

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

Persistência e biorremediação do herbicida indaziflam em solos

Maria Carolina Gomes Paiva
Doctor Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

MARIA CAROLINA GOMES PAIVA

Persistência e biorremediação do herbicida indaziflam em solos

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Francisco C. L. de Freitas

Coorientadores: Mauricio Dutra Costa
Ricardo A. de La Cruz
Mariana B. T. Diniz
Paulo Roberto Cecon

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

Paiva, Maria Carolina Gomes, 1994-
P149p Persistência e biorremediação do herbicida indaziflam em
2025 solos / Maria Carolina Gomes Paiva. – Viçosa, MG, 2025.
1 tese eletrônica (114 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Francisco Cláudio Lopes de Freitas.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Agronomia, 2025.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.387>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Herbicidas - Toxicologia. 2. Herbicidas - Biodegradação.
3. Biorremediação. 4. Plantas - Efeito dos herbicidas. 5. Solos -
Teor de pesticidas. 6. Cana-de-açúcar. 7. Soja. 8. Amendoim.
I. Freitas, Francisco Cláudio Lopes de, 1968-. II. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Agronomia. Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia. III. Título.

CDD 22. ed. 632.954

MARIA CAROLINA GOMES PAIVA

Persistência e biorremediação do herbicida indaziflam em solos

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 15 de abril de 2025.

Assentimento:

Maria Carolina Gomes Paiva
Autora

Francisco Claudio Lopes de Freitas
Orientador

Essa tese foi assinada digitalmente pela autora em 04/06/2025 às 08:04:07 e pelo orientador em 04/06/2025 às 09:43:48. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **T71U.8R1T.P9T8** e clique no botão 'Validar documento'.

A Deus, a minha mãe Célia, ao meu pai Geraldo e a minha avó Efigênia (*in
memoriam*)
Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo que superei na vida, por me abençoar muito mais do que eu mereço e por Seus planos serem maiores do que os meus sonhos.

À Nossa Senhora Aparecida, por nunca ter me abandonado, sempre iluminando o meu caminho.

Ao meu pai Geraldo, pelo apoio, pelo carinho e pelo amor ao longo dessa caminhada.

A minha mãe Célia, pelo apoio, pelo carinho, pelo amor e por ser a minha melhor amiga.

Ao Geraldo Sena, por todo apoio e pelo carinho.

A minha avó Efigênia (*in memoriam*), pelo incentivo, pelo carinho e por ser meu exemplo de amor. Sei que a senhora está vibrando com essa conquista! Bença vó!

Ao meu tio Toninho (*in memoriam*), por todo amor e pelo incentivo.

Ao Reginaldo Pires, pelo excelente trabalho, pela dedicação, pela paciência, pelo apoio e pelo carinho.

Ao professor e orientador Francisco Cláudio Lopes de Freitas, pelo suporte, pelo apoio, pela amizade, pela dedicação e pela orientação.

Aos coorientadores, Mauricio Dutra Costa, Ricardo Alcántara-de la Cruz, Paulo Roberto Cecon e Mariana Beatriz Teixeira Diniz pela paciência, pela dedicação e pela contribuição.

Aos amigos, Wendel, Rodrigo, Luís, Vicente, Elisa, Dilma, Maura, Laryssa, Guilherme, Valter, Ana Paula, Alessandro, Danny, Artur Simão, Lucas, Marcos e Daniel pelo carinho e pelo apoio na execução dos experimentos.

A minha irmã do coração Sara, pelo apoio nos momentos difíceis.

Aos professores e a toda equipe do Manejo Integrado de Plantas Daninhas, pela dedicação, pelos conhecimentos compartilhados e pela paciência.

A toda equipe do Laboratório de Ecologia Microbiana (LEM), pela ajuda na execução dos experimentos.

Aos funcionários da UEPE aeroporto e da UEPE vale da agronomia, Beto, Caruncho, Adão, Cleyssinho, Russo, Douglas, Laurindo, Marllon e Julinho, pela ajuda na execução dos trabalhos e pela amizade.

A Universidade Federal de Viçosa, ao Departamento de Agronomia e ao Programa de Pós-graduação em Fitotecnia por todo o apoio, pela estrutura e pela oportunidade de cursar o doutorado.

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Enfim, a todos que contribuíram para a realização deste sonho o meu MUITO OBRIGADA! O sentimento que sempre irei carregar comigo é o de GRATIDÃO.

*"Eu posso ir muito além de onde estou
Vou nas asas do Senhor
O Teu amor é o que me conduz
Posso voar e subir sem me cansar
Ir pra frente sem me fatigar
Vou com asas, como águia
Pois confio no Senhor!"
(Celina Borges)*

RESUMO

PAIVA, Maria Carolina Gomes, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2025. **Persistência e biorremediação do herbicida indaziflam em solos.** Orientador: Francisco Claudio Lopes de Freitas. Coorientadores: Mauricio Dutra Costa, Ricardo Alcantara de La Cruz, Mariana Beatriz Teixeira Diniz e Paulo Roberto Cecon.

O uso de herbicidas com período residual prolongado, a exemplo do indaziflam, pode favorecer o controle de plantas daninhas em culturas com taxa de crescimento inicial lenta, como a cana-de-açúcar, de modo a reduzir o número de aplicações. Todavia, a presença do indaziflam no solo por tempo prolongado pode impactar negativamente os organismos não alvo, elevar os riscos de lixiviação e contaminação do solo e de águas superficiais e subterrâneas e causar danos às culturas sensíveis cultivadas em sucessão e, ou rotação (*carryover*) à cana-de-açúcar, como a soja e o amendoim. Desse modo, a biorremediação surge como abordagem promissora, visando explorar agentes biológicos, como micro-organismos e, ou plantas, na transformação ou degradação desses compostos, reduzindo os riscos de contaminação do solo e de águas subterrâneas e superficiais, além da disponibilização da área para o cultivo de culturas sensíveis mais rapidamente. Neste trabalho foram apresentados três capítulos. No capítulo 1 foram analisados o período residual do indaziflam para o cultivo seguro da soja e do amendoim em sucessão à cultura da cana-de-açúcar, além da sua mobilidade no solo, por meio de ensaios biológicos e por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Constatou-se que o indaziflam foi detectado até 20 cm de profundidade e que recomenda-se aguardar o período de aproximadamente um ano e meio após a aplicação do mesmo para o semeio seguro da soja e do amendoim. No capítulo 2, avaliou-se o potencial de degradação do indaziflam no solo, por meio da inoculação de isolados bacterianos IN4, IN43, IN50, IN54, IN59 e consórcio de todos os isolados por bioensaio e por CLAE. Como resultados desta pesquisa, verificou-se na avaliação realizada por CLAE, que todos os isolados bacterianos reduziram o tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) do indaziflam para períodos entre 11 e 27 dias a depender dos isolados e que o tratamento sem a inoculação dos isolados o $t_{1/2}$ foi de 250 dias. Apesar dessa degradação, foi constatada ação residual do indaziflam e, ou de seus metabólitos por meio de bioensaio até 360 dias após inoculação das bactérias. Por fim, no capítulo 3, avaliou-se o potencial de biorremediação de solos contaminados com o indaziflam por consórcio bacteriano, por *Canavalia ensiformis* e pela associação desses, onde foi realizada avaliação de crescimento e intoxicação das plantas de *Canavalia ensiformis* e avaliação do resíduo de indaziflam no solo por CLAE

e por

bioensaio, constatando que o indaziflam causou severos sintomas de intoxicação na *Canavalia ensiformis* nas avaliações iniciais em todas as doses avaliadas, porém, houve recuperação das plantas, demonstrando tolerância da espécie ao herbicida. E que a *Canavalia ensiformis*, o consórcio dos isolados bacterianos e a associação desses, possuem capacidade para biorremediação de solos contaminados com o indaziflam, reduzindo a persistência desse herbicida no ambiente.

Palavras-chave: Soja; Amendoim; Cana-de-açúcar; Mobilidade; Degradação; Micro-organismos; Bactérias; Fitorremediação; *Canavalia ensiformis*

ABSTRACT

PAIVA, Maria Carolina Gomes, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, April, 2025. **Persistence and bioremediation of the herbicide indaziflam in soils.** Adviser: Francisco Claudio Lopes de Freitas. Co-advisers: Mauricio Dutra Costa, Ricardo Alcantara de La Cruz, Mariana Beatriz Teixeira Diniz and Paulo Roberto Cecon.

The use of herbicides with prolonged residual activity, such as indaziflam, can enhance weed control in crops with slow initial growth rates, such as sugarcane, thereby reducing the number of required applications. However, the persistence of indaziflam in the soil over extended periods may negatively affect non-target organisms, increase the risks of leaching and contamination of soil, surface water, and groundwater, and cause injury to sensitive crops grown in succession or rotation with sugarcane (*carryover*), such as soybean and peanut. In this context, bioremediation emerges as a promising approach, aiming to exploit biological agents, such as microorganisms and/or plants, to transform or degrade these compounds, thereby reducing the risk of soil and water contamination and enabling earlier cultivation of sensitive crops. This study comprises three chapters. In Chapter 1, the residual period of indaziflam for the safe cultivation of soybean and peanut following sugarcane was assessed, as well as its mobility in the soil, using bioassays and high-performance liquid chromatography (HPLC). Indaziflam was detected up to a depth of 20 cm, and it is recommended to wait approximately one and a half years after its application before safely sowing soybean and peanut. In Chapter 2, the degradation potential of indaziflam in soil was evaluated through the inoculation of bacterial isolates IN4, IN43, IN50, IN54, IN59, and a consortium of all isolates, using both bioassays and HPLC analysis. According to HPLC results, all bacterial isolates reduced the half-life ($t_{1/2}$) of indaziflam to periods ranging from 11 to 27 days, depending on the isolate, whereas in the non-inoculated treatment, the $t_{1/2}$ was 250 days. Despite this degradation, residual activity of indaziflam and/or its metabolites was detected through bioassays up to 360 days after bacterial inoculation. Finally, in Chapter 3, the bioremediation potential of soils contaminated with indaziflam was assessed using a bacterial consortium, *Canavalia ensiformis*, and their combination. Plant growth and phytotoxicity symptoms in *Canavalia ensiformis* were evaluated, along with indaziflam residues in the soil through HPLC and bioassays. Indaziflam caused severe phytotoxic symptoms in *Canavalia ensiformis* during the initial evaluations at all tested doses. However, the plants recovered over time, indicating a degree of tolerance to the herbicide. Results showed that *Canavalia ensiformis*, the bacterial consortium, and their combination

possess the capacity to bioremediate indaziflam-contaminated soils, reducing the environmental persistence of this herbicide.

Keywords: Soybean; Peanut; Sugarcane; Mobility; Degradation; Microorganisms; Bacteria; Phytoremediation; *Canavalia ensiformis*

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	13
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

Capítulo 1- Mobilidade e persistência do indaziflam no solo em sistemas de cultivo de soja e amendoim: abordagens biológicas e cromatográficas..... 34

RESUMO	35
ABSTRACT	37
1. INTRODUÇÃO	38
2. MATERIAL E MÉTODOS	39
3. RESULTADOS	46
4. DISCUSSÃO.....	56
5. CONCLUSÃO	59
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

Capítulo 2- Biorremediação de solos contaminados com herbicida indaziflam por meio de micro-organismos 62

RESUMO	63
ABSTRACT	64
1. INTRODUÇÃO	65
2. MATERIAL E MÉTODOS	66
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	72
4. CONCLUSÃO	81
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81

Capítulo 3- Eficiência da associação entre Canavalia ensiformis e o consórcio de isolados bacterianos na biorremediação de solo contaminado com indaziflam 85

RESUMO	86
ABSTRACT	87
1. INTRODUÇÃO.....	88

2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	89
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	94
4.	CONCLUSÃO.....	110
5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	110
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	114

INTRODUÇÃO GERAL

O uso de pesticidas é prática essencial na agricultura tecnificada, uma vez que, evitam a redução da produtividade das culturas e garantem a manutenção da qualidade do produto final (SOUZA, 2022). Os pesticidas podem ser divididos em diferentes classes, dentre as quais citam-se os herbicidas, os fungicidas, os acaricidas e os inseticidas (SILVA et al., 2023). Todavia, os herbicidas são os mais empregados em larga escala devido à necessidade de controle de plantas daninhas em pré e pós plantio, ao baixo custo e a alta eficiência em relação a outros métodos de controle (RAMBORGER et al., 2017).

Alguns herbicidas possuem efeito residual longo, o que possibilita o controle de plantas daninhas por mais tempo, reduzindo com isso o número de aplicações (PROCÓPIO et al., 2009), especialmente em culturas perenes, com longo período crítico de interferência, como a cana-de-açúcar (SOUZA, 2022). A cana-de-açúcar possui crescimento inicial lento, não cobrindo a área rapidamente o que permite a passagem de luz para o estabelecimento das plantas daninhas (SOUZA, 2022). Desse modo, há necessidade de utilizar herbicidas com efeito residual longo.

Dentre os herbicidas com residual prolongado, o indaziflam (N-[(1R,2S)-2,6-dimethyl-2,3-dihydro-1H-inden-1-yl]-6-(1-fluoroethyl)-1,3,5-triazine-2,4-diamine) vem sendo comumente utilizado. No Brasil, esse herbicida encontra-se registrado para uso em cana-de-açúcar, banana, café, caju, citros, coco, dendê, goiaba, maçã, manga, uva, eucalipto e pinus (MAPA, 2022), visando o manejo em pré-emergência das plantas daninhas monocotiledôneas e eudicotiledôneas, sendo mais eficiente para as monocotiledôneas (AMIM et al., 2014; SEBASTIAN et al., 2017). Este herbicida apresenta tempo de meia-vida estimada no solo ($t_{1/2}$) maior do que 150 dias, possui baixa solubilidade em água ($S_w = 2,8 \text{ mg L}^{-1}$ a 20°C), $K_{oc} < 1.000 \text{ mL g}^{-1}$, $pK_a = 3,50$ a 25°C , o $\log K_{ow}$ em pH 4; 7 ou 9 = 2,80 (LEWIS et al., 2016) e tem como mecanismo de ação a inibição da biossíntese de celulose (TOMPIKINS, 2010).

A persistência e a mobilidade de herbicidas no solo estão relacionadas as características ligadas ao herbicida (tempo de meia-vida, capacidade de retenção aos coloides do solo, dose aplicada, solubilidade em água, etc), ao solo (teor de matéria orgânica, pH, textura, origem mineralógica) e às condições climáticas no período que sucede à aplicação que irão favorecer os processos de dissipação no solo, como a degradação biológica e o transporte do mesmo no perfil do solo (MANCUSO, 2011).

No entanto, a presença do indaziflam no solo por tempo prolongado pode intoxicar organismos não alvo, especialmente micro-organismos benéficos, elevar os riscos de lixiviação

e de contaminação dos solos e de águas superficiais e subterrâneas, e causar danos às culturas sensíveis em sistemas de rotação (*carryover*) ou culturas intercaladas (VIEIRA et al., 2007; DAN et al., 2012; LANE et al., 2012; OTTO et al., 2012; SILVA et al., 2014) na cana-de-açúcar, como a soja e o amendoim.

Durante o processo de reforma do canavial, após colheitas sucessivas da cana-soca, é comum a rotação com culturas anuais, especialmente soja (*Glycine max*) e amendoim (*Arachis hypogaea*), pois são plantas leguminosas que desempenham papel fundamental na melhoria e na manutenção da qualidade do solo (MATHEIS et al., 2020) e ajudam no manejo da soqueira da cana e de plantas daninhas gramíneas como braquiárias (*Urochloa* sp) e capim-colonião (*Panicum maximum*) (MATHEIS et al., 2020). Além do mais, essas leguminosas podem diminuir a incidência de pragas e doenças (CHRISTOFFOLETI, 1998).

Todavia, devido ao uso de herbicidas com longos períodos residuais para o controle de plantas daninhas na cana-soca, como o indaziflam, o estabelecimento das culturas de amendoim e soja em sucessão a cultura da cana-de-açúcar tem sido afetado negativamente (DAN et al., 2012). Estudo avaliando o efeito residual do indaziflam em amendoim, constatou que a aplicação do indaziflam (100 g ha^{-1} do i.a.) aos 150, 120, 90, 60, 30 e 0 dias antes da semeadura do amendoim, causou redução de 15 a 75% na produtividade (FURLAN, 2020).

Em razão dos problemas provocados por herbicidas de longa persistência, a biorremediação surge como abordagem promissora, visando explorar agentes biológicos na transformação ou degradação de compostos orgânicos, reduzindo os efeitos negativos no ambiente (FAUSTINO, 2019). A biorremediação é um processo de remediação que utiliza organismos vivos, como fungos, bactérias e plantas em consórcio ou isolados (BASTABAK et al., 2021). Essa técnica tem como finalidade transformar ou decompor poluentes, como os herbicidas, em compostos menos tóxicos ou atóxicos (SANTOS et al., 2007; RAMBORGER et al., 2017; BASTABAK et al., 2021).

Dentre as técnicas de biorremediação, a remediação microbiana (SUN et al., 2018; CARLES et al., 2021) e a fitorremediação (DEL BUINO et al., 2020; CARLES et al., 2021) ou a combinação entre essas duas técnicas são bastante promissoras para a descontaminação de herbicidas no próprio local de contaminação devido à eficiência da técnica, ao baixo custo e serem ecologicamente adequadas em relação à remediação física e química, ou seja, são técnicas sustentáveis (CARLES et al., 2021).

A técnica de remediação por micro-organismos é baseada na capacidade das células microbianas em transformar componentes tóxicos em moléculas menos nocivas ou não nocivas

(PILEGGI et al., 2020). Já a fitorremediação é uma técnica pelo qual as plantas descontaminam solos, sedimentos e águas contaminadas com poluentes orgânicos (herbicidas) e inorgânicos (RAMBORGER et al., 2017). Todavia, estudos sobre a biorremediação de solos contaminados com herbicidas de longa persistência no solo, como o indaziflam, por meio de micro-organismos e, ou plantas são escassos.

Dessa forma, nesse trabalho foram apresentados três capítulos. No capítulo 1 foram avaliados o período residual do indaziflam para o cultivo de soja e amendoim, bem como a mobilidade no solo do referido herbicida, por meio de ensaios biológicos e por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). No capítulo 2, avaliou-se o potencial de degradação do indaziflam em solos, por meio da inoculação de isolados bacterianos por bioensaio e por CLAE. Por fim, no capítulo 3 foi avaliado o potencial de biorremediação de solos contaminados com o indaziflam por consórcio bacteriano, por *Canavalia ensiformis* e pela associação desses, por bioensaio e por CLAE.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

CANA-DE-AÇÚCAR

A cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum* ssp.) foi introduzida no Brasil no século XVI pelos portugueses, tornando-se um dos mais importantes cultivos desenvolvidos no Brasil (FAUCONNIER, 1991). Esta cultura teve grande expansão em área cultivável, em virtude das condições edafoclimáticas brasileiras muito favoráveis. O Brasil é atualmente o maior produtor de cana-de-açúcar, com aproximadamente 8.333,9 mil hectares cultivados, com produção total em torno de 713 milhões de toneladas e média de produtividade de 85,58 ton ha⁻¹ na safra 2023/2024 (CONAB, 2025). A região sudeste é a principal produtora do país, sendo São Paulo e Minas Gerais responsáveis por quase 64% da produção nacional (CONAB, 2025).

A cana-de-açúcar além de ser responsável pela produção de açúcar, que faz parte da dieta alimentar humana, também tem como produto o álcool, utilizado na fabricação de bebidas alcoólicas e como combustível para diversas máquinas na forma de etanol, o que destaca economicamente, pois, enquanto combustível alternativo contribui para o desenvolvimento sustentável (BACCHI e CALDARELLI, 2015; MATA, 2015; ALVES et al., 2021). Ademais, a cana é utilizada para produção de energia, péletes, plástico, no estado natural como alimento pelo gado, ou na forma de ingrediente em alimentos como a rapadura, o melado e a aguardente.

A cana-de-açúcar é uma planta pertencente à família Poaceae, possui formato cilíndrico, com caules robustos, fibrosos e articulados, que são ricos em sacarose, com folhas grandes, podendo chegar a até seis metros de altura (MAGRO et al., 2011). Ela possui metabolismo fotossintético C₄, tendo elevada eficiência na transformação de energia luminosa em energia química (MAGRO et al., 2011). As plantas C₄ também possuem maior eficiência no uso de água (MAGRO et al., 2011).

A cana-de-açúcar pode ser plantada em duas épocas. Se plantada entre os meses de janeiro a abril, a cana tem o ciclo vegetativo de 14 a 18 meses, sendo denominada cana planta de ano e meio e quando plantada nos meses de setembro a novembro, o seu ciclo vegetativo vai ser de 12 meses, sendo denominada cana planta de ano. Os cortes terão duração de 12 meses, sendo denominados de cana-soca (CÂMARA, 1993; PROCÓPIO et al., 2016).

No entanto, na cultura da cana-de-açúcar existem diversos fatores que podem diminuir a produção (AZANIA, 2006). O clima, a disponibilidade de nutrientes, a cultivar, o ataque de pragas e doenças e a interferência de plantas daninhas podem afetar negativamente o crescimento da cana-de-açúcar, diminuindo a produtividade e a qualidade do produto colhido. Se as plantas daninhas não forem controladas, podem causar perdas de até 85% na produtividade do canavial (VICTORIA FILHO & CHRISTOFFOLETI, 2004). O período total de prevenção à interferência (PTPI) das plantas daninhas na cana planta de ano geralmente é entre 90 e 120 dias, já na cana de ano e meio, o PTPI é de 90 a 150 dias (KUVA et al., 2008). Na cana-soca, o PTPI geralmente é entre 70 e 100 dias (KUVA et al., 2008).

