODOS	18
3.1	Delineamento Experimental	18
3.2	Preparo da Área	19
3.2.1	Divisão das Parcelas	20
3.3	Inoculação.....	21
3.4	Semeadura	23
3.5	Aplicação do Herbicida	24
3.6	Irrigação.....	25
3.7	Coleta de dados.....	25
3.7.1	Avaliações de fitotoxicidade	25
3.7.2	Coleta de plantas	26
4	RESULTADO E DISCUSSÃO	28
5	CONCLUSÃO	36
	REFERÊNCIAS	37

1 INTRODUÇÃO

Com o aumento populacional, houve a necessidade de adoção de novas tecnologias a fim de aumentar-se também a produção de alimentos. Dentre essas tecnologias, destaca-se o uso de fertilizantes e defensivos agrícolas, entre eles os herbicidas (MANCUSO *et al.*, 2011). Os herbicidas são agentes biológicos ou substâncias químicas capazes de matar ou suprimir o crescimento de espécies específicas (ROMAN *et al.*, 2005).

No Brasil, o uso de herbicidas pré-emergentes vem se destacando nos últimos anos (PACHECO, 2017). Estes são aplicados no solo antes da emergência das plantas daninhas atuando diretamente no banco de sementes nele presentes, reduzindo ou inibindo a germinação das mesmas, controlando assim a incidência de plantas daninhas nas áreas de cultivo (SANTOS, 2022).

Os herbicidas de pré-emergência apresentam como característica a persistência no solo, o que pode ser favorável em culturas, como por exemplo, a soja, milho, feijão, por proporcionar o controle residual das plantas daninhas durante o seu ciclo, mas também pode se mostrar uma característica negativa, pois apresenta risco a culturas subsequentes podendo causar injúrias às mesmas (ULBRICH *et al.*, 1998).

O diclosulam é um herbicida seletivo, ou seja, que mata as plantas daninhas e não causa efeitos deletérios drásticos à cultura agrícola que está sendo cultivada, sendo comumente usado na cultura da soja (RODRIGUES & ALMEIDA, 2011). É classificado como um herbicida pré-emergente, aplicado ao solo antes da emergência das plantas daninhas, mas após o plantio da cultura, o que requer bom preparo e teor de umidade no solo (CARVALHO, 2013).

Embora se mostre uma ferramenta essencial para a agricultura, os defensivos agrícolas devem ser utilizados de modo a evitar problemas com o uso intensivo dos mesmos, como por exemplo, contaminação de solo (OLIVEIRA JR. e REGITANO, 2009). O diclosulam apresenta elevada persistência no solo, o chamado efeito residual, sendo este um grande problema para o estabelecimento de culturas sucessoras como milho, girassol, sorgo e brássicas, que são intoxicadas pelo mesmo e têm sua produtividade comprometida por este fator, o que chamamos de *carryover* (MANCUSO *et al.*, 2011).

A utilização de espécies vegetais para a fitorremediação de solos contaminados com herbicidas é uma alternativa que vem sendo cada vez mais empregada, com o intuito de reduzir seus efeitos na agricultura (ALVES, 2016). Consiste no emprego de plantas e

comunidades microbianas associadas para degradar, remover, transformar ou imobilizar compostos tóxicos (TRUU *et al.*, 2015). Dentre as plantas utilizadas na fitorremediação destacam-se as leguminosas, pois estas são tolerantes a diferentes condições climáticas e apresentam ainda elevado potencial de simbiose com microrganismos (ZAHKAN, 1999).

O uso de microrganismos do solo pode melhorar a disponibilidade de nutrientes para as plantas, além de se associarem com as raízes destas formando nódulos, nos quais é realizada a Fixação Biológica de Nitrogênio - FBN que consiste em reações químicas que transformam o N₂ da atmosfera em compostos nitrogenados assimiláveis pelas plantas, que, por sua vez, fornecerá carboidratos à bactéria (SIMÕES *et al.*, 2021). Estes autores explicam também que esta simbiose se dá pelas bactérias do grupo dos rizóbios, pertencentes aos gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, entre outros.

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a capacidade de fitorremediação de resíduos de diclosulam no solo com o uso de espécies leguminosas em cultivo isolado e combinadas entre si e inoculadas com bactérias fixadoras de nitrogênio.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Uso de herbicidas no Brasil

Apesar das diversas modificações ocorridas no setor agrícola, o sistema de produção convencional ainda é o mais utilizado e, conseqüentemente, o uso de defensivos químicos segue sendo o mais popular entre os produtores rurais (SALOMÃO *et al.*, 2019). O uso intensivo de defensivos químicos se deu após a Segunda Guerra Mundial, durante a Revolução Verde na década de 70 com o intuito de controlar ervas daninhas, pragas e doenças das plantas, contribuindo, portanto, para o aumento da produtividade e disponibilidade de alimentos (PERES *et al.* 2003).

Os herbicidas correspondem a aproximadamente 60% dos pesticidas utilizados no Brasil, sendo o mais comercializado no país (IBGE, 2021). Isto se deve ao fato de desempenharem papel no controle de plantas invasoras na produção agrícola, tendo como vantagens a eficiência e rapidez, evitando a competição com as plantas invasoras, permitindo a prática do manejo em qualquer época do ano, não causando danos mecânicos aos cultivos, e reduzindo a necessidade do revolvimento do solo, além de diminuir as chances de erosão.

Em contrapartida, como desvantagens, os herbicidas contam com a necessidade do uso de equipamentos adequados, com investimento elevado, mão de obra especializada, toxicidade para o ser humano e o ambiente, permanência ambiental por longos períodos, podendo causar prejuízos a espécies cultivadas em rotação, e ainda, o uso contínuo pode estimular a resistência de outras plantas (COOPER & DOBSON, 2007).

2.2 Resíduos de herbicidas

Oliveira (2011) descreveu como herbicidas residuais aqueles os quais possuem a capacidade de reter a integridade de sua molécula e, conseqüentemente, suas características físicas, químicas e funcionais no ambiente. Assim, o efeito residual está relacionado a um maior período de atividade do herbicida no solo, podendo levar a impactos ambientais negativos (MANCUSO *et al.*, 2011).

Segundo Oliveira Jr. (2011), o fenômeno *carryover* pode ser definido como o ponto no qual a atividade residual de determinado herbicida excede o ciclo da cultura onde este foi usado e persiste em intensidade suficiente para causar danos às espécies cultivadas em sucessão.

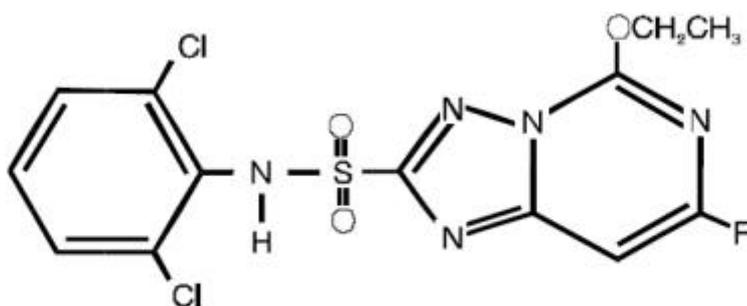
Mancuso et. al. (2011) também dizem que o potencial de *carryover* depende do herbicida utilizado, da cultura em sucessão e das condições ambientais após a aplicação de herbicidas. A degradabilidade, dissipação ou transformação dos herbicidas no ambiente está relacionada com as propriedades químicas e físicas do solo, com as condições climáticas, com a cultura implantada e com o manejo utilizado, sendo os níveis de umidade e matéria orgânica no solo os fatores que mais influenciam na adsorção dos mesmos (SENSEMAN *et al.*, 2007).

Por esta razão, a implantação de culturas, assim como a tomada de decisão a respeito da adoção e escolha de herbicidas químicos deve ser planejada de forma criteriosa a fim de se evitar problemas relacionados a resíduos na área (OLIVEIRA JR., 2011).

2.3 Diclosulam

O diclosulam (N - [2,6-diclofenil] - 5 - etoxi - 7 - fluoro (1,2,4) triazolo - [1,5c] - pirimidina - 2 - sulfonamida) é um herbicida seletivo, pertencente ao grupo químico das triazolpirimidina sulfonamidas utilizado incorporado em pré-plantio ou no período de pré-emergência da soja e amplamente difundido entre os produtores do grão (YODER *et al.*, 2000) (Figura 1).

Figura 1. Fórmula estrutural do diclosulam



Fonte: ANVISA, 2014

Rodrigues e Almeida (1998) relatam que o diclosulam começou a ser utilizado no Brasil a partir da safra de 1997, com a finalidade de controlar dicotiledôneas na cultura da soja. Esse herbicida é absorvido pelas raízes e folhas, possuindo ação sistêmica e se transloca via xilema e floema até os pontos de crescimento inibindo de forma rápida a enzima

acetolactato sintase (ALS) (GERWICK *et al.*, 1990; KLESCHICK *et al.*, 1990). De uma a duas semanas após a aplicação, notam-se nas plantas daninhas presentes na área a paralização do crescimento, amarelecimento dos meristemas e redução do sistema radicular, com as raízes secundárias uniformemente curtas e engrossadas (PERIM, 2014).

Recomenda-se a aplicação de diclosulam na dose de 25 a 35 g ha⁻¹ de ingrediente ativo, o que pode ser uma dosagem considerada baixa quando comparada com a de outros herbicidas (RODRIGUES & ALMEIDA, 1998). Dependendo das condições edafoclimáticas, o diclosulam pode apresentar meia-vida no solo de 60 a 90 dias (LAVORENTI *et al.*, 2003). Por esta razão, culturas subsequentes como milho, girassol e brássicas podem vir a ser afetadas pelo diclosulam (YODER *et al.*, 2000).

2.4 Espécies leguminosas na fitorremediação de solos contaminados com herbicidas

Diante dos efeitos negativos que podem surgir em decorrência da persistência de herbicidas no solo, a busca por técnicas de descontaminação destes é crescente a fim de possibilitar o plantio de espécies sensíveis aos mesmos de forma a proteger a cultura de sucessão de injúrias causada pelo herbicida (SOUZA, 2017).

A fitorremediação é uma alternativa eficiente de descontaminação do solo com o uso de plantas e comunidades microbianas associadas que degradam, removem, transformam ou imobilizam compostos orgânicos e inorgânicos (PIRES *et al.*, 2003). Além de apresentar a possibilidade de remediação *in situ* de contaminantes inorgânicos e orgânicos no solo e na água (SUSARLA *et al.*, 2002), a fitorremediação também é uma opção de baixo custo (NEWMAN *et al.*, 1998) e que pode apresentar benefícios quando utilizadas espécies despoluidoras como as leguminosas, por exemplo (PIRES *et al.*, 2006).

As plantas influenciam fortemente a comunidade microbiana do solo na região da rizosfera através da exsudação de compostos orgânicos, da modificação da atmosfera pelo consumo de O₂ e liberação de CO₂ e da absorção seletiva de minerais e água pelas raízes (SILVA, 2006; MONQUERO, 2006; PIRES *et al.*, 2005a). A presença e diversidade de populações microbianas no solo tem um alto potencial metabólico e respondem rapidamente a estresses ajustando sua atividade. Apesar de afetadas negativamente pela presença de herbicidas, algumas bactérias podem desenvolver resistência e se multiplicar mesmo na presença de contaminantes em elevadas concentrações (SILVA; MONQUERO, 2006).

As leguminosas são plantas importantes tanto em termos ecológicos como agrícolas por serem tolerantes a diferentes condições climáticas (ZAHARAN, 1999) que possuem

elevado potencial de fitorremediação devido à simbiose com microrganismos (KAWASAKI *et al.*, 2011). A interação das leguminosas com bactérias fixadoras de nitrogênio é favorável, pois aumenta o acúmulo de nitrogênio e matéria orgânica, equilibra a relação carbono/nitrogênio e aumenta a quantidade de microrganismos de rizosfera (GAGE, 2004).

A utilização de leguminosas no processo de fitorremediação teve um de seus primeiros relatos por Duvigneaud (1959) que observou a capacidade de hiperacumulação de metais pesados em plantas de *Crotalaria cobalticola*. Outros pesquisadores (WILD *et al.*, 1970; ZORNOZA *et al.*, 2002; ROSSI, 2007; LEFEVRE *et al.*, 2009) também demonstraram o potencial de fitorremediação de plantas leguminosas.

2.4.1 Crotalária

A crotalária (*Crotalaria spectabilis*), também conhecida como guizo-de-cascavel ou chocalho-de-cascavel, é uma leguminosa anual, ereta e de porte baixo que pode atingir até 1,5 m de altura. É muito usada na produção de biomassa vegetal para adubação verde. Esta espécie possui capacidade de produção superior a 6 toneladas de matéria seca por hectare, podendo ser incorporada ao solo ou disposta em cobertura visando a proteção deste (EMBRAPA, 2016).

Apresenta raiz pivotante, capaz de auxiliar na descompactação do solo. Também possui alto potencial de controle de nematoides parasitas do algodoeiro e de várias outras culturas dos sistemas de produção do cerrado, conforme dados de Inomoto e Asmus (2014).

A crotalária possui ainda uma alta capacidade de fixação biológica do nitrogênio da atmosfera, sendo indicada para incrementar a produtividade de culturas em sucessão e em rotação, além de ser considerada uma espécie “melhoradora” e “recuperadora” de solos (EMBRAPA, 2017).

2.4.2 Feijão-de-porco

O feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*), também conhecido por feijão-bravo ou fava-brava, é uma leguminosa anual, herbácea, de porte ereto e de hábito de crescimento determinado de 0,60 a 1,2m de altura. Essa espécie é muito usada na produção de biomassa vegetal para adubação verde. Tem capacidade de produzir mais de 5 toneladas de matéria seca por hectare. O crescimento inicial é rápido, apresentando controle eficiente de invasoras.

Adapta-se tanto aos solos argilosos quanto aos arenosos, sendo pouco exigente em condições de fertilidade dos solos (EMBRAPA, 2017).

Em consórcio, a leguminosa é plantada entre as linhas da cultura anual ou perene e, em rotação, antes ou após a cultura anual. A adubação verde é uma prática que visa melhorar as propriedades físicas, químicas e biológicas dos solos agrícolas e reduzir perdas de nutrientes por erosão, além de controlar a infestação de ervas daninhas, a lixiviação de nutrientes, as perdas de água e as flutuações de temperatura no solo, contribuindo para a recuperação de áreas degradadas (EMBRAPA, 2000).