O controle das plantas daninhas pode ser realizado por meio dos métodos preventivo, cultural, biológico, físico, mecânico e químico, isoladamente ou associados. O método mecânico dá-se pelas operações de preparo de solo em pré-plantio e pela operação de quebra-lombo. O quebra-lombo é utilizado com o objetivo de uniformizar a superfície do solo, com “camalhões” em razão da abertura do sulco para o plantio, onde é realizada uma espécie de amontoa do solo da entrelinha no sulco da cana-de-açúcar, proporcionando superfície mais uniforme, o que facilita as operações de manejo subsequentes (NICOLAI et al., 2010, SOUZA, 2022). Essa operação pode remover parte do herbicida da entrelinha para a linha de plantio, aumentando a concentração do herbicida próximo as plantas da cana-de-açúcar, o que pode vir a causar intoxicação (SOUZA, 2022).

O controle químico é realizado em pré-plantio para destruição da soqueira e controle de plantas daninhas remanescentes na área e antes do preparo do solo, e em pós-plantio, por meio da aplicação de herbicidas em pré-emergência e/ou em pós-emergência das plantas daninhas na

cana-planta e na soqueira. Os herbicidas aplicados em pré-emergência possuem, normalmente, residual prolongado de modo a manter o controle por maior período de tempo (SOUZA, 2022).

A necessidade de herbicidas com período residual prolongado dá-se pelo fato da cana possuir crescimento inicial lento, ou seja, não cobre a área rapidamente, permitindo a passagem de luz para o estabelecimento de plantas daninhas (SOUZA, 2022). Dentre os herbicidas com residual prolongado, o indaziflam, o tebuthiuron e o sulfentrazone, vem sendo comumente utilizados. Entretanto, esse período residual longo pode afetar as culturas subsequentes à cana-de-açúcar, como a soja e o amendoim.

SOJA E AMENDOIM

Nas regiões produtoras de cana-de-açúcar do Brasil, principalmente São Paulo, observa-se o crescimento na produção de amendoim (*Arachis hypogaea*) e de soja (*Glycine max*) durante a reforma do canavial devido ao ciclo breve dessas culturas, que varia entre 130 a 180 dias (GODOY et al., 2005), possibilitando benefícios econômicos, sociais e ambientais. O uso contínuo do solo no ciclo de produção de cana-de-açúcar pode provocar degradação física, química e biológica do solo, ocasionando perdas de produtividade e condições favoráveis para a presença de doenças, pragas e plantas daninhas (GODOY et al., 2005). A rotação de cultura no sistema de produção agrícola é alternativa para otimizar o manejo do solo e tem se mostrado eficiente e benéfico para a estrutura do solo, para a ciclagem de nutrientes e para o acréscimo da matéria orgânica (EMBRAPA, 2007).

O amendoim destaca-se entre as culturas alternativas de verão plantadas em território nacional, sendo o estado de São Paulo o maior produtor, principalmente em áreas subsequentes à cultura de cana-de-açúcar (CONAB, 2025). Na safra de 2023/24, a produção total de amendoim foi estimada em 973,9 mil toneladas, representando aumento de 45,8% em relação à safra anterior (CONAB, 2025). A área cultivada foi de aproximadamente 255,4 mil hectares, com produtividade média de 3.847 Kg ha⁻¹ (CONAB 2025). O amendoim possui alto valor nutricional, sendo rico em proteínas, gorduras saudáveis, vitaminas e minerais, podendo ser utilizado diretamente na alimentação humana, nas indústrias de conservas e doces e no biodiesel (NAKAGAWA; ROSOLEM, 2011; GOES et al., 2021).

Em escala nacional, a soja é relevante para o agronegócio, sendo responsável por grande parcela da exportação e de contribuição do PIB agropecuário. A receita proveniente da exportação de derivados da soja em 2018 superou US\$ 40 bilhões, representando 16% do PIB do agronegócio (ABIOVE, 2019). A produção brasileira de soja, na safra de 2023/24, foi de

aproximadamente 147,38 mil toneladas de grãos (CONAB, 2025). Apesar de não ser conhecida mundialmente como alimento básico, a soja é uma das oleaginosas mais importantes do mundo, principalmente como fonte de proteínas e óleo vegetal (BEZZERRA et al., 2023).

O amendoim e a soja são plantas leguminosas que desempenham papel crucial na melhoria e na manutenção da qualidade do solo, uma vez que, formam relações simbióticas com rizóbios, que se alojam nas raízes e fixam nitrogênio atmosférico, sendo que essa fixação enriquece o solo, diminuindo assim, o aporte nutricional de nitrogênio na cultura subsequente (MATHEIS et al., 2020). Além do mais, essas leguminosas podem proporcionar aumento de matéria orgânica, diminuir a compactação do solo, melhorar a aeração (CARVALHO; AMABILLE, 2006) e diminuir a incidência de pragas, doenças e plantas daninhas, como a *Urochloa decumbens* e *Cyperus rotundus* nas produções de cana-de-açúcar (CHRISTOFFOLETI, 1998). Além de facilitar o controle da soqueira da cana-de-açúcar, especialmente, em cultivo de soja com resistência ao glyphosate, que possibilita aplicação do herbicida para controle de rebrotas que porventura possam ocorrer. Fato esse que favorece a implantação de novo canavial sem a presença de brotações da lavoura antecessora. Desse modo, a cultura da soja e do amendoim em sucessão com a cana-de-açúcar pode resultar em maior produtividade e rentabilidade para os agricultores e contribuir para a conservação do ambiente.

Todavia, o estabelecimento das culturas de amendoim e de soja em sucessão à cultura da cana-de-açúcar tem sofrido dificuldades no desenvolvimento inicial e, conseqüentemente, na produção final devido ao uso de herbicidas com longo período residual para controle de plantas daninhas na cana-soca, como o sulfentrazone, o tebuthiuron e o indaziflam, causando o efeito de *carryover* (DAN et al., 2012). O uso do herbicida indaziflam em culturas antecessoras ao amendoim comprovou a não seletividade do herbicida, causando 80% de intoxicação na cultura (TORRES et al., 2018).

Desse modo, são necessários estudos para avaliar o intervalo de tempo entre a aplicação do indaziflam e o cultivo seguro da soja e do amendoim.

HERBICIDA INDAZIFLAM

O herbicida indaziflam (N-[(1R,2S)-2,6-dimethyl-2,3-dihydro-1H-inden-1-yl]-6-(1-fluoroethyl)-1,3,5-triazine-2,4-diamine) (Figura 1), pertence à classe química “fluoroalkyltriazine” (TOMPKINS, 2010) e é utilizado em aplicação em pré-emergência para o controle de plantas daninhas monocotiledôneas e eudicotiledôneas, sendo mais eficiente para as monocotiledôneas (AMIM et al., 2014; SEBASTIAN et al., 2017).

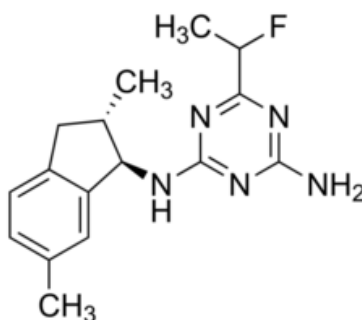


Figura 1. Estrutura química do herbicida indaziflam.

O indaziflam foi introduzido nos Estados Unidos em 2011 e no Brasil em 2016, sendo registrado atualmente para diversas culturas perenes, como a cana-de-açúcar, o café, o citros, o eucalipto, o pinus, a banana, o caju, o coco, o dendê, a goiaba, a manga, a maçã e a uva (MAPA, 2022). Este herbicida tem como mecanismo de ação a inibição da biossíntese de celulose, fazendo com que novas células da parede celular não sejam formadas, ocorrendo paralisação do desenvolvimento da planta (GRIFFIN, 2005; TOMPIKINS, 2010; GUERRA et al., 2013). A inibição supostamente acontece na etapa da reticulação das microfibrilas de celulose (GUERRA et al. 2013; BRABHAM, 2016). Além disso, o indaziflam também inibe a disposição dos cristais de celulose na parede celular, prejudicando o alongamento e a divisão celular em função da má formação da parede celular (GUERRA et al. 2013; BRABHAM, 2016). Com isso, dificilmente o indaziflam irá afetar plantas com folhas completamente desenvolvidas, visto que, não ocorre a síntese de celulose e a parede celular já se encontra totalmente formada (GUERRA et al., 2013).

O indaziflam possui elevada atividade residual no solo, com tempo de meia-vida estimada ($t_{1/2}$) maior do que 150 dias, possui baixa solubilidade em água ($S_w = 2,8 \text{ mg L}^{-1}$ a 20°C), $K_{oc} < 1.000 \text{ mL g}^{-1}$, $\text{pK}_a = 3,50$ a 25°C e o $\log K_{ow}$ em pH 4; 7 ou 9 = 2,80 (LEWIS et al., 2016). Os três principais produtos da degradação do indaziflam são o indaziflam-triazina indanona, o indaziflam-ácido carboxílico e o indaziflam-triazinadiamina, sendo os dois últimos mais móveis nos solos do que o indaziflam (ALONSO et al., 2015).

A retenção do indaziflam aos colóides do solo é influenciada pelos teores de matéria orgânica e pH do solo, apesar da sorção ser considerada baixa (SOUZA, 2018). Dessa forma, Souza (2018), avaliando a sorção do indaziflam em solos com diferentes características físicas e químicas, constatou que em solos com baixos teores de matéria orgânica e elevado pH, o

indaziflam fica mais disponível para absorção pelas plantas, uma vez que, estará na solução do solo. A sorção do indaziflam diminui com o aumento do pH do solo, influenciando as recomendações desse herbicida, tanto do ponto de vista agrônômico quanto ambiental (GONÇALVES et al., 2021).

Herbicidas com efeito residual longo, como o indaziflam, possibilitam o controle de plantas daninhas por período de tempo maior, reduzindo com isso o número de aplicações. No entanto, os herbicidas que apresentam longo efeito residual no solo proporcionam a ocorrência de toxicidade em culturas sensíveis (*carryover*).

O indaziflam foi recentemente registrado no Brasil e informações sobre o seu comportamento no solo e sobre os impactos nos processos bioquímicos do solo e das interações entre as comunidades microbianas são escassos (GONZÁLEZ-DELGADO et al., 2022). Portanto, são necessários estudos sobre o comportamento desse herbicida em solos agrícolas e sobre a biorremediação com micro-organismos e, ou plantas para manter a boa qualidade dos solos e mantê-los livres da contaminação.

BIORREMEDIAÇÃO

A biorremediação é um processo de remediação que consiste no emprego de organismos vivos, como micro-organismos ou plantas, em consórcio ou isolados, com o objetivo de alterar ou decompor poluentes, transformando-os em substâncias menos tóxicas ou atóxicas (SANTOS et al., 2007; RAMBORGER et al., 2017; BASTABAK et al., 2021). A biorremediação é um método biológico de baixo custo, eficaz e ecologicamente adequada para degradar os contaminantes (NITISAKULKAN et al., 2014).

O processo de biorremediação pode ser realizado fora do local de onde ocorreu a contaminação (*ex-situ*), como por exemplo a compostagem (JACQUES et al., 2007), ou realizado no próprio local da contaminação (*in-situ*) (ANDRADE et al., 2010). Na remediação *in-situ* podem ser utilizadas técnicas de atenuação natural, bioaugmentação, bioestimulação, fitorremediação e “landfarming” para reduzir os contaminantes do ambiente (JACQUES et al., 2007).

A biorremediação está relacionada à tolerância dos organismos vivos a composto tóxicos por meio de sistemas estruturais e enzimáticos, sendo técnica complexa (PILLEGI, 2020). A biorremediação envolve diferentes rotas metabólicas de degradação, com espécies de organismos que podem ser organizados em consórcio (PILLEGI, 2020). O processo de

biorremediação de herbicidas é influenciado pelas propriedades físico-químicas do composto; características ambientais, como temperatura e umidade relativa, e pelas propriedades físico-químicas do solo, como textura, pH, conteúdo de matéria orgânica, salinidade e umidade (RAMBORGER et al., 2017).

Após a aplicação da biorremediação é importante quantificar os níveis de contaminantes usando métodos analíticos, a exemplo da cromatografia. Os processos cromatográficos demandam menor tempo para análise, boa resolução e boa sensibilidade a compostos (TEJU et al., 2017). Todavia, a degradação do herbicida pode gerar metabólitos ainda mais tóxicos. Nesse sentido, a diminuição na concentração do herbicida não é o suficiente para confirmar a redução na fitotoxicidade (LARA-MORENO et al., 2022).

Para se analisar a ação residual e a dinâmica dos herbicidas no solo também pode ser utilizado o método biológico ou de bioensaio. São comuns casos em que o bioensaio apresenta maior sensibilidade na detecção de herbicidas em relação ao método cromatográfico, causando injúrias em plantas sensíveis mesmo em baixas doses (SOUZA, 2018). Dessa maneira, tanto o método cromatográfico como o biológico, permitem avaliar a biorremediação dos herbicidas no solo.

Dentre as técnicas de biorremediação, a remediação microbiana (SUN et al., 2018; CARLES et al., 2021) e a fitorremediação (descontaminação de herbicidas pela utilização de plantas) (DEL BUINO et al., 2020; CARLES et al., 2021) ou a combinação entre essas duas técnicas são as mais utilizadas (CARLES et al., 2021). Diversos autores têm estudado o potencial de biorremediação de diferentes herbicidas para reduzir ou eliminar esses compostos do ambiente (Tabela 1) (GONÇALVES e DELABONA, 2022; MIELKE et al., 2023).

Tabela 1: Classificação quanto à estratégia de ação e ao biorremediador utilizado.

Estratégia de biorremediação	Biorremediador	Pesticida	Referência
Bioaumento	Microbioma Adaptado	Atrazine	Jablonowski et al. (2013)

Biorreator e Bioaumento + Bioestimulação	<i>Aspergillus niger</i> AN 400	Atrazine	Marinho et al. (2017)
Fitorremediação	<i>Inga marginata</i>	2,4-D e Atrazine	de Fiore et al. (2019)
Bioaumento	<i>Pleurotus ostreatus</i> INCQS 40310	Atrazine, DEA e DIA	Lopes et al. (2020)
Bioaumento + Bioestimulação	<i>Fusarium</i> sp.	Atrazine	Esparza-Naranjo et al. (2020)
Fitorremediação	<i>Eremanthus crotonoides</i> e <i>Inga striata</i>	Clomazone e atrazine	Aguiar et al. (2020)
Fitoextração	<i>Canavalia ensiformis</i>	Quinclorac e tebuthiuron	Mendes et al. (2021)
Fitodegradação	<i>Pistia stratiotes</i>	Clomazone	Escoto et al. (2019)
Bioaumento	<i>Pseudomonas</i> sp	Atrazine	Fernandes et al. (2018)
Bioaumento	<i>Arthrobacter aureus</i> (cepa TC1)	Terbuthylazine	Silva et al. (2015)
Bioaumento	<i>Bacillus</i> sp. (cepa N1)	Metribuzin	Zhang et al. (2014)

Fitoacumulação	<i>Festuca arundinacea</i> , <i>Lolium perenne</i>	Atrazine	Sánchez et al. (2017)
Fitodegradação	<i>Calophyllum brasiliense</i>	Ametryn	Santos et al. (2018)

Fonte: Adaptado de Gonçalves e Delabona (2022) e Mielke et al. (2023).

REMEDIAÇÃO POR MICRO-ORGANISMOS

Os micro-organismos podem utilizar os herbicidas como fonte de energia para o crescimento no ambiente, trazendo aspectos positivos na diversidade microbiana e transformando esses componentes tóxicos em moléculas menos nocivas ou não nocivas (PILEGGI et al., 2020). Uma das estratégias para a remediação de solos contaminados com herbicidas através de micro-organismos é a bioaumentação. A bioaumentação consiste na inoculação de micro-organismos com capacidade de degradação de compostos no local de contaminação (CYCÓN et al., 2017). Todavia, os compostos contaminantes precisam estar disponíveis na solução do solo para que a degradação pelos micro-organismos seja realizada (LEONEL et al., 2018; GONÇALVES e DELABONA, 2022).

As bactérias e fungos são eficazes agentes de degradação de substâncias orgânicas, podendo também mineralizar e acumular esses compostos. Todavia, o processo de biodegradação vai depender do potencial metabólico dos micro-organismos para desintoxicar ou transformar a molécula do herbicida (MIELKE et al., 2023). A degradação por fungos e bactérias envolve a transformação oxidativa mediada por enzimas oxidativas (citocromo P450, peroxidases, polifenoloxidasas, lacase e tirosinase); a transformação hidrolítica pelas enzimas hidrolases, que clivam ligações do substrato adicionando hidrogênio ou grupo hidroxila a partir de moléculas de água; a transformação redutiva, mediada por nitrorredutases, em que a remoção do ânion ocorre por redução; e a reação de conjugação, pela qual um composto natural exógeno ou endógeno é adicionado à molécula de herbicida, facilitando a mineralização (ODUKKATHIL; VASUDEVAN, 2013; MIELKE et al., 2023).

Estudos avaliando o potencial de bactérias na biorremediação de herbicidas, observaram que bactérias do gênero *Bradyrhizobium* sp. possuem capacidade de degradar os herbicidas atrazine e 2,4-D, utilizando esses compostos como fonte de carbono (BARROSO et al., 2020).

Lopes et al. (2020) avaliando a degradação do atrazine pelo fungo *Pleutotus ostreatus* verificaram a degradação desse herbicida em 82% em 15 dias após a incubação. Todavia, para o sucesso da remediação, as comunidades microbianas devem desenvolver estratégias de sobrevivência contra os estresses induzidos por herbicidas (PILEGGI et al., 2020).

Além da bioaumentação, a utilização de micro-organismos do próprio local, sem a interferência de tecnologias e a adição de agentes estimulantes como o oxigênio e biosurfactantes (bioestimulação) são importantes estratégias de biorremediação por micro-organismos (BENTO et al., 2003).

Na biorremediação é importante conhecer as rotas metabólicas de degradação. Por meio de duas rotas metabólicas, o glyphosate pode ser degradado por cinco espécies fungicas e 19 espécies bacterianas, sendo que na primeira rota onde o intermediário sarcozina foi encontrado, os genes de degradação foram organizados no operon *phn*, codificando uma liase C-P, e na segunda rota os genes *glpA*, *glpB*, e o gene da glifosato oxidorreductase (*gox*) estão envolvidos, onde são responsáveis pela degradação do glyphosate em AMPA (ácido aminometilfosfônico) (SVIRIDOV et al., 2015; PILEGGI et al., 2020). Todavia, relatos na literatura sobre as rotas metabólicas e as enzimas envolvidas na degradação do herbicida indaziflam por meio de micro-organismos são escassos, sendo necessários estudos para se obter as vias de degradação do herbicida.

A biorremediação por micro-organismos também pode ser realizada em consórcio com espécies vegetais, com a finalidade de potencializar a degradação ou acumulação dos herbicidas. Estudos avaliando o potencial de remediação de solos contaminados com sulfentrazone pelo consórcio de *Canavalia ensiformis* com *Bradyrhizobium* sp, verificaram que ocorreu efeito positivo de simbiose entre *Canavalia ensiformis* e *Bradyrhizobium* sp., reduzindo significativamente os resíduos de sulfentrazone no solo (MIELKE et al., 2020). Dessa forma, o consórcio da remediação por micro-organismos com a fitorremediação torna-se importante técnica de descontaminação de solos com herbicidas, podendo potencializar a degradação desses compostos.

FITORREMEDIAÇÃO

A fitorremediação consiste no emprego de espécies vegetais com a capacidade de degradar ou remover contaminantes do solo como metais pesados, hidrocarbonetos de petróleo, explosivos, solventes clorados, subprodutos tóxicos da indústria e herbicidas (CUNNINGHAM et al., 1996; PIRES et al., 2003; JEEVANANTHAM et al., 2019) e consequentemente diminuir

os riscos de fitotoxidade a culturas sensíveis e de contaminação ambiental (BURING et al., 2019). A utilização da fitorremediação é baseada na seletividade que algumas espécies vegetais exibem a determinados tipos de compostos ou mecanismos de ação (PIRES et al., 2003).

As espécies vegetais podem atuar direta ou indiretamente na redução e, ou remoção de contaminantes do solo (TAVARES, 2009). A remediação direta consiste na absorção e acumulação (ou metabolização) de contaminantes nos tecidos (TAVARES, 2009). Por outro lado, a remediação indireta ocorre quando as espécies vegetais extraem os contaminantes reduzindo a fonte de contaminação, ou quando a presença das plantas propicia o aumento da atividade microbiana, degradando o contaminante (TAVARES, 2009).

A fitorremediação pode ser dividida em vários processos, denominados de fitoextração, fitoacumulação, fitodegradação, fitovolatilização, fitoestimulação, rizodegradação, rizovolatilização e rizoestabilização, os quais ocorrem em função das características morfofisiológicas de cada espécie vegetal, especializadas em determinado tipo de contaminante (PROCÓPIO et al., 2009; JEEVANANTHAM et al., 2019). Esses processos não são exclusivos e podem ocorrer simultaneamente (PROCÓPIO et al., 2009). Contudo, quando se trata da fitorremediação de herbicidas no solo, os processos de fitoestimulação, rizodegradação e fitodegradação parecem ter maior relevância (SANTOS et al., 2007).