2.4.3 Mucuna-preta

A mucuna-preta (*Stilozobium aterrimum* Piper & Tracy) é uma leguminosa anual, herbácea, de crescimento rasteiro e ramos trepadores, muito utilizada na produção de biomassa vegetal para adubação verde, com capacidade de produção superior a 6 toneladas de matéria seca por hectare (EMBRAPA, 2017). Essa espécie é eficiente quanto ao controle de espécies invasoras. É considerada ainda uma planta “melhoradora” de solos e tolerante à toxidez por alumínio (EMBRAPA, 2000).

No cerrado brasileiro, a espécie é bastante difundida devido a sua característica de espécie melhoradora além de desenvolver-se bem em condições de deficiência hídrica, não possuir reação fotoperiódica e suportar temperaturas elevadas, não tendo a produção de fitomassa comprometida por estes fatores (EMBRAPA, 2006).

A mucuna-preta adapta-se muito bem à associação com outras culturas, proporcionando cobertura viva e morta bastante eficiente ao solo, devido principalmente à quantidade elevada de fitomassa produzida, a sua velocidade de crescimento e a sua decomposição menos acentuada em relação a outras leguminosas (EMBRAPA, 2006).

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

O gênero de bactérias *Bradyrhizobium elkanii* é capaz de estabelecer simbiose e fixar nitrogênio com uma ampla gama de espécies leguminosas (ZILLI *et al.*, 2020). Este mesmo autor descreve ainda que cepas deste gênero estão frequentemente presentes em nódulos de leguminosas tropicais e subtropicais, e linhagens bem adaptadas a diversas condições edafoclimáticas podendo ser encontradas em diferentes biomas.

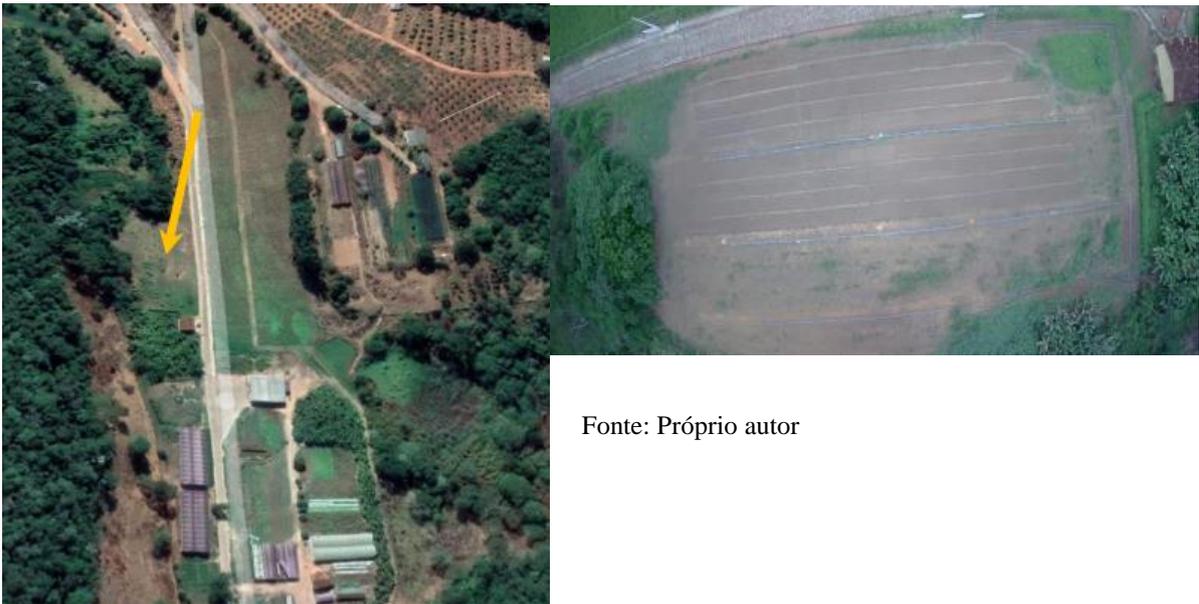
Ferlini (2006) constatou que a interação positiva entre as bactérias simbióticas do gênero *Bradyrhizobium* potencializa a nodulação e proporciona maior crescimento radicular, além de haver um efeito benéfico da associação que se deve em maior parte à capacidade que a bactéria tem de produzir fito-hormônios que determinam um maior desenvolvimento do sistema radicular, e, portanto, a possibilidade de explorar um volume mais amplo de solo.

A simbiose entre leguminosas e bactérias fixadoras de nitrogênio pode ser considerada uma vantagem quando utilizada em plantios de reabilitação de áreas degradadas (FRANCO *et al.*, 1992; FRANCO *et al.*, 1995; FRANCO & FARIA, 1997), mostrando potencial para uso em sistemas agroflorestais, para reabilitação de áreas degradadas e para ajudar a manutenção da sustentabilidade dos solos (HERRERA *et al.*, 1993; FRANCO & FARIA, 1997).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no setor de olericultura do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais, campus São João Evangelista – IFMG-SJE. O município de São João Evangelista, apresenta temperatura média anual de 20,1°C, precipitação pluviométrica média de 1.180 mm, e a altitude média de 692 m (SILVA, 2013). O experimento foi desenvolvido entre os meses de novembro de 2022 a janeiro de 2023.

Figura 2. Imagem de satélite do local e vista aérea da área experimental, respectivamente.



Fonte: Próprio autor

Fonte: Google Earth

3.1 Delineamento Experimental

O experimento 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 e plantas. Foi utilizado o arranjo com parcelas subdividas, sendo as parcelas os herbicidas e as subparcelas as combinações das espécies leguminosas. Foram utilizadas quatro repetições, totalizando 128 unidades experimentais.

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 inoculação das sementes. Para o fator 2, as combinações foram: combinação 1 - feijão de porco + crotalária + mucuna

(FP+CR+MU); combinação 2 - feijão de porco + crotalária (FP+CR); combinação 3 - feijão de porco + mucuna (FP+MU); combinação 4 - crotalária + mucuna (CR+MU); combinação 5 - ausência de plantas (AP); combinação 6 - feijão de porco (FP); combinação 7 - mucuna (MU); combinação 8 - crotalária (CR).

Figura 3. Croqui da área experimental

		Diclosulam								Sem herbicida							
Bloco 1	Inoculados	5	3	1	4	2	8	7	6	2	4	1	3	5	7	6	8
	Não Inoculados	5	3	1	4	2	8	7	6	2	4	1	3	5	7	6	8
		Diclosulam								Sem herbicida							
Bloco 2	Inoculados	5	3	2	4	1	7	8	6	1	3	2	4	5	6	8	7
	Não Inoculados	5	3	2	4	1	7	8	6	1	3	2	4	5	6	8	7
		Sem herbicida								Diclosulam							
Bloco 3	Inoculados	2	1	3	5	4	7	8	6	1	4	2	3	5	6	8	7
	Não Inoculados	2	1	3	5	4	7	8	6	1	4	2	3	5	6	8	7
		Sem herbicida								Diclosulam							
Bloco 4	Inoculados	3	5	2	1	4	7	8	6	5	1	2	3	4	8	7	6
	Não Inoculados	3	5	2	1	4	7	8	6	5	1	2	3	4	8	7	6

Fonte: Próprio autor

3.2 Preparo da Área

Para o preparo da área utilizada, primeiro fez-se uma roçada, seguida de aração e gradagem. Em seguida, com o auxílio do encanteirador, foram construídos 8 canteiros com 1,70 x 26,8 m, e espaçamento entre eles de 0,5 m (Figura 4). A análise do solo encontra-se na tabela 1.

Figura 4. Construção dos canteiros.

Fonte: Próprio autor

Tabela 1. Características físico-químicas do solo da área experimental (0-20)

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 pH 7,0 4. Índice de saturação de bases

Fonte: Próprio autor.

3.2.1 Divisão das Parcelas

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 BR 2003, e o outro sem inoculação.

Na parcela experimental foram demarcadas 8 subparcelas (referentes às 8 combinações de planta), e para cada uma, foi destinada uma área de 1,70 x 1,65 m (2,8 m²).

Figura 5. Demarcação das parcelas e subparcelas experimentais.



Fonte: Próprio autor

3.3 Inoculação

O inoculante utilizado foi de *Bradyrhizobium elkanii*, da cepa BR 2003 (SEMIA 6156) – adquirido da coleção de culturas da Embrapa Agrobiologia (Figura 6).

A inoculação ocorreu no mesmo dia da sementeira, segundo metodologia da EMPRAPA, que recomenda 50 g do inoculante para 10 kg sementes de mucuna, 50 g para 2 kg sementes de crotalária, e 50 g para 10 kg sementes de feijão de porco (Figura 7). Cada espécie foi inoculada separadamente.

Foi preparada uma solução açucarada a 10% (Figura 8), a qual foi utilizada para umedecer as sementes (Figura 9), de forma bem homogênea, para em seguida, aplicar a dose indicada do inoculante, misturando bem, de forma que todas as sementes ficassem envoltas pelo produto. Depois de misturar bem, as sementes foram espalhadas sobre folhas de papel limpas para que pudessem secar (Figura 10 e 11). Depois de secas, foram colocadas em sacos plásticos. A sementeira ocorreu cerca de 3 horas depois da inoculação.

Figura 6. Inoculante



Fonte: Próprio autor

Figura 7. Pesagem do inoculante *Bradyrhizobium elkanii*, da cepa BR 2003



Fonte: Próprio autor

Figura 8. Pesagem da solução açucarada.



Fonte: Próprio autor

Figura 9. Solução açucarada misturada às sementes de feijão de porco.



Fonte: Próprio autor

Figura 10. Sementes de feijão de porco espalhadas após inoculação.



Fonte: Próprio autor

Figura 11. Sementes de *Crotalaria spectabilis* espalhadas após inoculação.



Fonte: Próprio autor

3.4 Semeadura

As sementes das espécies leguminosas: crotalária (*Crotalaria spectabilis*), feijão de porco (*Canavalia ensiformis*) e mucuna-preta (*Mucuna pruriens*) foram adquiridas em casas especializadas. A sementeira foi feita à lanço no dia 04/11/2022, e seguiu a densidade recomendada pela EMBRAPA, de 100 kg ha⁻¹ de sementes de mucuna, 12 kg ha⁻¹ de sementes de crotalária, e 100 kg ha⁻¹ sementes de feijão de porco.

Figura 12. Semeadura



Fonte: Próprio autor

3.5 Aplicação do Herbicida

Foi aplicado o herbicida de nome comercial Spider 840 WG, que tem como princípio ativo o diclosulam, na dosagem de $41,7 \text{ g.ha}^{-1}$.

A calda foi preparada no dia 04/11/2022 (Figura 13), e a aplicação realizada no dia seguinte 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 14).

Figura 13. Preparo da calda.



Fonte: Próprio autor.

Figura 14. Aplicação do herbicida



Fonte: Próprio autor

3.6 Irrigação

Foi utilizado o sistema de irrigação por aspersão, realizada duas vezes ao dia, com lâmina diária de 5 mm (Figura 15).

Figura 15. Irrigação na área



Fonte: Próprio autor

3.7 Coleta de dados

3.7.1 Avaliações de fitotoxicidade

A toxicidade do herbicida nas espécies fitorremediadoras foi avaliada aos 15, 30, 45 e 60 DAS, atribuindo notas de 0 a 100, em que 0 representa ausência de sintomas e 100 a morte da planta. As avaliações foram feitas de acordo com a escala de ALAM (1974).

Tabela 2. Avaliação de fitotoxicidade de acordo com a escala de Alam (1974)

%	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

3.7.2 Coleta de plantas

Aos 60 DAS, após a realização da última avaliação, as plantas foram coletadas com o auxílio gabarito de 0,5 x 0,5 m (Figura 16). Assim, eram coletadas em cada unidade experimental, as plantas que estivessem dentro da área demarcada por ele. As plantas coletadas foram cortadas e levadas para estufa a temperatura de 65°C, até atingir peso constante, para posterior determinação de massa seca.

Figura 16. Gabarito utilizado para coleta



Fonte: Próprio autor

Os resultados seguiram normalidade e homogeneidade de variâncias e não necessitaram de transformação segundo BANZATTO & KRONKA (2006). Foi realizada a análise de variância, e as médias, quando significativas, agrupadas segundo o teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

4 RESULTADO E DISCUSSÃO

Em relação à intoxicação das plantas fitorremediadoras foi observado diferença significativa para os níveis de substrato, combinações de plantas e tempo, assim como para a interação entre os níveis de substrato e as combinações de plantas e para a interação entre os níveis de substrato e o tempo ($p > 0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3. Resumo da análise de variância (ANOVA) com os dados dos atributos avaliados para sintomas de intoxicação de plantas

FV	GL	QM
Bloco	3	216,84**
Níveis de substrato	3	1238,13**
Combinação (Comb.) de plantas	7	160,44**
Tempo	3	74,19**
Níveis x Comb.	21	58,55**
Níveis x Tempo	9	27,19**
Comb. x Tempo	21	4,97 ^{ns}
Níveis x Comb. x Tempo	63	2,30 ^{ns}
Total	130	
CV(%)		105,08

CV = coeficiente de variação; ^{ns} não-significativo; * significativo a 5 %; **significativo a 1%

Fonte: Próprio autor

A Tabela 4 apresenta as médias de intoxicação para as leguminosas estabelecidas em área com resíduos do herbicida diclosulam. Nota-se que as plantas não tiveram seu desenvolvimento prejudicado nos níveis 3 e 4, já que estes correspondem às parcelas sem a presença do herbicida diclosulam (ausência do herbicida com inoculação e ausência do herbicida sem inoculação, respectivamente). Os níveis 1 e 2 (diclosulam com inoculação e diclosulam sem inoculação, respectivamente) apresentaram diferenças significativas comparadas às parcelas sem herbicida.

Em experimento realizado por Brighenti *et al.* (2002) foi constatado que o diclosulam causa redução total do estande de girassol aos 75 e 90 dias após a sua aplicação. Segundo a Embrapa (1999), recomenda-se um período mínimo de dezoito meses entre a aplicação do diclosulam e a semeadura do girassol em sucessão. Foi observado ainda por Dan *et al.* (2010) que folhas de plantas de sorgo cultivado em áreas de aplicação de diclosulam apresentaram clorose internerval que evoluíram para pequenas manchas na forma de estrias evidentes aos 28 dias após a semeadura e redução no peso das plantas avaliadas aos 30 dias após a semeadura.