A rizodegradação e a fitoestimulação são técnicas que degradam o contaminante em processos *in situ*, com custos baixos de instalação e manutenção e sem limitações climáticas importantes (EPA, 2000, MEJÍA et al., 2014). Esses processos também podem favorecer a aeração e a retenção de umidade do solo (MEJÍA et al., 2014; JEEVANANTHAM et al., 2019). O processo de fitoestimulação ou rizodegradação pode ser aumentado em solos enriquecidos com materiais orgânicos, uma vez que, a adição de materiais orgânicos pode estimular o crescimento da comunidade microbiana do solo e aumentar a sua atividade, além de fornecer nutrientes (JEEVANANTHAM et al., 2019).

Já a fitodegradação é definida como processo de fitorremediação que utiliza o metabolismo da planta para a metabolização do herbicida a um composto não-tóxico ou menos tóxico às culturas e ao ambiente (SANTOS et al., 2007). Os herbicidas são mineralizados ou degradados a compostos intermediários estáveis que podem ser transportados e armazenados na própria planta dentro das células vegetais (SANTOS et al., 2007). A biodisponibilidade de contaminantes para absorção e metabolização é um dos requisitos da fitodegradação, já que os contaminantes que resistem aos processos biológicos de degradação limitam a ação das plantas

ou associações entre plantas e sistemas microbiológicos atuando no solo contaminado (CUNNINGHAM et al., 1995; MEJÍA et al., 2014).

As propriedades químicas dos herbicidas, as condições ambientais e as características da espécie vegetal influenciam a absorção dos herbicidas pelas plantas (BURKEN e SCHNOOR, 1996; PIRES et al., 2003). A absorção radicular de compostos orgânicos está diretamente relacionada ao coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}) e da constante de dissociação eletrolítica (pK_a) do herbicida (ALKORTA e GARBISU, 2001). Compostos que são mais hidrofóbicos, com $\text{Log } K_{ow} > 2,1$, ligam-se às membranas lipídicas das raízes antes de entrarem no xilema, já compostos que são menos hidrofóbicos, com valores de $\text{Log } K_{ow} < 2,1$, não passam através das membranas lipídicas associadas com as camadas da epiderme das raízes (PIRES et al., 2003).

Assim como o indaziflam, o tebuthiuron apresenta alta persistência no solo e elevado potencial fitotóxico. Estudos avaliando a fitorremediação de solo contaminado com diferentes doses de tebuthiuron, verificaram que as espécies *Canavalia ensiformis* e *Cajanus cajan* apresentaram os melhores desempenhos, sendo indicadas para fitorremediação de solos que receberam até $1,0 \text{ kg ha}^{-1}$ de tebuthiuron (PIRES et al., 2008). As espécies *Mucuna aterrima*, *Dolichos lablab* e *Cajanus cajan* possuem tolerância ao herbicida imazapic, sendo que a *Mucuna aterrima* apresentou maior produção de massa seca da parte aérea e raiz, sendo esta a mais promissora na fitorremediação do herbicida (VASCONCELOS et al., 2020). A espécie vegetal *Canavalia ensiformis* também foi capaz de remediar áreas contaminadas com sulfentrazone, proporcionando maior segurança para o plantio de espécies suscetíveis nas áreas onde esse herbicida foi aplicado na safra anterior e reduzindo o risco de impactos ambientais (MADALÃO et al., 2017).

Além do mais, estudos sobre a fitorremediação em consórcio com micro-organismos estão sendo desenvolvidos visando uma série de benefícios para o meio ambiente e para as futuras gerações. Entretanto, o indaziflam é herbicida registrado recentemente no Brasil, pouco se sabe sobre seu comportamento no solo. Assim, é necessário que mais estudos nessa área sejam realizados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIOVE – Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais. **Análise Mensal do mercado de biodiesel**: edição n. 23. Dez. 2014.

AGUIAR, L. M. et al. Metagenomic analysis reveals mechanisms of atrazine biodegradation promoted by tree species. **Environmental Pollution**, v. 267, p. 115636, 2020.

ALKORTA, I.; GARBISU, C. Phytoremediation of organic contaminants in soils. **Bioresource Technology**, v. 79, p. 273-276, 2001.

ALONSO, D. et al. Sorption–Desorption of Indaziflam in Selected Agricultural Soils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 24, p. 13096–13101, 28 dez. 2011. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf203014g>>. Acesso em: 11 out. 2023.

ALONSO, D. G. et al. Changes in sorption of indaziflam and three transformation products in soil with aging. **Geoderma**, v. 239, p. 250-256, 2015.

ALVES, L. Q. et al. Performance of sugarcane culture production in the main producing states. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 15, n. 2, p. 303–317, 2021.

AMIM, R. T. et al. Controle de plantas daninhas pelo indaziflam em solos com diferentes características físico-químicas. **Planta Daninha**, v. 32, n. 4, p. 791–800, 2014.

ANDRADE, J. A. et al. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Eclética Química**, v. 35, n. 3, p. 17 - 43, 2010.

AZANIA, C. A. M. et al. Desenvolvimento da tiririca (*Cyperus rotundus*) influenciado pela presença e ausência de palha de cana-de-açúcar e herbicidas. **Planta Daninha**, v. 24, n. 1, p. 29- 35, 2006.

BACCHI, M. R. P.; CALDARELLI, C. E. Impactos socioeconômicos da expansão do setor sucroenergético no Estado de São Paulo, entre 2005 e 2009. **Nova Economia**, v. 25, n. 1, p. 209–224, 2015.

BARMAN, S; DAS, A. C. Residual effect of pre-emergence herbicides on microbial activities in relation to mineralization of C, N and P in the Gangetic alluvial soil of West Bengal, India. **Environmental monitoring and assessment**, v. 187, n. 7, p. 1-9, 2015.

BARROSO, G. M. et al. Tolerance of *Bradyrhizobium* sp. BR 3901 to herbicides and their ability to use these pesticides as a nutritional source. **Ecological Indicators**, 119, 106783. 2020.

BASTABAK, B. et al. A holistic approach to soil contamination and sustainable phytoremediation with energy crops in the Aegean Region of Turkey. **Chemosphere**, v. 276, 130192, 2021.

BENTO, F. M. et al. Bioremediation of soil contaminated by diesel oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.34, supl.1, p. 65-68. 2003.

BEZERRA, A. R. G. et al. Importância Econômica. In: SILVA, F.; BORÉM, A.; SEDIYAMA, T.; CAMARA, G. (org.). **Soja: do plantio à colheita**. 2022. ed. São Paulo: Oficina de Textos, 2022, p. 9-22.

BRABHAM, CHAD B. Probing the plant cell wall with herbicides: a chemical genetics approach. 2016.

BURKEN, J. G.; SCHNOOR, J. L. Phytoremediation: plant uptake of atrazine and role of root exudates. **Journal of Environmental Engineering**, v. 122, p. 958-963, 1996.

CÂMARA, G. M. S. Ecofisiologia da cultura da cana-de-açúcar. In: CÂMARA, G. M. S.; OLIVEIRA, E. A. M. (Ed.) **Produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: FEALQ, 1993, p. 31-64.

CAMPOS, M. M. et al. Evaluation of the capacity of the cyanobacterium *Microcystis novacekii* to remove atrazine from a culture medium. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 48, n. 2, 101-107. 2013.

CARLES, L. et al. Potential of preventive bioremediation to reduce environmental contamination by pesticides in an agricultural context: A case study with the herbicide 2, 4-D. **Journal of Hazardous Materials**, v. 416, p. 125740. 2021.

CARVALHO, A. M.; AMABILE, R. F. Cerrado: adubação verde. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2006.

CHRISTOFFOLETI, P. J. **Controle de *Brachiaria decumbens* STAPF e *Cyperus rotundus* L. em área de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) através da técnica de rotação com amendoim (*Arachis hypogaea* L.) integrada ao uso de herbicidas**. 1988. 134p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1988.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. 2020.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. 2022.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. 2025.

CUNNINGHAM, S. D. et al. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. **Advances in Agronomy**, v. 56, n.1, p. 55-114.1996.

CYCON, M. et al. Bioaugmentation as a strategy for the remediation of pesticide-polluted soil: A review. **Chemosphere**, v. 172, p. 52-71. 2017.

DAN, H. A. et al. Resíduos de herbicidas utilizados na cultura da soja sobre o milho cultivado em sucessão. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 1, p. 86-91. 2012.

DE ARAÚJO FIORE, R. et al. Selection of arboreal species to compose and remedy riparian forests next to agricultural areas. **Ecological Engineering**, 131, 9-15. 2019.

DEL BUONO, D. et al. Phytoremediation and detoxification of xenobiotics in plants: herbicide-safeners as a tool to improve plant efficiency in the remediation of polluted environments. A mini-review. **International journal of phytoremediation**, v. 22, n. 8, p. 789-803. 2020.

EPA - Environmental Protection Agency – **Introduction to phytoremediation**. Cincinnati, Ohio: EPA, 2000. Disponível em: <https://nepis.epa.gov>. Acesso em: 04/03/2023.

ESCOTO, D. F. et al. Use of *Pistia stratiotes* for phytoremediation of water resources contaminated by clomazone. **Chemosphere**, v. 227, p. 299-304. 2019.

ESPARZA-NARANJO, S. B. et al. Potential for the biodegradation of atrazine using leaf litter fungi from a subtropical protection area. **Current Microbiology**, v. 78, n. 1, p. 358-368. 2021.

FALCONNIER, R. La canne à sucre. Paris: Maisonneuve et Larose, 1991. 165p.

FAUSTINO, L. A. (2019). **Desenvolvimento de técnica para biorremediação de solos contaminados com indaziflam**. Tese de doutorado, 2019. Universidade Federal de Viçosa, viçosa, MG, Brasil. Disponível: <https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/28824/1/texto%20completo.pdf>. Acesso em: 19 mar. 2023.

FERNANDES, A. F. T. et al. Degradation of atrazine by *Pseudomonas* sp. and *Achromobacter* sp. isolated from Brazilian agricultural soil. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 130, p. 17-22. 2018.

FURLAN, P. D. **Efeito residual do indaziflam em amendoim**. 2020. 31p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, 2020.

GODOY, I.J.; MINOTTI, D.; RESENDE, P.L. Produção de amendoim de qualidade. Viçosa: Centro de Produções Técnicas, 2005. 168 p.

GOES, G. F. et al. Produtividade da cultura do amendoim sob diferentes supressões da irrigação com água salina. **Irriga**, v. 26, n. 2, p. 210-220. 2021.

GONÇALVES, C. R.; DEBOLANA, P. S. Strategies for bioremediation of pesticides: challenges and perspectives of the Brazilian scenario for global application – A review. **Environmental Advances**, v. 8, 100220. 2022.

GONÇALVES, V. A. et al. Sorção do indaziflam em solos do Brasil com diferentes valores de pH. **Revista Caatinga**, v. 34, n. 3, p. 494-504, 2021.

GONZALEZ-DELGADO, A. M. et al. Effect of indaziflam on microbial activity and nitrogen cycling processes in an orchard soil. **Pedosphere**, v. 32, n. 6, p. 803-811. 2022.

GRIFFIN, J.L. Inhibition of cell wall synthesis. **Weed Course**. p.150-153. 2005.

GUERRA, N. et al. Aminocyclopyrachlor e indaziflam: seletividade, controle e comportamento no ambiente. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 12, n. 3, p. 285-295. 2013.

JABLONOWSKI, N. D. et al. Transfer of atrazine degradation capability to mineralize aged ¹⁴C-labeled atrazine residues in soils. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 61, n. 26, p. 6161-6166. 2013.

JACQUES, R. J. S. et al. Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. **Ciência Rural**, v. 37, p. 1192-1201. 2007.

JEEVANANTHAM, S. et al. Removal of toxic pollutants from water environment by phytoremediation: A survey on application and future prospects. **Environmental Technology & Innovation**, v. 13, p. 264-276. 2019.

JHALA, A. J.; SINGH, M. Leaching of indaziflam compared with residual herbicides commonly used in Florida citrus. **Weed Technology**, v. 26, n. 3, p. 602-607. 2012.

JUNIOR, E. B. **Cobertura e depósito de calda herbicida em cana-de-açúcar em função da largura da barra de pulverização, declividade do terreno e condição meteorológica**. 2015. 49 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Estadual Paulista -Unesp, Jaboticabal, 2015.

KUVA, M. A. et al. Padrões de infestação de comunidades de plantas daninhas no agroecossistema de cana-crua. **Planta Daninha**, v. 26, n. 3, p. 549-557. 2008.

LANE, M. et al. Microbial activity, community structure and potassium dynamics in rhizosphere soil of soybean plants treated with glyphosate. *Pedobiologia* - **International Journal of Soil Biology**, v. 55, p. 153 – 159. 2012.

LARA-MORENO, A. et al. Bioremediation of a trifluralin contaminated soil using bioaugmentation with novel isolated bacterial strains and cyclodextrin. **Science of The Total Environment**, 840, 156695. 2022.

LEONEL, L. V. et al. Biorremediação do solo. **Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa**, v. 26, n. 51, p. 37-52. 2018.

LEWIS, K. A. et al. An international database for pesticide risk assessments and management. **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 22, n. 4, p. 1050-1064. 2016.

LOPES, R. D. O. et al. Atrazine, desethylatrazine (DEA) and desisopropylatrazine (DIA) degradation by *Pleurotus ostreatus* INCQS 40310. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 38, n. 6, p. 415-430. 2020.

MADALÃO, J. C. et al. Leaching of sulfentrazone in Brazilian “Cerrado” soils by chromatographic and biological methods. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 12, p. 446-451. 2017.

MAGRO, F. J. et al. **BIOMETRIA EM CANA-DE-AÇÚCAR**. 2011. 18 p. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2011.

MANCUSO, M. A. C. et al. Efeito Residual no solo (“Carryover”). **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 10, n. 2, p. 151- 164. 2011.

MAPA; MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Portal Agrofit- Consulta aberta de defensivos agrícolas**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/primeira_pagina/extranet/AGROFIT.html>. Acesso em: 31 mar. 2023.

MARINHO, G. et al. Potential of the filamentous fungus *Aspergillus niger* AN 400 to degrade Atrazine in wastewaters. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 9, p. 162-167. 2017.

MATA, J. F. **Interferência das plantas daninhas na produtividade e na qualidade tecnológica da cana-de-açúcar no manejo cana-crua e queimada**. 2015. 44 p. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2015.

MATHEIS, H. A. S. M.; DE AZEVEDO, F. A.; VICTÓRIA FILHO, R. Adubação verde no manejo de plantas daninhas na cultura de citros. **Citrus Research & Technology**, v. 27, n. 1, p. 0-0, 2020. Disponível em: <https://app.periodikos.com.br/journal/citrusrt/article/5e57c9a60e88251f545d5a13>. Acesso em: 08 mar. 2024.

MEJÍA, P. V. L. et al. Methodology for selection of phytoremediation technique in brownfields. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, v.1, n. 31, p.1-8. 2014.

MENDES, K. F. et al. Phytoremediation of quinclorac and tebuthiuronpolluted soil by green manure plants. **International Journal of Phytoremediation**, v. 23, n. 5, p. 474-481. 2021.

MIELKE, K. C. et al. Does *Canavalia ensiformis* inoculation with *Bradyrhizobium* sp. enhance phytoremediation of sulfentrazone-contaminated soil? **Chemosphere**, v. 255, p.e127033. 2020.

MIELKE, K. C. et al. Remediação de solos contaminados com herbicidas. In: MENDES, K. F. (org.). **Plantas daninhas: Avanços tecnológicos**. 3. ed. São Paulo: Oficina de Textos, 2023, p. 157-224.

NAKAGAWA,J.; ROSOLEM,C.A. O amendoim: tecnologia de produção. Botucatu: FEPAF, 2011. 325p.

NICOLAI, M., DE CARVALHO, S. J. P., CHRISTOFFOLETI, P. J., & DE LIMA CORRÊA, R. A. Programas de manejo químico de plantas daninhas em plantio de cana-de-açúcar fundamentados em duas aplicações de herbicidas. **Revista Agrogeoambiental**, v. 2, n. 3. 2010.

NITISAKULKAN, T. et al. Degradation of chloroanilines by toluene dioxygenase from *Pseudomonas putida* T57. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 117, n. 3, p. 292 – 297. 2014.

ODUKKATHIL, G.; VASUDEVAN, N. Toxicity and bioremediation of pesticides in agricultural soil. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 12, n. 4, p. 421-444. 2013.

OTTO S. et al. Effect of vegetative filter strips on herbicide runoff under various types of rainfall. **Chemosphere**, v. 88, p. 113 – 119. 2012.

PILEGGI, M. et al. Herbicide bioremediation: from strains to bacterial communities. **Heliyon**, v. 6, n. 12, p. e05767. 2020.

PIRES, F. R. et al. Avaliação da fitorremediação de tebuthiuron utilizando *Crotalaria juncea* como planta indicadora. **Revista Ciências Agronômicas, Fortaleza**, v. 39, p. 245-250. 2008.

PIRES, F. R. et al. Fitorremediação de solos contaminados por herbicidas. **Planta Daninha**, v. 21, n.1, p. 335-341. 2003.

PROCÓPIO, S. O. et al. Development of bean plants in soil contaminated with the herbicide trifloxysulfuron-sodium after *Stizolobium aterrimum* and *Canavalia ensiformis* cultivation. **Planta Daninha**, v. 25, n. 1, p. 87-96. 2007.

PROCÓPIO, S. O. et al. Efeito da densidade populacional de *Panicum maximum* (cultivar Tanzânia) na fitorremediação de solo contaminado com o herbicida picloram. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 2, p. 295 – 304. 2009.

PROCÓPIO, S. O. et al. Plantas Daninhas. In: SANTOS, F.; BORÉM, A. (org.). **Cana-de-açúcar: do plantio a colheita**. 2016. 1 ed. São Paulo: Oficina de Textos, 2016, p. 139-176.

RAMBORGER, B. P. et al. The phytoremediation potential of *Plectranthus neochilus* on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and the role of antioxidant capacity in herbicide tolerance. **Chemosphere**, v. 188, n. 1, p. 231-240. 2017.

RODRIGUES, L. M. et al. O. Eficácia do herbicida indaziflam no controle das plantas daninhas perenes *Digitaria nuda*, *Rottboellia exaltata* e *Panicum maximum* no desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 5, n. 2, p. 1882-1869. 2022.

SÁNCHEZ, V. et al. Assessing the phytoremediation potential of crop and grass plants for atrazine-spiked soils. **Chemosphere**, v. 185, p. 119-126, 2017.

SANTOS, J. B. et al. Fitorremediação de áreas contaminadas por herbicidas. In: SILVA, A. A.; SILVA, J.F. (Editores). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG: Ed. UFV. p. 210- 239. 2007.

SANTOS, N. M. C. et al. Phytoremediation of Brazilian tree species in soils contaminated by herbicides. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 27, p. 27561-27568. 2018.

SEBASTIAN, D. J. et al. Indaziflam: a new cellulose-biosynthesis-inhibiting herbicide provides long-term control of invasive winter annual grasses. **Pest management science**, v. 73, n. 10, p. 2149-2162. 2017.

SILVA, G. S. et al. Impact of sulfentrazone, isoxaflutole and oxyfluorfen on the microorganisms of two forest soils. **Bragantia**, v. 73, n. 3, p. 292 – 299. 2014.

SILVA, J. R. et al. Pesticidas na Agricultura: Impactos e Classificação. **Journal of Agricultural Sciences**, v. 35, n. 2, p. 120-135. 2023.

SILVA, V. P. et al. Evaluation of *Arthrobacter aurescens* strain TC1 as bioaugmentation bacterium in soils contaminated with the herbicidal substance terbuthylazine. **PloS ONE**, v. 10, n. 12, p. e0144978. 2015.

SOUZA, W. M. **Influência dos atributos do solo na sorção e lixiviação do indaziflam em solos tropicais**. Dissertação de Mestrado, 2018. Universidade Federal de Viçosa, viçosa, MG, Brasil. Disponível em: <<https://www.locus.ufv.br/handle/123456789/22476>>. Acesso em: 29 mar. 2023.

SOUZA, W. M. **Mobilidade, persistência no solo e eficácia do indaziflam aplicado isoladamente e em mistura com outros herbicidas na cultura da cana-de-açúcar**. Tese de doutorado, 2022. Universidade Federal de Viçosa, viçosa, MG, Brasil. Disponível em: <https://locus.ufv.br/items/d6aba5ac-57fc-4107-ac1f-90d267dca836> Acesso em: 29 mar. 2024.

SUN, S. et al. Pesticide pollution in agricultural soils and sustainable remediation methods: a review. **Current Pollution Reports**, v. 4, n. 3, p. 240-250. 2018.

SVIRIDOV, A. V. et al. Microbial degradation of glyphosate herbicides. **Applied biochemistry and microbiology**, v. 51, p. 188-195. 2015.

TAVARES, S. R. L. **Fitorremediação em solo e água de áreas contaminadas por metais pesados provenientes da disposição de resíduos perigosos**. Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, p. 23-24. 2009.

TEJU, E. et al. Salting-out-assisted liquid-liquid extraction for the preconcentration and quantitative determination of eight herbicide residues simultaneously in different water samples with high-performace liquid chromatography. **Separation Science and Technology**, p. 1-11. 2017.