O efeito negativo do herbicida diclosulam foi observado por Silva (2019) em plantas de *Avena sativa* L., *Canavalia ensiformes* L., *Crotalaria ochroleuca* L., *Mucuna aterrima* L., *Panicum maximum* L., *Pennisetum glaucum* L., *Raphanus sativus* L. e *Urochloa decumbens* L. e na ausência do herbicida não tiveram seu desenvolvimento comprometido (SILVA, 2019).

Tabela 4. Intoxicação de espécies com potencial de fitorremediação em solo contendo resíduos do herbicida diclosulam (em %).

Nível	Média
4	0 A
3	0,02 A
2	5,07 B
1	5,68 B

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

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 sem inoculação das sementes.

Fonte: Próprio autor

Avaliação de fitotoxicidade realizada de forma isolada nas combinações das plantas demonstrou que o feijão-de-porco em cultivo isolado apresentou maior valor quando comparado às demais combinações (Tabela 5). A combinação 4 (CR+MU) mostrou baixos índices de intoxicação, assim como a mucuna em cultivo isolado (comb 7), evidenciando que estas combinações possuem maior potencial de fitorremediação (Tabela 5).

Tabela 5. Intoxicação da combinação de espécies com potencial de fitorremediação em solo contendo resíduos do herbicida diclosulam (em %).

Combinação	Média
5	0 A
8	1,03 AB
4	2,36 BC
7	2,66 C
1	3,05 C
2	2,72 CD
3	3,77 CD

6

4,94 D

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

Combinação 1 - feijão de porco + crotalária + mucuna (FP+CR+MU); combinação 2 - feijão de porco + crotalária (FP+CR); combinação 3 - feijão de porco + mucuna (FP+MU); combinação 4 - crotalária + mucuna (CR+MU); combinação 5 - ausência de plantas (AP); combinação 6 - feijão de porco (FP); combinação 7 - mucuna (MU); combinação 8 - crotalária (CR).

Fonte: Próprio autor

O fator tempo atuou significativamente sobre os tratamentos, sendo que, os sintomas de intoxicação puderam ser melhor observados após 30 dias de plantio, se mantendo constantes nas avaliações subsequentes (Tabela 6).

Tabela 6. Intoxicação de espécies com potencial de fitorremediação em solo contendo resíduos do herbicida diclosulam avaliada até os 60 dias após a semeadura (em %).

Tempo	Média
15 DAS	1,55 A
30 DAS	3,07 B
45 DAS	3,08 B
60 DAS	3,08 B

Fonte: Próprio autor

A interação entre as combinações de plantas e os níveis de substrato mostrou que as plantas em combinação obtiveram índices de intoxicação menores do que quando em cultivo isolado, e que o feijão-de-porco em cultivo isolado (combinação 6) apresentou as maiores médias (Tabela 7).

Nota-se ainda que a crotalária (combinação 8) e a mucuna (combinação 7) apresentaram as menores médias de sintomas de fitotoxicidade dentre as leguminosas em cultivo isolado e, dentre as plantas em combinação, a menor média quando combinadas entre si (combinação 4) (Tabela 7).

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

Combinações	Níveis de substrato			
	1	2	3	4
1	5,79 aCD	6,35 aCD	0,06 bA	0 bA
2	8,22 aD	6,60 aCD	0,06 bA	0 bA
3	7,58 aD	7,45 aCD	0,06 bA	0 bA
4	4,52 aBC	4,95 aBC	0 bA	0 bA
5	0 aA	0 aA	0 aA	0 aA
6	11,70 aE	8,08 bD	0 cA	0 cA
7	5,81 aCD	4,85 aBC	0 bA	0 bA
8	1,83 aAB	2,31 aAB	0 aA	0 aA

Médias seguidas por letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. 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 sem inoculação das sementes. Combinação 1 - feijão de porco + crotalária + mucuna (FP+CR+MU); combinação 2 - feijão de porco + crotalária (FP+CR); combinação 3 - feijão de porco + mucuna (FP+MU); combinação 4 - crotalária + mucuna (CR+MU); combinação 5 - ausência de plantas (AP); combinação 6 - feijão de porco (FP); combinação 7 - mucuna (MU); combinação 8 - crotalária (CR).

Fonte: Próprio autor

Na tabela 8 pode-se observar que os níveis de substrato sofreram interferência do fator tempo após 30 dias de plantio e se mantiveram estatisticamente iguais até a última avaliação. Percebe-se ainda que o nível de intoxicação dos níveis 1 e 2 permaneceram iguais em cada avaliação durante o experimento, assim como os níveis 3 e 4 (Tabela 8).

Andrade (2019) avaliou a eficiência de herbicidas pré-emergentes no controle de plantas daninhas, bem como o efeito residual dos herbicidas por meio da avaliação de sintomas de fitotoxicidade em milho cultivado em sucessão, dentre esses herbicidas, o diclosulam, que apresentou maior média de controle na segunda avaliação realizada (aos 30 DAS), permanecendo constante nas avaliações seguintes, assim como os resultados neste trabalho apresentados (Tabela 8).

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

Tempo (em dias)	Níveis de substrato			
	1	2	3	4
15	3,09 aA	3,03 aA	0,09 bA	0 bA
30	6,39 aB	5,88 aB	0 bA	0 bA
45	6,62 aB	5,69 aB	0 bA	0 bA
60	6,62 aB	5,69 aB	0 bA	0 bA

Médias seguidas por letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. 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 sem inoculação das sementes.

Fonte: Próprio autor

A produção de massa seca apresentou diferença significativa em relação aos níveis de substrato ($p > 0,05$) e combinações de plantas ($p > 0,01$) e não significativo para a interação entre estes fatores ($p > 0,05$) (Tabela 9).

Tabela 9. 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	105647,82**
Níveis	3	21207,90*
Comb	7	89566,94**

Níveis x Comb	21	11311,45 ^{ns}
Total	34	
CV (%)		47,78

CV = coeficiente de variação; ^{ns} não-significativo; * significativo a 5 %; **significativo a 1%

Fonte: Próprio autor

Gualter *et al* (2007) avaliaram os efeitos da inoculação do rizóbio (*Bradyrhizobium elkanii*), estirpe BR-3262 sobre a massa seca de feijão-caupi e não observaram influência significativa da inoculação sobre a massa seca da leguminosa.

Em estudo feito por Mangaravite *et al* (2014), avaliou-se a produção de fitomassa e o acúmulo de nutrientes na parte aérea de adubos verdes de verão de feijão-de-porco, guandu-anão, mucuna-anã e crotalária, sob efeito da inoculação com bactérias fixadoras de nitrogênio, constatando, que o efeito dos inoculantes não foi significativo sobre a produção de fitomassa de parte aérea, corroborando para os resultados obtidos no presente trabalho em que a produção de massa seca foi reduzida em 38% para as plantas submetidas ao substrato 1 em comparação ao substrato 4 (Tabela 10). Sendo assim, a presença da bactéria fixadora de nitrogênio não incrementou o crescimento das plantas, uma vez que, nos níveis 2 e 4, sem a presença da mesma, a produção de massa seca foi maior que nos níveis 1 e 3 para os mesmos tratamentos, onde a bactéria fixadora estava presente.

Tabela 10. Produção de massa seca de espécies com potencial de fitorremediação cultivadas em solo com resíduos de herbicida diclosulam (em g).

Nível	Média
1	159,72 A
3	181,18 AB
2	193,76 AB
4	221,35 B

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

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 sem inoculação das sementes.

Fonte: Próprio autor

Com relação às combinações de plantas, as maiores médias de massa seca de parte aérea foram obtidas nas parcelas com as leguminosas combinadas, assim como, as menores médias foram apresentadas nas plantas em cultivo isolado (Tabela 11).

Nota-se ainda que, a crotalária em cultivo isolado (comb 8) apresentou o menor índice de massa seca de parte aérea (Tabela 11). Resultados semelhantes foram obtidos por Costa Adriano (2017), observou que a produção da biomassa da parte aérea da crotalária foi prejudicada pela aplicação de glyphosate + diclosulam e a mesma não foi influenciada quando

tratada apenas com o herbicida glyphosate, evidenciando que o herbicida diclosulam causa injúrias à leguminosa.

A combinação 5, refere-se ao tratamento sem a presença de planta, este, apresentou juntamente com o tratamento 8 a menor produção de massa seca, o que indica que, de maneira geral, o herbicida controlou a incidência de plantas daninhas e prejudicou o crescimento da crotalária. A mucuna (combinação 7), quando comparada com o feijão-de-porco e crotalária em cultivo isolado, apresentou maior produção de massa seca, com isso, apresenta maior potencial para fitorremediar o diclosulam, apresentando bom crescimento e maior acúmulo de biomassa seca mesmo na presença do herbicida.

A combinação 4, consórcio de crotalária e mucuna, apresentou produção 66% superior ao cultivo isolado de crotalária e 26% superior ao cultivo isolado de mucuna. Todavia, apesar do baixo acúmulo de massa seca de parte aérea obtido pela crotalária em cultivo isolado, esta em combinação com a mucuna apresentou os maiores resultados de massa seca de parte aérea e menores médias de sintomas de fitotoxicidade, evidenciando que esta combinação de plantas possui potencial de fitorremediação do diclosulam. Além disso, plantas em combinação acrescentam inúmeros benefícios no que diz respeito à conservação de solo e água, cabendo ao produtor realizar uma avaliação dos aspectos positivos que a combinação das plantas pode apresentar, juntamente com uma análise financeira sobre a possibilidade de aquisição das mesmas, a fim de decidir se convém ou não o acréscimo de mais plantas ao cultivo.

Braz *et al* (2015) e Dias *et al* (2017) também constataram em seus experimentos a diminuição dos índices de massa seca de parte aérea da crotalária na presença do herbicida diclosulam.

Souza (2017) avaliou o potencial das leguminosas feijão-de-porco, crotalária e outras espécies de fitorremediar o herbicida diclosulam, constatando que, dentre as espécies, a crotalária obteve o menor acúmulo de biomassa.

Em estudo realizado por Toso *et al* (2018) com mucuna-preta, crotalária, feijão-de-porco, feijão-guandu, braquiária, milheto, capim-sudão e um tratamento sem cultivo para avaliar a tolerância de espécies vegetais de verão após a aplicação de diclosulam em pré-emergência, foi demonstrado que a mucuna-preta apresentou apenas 25% de perda de área foliar, sendo este o menor dentre as espécies avaliadas, mostrando-se eficiente na tolerância ao herbicida diclosulam.

Monquero *et al* (2013), também evidenciaram em seus estudos maiores acúmulos de massa seca de parte aérea em mucuna estabelecida em solo contendo resíduos de diclosulam, mostrando que esta possui grande tolerância ao herbicida.

Em trabalho realizado por Silva (2019) foi avaliado o potencial de fitorremediação de mucuna, feijão-de-porco, crotalária e outras espécies vegetais ao herbicida diclosulam. Em seus resultados, Silva (2019) obteve que a presença do herbicida diclosulam no solo diminuiu a produção de massa seca para todas as espécies avaliadas, exceto para a mucuna.

Tabela 11. Produção de massa seca para as espécies leguminosas submetidas a cultivo em comunidade e isoladas, em solo contendo resíduo de herbicida diclosulam (em g).

Combinação	Média
8	88,28 A
5	99,29 AB
6	126,26 ABC
7	193,07 BCD
2	218,36 CD
1	257,47 D
4	259,83 D
3	269,45 D

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

Combinação 1 - feijão de porco + crotalária + mucuna (FP+CR+MU); combinação 2 - feijão de porco + crotalária (FP+CR); combinação 3 - feijão de porco + mucuna (FP+MU); combinação 4 - crotalária + mucuna (CR+MU); combinação 5 - ausência de plantas (AP); combinação 6 - feijão de porco (FP); combinação 7 - mucuna (MU); combinação 8 - crotalária (CR).

Fonte: Próprio autor

Ao compararmos os níveis de substrato, dentro de todas as combinações, notamos que estatisticamente não há diferença de produção de massa seca entre eles, fato positivo, pois mostra que as plantas que estiveram em contato com o diclosulam desenvolveram de forma semelhante das que não estiveram na presença do herbicida (Tabela 12).

Nas parcelas tratadas com diclosulam (níveis de substrato 1 e 2) a crotalária em cultivo isolado obteve os menores valores de massa seca de parte aérea, apresentando baixa tolerância ao herbicida. No nível de substrato 3, mesmo sem a presença do herbicida, a crotalária ainda apresentou a menor média de massa seca de parte aérea quando comparada com as outras combinações, mas ainda assim, maior do que nos tratamentos com diclosulam. Já no nível de substrato 4, a crotalária apresentou média semelhante às outras combinações e maior do que nos outros níveis de substrato (Tabela 12).

Os resultados obtidos neste trabalho são semelhantes a outros trabalhos (SILVA *et al.*; BARREIROS *et al.*; 2014; 2017) em que os níveis de massa seca de parte aérea da crotalária também não apresentaram diferença significativa à inoculação das sementes com

Bradyrhizobium sp. quando comparados a parcelas não inoculadas. Deuber e Novo (2006) estudaram o efeito dos herbicidas diclosulam e flumetsulam na nodulação e no desenvolvimento de plantas de soja IAC-19 inoculadas com as estirpes recomendadas de *Bradyrhizobium japonicum*, obtendo que a inoculação das sementes não atuou no que diz respeito à massa seca de parte aérea das plantas, sendo estas estatisticamente iguais às plantas sem inoculação.

Tabela 12. Produção de massa seca de espécies leguminosas fitorremediadoras em função dos níveis de substrato com presença e ausência do herbicida diclosulam e com a inoculação e não inoculação da sementes com *Bradyrhizobium elkanii*, da cepa BR 2003 (em g).