TOMPKINS, J. 2010. Pesticide Fact Sheet: Indaziflam. Environmental Protection Agency. Unites States. Disponível em: <http://www.epa.gov/opp00001/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-80818_26-Jul10.pdf> Acessado em: 20 de jan. de 2023.

TORRES, B.A. et al. Saflufenacil and indaziflam herbicide effects on agricultural crops and microorganisms. **African Journal of Agricultural Research**, v. 13, n. 16, 872-885. 2018.

VASCONCELOS, S. M. A. et al. Seleção de espécies tolerantes para a fitorremediação de solo contaminado com imazapic. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 19, n. 2, p. 149-158, 2020.

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

VIEIRA, R. F. et al. Soil microbial biomass C and symbiotic processes associated with soybean after sulfentrazone herbicide application. **Plant Soil**, v. 300, p. 95 – 103. 2007.

ZHANG, H. et al. Biodegradation of triazine herbicide metribuzin by the strain Bacillus sp. N1. **Journal of Environmental Science and Health – Part B**, v. 49, n. 2, p. 79-86. 2014.

Capítulo 1- Mobilidade e persistência do indaziflam no solo em sistemas de cultivo de soja e amendoim: abordagens biológicas e cromatográficas

RESUMO

Mobilidade e persistência do indaziflam no solo em sistemas de cultivo de soja e amendoim: abordagens biológicas e cromatográficas

O herbicida indaziflam é recomendado para a cultura da cana-de-açúcar e pode causar intoxicação em culturas sucessoras (*carryover*) como a soja e o amendoim devido ao longo período residual. Fato que demanda estudos para avaliar o tempo necessário entre aplicação e o cultivo das respectivas culturas. Diante disso, objetivou-se com esta pesquisa avaliar o período de ação residual do indaziflam para as culturas de soja e amendoim, bem como a mobilidade no solo do referido herbicida. Foram conduzidos dois experimentos em campo, um em Latossolo Vermelho-Amarelo na UEPE Horta Nova e outro em Latossolo Amarelo na UEPE Aeroporto, utilizando três doses do indaziflam (0,0; 40; 80 g ha⁻¹ do i.a.). No experimento na UEPE Horta Nova, a cultura da soja foi semeada aos 0, 180 e 540 dias após a aplicação (DAA) e o amendoim aos 0 e 180 DAA. Já na UEPE Aeroporto, as culturas do amendoim e da soja foram semeadas aos 0, 120 e 360 DAA. Foram realizadas avaliações de intoxicação, crescimento e produtividade de soja e amendoim. Aos 60 e 120 DAA foi realizada a avaliação da mobilidade do indaziflam no perfil do solo no experimento conduzido na UEPE Aeroporto, coletando-se amostras nas profundidades de 0-10 cm; 10-20 cm; 20-30 cm; 30-40 cm, para condução de ensaio biológico e análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). No experimento realizado na UEPE Horta Nova, observou-se que o indaziflam aplicado nas doses de 40 e 80 g ha⁻¹ do i.a. causou danos na cultura da soja semeada no dia da aplicação e aos 180 DAA, enquanto que aos 540 DAA não se verificou diferença em relação à testemunha. Para o amendoim verificou-se intoxicação de plantas, redução na população de plantas e produtividade quando o semeio foi realizado aos 0 e 180 DAA. No experimento conduzido na UEPE Aeroporto, quando a soja e o amendoim foram semeados no dia da aplicação nas doses de 40 e 80 g ha⁻¹ do i.a., as plantas não emergiram, enquanto que para o semeio aos 120 DAA houve sintomas leves de intoxicação nas plantas de soja e de amendoim com a dose de 80 g ha⁻¹ do i.a., sem diferença na produtividade. Para o semeio da soja e do amendoim aos 360 DAA, não se observou intoxicação nem efeitos sobre o crescimento e produtividade nas duas culturas. Quanto à mobilidade do indaziflam no perfil do solo, detectou-se aos 60 DAA, o herbicida por meio do bioensaio nas camadas de 0 a 10 cm e 10 a 20 cm para a dose de 80 g ha⁻¹ do i.a. e 0 a 10 cm para a dose de 40 g ha⁻¹ do i.a. Aos 120 DAA, não se detectou o herbicida em nenhuma das profundidades. Todavia, pela CLAE não foi possível

detectar e quantificar o herbicida em nenhuma das profundidades aos 60 e 120 DAA. Conclui-se que o indaziflam possui baixa mobilidade no solo e que há necessidade de aguardar um ano e meio para o semeio de culturas sensíveis.

Palavras-chave: *Arachis hypogaea*; *Glycine max*; Herbicida; *Carryover*.

ABSTRACT

Mobility and persistence of indaziflam in the soil in soybean and peanut cultivation systems: biological and chromatographic approaches

The herbicide indaziflam is recommended for use in sugarcane cultivation and may cause phytotoxicity in succeeding crops (*carryover*), such as soybean and peanut, due to its prolonged residual activity. This highlights the need for studies to determine the appropriate interval between herbicide application and the planting of these sensitive crops. Therefore, this research aimed to evaluate the residual activity period of indaziflam for soybean and peanut crops, as well as its mobility in the soil. Two field experiments were conducted: one on a Red-Yellow Latosol at the UEPE Horta Nova site, and the other on a Yellow Latosol at the UEPE Aeroporto site, using three rates of indaziflam (0.0; 40; and 80 g a.i. ha⁻¹). At the UEPE Horta Nova site, soybean was sown at 0, 180, and 540 days after application (DAA), and peanut at 0 and 180 DAA. At the UEPE Aeroporto site, both peanut and soybean were sown at 0, 120, and 360 DAA. Assessments of phytotoxicity, growth, and yield of soybean and peanut were carried out. At 60 and 120 DAA, the mobility of indaziflam in the soil profile was evaluated in the experiment at UEPE Aeroporto, with soil samples collected from 0–10 cm, 10–20 cm, 20–30 cm, and 30–40 cm depths for bioassays and high-performance liquid chromatography (HPLC) analysis. In the experiment conducted at UEPE Horta Nova, indaziflam applied at 40 and 80 g a.i. ha⁻¹ caused damage to soybean when sown on the day of application and at 180 DAA, while no differences compared to the untreated control were observed at 540 DAA. For peanut, plant injury, reduced stand, and yield losses were observed when sown at 0 and 180 DAA. In the UEPE Aeroporto experiment, when soybean and peanut were sown on the day of application with 40 and 80 g a.i. ha⁻¹, no plant emergence was observed. When sown at 120 DAA, slight phytotoxic symptoms were observed in both crops at the 80 g a.i. ha⁻¹ rate, but without yield losses. At 360 DAA, no phytotoxicity or adverse effects on growth and yield were observed in either crop. Regarding soil mobility, indaziflam was detected by bioassay at 60 DAA in the 0–10 cm and 10–20 cm layers at the 80 g a.i. ha⁻¹ rate, and in the 0–10 cm layer at the 40 g a.i. ha⁻¹ rate. At 120 DAA, no herbicide activity was detected in any soil layer. However, HPLC analysis was unable to detect or quantify indaziflam in any layer at either 60 or 120 DAA. It is concluded that indaziflam exhibits low mobility in the soil and that a waiting period of approximately one and a half years is necessary before planting sensitive crops.

Keywords: *Arachis hypogaea*; *Glycine max*; Herbicide; *Carryover*.

1. INTRODUÇÃO

O uso de herbicidas para o controle de plantas daninhas é prática indispensável na agricultura moderna, especialmente em culturas perenes com taxa de crescimento inicial lenta, como a cana-de-açúcar, em que a ação residual do herbicida deve se estender por períodos prolongados, evitando a reinfestação das plantas daninhas de modo a reduzir as perdas de rendimento e facilitar as operações de tratos culturais e colheita (SOUZA, 2022).

Dentre os herbicidas registrados para cana-de-açúcar que possuem longo período residual no solo, encontra-se o indaziflam (N-[(1R,2S)-2,6-dimethyl-2,3-dihydro-1H-inden-1-yl]-6-(1-fluoroethyl)-1,3,5-triazine-2,4-diamine), o qual vem sendo utilizado em aplicação em pré-emergência para o controle de plantas daninhas monocotiledôneas e dicotiledôneas (SEBASTIAN et al., 2017). Este herbicida pertence à classe química “fluoroalkyltriazine” e tem como mecanismo de ação a inibição da biossíntese de celulose (TOMPKINS, 2010).

No Brasil, além da cana-de-açúcar, esse herbicida encontra-se registrado para uso em banana, café, caju, citros, coco, dendê, goiaba, maçã, manga, uva, eucalipto e pinus (MAPA, 2022). O indaziflam possui como características físico-químicas baixa solubilidade em água ($0,0028 \text{ kg m}^{-3}$ a 20°C), o $K_{oc} < 1.000 \text{ mL g}^{-1}$ de carbono orgânico, o $pK_a = 3,5$ a 25°C e o $\log K_{ow}$ em pH 4; 7 ou 9 = 2,8 e tempo de meia-vida no solo ($t_{1/2}$) superior a 150 dias (LEWIS et al., 2016).

Apesar de prover o controle de plantas daninhas por período extenso, a utilização de herbicidas com persistência prolongada pode ser indesejável, podendo causar intoxicação de culturas sucessoras (*carryover*) como soja e amendoim, as quais são comumente cultivadas em rotação com a cana-de-açúcar (SOUZA, 2022). Estudos constataram que a aplicação do indaziflam na dose de 100 g ha^{-1} do i.a. no dia da semeadura do amendoim provocou intoxicação e redução na produtividade da cultura (TORRES et al., 2018). E a aplicação de 20 e 40 g ha^{-1} do i.a. de indaziflam em pré-emergência resultou na morte de plantas de soja após a emergência das plântulas (GUERRA et al., 2014).

A biodisponibilidade, a persistência e a mobilidade dos herbicidas no solo está relacionada as características do herbicida (solubilidade em água, coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}), coeficiente de sorção - K_d , coeficiente de sorção normalizado para matéria orgânica do solo - K_{oc} , constante de ionização ácido - pK_a , ou básica - pK_b , tempo de meia vida ($t_{1/2}$), volatilidade e fotodegradação) (COMINO et al., 2017), à atividade microbiana, condições ambientais (índice de precipitação pluviométrica/umidade, temperatura e

luminosidade) (DURÃES et al., 2018; PEREZ-LUCAS et al., 2020) e atributos do solo (capacidade de troca catiônica, pH, teor matéria orgânica, textura e origem mineralógica).

Portanto, objetivou-se nesta pesquisa avaliar como o intervalo de aplicação do herbicida indaziflam afeta o crescimento e a produtividade da soja e do amendoim em condições de campo, bem como a mobilidade do indaziflam no perfil do solo, por meio de ensaios biológicos e por cromatografia.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos dois experimentos em campo, o primeiro entre abril de 2020 e maio de 2022, em Latossolo Vermelho-Amarelo na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Manejo, Produção e Melhoramento de Hortaliças Graníferas Oleaginosas, Forragens e Eucalipto (UEPE Horta Nova), município de Cajuri-MG (20°77'61987 "S e 42°82'264"O e 693 m de altitude) e o segundo, entre novembro de 2021 e maio de 2023, em Latossolo Amarelo na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Produção de Grandes Culturas e Bioenergia (UEPE Aeroporto), município de Viçosa-MG (20°74'8231"S e 42°84'1574"O e altitude 660 m). Ambas as unidades são pertencentes ao Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa.

O clima da região é classificado como Cwa, com temperaturas e precipitação maiores no verão e menores no outono/inverno. Os dados de precipitação pluviométrica e de temperatura média nos períodos dos respectivos experimentos, estão apresentados na Figura 1 (INMET, 2023).

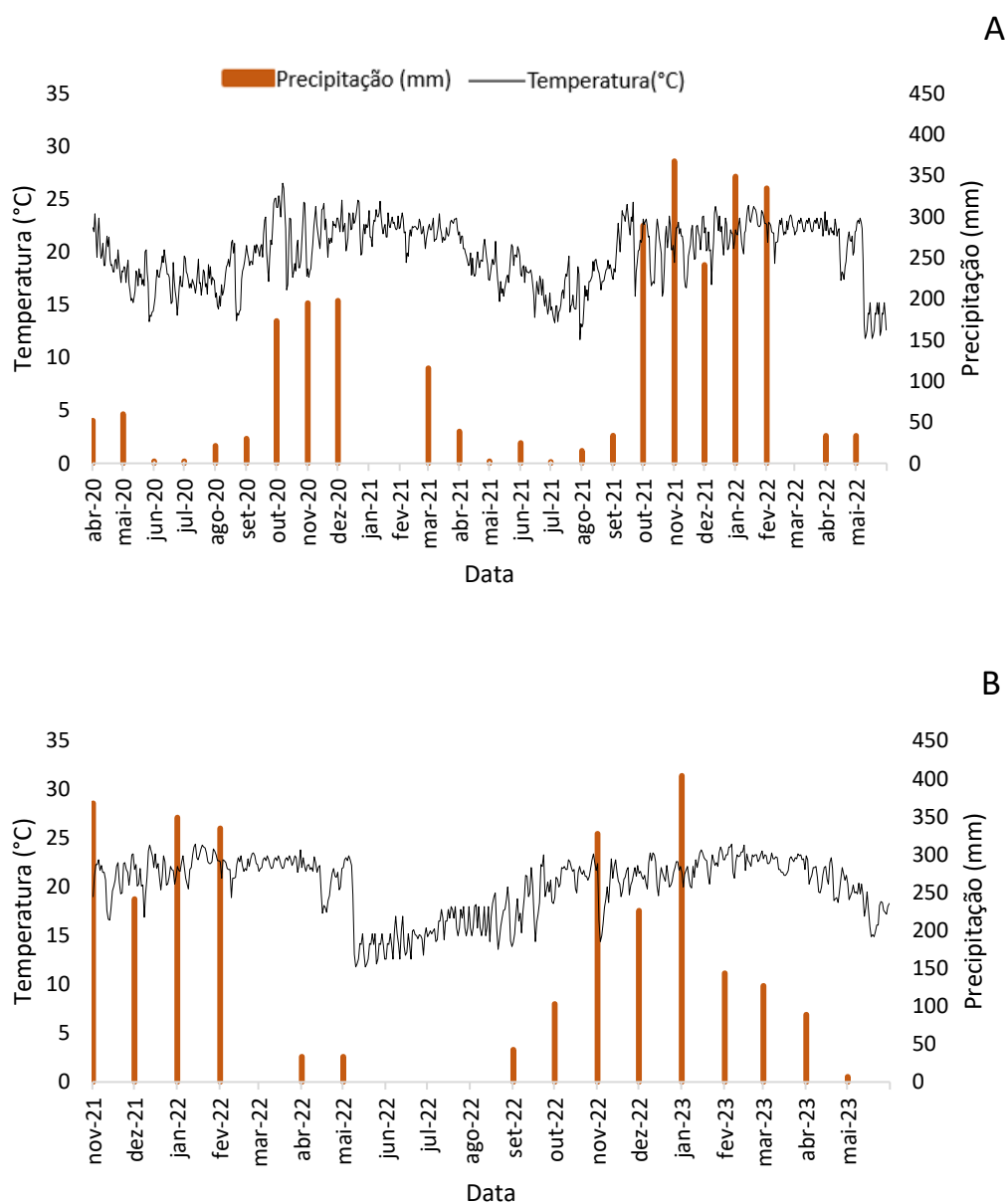


Figura 1. Precipitação pluviométrica e temperatura média do período de abril de 2020 a maio de 2022 quando foi conduzido o experimento na UEPE Horta Nova, Cajuri-MG (A) e no período de novembro de 2021 a maio de 2023 quando foi conduzido o experimento na UEPE Aeroporto, Viçosa-MG (B).

Na tabela 1 estão apresentados os resultados das análises química e física dos solos, no caso, o Latossolo Vermelho-Amarelo da UEPE Horta Nova e o Latossolo Amarelo, da UEPE Aeroporto, coletadas na camada de 0 a 20 cm de profundidade.

Tabela 1. Características físico-químicas das amostras do solo do Latossolo Vermelho-Amarelo (LVA) da UEPE Horta Nova e do Latossolo Amarelo (LA) da UEPE Aeroporto, coletados nas profundidades de 0-20 cm.

Solo	pH	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H ⁺ Al	SB	t	T	V
	(H ₂ O)	(mg dm ⁻³)	----- (cmolc dm ⁻³) -----							(%)	
LVA (Horta Nova)	5,85	30,4	72	2,46	0,61	0,0	2,30	2,59	3,25	5,55	58,6
LA (Aeroporto)	5,8	6,6	21	1,85	0,69	0,1	2,97	2,59	2,69	5,56	46,6
Areia		Silte		Argila		Classe textural				MO	
----- % -----										(dag kg ⁻¹)	
LVA (Horta Nova)	(Horta	47,6	14	38,4		Franco-Argiloso				1,52	
LA (Aeroporto)		53	12	35		Franco-Argilo-Arenosa				1,75	

¹pH: água, KCl e CaCl₂- relação 1:2,5. P-K: Extrator Mehlich 1. Ca-Mg e Al: Extrator: KCl - 1 mol L⁻¹. H + Al - Acidez potencial – Extrator: acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹; SB - Soma de bases trocáveis; t – Capacidade de troca catiônica efetiva; T - Capacidade de troca catiônica a pH 7,0; V - Índice de saturação de bases; m - Índice de saturação de alumínio; MO – Matéria orgânica

²Análises realizadas segundo a metodologia da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 1997).

2.1 Experimento UEPE Horta Nova (Latosolo Vermelho-Amarelo)

O experimento foi conduzido avaliando-se 03 doses do herbicida indaziflam (0,0; 40 e 80 g ha⁻¹ do i.a.), com a cultura da soja semeada no dia da aplicação do herbicida (0 DAA), 180 dias após a aplicação (DAA) e 540 DAA, enquanto que para a cultura do amendoim os semeios foram realizados aos 0 DAA e aos 180 DAA. O semeio da soja e do amendoim da época 1 (Figura 1A), aos 0 (zero) dias após a aplicação foi realizado no dia 23 de abril de 2020.

O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados, com quatro repetições. Cada unidade experimental (parcela) possuía dimensões de quatro por sete metros, com as parcelas de soja e amendoim dispostas lado a lado, para as respectivas doses, com oito fileiras de soja e de amendoim espaçadas de 50 cm.

O ensaio conduzido com semeio aos 360 DAA foi inviabilizado devido ao ataque de animais silvestres na área experimental e o ressemeio tornou-se inviável devido ao período do ano, pois os danos foram gerados no mês de maio e as condições climáticas no final do outono/início do inverno inviabilizaram a condução dos cultivos. Aos 540 DAA, as sementes adquiridas de amendoim não germinaram adequadamente, sendo conduzido apenas o ensaio de soja.

2.2 Experimento UEPE Aeroporto (Latossolo Amarelo)

No ensaio conduzido no Latossolo Amarelo da UEPE Aeroporto, foram avaliados os mesmos tratamentos do ensaio conduzido na UEPE Horta Nova, sendo três doses do herbicida indaziflam (0,0; 40 e 80 g ha⁻¹ do i.a.), com as mesmas dimensões das parcelas, porém com semeio de cinco fileiras de soja ou amendoim espaçadas de 50 cm na área central da parcela.

A aplicação do indaziflam foi realizada no dia 26 de novembro de 2021. O semeio das culturas da soja e do amendoim foram realizados no dia da aplicação do herbicida (0 DAA), 120 DAA e 360 DAA. Entretanto, as sementes do amendoim utilizadas no semeio aos 0 DAA, que coincide como o semeio aos 540 DAA no experimento da UEPE Horta Nova, apresentaram problema de germinação, tornando inviável as conduções das respectivas fases do trabalho, com isso, foram apresentadas apenas os dados de 120 e 360 DAA.

2.3 Preparo do solo, adubação, semeio e aplicação do herbicida

Em ambos os experimentos, o preparo do solo antes da aplicação do herbicida foi realizado por meio de uma aração e duas gradagens, seguido de abertura de sulcos espaçados de 0,50 m, com 12 sementes por metro linear para soja e quatro sementes por metro linear para o amendoim. No caso dos semeios nas demais datas, foi realizado a abertura de sulcos manualmente, no sentido de evitar o revolvimento do solo e o controle de plantas daninhas, quando necessário, foi realizado manualmente, por meio de capinas.

A adubação utilizada foi de 250 kg ha⁻¹ da formulação NPK 08-28-16 para as duas culturas, por ocasião do semeio e 150 kg ha⁻¹ de ureia aos 30 dias após a emergência das plântulas.

A aplicação do herbicida foi realizada no dia do plantio, após o semeio das culturas, utilizando-se pulverizador pressurizado por CO₂, mantido à pressão constante de 2,0 bar, com barra com duas pontas TT110 02 espaçadas de 0,50 m entre si, com volume de calda de 160 L ha⁻¹.

2.4 Características avaliadas para cultura da soja

Intoxicação da cultura: aos 28 dias após o plantio foram realizadas avaliações visuais de intoxicação, atribuindo-se notas de 0 a 100, onde 0 corresponde à ausência de sintomas de intoxicação e 100, morte das plantas.

População de plantas: foi realizada com a soja no estágio R8, contando-se as plantas de duas fileiras de 4,0 m na área útil para se obter o número de plantas por metro linear.

Altura de plantas: foi obtida a partir da média da distância vertical entre o solo e o ápice de 10 plantas por parcela, dentro da área útil, no estágio R8.

Produtividade: foi determinada por meio da colheita de duas fileiras de 4,0 m dentro da área útil da parcela, cerca de 10 dias após as plantas se encontrarem no estágio R8, para determinação da produtividade em kg ha^{-1} , com umidade corrigida para 13%.