Combinações	Níveis de substrato			
	1	2	3	4
1	264,63 aB	226,40 aABCD	244,41 aAB	294,43 aAB
2	182,17 aAB	244,43 aCD	193,71 aAB	253,14 aAB
3	262,09 abB	371,16 bD	158,67 aAB	285,90 abAB
4	221,44 aB	235,78 aBCD	282,28 aB	299,83 aB
5	86,84 aAB	42,82 aAB	167,63 aAB	99,86 aA
6	112,29 aAB	159,21 aABC	117,44 aAB	116,09 aAB
7	128,34 aAB	235,03 aBCD	211,17 aAB	197,77 aAB
8	19,94 aA	35,26 aA	74,11 abA	223,83 bAB

Médias seguidas por letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. 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 sem inoculação das sementes. Combinação 1 - feijão de porco + crotalária + mucuna (FP+CR+MU); combinação 2 - feijão de porco + crotalária (FP+CR); combinação 3 - feijão de porco + mucuna (FP+MU); combinação 4 - crotalária + mucuna (CR+MU); combinação 5 - ausência de plantas (AP); combinação 6 - feijão de porco (FP); combinação 7 - mucuna (MU); combinação 8 - crotalária (CR).

Fonte: Próprio autor

5 CONCLUSÃO

A inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio não potencializou sobre a fitorremediação.

Dentre as leguminosas estudadas, a mucuna-preta apresenta maior potencial de fitorremediação do herbicida diclosulam.

REFERÊNCIAS

- ALVES, C. *et al.* **Seleção de espécies com potencial para fitorremediação de solo contaminado com herbicidas inibidores da PROTOX**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental). Universidade Federal da Fronteira Sul, Erechim.
- ANDRADE, Danillo Neiva de. **Alternativas herbicidas para o controle em pré-emergência de capim amargoso**. 2019. Dissertação (Mestrado). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, GO.
- ASOCIATION LATINO AMERICANA DE MALEZAS ALAM. **Recomendaciones sobre unificación de los sistemas de evaluación em ensayos de control de malezas**. ALAM, v. 1, p. 35-38, 1974.
- BANZATTO, D.A., KRONKA, S.N. **Experimentação agrícola**. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 237p.
- BARREIROS, B. R. *et al.* Resposta de crotalaria a estirpes fixadoras de nitrogênio. XXI Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, XVII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação e VII Encontro de Iniciação à Docência. Universidade do Vale do Paraíba, 2017.
- BRAZ, G. B. P. *et al.* Selection of herbicides targeting the use in crop systems cultivated with showy crotalaria. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 33, n. 3, p. 521-534, 2015.
- BRIGHENTI, A.M. *et al.* Persistência e fitotoxicidade de herbicidas aplicados na soja sobre o girassol em sucessão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.4, p.559-565, 2002.
- CARVALHO, Leonardo Bianco de. **Herbicidas**. Editado pelo autor, Lages - SC, v.1, p. 45, 2013.
- COOPER, J.; HANS, D. The benefits of pesticides to mankind and the environment. **Science Direct**, 2007. Disponível em <[https://www.scrip.org/\(S\(351jmbntvnsjt1aadkposzje\)\)/journal/paperinformation.aspx?paperid=63091](https://www.scrip.org/(S(351jmbntvnsjt1aadkposzje))/journal/paperinformation.aspx?paperid=63091)>. Acesso em: 25 jan 2023.
- COSTA ADRIANO, F. **Seletividade de herbicidas de pré-semeadura em espécies de crotalaria**. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal de Goiás, Jataí, 2017.
- DAN, H.A. *et al.* Residual activity of herbicides used in soybean on grain sorghum crop succession. **Planta Daninha**, v.28, n.spe., p.1087-1095, 2010.
- DIAS, R. C. *et al.* Seletividade inicial de herbicidas aplicados em pós-emergência da crotalaria. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.16, n.1, p.76-83, jan./mar. 2017.
- DEUBER, R; NOVO, M. C. S. S. **Nodulação e desenvolvimento de plantas de soja IAC-19 com aplicação dos herbicidas Diclosulam e Flumetsulam**. Revista Brasileira de Herbicidas, Passo Fundo - RS, No 2, p. 57 – 63, 2006.

DUVIGNEAUD, P. Plant cobaltophytes in Upper Katanga (inf Fr.). **Bull. Soc. R. Bot. Belg.** 91: 111- 134, 1959.

EMBRAPA. **Adubação com mucuna preta em solos de Cerrados.** Embrapa Cerrados, Vargem Grande do Sul – SP, 2006.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Londrina, PR). **Recomendações técnicas para a cultura da soja na região central do Brasil 1999/2000.** Londrina: EMBRAPA, 1999. 226p.

FERLINI, H. A. Co-Inoculación en Soja (*Glycine max*) con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense*. **Artículos Técnicos – Agricultura.** 2006.

FRANCO, A. A.; DIAS, L. E.; FARIA, S. M. Uso de leguminosas florestais noduladas e micorrizadas como agentes de recuperação e manutenção da vida do solo: um modelo tecnológico. In: SIMPÓSIO SOBRE ESTRUTURA, FUNCIONAMENTO E MANEJO DE ECOSISTEMAS, 1992, Rio de Janeiro. **Resumos...** Rio de Janeiro: UFRJ - Inst. de Biologia, 1992. p. 93.

FRANCO, A. A., CAMPELLO, E. F. C., DIAS, L. E., FARIA, S. M. Revegetation of acidic residues from bauxite mining using nodulated and mycorrhizal legume trees. **Nitrogen Fixing Trees for Acid Soils**, Ed: Evans, D. O. & Szott, L. T., p.313-320, 1995.

FRANCO, A. A.; FARIA, S. M. The contribution of N₂-fixing tree legumes to land reclamation and sustainability in the tropics. **Soil Biology Biochemistry**, v. 29, n. 5/6, p. 897-903, 1997.

GAGE, D. J.. Infection and invasion of roots by symbiotic, nitrogen-fixing rhizobia during nodulation of temperate legumes. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.68, n.2, p.280-300, 2004.

GERWICK, B.C. *et al.* Mechanism of Action of the 1,2,4- Triazolo [1,5-a] pyrimidines. **Pestic. Sci.**, v. 29, n. 3, p.357-364, 1990.

HERRERA, M. A.; SALAMANCA, C. P.; BAREA, J. M. Inoculation of woody legumes with selected arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia to recover desertified mediterranean ecosystems. **Applied Environmental Microbiology**, v. 59, n. 1, p. 129-133, 1993.

GUALTER, R. M. R.*et al.* AVALIAÇÃO DO EFEITO DA INOCULAÇÃO DE FEIJÃO-CAUPI (*Vigna unguiculata* [L.]Walp) com *bradyrhizobium elkanii*. **Rev. Bras. de Agroecologia**, v.2, n.2, 2007.

HERRERA, M.A.; SALAMANCA, C.P.; BAREA, J.M. Inoculation of woody legumes with selected arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia to recover desertified Mediterranean ecosystem. **Applied and Environmental Microbiology**, v.59, n.1, p.129-133, 1993.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **IBGE**, c2021. LSPA: Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistemico-da-producao-agricola.html?=&t=resultados>>. Acesso em: 25 jan 2023.

KAWASAKI, A.; WATSON, E. R.; KERTESZ, M. A.. Indirect effects of polycyclic aromatic hydrocarbon contamination on microbial communities in legume and grass rhizospheres. **Plant soil**, v.358, n.1, p.169-182, 2011.

KLESCHICK, W.A. *et al.* New Herbicidal Derivatives of 1,2,4 Triazolo [1,5-a] pyrimidine. **Pestic. Sci.**, v. 29, n. 3, p.341- 355, 1990.

LAVORENTI, A.; ROCHA, A. A.; PRATA, F.; REGITANO, J. B.; TORNISIELO, V. L.; PINTO, O. B. Comportamento do diclosulam em amostras de um latossolo vermelho distroférico sob plantio direto e convencional. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.27, n.1, p.183-190, 2003.

LEFEVRE, I., *et al.* Variation in response to heavy metals during vegetative growth in *Dorycnium pentaphyllum* Scop. **Plant Growth Regulation** 59: 1-11, 2009.

MANGARAVITE, J. C. S. *et al.* Phytomass production and nutrient accumulation by green manure species. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 61, n.5, p. 732-739, set/out, 2014.

MANCUSO, Mauricio Antonio Cuzato; NEGRISOLI, Eduardo; PERIM, Lucas. Efeito residual de herbicidas no solo (“Carryover”). **Revista Brasileira de Herbicidas**, [S.l.], v. 10, n. 2, p. 151-164, ago. 2011. ISSN 2236-1065. Disponível em: <<http://rbherbicidas.com.br/index.php/rbh/article/view/106>>. Acesso em: 11 jan. 2023.

MONQUERO, P.A. *et al.*. Seleção de espécies de adubos verdes visando à fitorremediação de diclosulam. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 31, n. 1, p. 127-135, 2013.

NEWMAN, L.A. *et al.* Phytoremediation of organic contaminants: A review of phytoremediation research at the University of Washington. **Journal of Soil Contamination**, v.7, n.4, p.531-542, 1998.

OLIVEIRA, M.F.; BRIGHENTI, A.M. Comportamento de herbicida no ambiente. In: OLIVEIRA JR., R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. (Ed.). **Biologia e Manejo de plantas daninhas**. Curitiba, PR: Omnipax, 2011. p.141-192.

OLIVEIRA JR, R.S.; REGITANO, J. B. Dinâmica de Pesticidas no Solo. In: Vander Freitas Melo; Luís Reynaldo Ferraciú Alleoni. (Org.). **Química e Mineralogia do Solo: Parte II - Aplicações**. 1ed. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2009, v. 2, p. 187-248.

PACHECO, L. C. P. S. **Atividade de herbicidas pré-emergentes em solos do cerrado, na presença e ausência de resíduos orgânicos**. Dissertação (Doutorado em Agronomia, área de concentração: Solo e Água). Universidade Federal de Goiás, Goiânia - GO, 2017.

PERES, F.; MOREIRA, Josino C.; DUBOIS, G. S. **Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma introdução ao tema. É veneno ou é remédio?: agrotóxicos, saúde e ambiente** [online]. Rio de Janeiro: ed Fiocruz, 2003. Disponível em: <<http://books.scielo.org/id/sg3mt/pdf/peres-9788575413173-03.pdf>>. Acesso em: 25 jan 2023.

PERIM, L. **Dinâmica, eficácia e seletividade do diclosulam em condições de cana crua**. Tese (doutorado). Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP, Botucatu – SP. 2014.

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

PIRES, F. R. *et al.* Fitorremediação de solos contaminados por tebuthiuron utilizando-se espécies cultivadas para adubação verde. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 23, n. 4, p. 711-717, 2005a.

PIRES, F.R. *et al.* Adubos verdes na fitorremediação de solos contaminados com o herbicida tebuthiuron. **Caatinga**, v. 19, n. 1, p. 92-97, 2006.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**.5ª ed. Londrina: Grafmarke, 2005.

ROMAN, E. *et al.* **Como funcionam os herbicidas da biologia à aplicação**. Passo Fundo: Gráfica Editora Berthier, 2005. 152p.

ROSSI, S.C. **Fisiologia de leguminosas com potencial fitoextrator para o metal pesado cádmio**. **Dissertação** - Instituto Agrônomo de Campinas IAC - Campinas: p.72, 2007.

SALOMÃO, P.; FERRO, A.; RUAS, W. Herbicides in Brazil: a brief review. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 2, p. 22, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i2.1990>>. Acesso em: 25 jan 2023.

SANTOS, M. S. Uso de herbicidas pré-emergentes no controle de plantas daninhas em milho. **Equipe Mais Soja**, 2022. Disponível em: <<https://maissoja.com.br/uso-de-herbicidas-pre-emergentes-no-controle-de-plantas-daninhas-em-milho/>>. Acesso em: 20 fev 2023.

SENSEMAN, S.A. **Herbicide handbook**. Weed Science Society of America, 2007.

SILVA, A. C.; MONQUERO, P. A. Fitorremediação de herbicidas. **Pesquisa & Tecnologia**, Campinas, v. 3, n. 1, 2006. Disponível em: http://www.aptaregional.sp.gov.br/acesse-os-artigos-pesquisa-e-tecnologia/edicao2006/2006-janeiro-junho/201-fitorremediacao-de-herbicidas/file.html?force_download=1

SILVA, Cícero Teixeira. **Potencial fitorremediador de plantas de cobertura e produção de bioetanol**. Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal). Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - Diamantina, 2019.

SILVA, L. R. *et al.* Eficiência da associação simbiótica de *bradyrhizobium* para o crescimento de crotalária (*crotalaria juncea*). **Revista Fafibe On-Line**, Bebedouro SP, 7 (1): 61-74, 2014.

SIMÕES, J. A. S. *et al.* Ocupação nodular por estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio em plantas de soja submetidas à herbicidas em pré-semeadura. **XXXII Congresso Brasileiro de Plantas Daninhas**. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica – RJ, 2021.

SOUZA, Camila da Costa Barros. **Fitorremediação de Solos com Resíduo do Herbicida Diclosulam**. **Dissertação (Mestrado)**. Universidade Federal Rural Do Rio De Janeiro, Seropédica – RJ, 2017.

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

TOSO, J. O. *et al.* Tolerância de espécies vegetais de verão ao diclosulam. **Anais do SEPE – Seminário de Ensino, Pesquisa e Extensão**. v. 8, 2018.

TRUU, J.; TRUU, M.; ESPENBERG, M.; NÕLVAK, H.; JUHANSON, J.. Phytoremediation and plant-assisted bioremediation in soil and treatment wetlands: a review. **The Open Biotechnology Journal**, v.9, n.1, p.85-92, 2015.

ULBRICH A. V. *et al.* Efeito residual dos herbicidas imazaquin e imazethapyr, aplicados na soja, sobre o milho safrinha. **Planta Daninha**, v. 16, n. 2, 1998.

WILD, H. The vegetation of nickel-bearing soils. **Kirkia** 7 (Suppl.): p.11-62, 1970.

YODER, R.N.; HUSKIN, M. A.; KENNARD, L. M.; ZABIK, J. M. Aerobic metabolism of diclosulam on U.S. and South American soils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, n.3, p.4335-4340, 2000.

ZAHRAN, H. H.. Rhizobium-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. **Microbiology and Molecular Biology**, v.63, p.968-989, 1999.

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**, v. 9, n.11, 2020.

ZORNOZA, P., *et al.*, R. Cadmium-stress in nodulated white lupin: strategies to avoid toxicity. **Plant Physiology and Biochemistry** 40: 1003-1009, 2002.