2.5 Características avaliadas para cultura do amendoim

Intoxicação da cultura: aos 28 dias após o plantio foram realizadas avaliações visuais de intoxicação, atribuindo-se notas de 0 a 100, onde 0 corresponde à ausência de sintomas de intoxicação e 100, morte das plantas.

População de plantas: foi realizado por meio da contagem de plantas em duas fileiras de 4,0 m, por ocasião da colheita, para se obter o número de plantas por metro linear.

Altura de plantas: foi obtida a partir da média da distância vertical entre o solo e o ápice de 10 plantas por parcela, dentro da área útil, por ocasião da colheita.

Comprimento de raízes: foi medido em quatro plantas por parcela, dentro da área útil, com estas sendo arrancadas com pá de corte e medição entre o coleto das plantas e a parte apical das raízes, por ocasião da colheita.

Número de vagens por planta: foi obtida a partir da contagem das vagens de 10 plantas dentro da área útil da parcela, por ocasião da colheita.

Produtividade: foi determinada por meio da colheita de duas fileiras de 4,0 m dentro da área útil da parcela, por ocasião da colheita. Após a colheita, as vagens foram secas à sombra e debulhadas manualmente para posterior pesagem e conversão para produtividade em kg ha^{-1} .

2.6 Avaliação da mobilidade do indaziflam no perfil do solo

No ensaio conduzido na UEPE Aeroporto, foram coletadas amostras nas camadas de solo de 0-10 cm; 10-20 cm, 20-30 cm e 30-40 cm (Figura 2), aos 60 e 120 DAA para avaliação da mobilidade do indaziflam no perfil do solo, por meio de ensaios biológicos, utilizado o sorgo (*Sorghum bicolor*) como planta indicadora da presença do indaziflam (BRAGA, 2017) e por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).



Figura 2. Demonstração da coleta de solo nas profundidades de 0-10 cm; 10-20 cm, 20-30 cm e 30-40 cm, aos 60 e 120 dias após a aplicação para avaliação da mobilidade do indaziflam no perfil do solo.

2.6.1 Detecção pelo bioensaio/ensaio biológico

As amostras de solo coletadas no campo foram acondicionadas em vasos de polietileno de 0,2 L, com fundos vedados, os quais foram colocados em casa de vegetação. Posteriormente, semeou-se cinco sementes de *Sorghum bicolor* (sorgo) como planta indicadora da presença do indaziflam (BRAGA, 2017). Após a emergência das plântulas foi realizado desbaste, deixando-se três plantas de sorgo. Aos 7 e 14 dias após emergência (DAE) foi adicionado 5 mL por vaso de solução nutritiva composta por fosfato monopotássico ($3,5 \text{ g L}^{-1}$) e sulfato de amônio ($8,0 \text{ g L}^{-1}$).

Aos 07, 14 e 21 DAE da espécie indicadora, foram realizadas avaliações visuais de intoxicação nas plantas, atribuindo-se notas de 0 (zero) a 100%, onde 0 corresponde à ausência de sintomas e 100, morte das plantas. Aos 21 DAE, a massa de matéria seca da parte aérea e

das raízes foram obtidas por meio de pesagem do material colhido e secado em estufa de circulação forçada (70 ± 2 °C) por 72 horas.

2.6.2 Detecção por CLAE para o indaziflam

Utilizou-se a técnica de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT) de acordo com a metodologia proposta por Romero et al. (2018). Pesou-se 4,00 g de cada amostra de solo, em tubos falcon com capacidade de 50,00 mL. Posteriormente, foi adicionado aos tubos 14,00 mL de solução extratora, contendo 8,00 mL de acetonitrila, 4,10 mL de água milli-q e 1,90 mL de acetato de etila. Em seguida, os tubos foram agitados em vortex, por 1,0 minutos, para homogeneização da solução, e acondicionados em freezer à temperatura de -20 °C por quatro horas.

Após o período de repouso no freezer, realizou-se a filtragem da fração não congelada, contendo extrato orgânico (solventes + herbicida) em filtros de papel, para balões de fundo redondo com capacidade de 50,0 mL, sendo adicionados 1,00 g de sulfato de sódio anidro, para condicionamento (OECD, 2000). Em seguida, os balões foram levados ao evaporador rotativo (80 rpm a 50°C), para evaporação dos solventes, permanecendo somente o indaziflam no recipiente. Em seguida, este conteúdo foi lavado com três alíquotas de 0,50 mL de acetonitrila e filtrado em filtro milipore com membrana PTFE de 0,45 µm diretamente para “vials” com capacidade de 1,50 mL, para análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Foi utilizado o instrumento de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), modelo Shimadzu LC 20AT Japão, com detector UV/vis (Shimadzu SPD-20A) e coluna de aço inoxidável C18 (VP, Shimadzu Shim-pack ODS 150 x 6 mm x 4 mm id.). Como fase móvel foi utilizada acetonitrila e água (acidificada com 0,01% de ácido fosfórico) na proporção de 43:57 (V:V), com volume de injeção de 20 µL, a um fluxo de 1,0 mL min⁻¹. O comprimento de onda avaliado foi de 210 nm e a temperatura do forno da coluna foi ajustado para 30 °C. A quantificação foi realizada por curva de calibração externa.

2.7 Análise estatística

Após a coleta e tabulação dos dados, estes foram submetidos à análise de variância e em caso de significância foi realizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para o bioensaio foi utilizado estatística descritiva.

3. RESULTADOS

3.1 Experimento na UEPE Horta Nova – cultura da soja

Houve danos causados na cultura da soja quando o semeio foi realizado no dia da aplicação (0 DAA) e aos 180 DAA, com intoxicação de plantas, redução de população, altura de plantas e produtividade para as doses de 40 e 80 g ha⁻¹ do i.a. do indaziflam em relação à testemunha sem herbicida (0 g ha⁻¹ do i.a.) (Figura 3). Perdas mais acentuadas foram observados na maior dose (80 g ha⁻¹ do i.a.), com redução da produtividade de 50,98% e 19,26% aos 0 DAA e 180 DAA, respectivamente, em relação a testemunha sem herbicida (Figura 3).

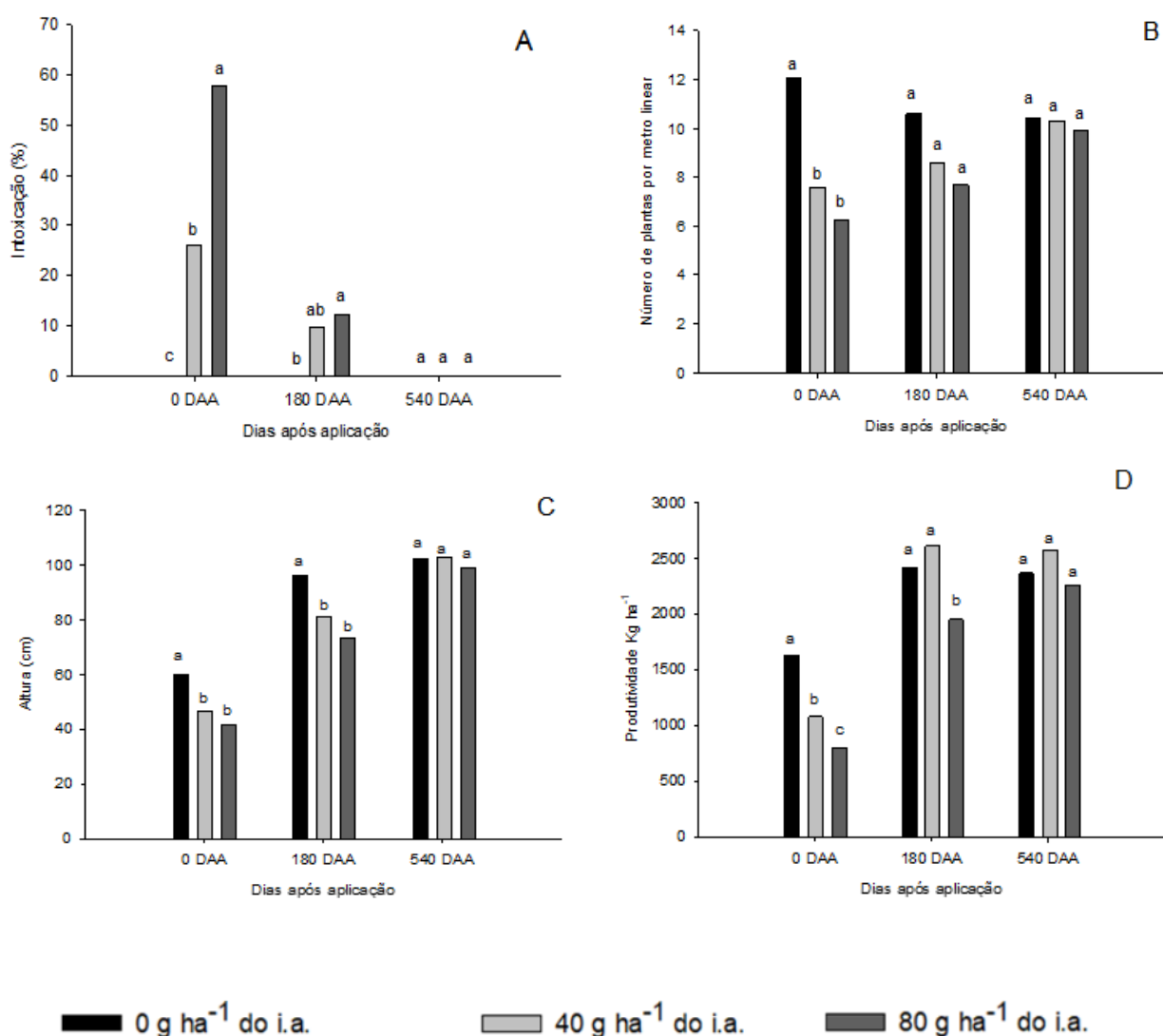


Figura 3. Intoxicação de plantas (A), número de plantas por metro linear (B), altura de plantas (C) e produtividade (D) de soja semeada no dia (0), 180, 540 dias após a aplicação (DAA) do indaziflam nas doses de 0, 40 e 80 g ha⁻¹ do i.a.

A Figura 4 ilustra a redução na população de plantas de soja na linha de plantio aos 30 dias após o semeio no tratamento com aplicação de 80 g ha^{-1} do i.a., no dia do plantio - 0 DAA (A) em relação à testemunha sem aplicação do herbicida - 0 g ha^{-1} do i.a. (B) e a redução no porte das plantas de soja para a dose de 80 g ha^{-1} do i.a. em relação à testemunha sem herbicidas (C).

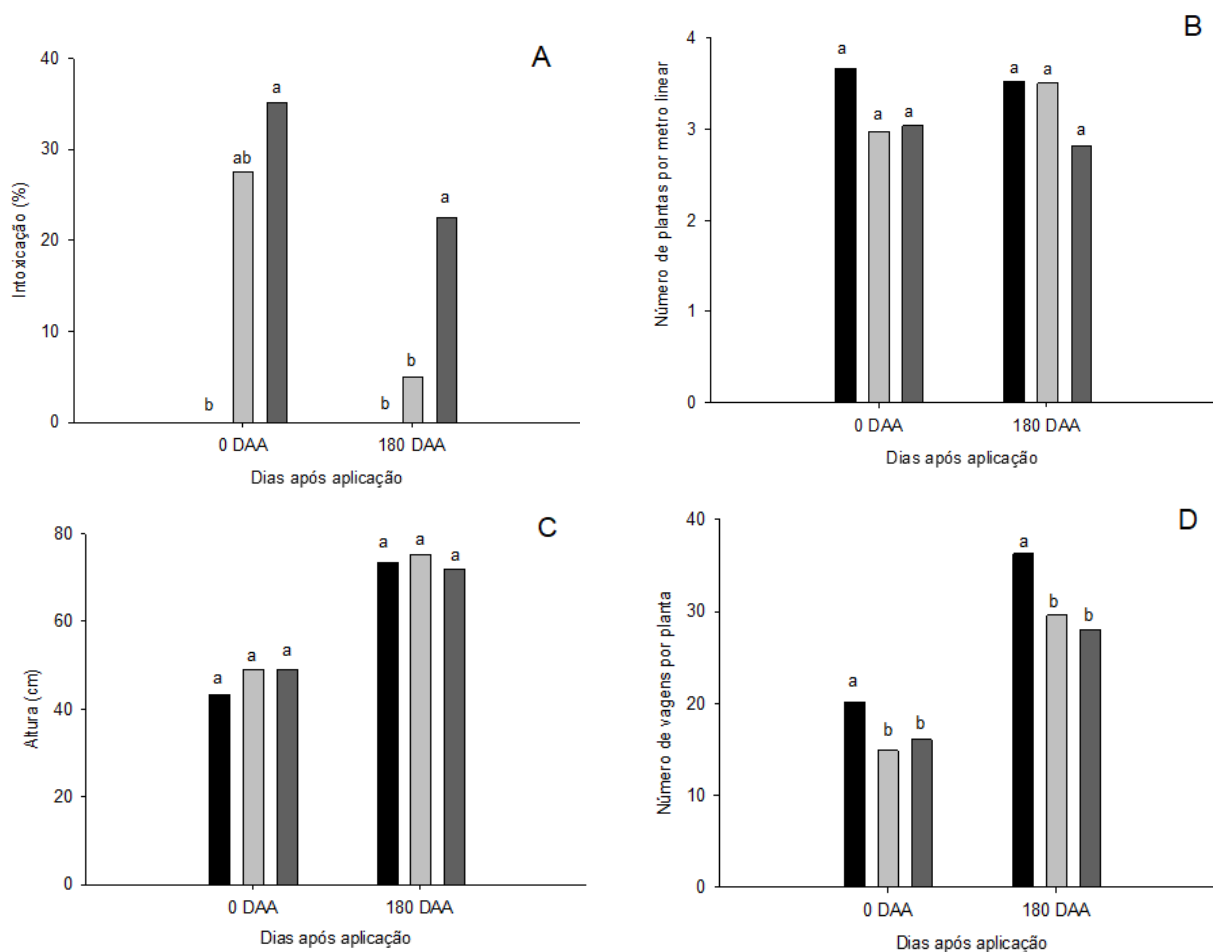


Figura 4. Intoxicação e redução na população soja aos 30 dias após o plantio no tratamento com aplicação de 80 g ha^{-1} do i.a do indaziflam no dia do plantio - 0 DAA (A) em relação à testemunha sem aplicação do herbicida - 0 g ha^{-1} do i.a. (B); Redução na altura de plantas de soja semeada aos 180 DAA na dose de 80 g ha^{-1} do i.a em relação à soja sem herbicida - 0 g ha^{-1} do i.a (C) e parcelas de soja semeadas aos 540 DAA sem danos à cultura (D).

Quando a soja foi semeada aos 540 DAA, que corresponde a aproximadamente um ano e meio após a aplicação, não se verificou diferença estatística em relação à testemunha para nenhuma das variáveis avaliadas (intoxicação, população e altura de plantas e produtividade) (Figura 3, Figura 4D), demonstrando que o período de 1,5 ano foi suficiente para se poder realizar o cultivo de soja nas condições do solo e clima ocorridos no período.

3.2 Experimento UEPE Horta Nova– cultura do amendoim

No experimento conduzido na UEPE Horta Nova para a cultura do amendoim, verificou-se intoxicação e redução no comprimento de raízes, número de vagens por planta e na produtividade quando o semeio foi realizado no dia da aplicação do herbicida - 0 DAA (Figura 5), com decréscimo de 33,69% na produtividade quando se aplicou a dose de 80 g ha⁻¹ do i.a., em relação a testemunha sem herbicida. Quando o semeio foi realizado aos 180 DAA, ainda se verificou intoxicação nas plantas de amendoim e consequentemente redução na produtividade (Figura 5), com danos mais evidentes na dose de 80 g ha⁻¹ do i.a., com redução de 32,32% na produtividade em relação ao tratamento sem aplicação de herbicida (Figura 6).



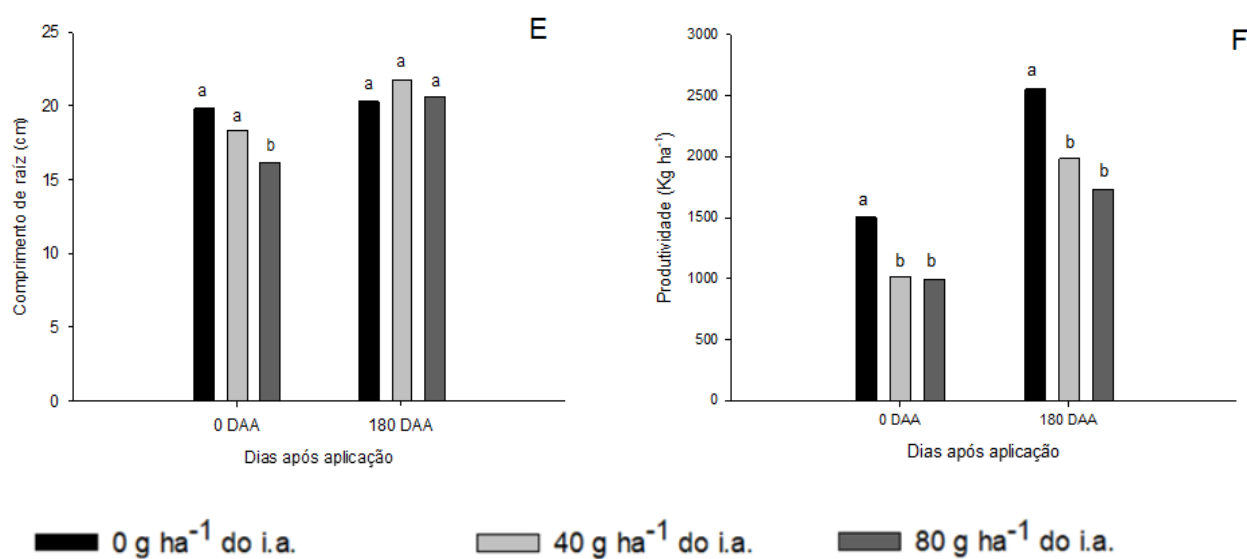


Figura 5. Intoxicação de plantas (A), número de plantas por metro linear (B), altura de plantas (C), número de vagens por planta (D), comprimento de raízes (E), e produtividade (F) de amendoim semeado no dia (0) e 180 dias após a aplicação (DAA) do indaziflam nas doses de 0, 40 e 80 g ha⁻¹ do i.a.



Figura 6. Redução no estande de plantas de amendoim na parcela com aplicação de 80 g ha⁻¹ do i.a de indaziflam em comparação à testemunha em semeio realizado aos 180 DAA.

3.3 Experimento na UEPE Aeroporto - cultura da soja

Para a cultura da soja, verificou-se que quando o semeio foi realizado no dia da aplicação do indaziflam (0 DAA), o nível de intoxicação da cultura causado pelo herbicida aplicado nas doses de 40 e 80 g ha⁻¹ do i.a. foi de 100%, não havendo emergência das plântulas.

Quando o semeio da soja foi realizado aos 120 DAA do indaziflam, verificou-se aos 28 dias após a emergência, sintomas leves de intoxicação nas plantas de soja, com as plantas se recuperando posteriormente (Figura 7).

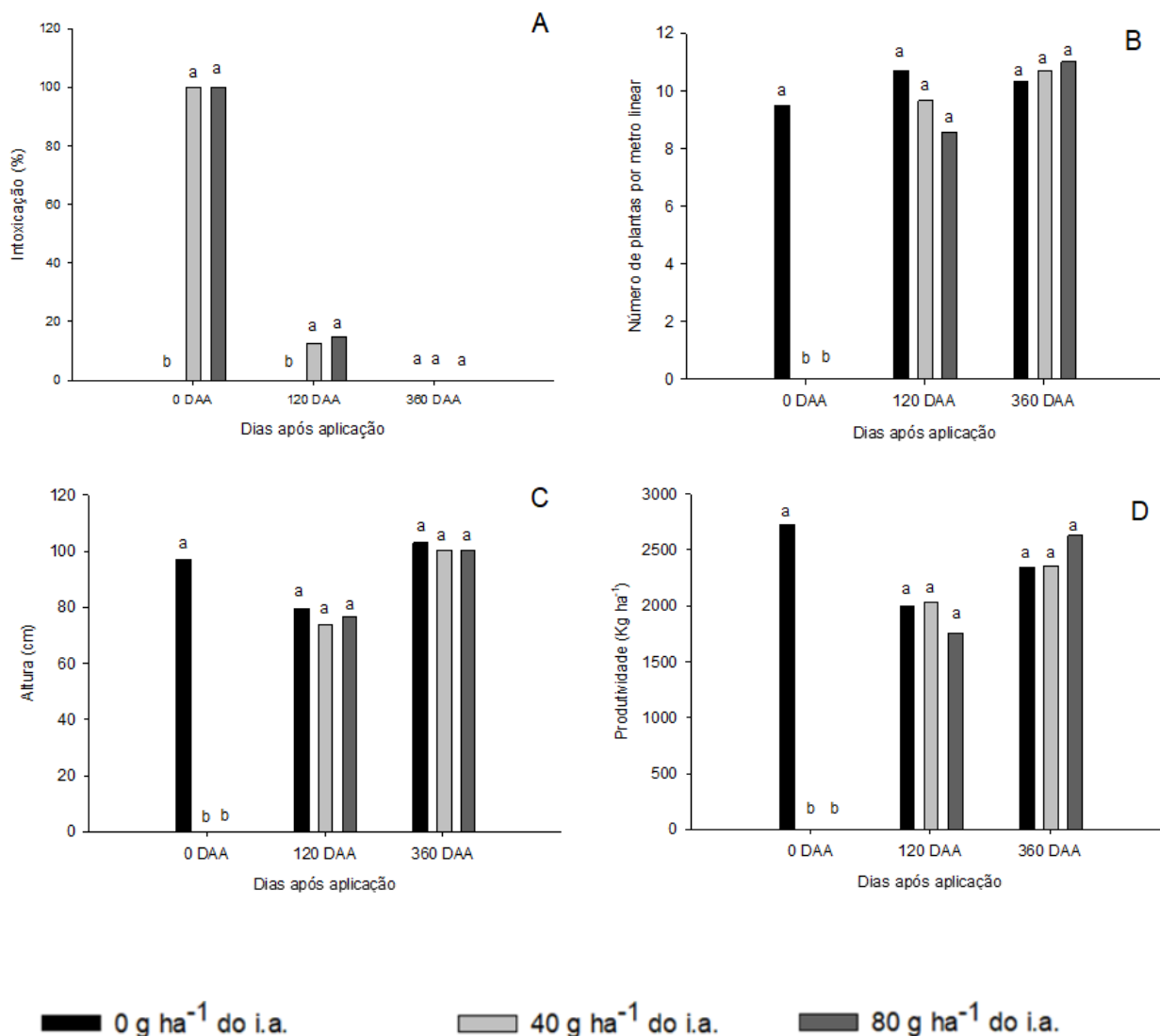
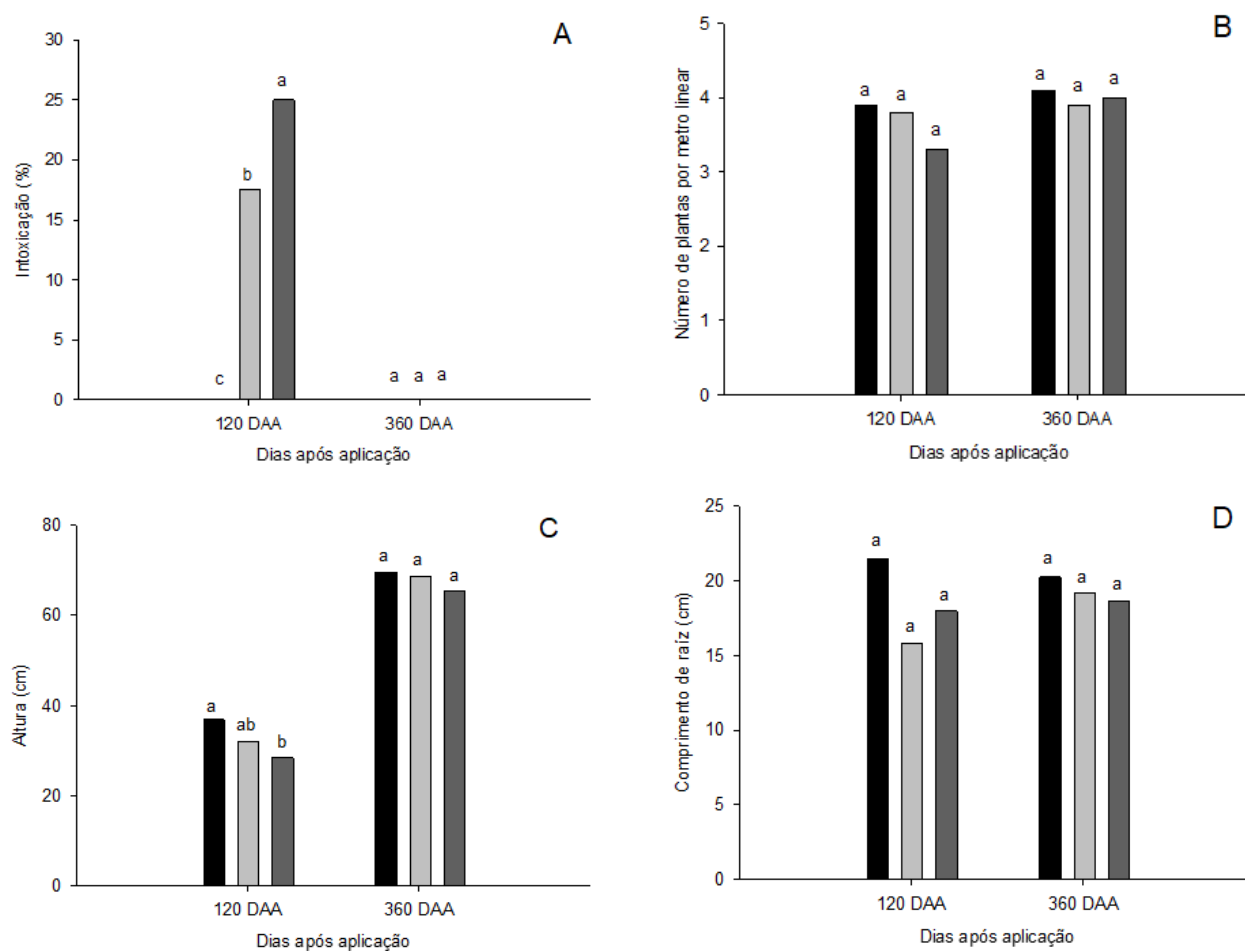


Figura 7. Intoxicação de plantas (A), número de plantas por metro linear (B), altura de plantas (C) e produtividade (D) de soja semeada no dia (0), 120, 360 dias após a aplicação (DAA) do indaziflam nas doses de 0, 40 e 80 g ha⁻¹ de i.a.

Quando o semeio da soja foi realizado aos 360 DAA, não se observou sintomas visíveis de intoxicação nas plantas, nem alteração na altura de plantas, população de plantas e produtividade (Figura 7).

3.4 Experimento na UEPE Aeroporto – cultura do amendoim

No experimento com amendoim no Latossolo Amarelo da UEPE Aeroporto, houve problemas na germinação do amendoim semeado no dia da aplicação do indaziflam, desse modo, somente foram apresentados os dados relativos aos semeios realizados aos 120 DAA e 360 DAA (Figura 8).



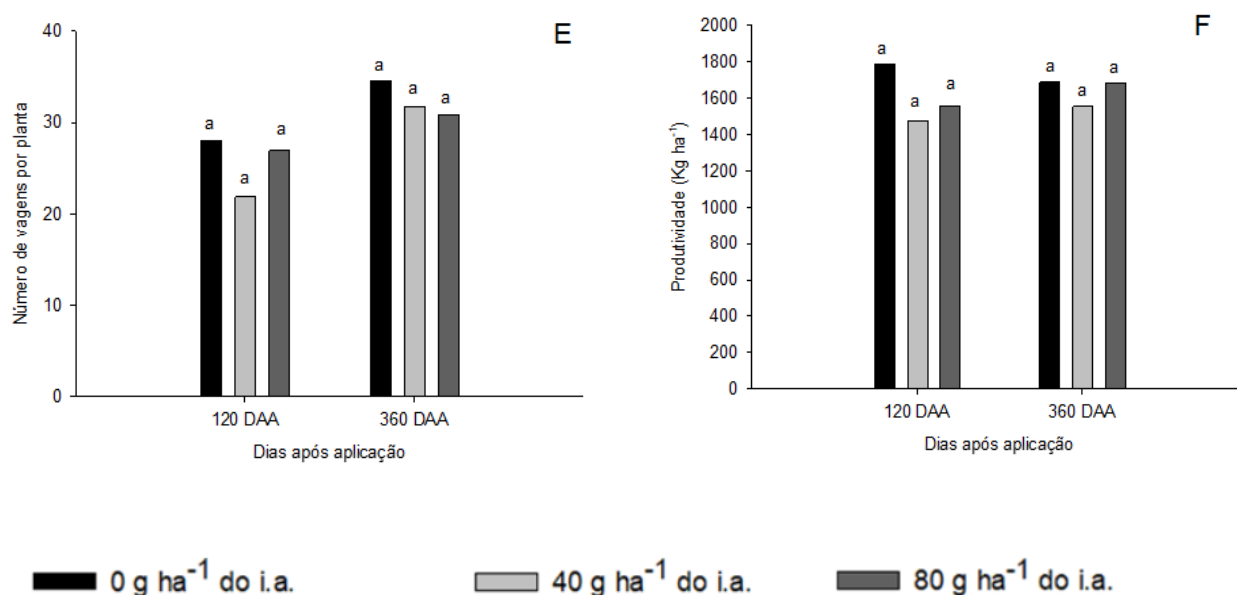


Figura 8. Intoxicação de plantas (A), número de plantas por metro linear (B), altura de plantas (C), comprimento de raízes (D), número de vagens por planta (E) e produtividade (F) de amendoim semeado aos 120 e 360 dias após a aplicação (DAA) do indaziflam nas doses de 0, 40 e 80 g ha⁻¹ do i.a.

Para o semeio realizado aos 120 DAA, houve intoxicação nas plantas de amendoim, na ordem de 20 a 30% para as doses de 40 e 80 g ha⁻¹ do i.a. de indaziflam (Figura 8 e Figura 9). Entretanto, as variáveis número de plantas por metro linear, altura de plantas, comprimento de raízes, número de vagens por planta e produtividade, não diferiram estatisticamente entre os tratamentos (Figura 8).



Figura 9. Fotos do amendoim semeado aos 120 DAA (A) e 360 DAA (B).

Quando o semeio foi realizado aos 360 DAA, não se verificou evidências de danos causados pelo indaziflam em nenhuma das variáveis avaliadas, independente da dose aplicada, indicando não haver ação residual do herbicida sobre a cultura (Figura 9B).

3.5 Ensaio biológico para avaliação da persistência e potencial de lixiviação do indaziflam

Os resultados obtidos no ensaio biológico com sorgo como planta indicadora da presença do herbicida indicam resíduo no solo até a profundidade de 20 cm para a dose de 80 g ha⁻¹ do i.a. do indaziflam e até 10 cm para a dose de 40 g ha⁻¹ do i.a., indicando que o referido herbicida possui baixa mobilidade no solo, mesmo tendo ocorrido precipitação pluviométrica superior a 600 mm nesse período (Figura 10).

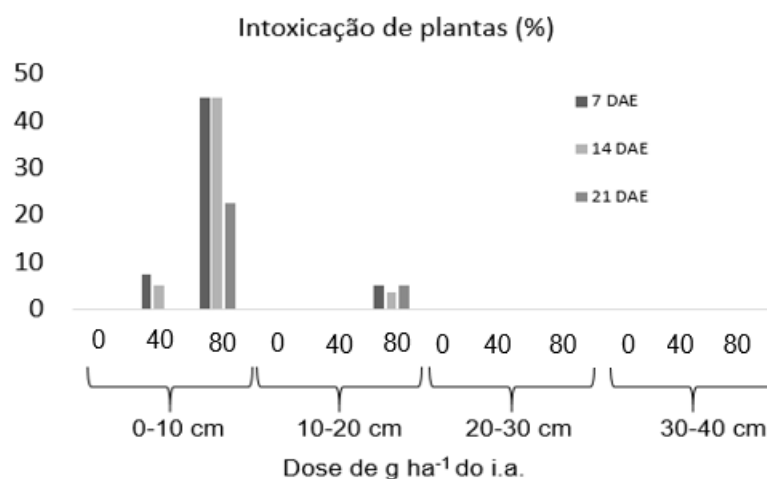


Figura 10. Intoxicação de plantas de sorgo em ensaio biológico conduzido em solos coletados nas profundidades de 0 a 10 cm, 10 a 20 cm, 20 a 30 cm e 30 a 40 cm, aos 60 dias após a aplicação (DAA) do indaziflam nas doses de 0,0, 40 e 80 g ha⁻¹ para avaliações realizadas aos 07, 14 e 21 dias após a emergência (DAE).

A dose de 80 g ha⁻¹ do i.a. do indaziflam resultou no menor acúmulo de massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) e de raízes (MSR) em relação à testemunha sem herbicida. A dose de 40 g ha⁻¹ do i.a. nas profundidades de 0 a 10 cm e 10 a 20 cm (Figura 11), também resultou em menor taxa de crescimento em relação à testemunha sem herbicida.

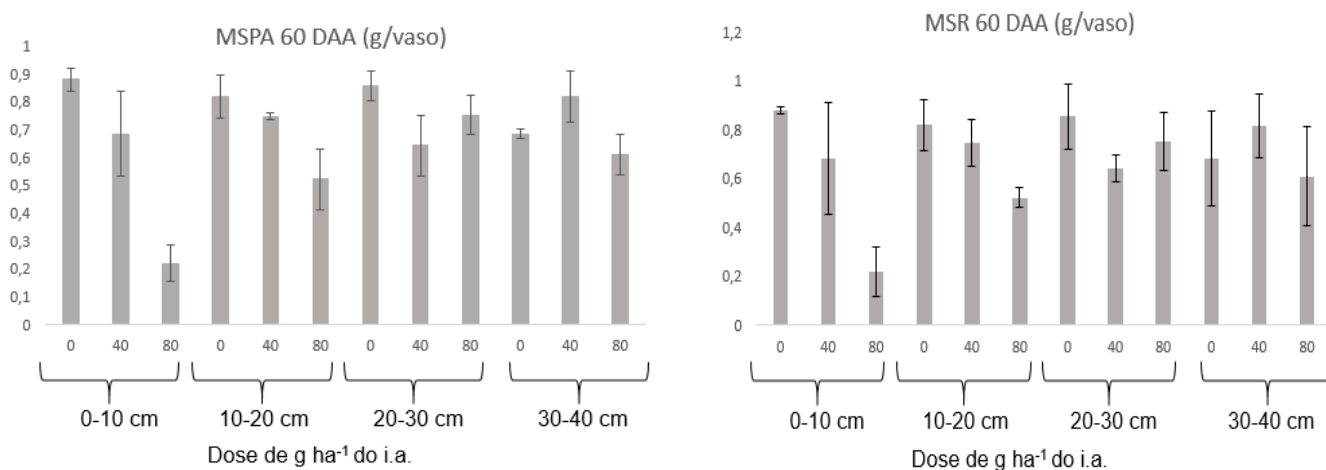


Figura 11. Massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) e de raízes (MSR) de plantas de sorgo em ensaio biológico conduzido em solos coletados nas profundidades de 0 a 10 cm, 10 a 20 cm, 20 a 30 cm e 30 a 40 cm, aos 60 dias após a aplicação do indaziflam nas doses de 0,0, 40 e 80 g ha⁻¹ do i.a e os desvios-padrão.

O maior acúmulo do indaziflam na camada superficial do solo, mesmo com intensa precipitação pluviométrica, fica evidentes na Figura 12, onde houve menor crescimento das plantas de sorgo para as doses de 40 e 80 g ha⁻¹ do i.a. na profundidade de 0 a 10 cm em relação à testemunha sem herbicidas e às demais profundidades.

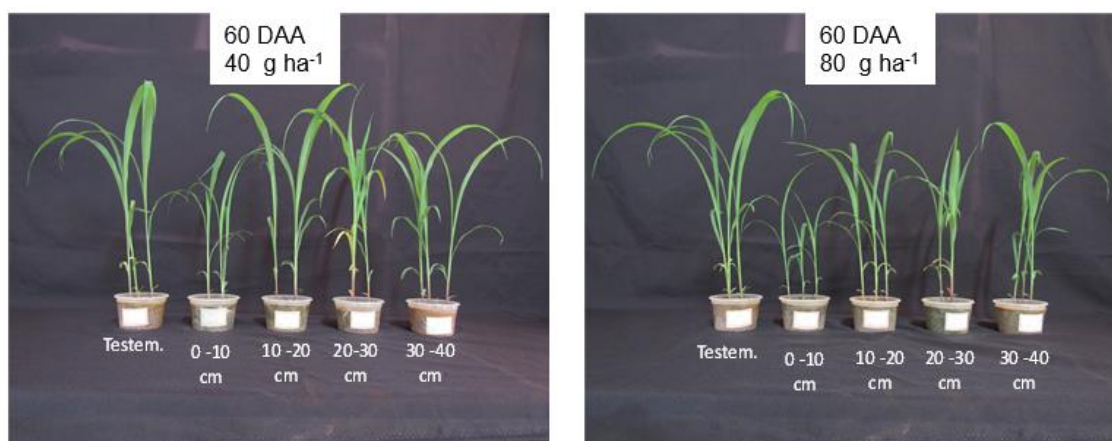


Figura 12. Foto de plantas de sorgo em ensaio biológico conduzido em solos coletados nas profundidades de 0 a 10 cm, 10 a 20 cm, 20 a 30 cm e 30 a 40 cm, aos 60 dias após a aplicação (DAA) do indaziflam nas doses de 40 e 80 g ha⁻¹ do i.a.

Aos 120 DAA não foram observados nenhum sintoma visível de intoxicação nas plantas de sorgo (dados não apresentados), nem diferenças no acúmulo de matéria seca da parte aérea

e de raízes para as diferentes doses do herbicida, dentro de cada profundidade de solo coletado no campo (Figura 13 e Figura 14).

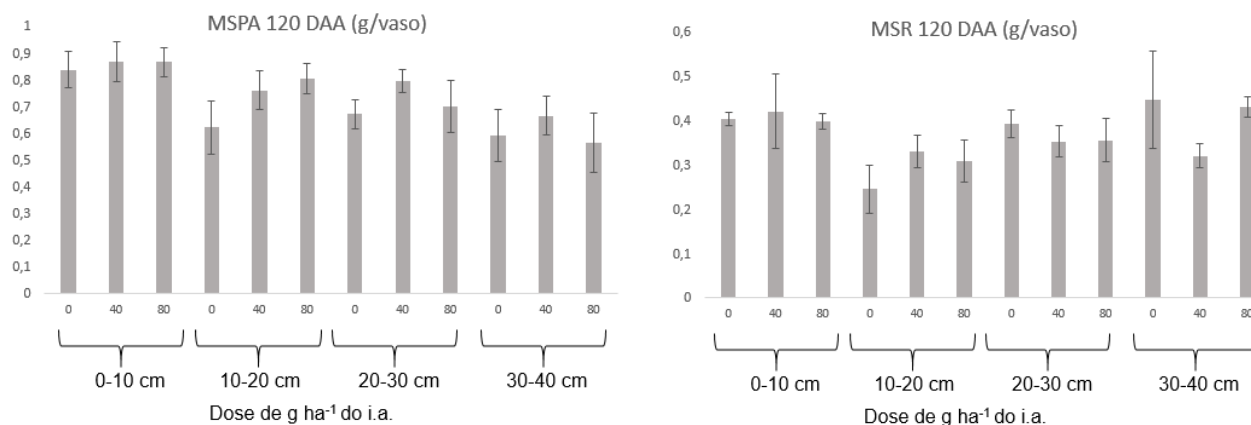


Figura 13. Massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) e de raízes (MSR) de plantas de sorgo em ensaio biológico conduzido em solos coletados nas profundidades de 0 a 10 cm, 10 a 20 cm, 20 a 30 cm e 30 a 40 cm, aos 120 dias após a aplicação (DAA) do indaziflam nas doses de 0,0, 40 e 80 g ha⁻¹ do i.a e os desvios-padrão.



Figura 14. Foto de plantas de sorgo em ensaio biológico conduzido em solos coletados nas profundidades de 0 a 10 cm, 10 a 20 cm, 20 a 30 cm e 30 a 40 cm, aos 120 dias após a aplicação (DAA) do indaziflam nas doses de 40 e 80 g ha⁻¹ do i.a.

3.6 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência para avaliação da persistência e potencial de lixiviação do indaziflam

Não foi possível detectar e quantificar o herbicida indaziflam nas amostras de solo pelo método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Dessa forma, foi realizado a curva de linearidade para amostra única de solo (Figura 15), onde a partir da mesma foram calculados os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ). O limite de detecção (LD) foi de 0,014 mg kg⁻¹ e o limite de quantificação (LQ) foi de 0,044 mg kg⁻¹.

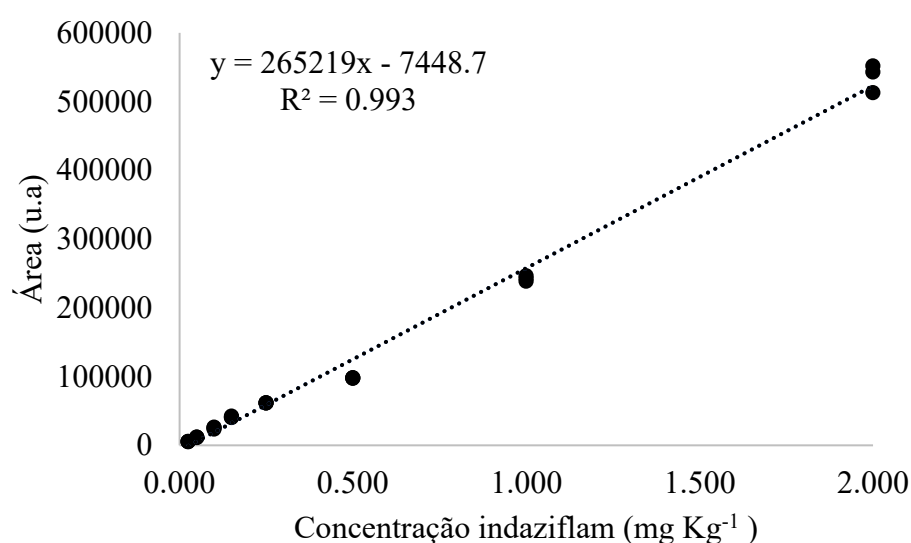


Figura 15. Curva analítica para o indaziflam em acetonitrila em Latossolo Amarelo (LA) da UEPE Aeroporto.

4. DISCUSSÃO

Para o experimento conduzido na UEPE Aeroporto, não se verificaram danos causados na cultura da soja quando o semeio foi realizado aos 360 DAA. Entretanto, deve-se considerar que o herbicida foi aplicado no dia 26 de novembro, tendo chovido mais de 80 mm no dia seguinte à aplicação e que a precipitação pluviométrica acumulada nos meses de dezembro de 2021 a fevereiro 2022 foi de 925 mm (Figura 1B), somando mais de 1.000 mm nos primeiros 120 dias que sucederam a aplicação. Isso aliados às temperaturas elevadas no período, favorecem a dissipação do herbicida no solo.

Entretanto, no experimento conduzido na UEPE Horta Nova, observou-se danos mais severos nas culturas da soja e do amendoim, do que no ensaio conduzido na UEPE Aeroporto. Fato que pode estar relacionado às condições climáticas no período que sucedeu a aplicação do herbicida, em que a aplicação foi realizada em 20 de abril de 2020 e a precipitação pluviométrica ocorrida no período de 180 dias foi de apenas 485 mm (Figura 1A), portanto, bem inferior ao ensaio na UEPE Aeroporto (1000 mm em 120 dias). Ademais, as temperaturas no período que sucederam a aplicação do herbicida no ensaio conduzido na UEPE Horta Nova foram inferiores, desfavorecendo a dissipação do herbicida, principalmente, devido à degradação microbiana. As características ambientais como temperatura e umidade influenciam na atividade dos micro-organismos no solo, podendo aumentar ou diminuir a degradação de compostos (RAMBORGER et al., 2017).

Os herbicidas em geral, são dissipados ao longo do tempo, devido a ação da microbiota do solo sob influência das condições climáticas (LIU et al., 2018), o que pode explicar o que ocorreu nesse trabalho. Sabe-se que a principal via de degradação dos herbicidas no solo é a microbiana e que os organismos atuam de forma conjunta, podendo utilizar a molécula como fonte de energia para o seu metabolismo e, ou secretando enzimas que promovem a degradação dos herbicidas (ZIMDAHL, 2018).

Em ambos os experimentos observou danos mais severos quando o indaziflam foi aplicado na maior dose (80 g ha⁻¹ do i.a.). Estudos avaliando a ação residual do herbicida indaziflam nas doses de 0, 6,5, 12,5, 25, 50 e 100 g ha⁻¹ do i.a., na cultura do amendoim, observaram fitotoxicidade de até 80% das plantas nas maiores dosagens quando a aplicação foi realizada no dia da semeadura (TORRES et al., 2018). A soja demonstrou alta sensibilidade à aplicação do indaziflam, ocorrendo emergência no solo tratado com doses de 20 e 40 g ha⁻¹ do i.a., porém, estas plantas morreram após alguns dias (GUERRA et al., 2014). Da mesma forma, as plantas de crotalaria, soja e amendoim mostraram-se suscetíveis ao indaziflam, independente da dose aplicada (12,5; 25,0; 50,0; 100 e 200 g ha⁻¹ do i.a.) e do período de semeadura (0, 10, 20, 40 e 60 dias após aplicação do indaziflam) (SCHEDENFFELDT, 2023).

Em face ao exposto, sugere-se aguardar pelo menos um ano e meio para se fazer o semeio seguro da soja ou do amendoim sem danos resultantes do *carryover* para a cultura, até porque, os dois experimentos foram conduzidos em solos com textura franco-argilosa (LVA – UEPE Horta Nova) e franco-argilo-arenosa (LA – Aeroporto), com teor de matéria orgânica de 1,52 e 1,75, respectivamente e pH de 5,8 para os dois solos (Tabela 1). Todavia, em solos com

textura arenosa e baixo teor de matéria orgânica, que influencia na atividade microbiana, o período de ação residual do herbicida pode ser superior aos 360 dias.

Em relação à mobilidade do herbicida no solo, avaliado por meio do ensaio biológico, ficou evidente que o indaziflam possui baixo potencial de lixiviação, pois não foi detectado em profundidade superior a 20 cm, mesmo com intensa ocorrência de precipitação pluviométrica após a aplicação. Isto se deve às características do herbicida, especialmente a baixa solubilidade em água, e principalmente às características do solo, como o teor de matéria orgânica e textura. No caso desse solo, o teor de 1,75% de matéria orgânica e textura franco-argilo-arenosa podem ter favorecido a retenção do herbicida na camada superficial. Souza (2018), estudando a lixiviação do indaziflam em amostras de solos (Latossolo Vermelho-Amarelo - LVA) submetidas a diferentes lâminas de precipitação pluvial (60 e 240 mm) por meio de método biológico, observou que foi possível detectar o indaziflam apenas até 25 e 30 cm de profundidade com a precipitação de 60 e 240 mm, respectivamente, com a maior porcentagem de intoxicação das plantas de sorgo pelo indaziflam, nos primeiros 5,0 cm de profundidade.

A matéria orgânica (MO) é o principal sítio de adsorção de herbicidas em solos tropicais. Quanto menor o teor de MO, maior o potencial de lixiviação, visto que o herbicida estará biodisponível na solução do solo (MENDES et al., 2021). Para o indaziflam esse atributo é o que mais exerce influência sobre seu comportamento no ambiente, tanto nos processos de sorção, dessorção, como lixiviação, com correlação positiva de até 84% entre o teor de matéria orgânica e a porcentagem sorvida para solos tropicais (SOUZA, 2018).

Todavia, em solos com textura arenosa e baixo teor de matéria orgânica, o potencial de lixiviação tende a aumentar, especialmente, sob condições de precipitações pluviométricas com índices elevados, podendo reduzir a eficácia no controle das plantas daninhas devido ao arraste do herbicida para camadas inferiores e inclusive causar intoxicação em culturas (SOUZA, 2018).

Aos 120 DAA não foram observados nenhum sintoma visível de intoxicação nas plantas de sorgo. Uma das prováveis causas da não detecção do indaziflam aos 120 DAA pelo método do bioensaio, foi a intensa precipitação pluviométrica ocorrida no período, com mais de 1.000 mm acumulados (Figura 1), favorecendo, dessa maneira, a dissipação do herbicida no solo.

Em relação a análise por CLAE não foi possível detectar e quantificar o herbicida indaziflam nas amostras de solo da UEPE Aeroporto. A dose máxima aplicada do herbicida indaziflam é de 80 g ha⁻¹ do i.a., que é considerada baixa quando comparada aos outros herbicidas aplicados em pré-emergência. Esse fato, torna o indaziflam um herbicida de difícil

detecção pelo equipamento de cromatografia líquida de alta eficiência, pois a sua concentração no solo pode estar reduzida ao ponto de não ser possível quantificar, ou o mesmo já tenha se dissipado no ambiente, principalmente, se considerarmos o fato de que nos primeiros 120 dias o acumulado de chuvas foi superior a 1.000 mm (Figura 1B), que aliado às condições de temperaturas elevadas no período de novembro a março, pode ter favorecido a degradação do herbicida no solo.

Desse modo, devido os danos às culturas sensíveis cultivadas em sucessão e, ou rotação (*carryover*) à cana-de-açúcar, como a soja e o amendoim, a biorremediação pode ser técnica promissora, de modo a reduzir os riscos de contaminação de solos, disponibilizando a área para o cultivo de culturas sensíveis, mais rapidamente.

5. CONCLUSÃO

- Recomenda-se aguardar o período de pelo menos um ano e meio após a aplicação do indaziflam para o semeio de culturas sensíveis ao indaziflam como a soja e o amendoim;
- O indaziflam possui baixa mobilidade no solo, tendo sido detectado até 20 cm de profundidade pelo bioensaio;
- Não foram possíveis a detecção e a quantificação do indaziflam por cromatografia líquida de alta eficiência.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRAGA, R. R. **Sorção de indaziflam e isoxaflutole em solos tropicais**. 2017. 54f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa. 2017.
- COMINO, J. R. et al. The impact of vineyard's abandonment on soil properties and hydrological processes. A study case in Ruwer-Mosem valley, Germany. **Vadose Zone Journal**, v. 16, n. 12, p. 1-7. 2017.
- DURÃES, N. et al. Soil Pollution: from Monitoring to Remediation, Academic Press, London, UK (2018), p. 29-56.
- GUERRA, N. et al. Aminocyclopyrachlor e indaziflam: seletividade, controle e comportamento no ambiente. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 12, n. 3, p. 285-295. 2013.
- GONÇALVES V. A. et al. Sorption of indaziflam in brazilian soils with different ph values. **Revista Caatinga**, v. 3, p. 494-504. 2021.

JHALA, A. J.; SINGH, M. Leaching of indaziflam compared with residual herbicides common lyused in Florida citrus. **Weed Technology**, v. 26, n. 3, p. 602-607. 2012.

LANE, M.; LORENZ, N.; SAXENA, J.; RAMSIER, C.; DICK, R. P. Microbial activity, community structure and potassium dynamics in rhizosphere soil of soybean plants treated with glyphosate. *Pedobiologia* - **International Journal of Soil Biology**, v. 55, p. 153 – 159. 2012.

LEWIS, K. A.; TZILIVAKIS, J.; WARNER, D. J.; GREEN, A. An international database for pesticide risk assessments and management. **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 22, n. 4, p. 1050-1064. 2016.

LIU Y. et al. Impact of biochar amendment in agricultural soils on the sorption, desorption, and degradation of pesticides: A review. **Science Total Environmental**, v. 645. p. 60-70. 2018.

MAPA – MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Agrofit: sistema de informação. Brasília, 2022. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/agrofit>. Acesso em: janeiro de 2024.

MARCHESAN, E. et al. Resíduos de agrotóxicos na água de rios da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 40, n. 5, p. 1053 – 1059. 2010.

MENDES, K. F. et al. Spatial distribution of sorption and desorption process of ¹⁴C-radiolabelled hexazinone and tebuthiuron in tropical soil. **Chemosphere**,v. 264, p. 128494. 2021.

PÉREZ-LUCAS, G. et al. Leaching behaviuor appraisal of eight persistente herbicides on a loam soil amended with diferente composted organic wastes using screening índices. **Journal of Environmental Management**, v. 273, p. 111179. 2020.

RAMBORGER, B. P. et al. The phytoremediation potential of *Plectranthus neochilus* on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and the role of antioxidant capacity in herbicide tolerance. **Chemosphere**, v. 188, n. 1, p. 231-240. 2017.

RAMÍREZ, A. C. R. et al. Development and Validation of a Solid-Liquid Extraction with Low Temperature Partitioning (SLE/LTP) Method for Determination of the Herbicide Indaziflam in Brazilian Soils by High Performance Liquid Chromatography (HPLC-UV/Vis). **Journal of Experimental Agriculture International**. v. 21, n. 3, p. 1-8. 2018.

SCHEDENFFELDT, Bruna Ferrari. **Efeito residual de herbicidas em soja, amendoim e crotalária e sua toxicidade em organismos não-alvo**. 2023. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Ambiente) – Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2023. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/19171>.

SEBASTIAN, D. J. et al. Indaziflam: a new cellulose-biosynthesis-inhibiting herbicide provides long-term control of invasive winter annual grasses. **Pest management science**, v. 73, n. 10, p. 2149-2162. 2017.

SILVA, G. S. et al. Impact of sulfentrazone, isoxaflutole and oxyfluorfen on the microorganisms of two forest soils. **Bragantia**, v. 73, n. 3, p. 292 - 299. 2014.

SOUZA, W. M. **Influência dos atributos do solo na sorção e lixiviação do Indaziflam em solos tropicais**. 2018. 76f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. 2018.

SOUZA, W. M. **Mobilidade, persistência no solo e eficácia do indaziflam aplicado isoladamente e em mistura com outros herbicidas na cultura da cana-de-açúcar**. Tese de doutorado, 2022. Universidade Federal de Viçosa, viçosa, MG, Brasil. Disponível em: <https://locus.ufv.br/items/d6aba5ac-57fc-4107-ac1f-90d267dca836> Acesso em: 29 mar. 2024.

TEJU, E. et al. Salting-out-assisted liquid-liquid extraction for the preconcentration and quantitative determination of eight herbicide residues simultaneously in different water samples with high-performace liquid chromatography. **Separation Science and Technology**, p. 1-11. 2017.

TOMPKINS, J. 2010. Pesticide Fact Sheet: Indaziflam. Environmental Protection Agency. Unites States. Disponível em: http://www.epa.gov/opp00001/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-80818_26-Jul10.pdf Acessado em: 20 de jan. de 2024.

TORRES, B.A. et al. Saflufenacil and indaziflam herbicide effects on agricultural crops and microorganisms. **African Journal of Agricultural Research**, v. 13, n. 16, p. 872-885. 2018.

VIEIRA, R. F.; SILVA, C. M. M. S.; SILVEIRA, A. P. D. Soil microbial biomass C and symbiotic processes associated with soybean after sulfentrazone herbicide application. **Plant Soil**, v. 300, p. 95 – 103. 2007.

ZIMDAHL. R. Herbicides and Soil. In: **Fundamentals of Weed Science: Fifth Edition**. Academic Press, 2018. p. 445-462.

Capítulo 2- Biorremediação de solos contaminados com herbicida indaziflam por meio de micro-organismos

RESUMO

Biorremediação de solos contaminados com herbicida indaziflam por meio de micro-organismos

Herbicidas com efeito residual longo, como o indaziflam, possibilitam o controle de plantas daninhas por longo período de tempo. Todavia, a presença desse herbicida no solo pode causar danos as espécies sensíveis cultivadas em sucessão (*carryover*), impactar negativamente os organismos não alvo e elevar os riscos de lixiviação e contaminação dos solos e de águas superficiais e subterrâneas. A degradação microbiana é considerada a principal via de degradação de herbicidas no solo. Desse modo, a adição de micro-organismos com potencial de degradação no solo pode ser um caminho viável para redução da persistência desses herbicidas. Pretende-se com esta pesquisa avaliar a capacidade de degradação do indaziflam em solos, por meio da inoculação de isolados bacterianos. Avaliou-se cinco isolados bacterianos (IN4, IN43, IN50, IN54 e IN59) e o consórcio dos respectivos isolados, sobre a capacidade de degradação do indaziflam (100 g ha⁻¹ do i.a.) aplicado em solo, em 10 avaliações ao longo do tempo (0; 5; 10; 20; 40, 60, 80, 150, 250 e 360 dias após a aplicação do herbicida) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e pelo método de bioensaio. Nas avaliações realizadas por CLAE observou-se rápida degradação do indaziflam até 20 dias após a aplicação com a adição dos isolados bacterianos, com o tempo de meia-vida ($t_{1/2}$ – redução de 50% em relação à concentração inicial) do indaziflam de 13, 11, 27, 08, 19 e 11 dias para os isolados IN4, IN43, IN50, IN54, IN59 e para o consórcio, respectivamente. Todavia, para a amostra de solo sem a inoculação dos isolados bacterianos o $t_{1/2}$ foi de 250 dias. A inoculação do consórcio contendo todos os isolados reduziu a concentração do indaziflam em 79,74% em relação à concentração inicial. Nas avaliações por meio do bioensaio foi observado que o indaziflam causou 100% de intoxicação das plantas de sorgo em todas as avaliações realizadas (até aos 360 dias após a aplicação), o que se deve provavelmente à elevada sensibilidade da planta bioindicadora ao herbicida e, ou pela presença de metabólitos que também possuem ação herbicida e que não foram detectados pela análise cromatográfica. Conclui-se que todos os isolados bacterianos reduziram o $t_{1/2}$ do indaziflam quando a avaliação foi realizada por CLAE. Na avaliação por bioensaio, o indaziflam foi detectado até aos 360 dias independente da inoculação com os isolados bacterianos.

Palavras-chave: Bioensaio; CLAE; Micro-organismos; Degradação; Contaminação; Tempo de meia-vida.

ABSTRACT

Bioremediation of soils contaminated with indaziflam herbicide by microorganisms

Herbicides with long residual activity, such as indaziflam, enable prolonged weed control. However, the persistence of this herbicide in the soil may cause injury to sensitive crops grown in succession (*carryover*), negatively affect non-target soil organisms, and increase the risks of leaching and contamination of soil, surface water, and groundwater. Microbial degradation is considered the main pathway for herbicide dissipation in soils. Therefore, the introduction of microorganisms with degradation potential into the soil may represent a viable strategy to reduce the persistence of these herbicides. This study aims to assess the degradation capacity of indaziflam in soils through the inoculation of bacterial isolates. Five bacterial isolates (IN4, IN43, IN50, IN54, and IN59), along with a consortium comprising all isolates, were evaluated for their ability to degrade indaziflam (applied at 100 g ha⁻¹ of active ingredient) in soil over ten time points (0, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 150, 250, and 360 days after herbicide application), using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) and bioassay methods. The HPLC analyses revealed a rapid degradation of indaziflam within the first 20 days after application when bacterial isolates were added, with the half-life ($t_{1/2}$ – time required for a 50% reduction in the initial concentration) of indaziflam being 13, 11, 27, 08, 19, and 11 days for isolates IN4, IN43, IN50, IN54, IN59, and the bacterial consortium, respectively. In contrast, the half-life in the non-inoculated control soil was 250 days. Inoculation with the bacterial consortium reduced the concentration of indaziflam by 79.74% relative to the initial concentration. In the bioassay assessments, indaziflam caused 100% injury to sorghum plants in all evaluations (up to 360 days after application). This is likely due to the high sensitivity of the bioindicator plant to the herbicide and/or the presence of herbicidal metabolites not detected by chromatographic analysis. In conclusion, all bacterial isolates reduced the $t_{1/2}$ of indaziflam as determined by HPLC analysis. However, in the bioassay evaluations, indaziflam was detected up to 360 days regardless of bacterial inoculation.

Keywords: Bioassay; HPLC; Microorganisms; Degradation; Contamination; Half-life.

1. INTRODUÇÃO

O uso de pesticidas é prática indispensável na agricultura, evitando a redução na produtividade das culturas e na qualidade do produto colhido. Dentre as diferentes classes de pesticidas, destacam-se os herbicidas, os quais são os mais utilizados em larga escala, especialmente em grandes culturas como soja, milho e cana-de-açúcar, pois são eficientes no controle de plantas daninhas, possuem baixo custo em relação a outros métodos de controle e reduzem a dependência de mão-de-obra (RAMBORGER et al., 2017).

Alguns herbicidas, como o indaziflam (N-[(1R,2S)-2,6-dimethyl-2,3-dihydro-1H-inden-1-yl]-6-(1-fluoroethyl)-1,3,5-triazine-2,4-diamine), possuem efeito residual longo no solo, com tempo de meia-vida estimado no solo ($t_{1/2}$) maior do que 150 dias (LEWIS et al., 2016). O indaziflam possui baixa solubilidade em água ($S_w = 2,8 \text{ mg L}^{-1}$ a 20°C), $K_{oc} < 1.000 \text{ mL g}^{-1}$, $pK_a = 3,50$ a 25°C e o $\log K_{ow}$ em pH 4; 7 ou 9 = 2,80 (LEWIS et al., 2016). Os herbicidas com longo período residual possibilitam o controle de plantas daninhas por maior período, reduzindo com isso o número de aplicações (PROCÓPIO et al., 2009).

Todavia, apesar do indaziflam propiciar o controle de plantas daninhas por maior período, a ação residual desse herbicida por tempo prolongado pode causar danos às culturas sensíveis (*carryover*) em sistemas de rotação ou sucessão, impactar negativamente os micro-organismos do solo, além de elevar os riscos de contaminação do solo e de águas superficiais e subterrâneas (VIEIRA et al., 2007; DAN et al., 2012; LANE et al., 2012; OTTO et al., 2012; SILVA et al., 2014). Desse modo, como forma de descontaminação de solos submetidos a aplicações de herbicidas como o indaziflam o desenvolvimento de estratégias de biorremediação, é indispensável.

A biorremediação é considerada processo de remediação que consiste no emprego de organismos vivos, como micro-organismos ou plantas, em consórcio ou isolados, com o objetivo de alterar ou decompor poluentes, transformando-os em substâncias menos tóxicas ou atóxicas (SANTOS et al., 2007; RAMBORGER et al., 2017; BASTABAK et al., 2021). O processo de biorremediação pode ser realizado fora do local de onde ocorreu a contaminação (*ex-situ*) ou realizado no próprio local da contaminação (*in-situ*), sendo este último mais atrativo, mais barato e com menores impactos ambientais (ANDRADE et al., 2010).

Dentre as técnicas de biorremediação, a remediação microbiana (SUN et al., 2018; CARLES et al., 2021) é promissora para descontaminação de herbicidas no próprio local de contaminação (CARLES et al., 2021) e é baseada na capacidade metabólica microbiana de

transformar componentes tóxicos em moléculas menos nocivas ou não nocivas (PILEGGI et al., 2020). Dessa forma, antes que a degradação seja alcançada, as comunidades microbianas devem desenvolver estratégias de sobrevivência contra os estresses induzidos por herbicidas (PILEGGI et al., 2020). De acordo com Villaverde et al. (2018), os solos possuem grande diversidade de comunidades microbianas que podem possuir propriedades degradativas de herbicidas, onde o intermediário metabólico de uma espécie pode ser utilizado por outra para uma degradação eficiente.

Os isolados bacterianos IN4, IN43, IN50, IN54 e IN59 cultivados em meio mínimo líquido suplementado com $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ do i.a. de indaziflam reduziram a concentração inicial do herbicida em 35,91% a 48,72% após 10 dias da inoculação das bactérias (FAUSTINO, 2019). Todavia, estudos sobre a biorremediação do indaziflam por meio de micro-organismos em solo, são escassos. Além do mais, a eficácia da biorremediação pode variar dependendo das características físicas e químicas do solo, das características do herbicida e dos fatores ambientais. Desse modo, o objetivo desse trabalho foi avaliar a capacidade de isolados bacterianos na biorremediação de solos contaminados com o herbicida indaziflam.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no período de abril de 2022 a maio de 2023, sendo realizado em casa de vegetação na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão do Vale da Agronomia (UEPE Vale da Agronomia) e no Laboratório de Manejo Integrado de Plantas Daninhas pertencentes ao Departamento de Agronomia; e no Laboratório de Ecologia Microbiana, pertencente ao Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa-MG. Os dados climatológicos, como temperaturas máxima e mínima durante o período experimental estão apresentados na Figura 1.

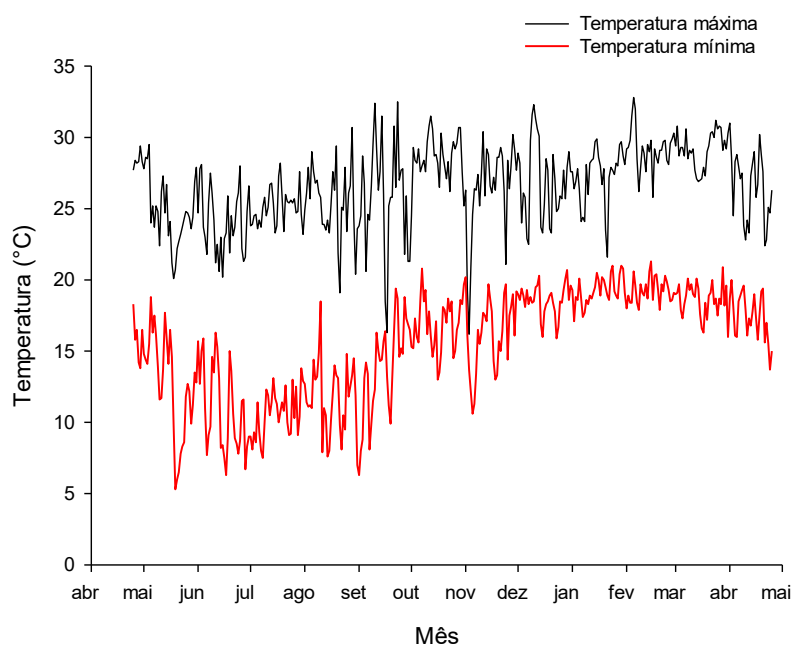


Figura 1. Temperaturas máxima e mínima durante o período experimental. Fonte: INMET, 2023.

Os isolados bacterianos IN4, IN43, IN50, IN54 e IN59 (Figura 2) obtidos por Faustino (2019), foram avaliadas quanto a capacidade de degradação do herbicida no solo ao longo do tempo.

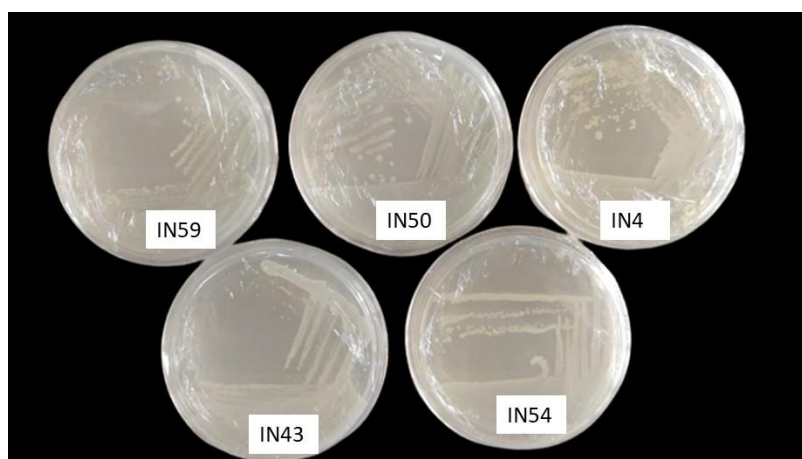


Figura 2. Isolados bacteriano IN4, IN43, IN50, IN54 e IN59.

Para condução do experimento, foram utilizados vasos pretos de plástico rígido com capacidade de 0,43 L, que foram revestidos com saco plástico e preenchidos com solo sem

histórico de aplicação de herbicida, previamente corrigido com calcário, conforme análise física e química do solo (Tabela 1).

Tabela 1. Resultados das análises químicas e físicas do solo.

Características químicas													
pH	P	K ⁺	B	Fe	Mn	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H ⁺ Al	T	SB	MO	P-Rem
(H ₂ O)	----- (mg dm ⁻³) -----					----- (cmol _c dm ⁻³) -----				----- (dag kg ⁻¹) -----			
4,7	1,9	39	0,1	32,6	15,5	0,47	0,13	0,3	3,96	4,6	0,70	1,61	13,0
Características físicas													
Argila			Silte			Areia			Classe textural				
----- (%) -----													
55			12			33			Argiloso				

* Análises realizadas no Laboratório de Análises de Solo Viçosa Ltda. pH: água, KCL e CaCl₂- relação 1:2,5. P-K: Extrator Mehlich 1. Ca-Mg e Al: Extrator: KCL – 1 mol L⁻¹. H + Al – Acidez potencial – Extrator: acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹; SB - Soma de bases trocáveis; T – Capacidade de troca catiônica a pH 7,0; MO – Matéria orgânica; (P-Rem) – Fósforo Remanescente.

* Análises realizadas segundo a metodologia da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA 1997).

Os tratamentos foram arranjos em esquema fatorial 8x10. O primeiro fator foi composto pela inoculação de diferentes isolados bacterianos (inoculação do isolado IN4, inoculação do isolado IN43, inoculação do isolado IN50, inoculação do isolado IN54, inoculação do isolado IN59, inoculação do consórcio com todos os isolados, branco com herbicida e sem bactéria e branco sem bactéria e sem herbicida). E o segundo fator foi composto pelo tempo de biorremediação (0; 5; 10; 20; 40, 60, 80, 150, 250 e 360 dias após a inoculação das bactérias), no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições.

A aplicação do indaziflam foi realizada com pulverizador costal, com pressão constante mantida à CO₂, acoplado de barra com duas pontas tipo leque TT110 02, espaçadas de 0,5 m, trabalhando a pressão de 250 kPa, com volume de calda de aproximadamente 174 L ha⁻¹, na dose de 100 g ha⁻¹ do i.a. Após a aplicação do herbicida, o solo foi homogeneizado e os vasos foram irrigados sempre que necessário a fim de manter a umidade do solo em torno de 80% da capacidade de campo.

Um dia após a aplicação do indaziflam, foi realizada a inoculação dos isolados bacterianos, que teve como base o potencial de degradação, selecionado em estudo prévio realizado por Faustino (2019). Os isolados bacterianos foram cultivados em meio caldo nutriente (1,0 L água; 2,0 g Na₂HPO₄; 3,0 g NaCl; 3,0 g extrato de carne; 5,0 g peptona; pH 6,8) por aproximadamente 15 h a 30 °C e 150 rpm até densidade óptica de 0,6. O meio foi submetido à centrifugação (5000 rpm, 10,0 min, 10 °C) e as células bacterianas suspensas em

solução salina (NaCl 0,85%). De cada isolado foi pipetado nos vasos 3 mL de solução. Para o consórcio foi pipetado 0,6 mL de solução de cada isolado. Foi realizada a reinoculação aos 60, 120, 180 e 240 dias após a instalação do experimento.

Aos 0; 5; 10; 20; 40, 60, 80, 150, 250 e 360 dias após a inoculação das bactérias foram retiradas amostras de solo para avaliação por bioensaio e por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Deteção do resíduo do herbicida indaziflam por meio de bioensaio

Amostras de solo de cada unidade experimental foram homogeneizadas. Posteriormente foram semeadas dez sementes da espécie bioindicadora da presença do indaziflam, *Sorghum bicolor* (BRAGA, 2017), deixando-se, após desbaste, três plântulas por vaso.

Aos 21 dias após a emergência foram avaliados os sintomas de intoxicação (%), atribuindo-se notas de 0 a 100, para ausência de sintomas na parte aérea e morte da planta, respectivamente. A massa de matéria seca da parte aérea, das raízes e do total da planta foram obtidas por meio de pesagem do material colhido e secado em estufa de circulação forçada (70 ± 2 °C) por 72 horas.

Deteção do resíduo do herbicida indaziflam por meio de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Para a quantificação da concentração do indaziflam por cromatografia, amostras homogeneizadas de solo foram coletadas e armazenadas em freezer (-20 °C). Para extração do herbicida no solo, foi utilizado a técnica de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT), de acordo com a metodologia proposta por Romero et al. (2018), em que 5,0 g do solo anteriormente congelado foi transferido para tubos falcon de tampa rosqueável com capacidade para 50,0 mL. Posteriormente, foram adicionados 14,0 mL da mistura extratora, composta por 4,10 mL de água milli-Q (pH 7); 8,0 mL de acetonitrila e 1,9 mL de acetato de etila. Em seguida, os tubos contendo solo mais solução extratora foram submetidos à agitação, utilizando vortex, durante 1 minuto e, então, foram mantidos por 4 horas em freezer à temperatura de aproximadamente -20°C.

Após o período de repouso no freezer, foi realizada a filtração da fração não congelada (herbicida + solventes) para balão volumétrico de 10,0 mL, sendo adicionados 1,00 g de

sulfato de sódio anidro, para condicionamento (OECD, 2000). O filtrado obtido, após atingir a temperatura ambiente, foi transferido para balão de fundo redondo com capacidade para 10,0 mL, para evaporação dos solventes em evaporador rotatório, à temperatura de $50 \pm 1^\circ\text{C}$, por ± 4 minutos. Após a evaporação dos solventes, os resíduos do herbicida contido no balão foram lavados com três alíquotas de 0,50 mL de acetonitrila e filtrado em membrana PTFE de 0,45 μm , para ser armazenado em “vials” de 1,5 mL de capacidade, para posterior análise cromatográfica.

Foi utilizado o instrumento de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), modelo Shimadzu. O equipamento conta com detector de arranjo de fotodiodos (Shimadzu SPD-M20A) e coluna C18 de aço inox (Shimadzu VP-ODS Shim-pack 250 mm x 4,6 mm d. i., 5 μm de tamanho de partícula). Como fase móvel foi utilizada acetonitrila e água (acidificada com 0,01% de ácido fosfórico) na proporção de 43:57 (V:V), com volume de injeção de 20 μL , a um fluxo de 1,0 mL min^{-1} e comprimento de onda de 190 nm, a temperatura de 30 $^\circ\text{C}$. A quantificação foi realizada utilizando a curva de calibração externa.

Validação do método de extração do herbicida no solo

O método de extração do indaziflam foi validado considerando os parâmetros de desempenho analítico: seletividade, linearidade, limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), precisão e exatidão, segundo os órgãos regulamentadores como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2011) e o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO, 2011).

A seletividade do método foi validada pela comparação dos cromatogramas de extratos obtidos pelo método otimizado, da matriz isenta do herbicida com o cromatograma da matriz fortificada com o indaziflam.

A linearidade de resposta da faixa de trabalho foi avaliada pela análise de regressão dos dados cromatográficos em função da concentração do herbicida no solo na faixa de 0,025 a 2,0 mg Kg^{-1} . Para isto, foram fortificadas amostras dos solos nas concentrações de 0,025; 0,05; 0,10; 0,15; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0 mg kg^{-1} de indaziflam e estas foram submetidas ao método de extração. Com as áreas obtidas para cada concentração foi construída a curva analítica para o solo. A linearidade do método foi avaliada pelo coeficiente de determinação e pela análise dos resíduos.

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram obtidos segundo ANVISA, 2011. O LD representa a concentração mínima da substância de interesse que é possível ser detectada, mas não quantificada com exatidão. Foi determinada pela razão da estimativa do desvio-padrão (s) da resposta analítica gerada pelo branco, pela inclinação da curva analítica (S), multiplicando esta razão por 3,3.

$$LD = 3,3 \times s/S \text{ (Equação 1).}$$

O LQ representa a quantidade mínima da substância de interesse possível de ser quantificada com exatidão e foi determinado usando os mesmos parâmetros adotados para o LD, porém a relação desvio/inclinação foi de 10:1.

$$LQ = 10 \times s/S \text{ (Equação 2).}$$

A exatidão foi avaliada em ensaios de recuperação (%R) (ANVISA, 2011; INMETRO, 2011). As amostras de solos foram fortificadas em três níveis de concentração: 0,25; 0,5 e 1,0 mg kg⁻¹, em triplicatas, e foram submetidas ao método de extração (Equação 3).

$$\text{Recuperação (\%)} = [(C_1 - C_2)/C_3] \times 100 \text{ (Equação 3).}$$

Onde:

C₁: Concentração do analito na amostra fortificada.

C₂: Concentração do analito na amostra não fortificada.

C₃: Concentração do analito adicionado à amostra fortificada.

A precisão foi expressa pela precisão intermediária (ANVISA, 2011). Foi avaliada pelo coeficiente de variação (CV, expresso em %) (Equação 4), também conhecido como desvio padrão relativo (DPR), obtido da seguinte forma (INMETRO, 2011):

$$CV = DPR = DP/CMD \times 100 \text{ (Equação 4).}$$

Onde DP é o desvio padrão e CMD é a concentração média determinada.

A precisão intermediária indica as variações dentro do laboratório, como diferentes dias, diferentes analistas, e equipamentos ou uma combinação destes fatores. Foi avaliada por

meio do estudo de repetitividade ao longo de três dias não consecutivos (1º, 3º e 5º dias) em três níveis de concentração (0,25; 0,5 e 1,0 mg kg⁻¹) para um mesmo analista e os mesmos equipamentos. O parâmetro adotado para avaliação foi o coeficiente de variação (CV) referentes as áreas cromatográficas obtidas nas análises.

Análises estatísticas

Os efeitos dos tempos de biorremediação foram avaliados por análise de regressão e a escolha dos modelos foi baseada na significância dos coeficientes. No bioensaio foi utilizado a estatística descritiva.

O tempo de meia-vida foi calculado com base nos coeficientes de regressão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Validação do método de extração do herbicida no solo

Foi possível detectar e quantificar o indaziflam nas amostras de solo, dessa maneira foi realizado os devidos procedimentos de validação do método para extração do herbicida das amostras, segundo a linearidade, seletividade, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão e precisão.

O tempo de corrida foi de 10 minutos e o tempo de retenção do indaziflam nas condições utilizadas foi de aproximadamente oito minutos. As condições cromatográficas foram seletivas para o indaziflam, como pode ser observado na comparação dos cromatogramas da matriz do solo com e sem a presença do herbicida, onde no tempo de retenção registrado não foram observados interferentes que prejudicassem a identificação do pico cromatográfico do indaziflam (Figura 3).

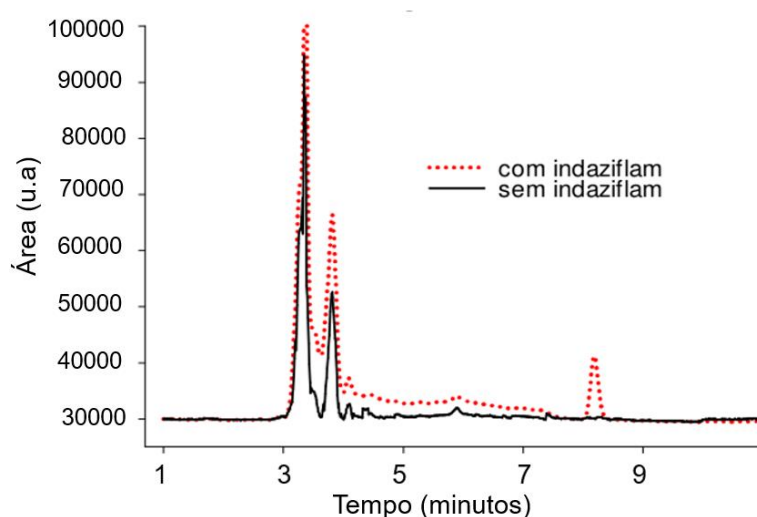


Figura 3. Seletividade do herbicida indaziflam no solo nas condições cromatográficas.

A linearidade da resposta nas faixas de trabalho foi de 0,025 a 2,00 mg kg⁻¹ com valor do coeficiente de determinação (r^2) acima de 0,990 demonstrando bom ajuste linear para o solo analisado (Figura 4). O coeficiente de determinação indica o quanto a regressão linear é “eficiente” para explicar os dados, pois quanto mais próximo de 1,0, mais explica o que se observa na realidade. Os limites de detecção (LD) foi de 0,0098 mg Kg⁻¹ e o limite de quantificação (LQ) em torno de 0,0299 mg kg⁻¹.

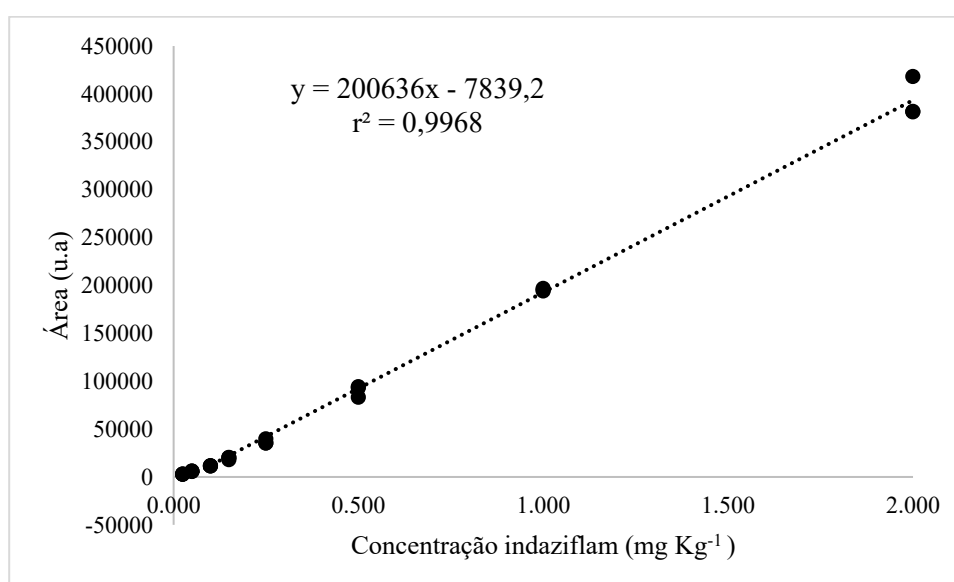


Figura 4. Curva analítica no solo obtido de amostras de solo fortificados em diferentes concentrações.

Para avaliar a qualidade de ajuste do modelo de regressão foi plotado o gráfico dos resíduos, onde houve distribuição aleatória, demonstrando que as suposições dos mínimos quadrados estão sendo atendidas, não afetando a resposta, ou seja, a linearidade do método dentro da faixa estudada está adequada, pois os resíduos se apresentaram de forma aleatória (Figura 5).

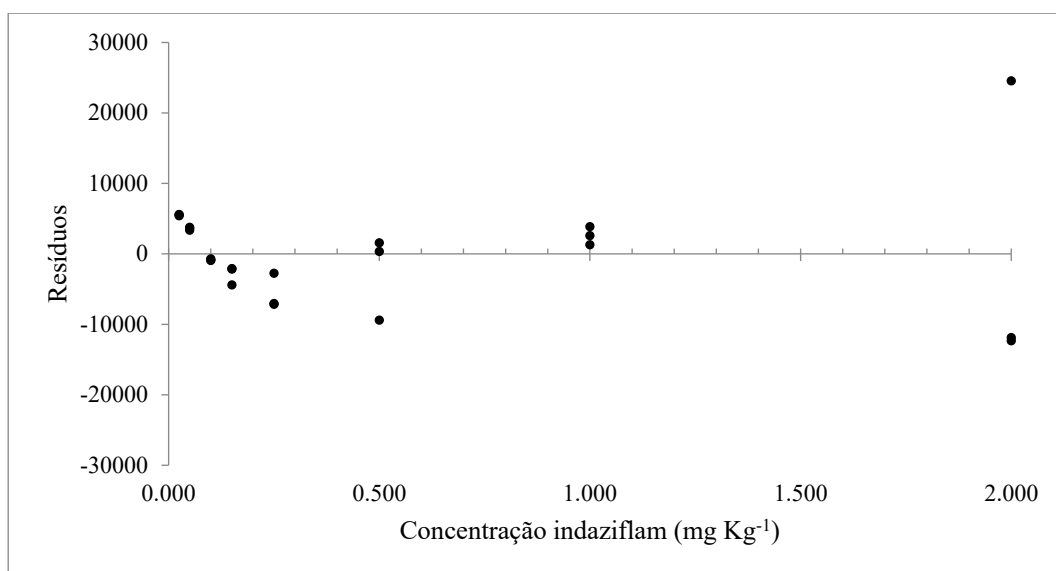


Figura 5. Dispersão de resíduos da regressão da resposta analítica em função da concentração do indaziflam no solo.

O teste de exatidão avaliou a quantidade de indaziflam recuperado, após a fortificação das amostras com três concentrações e extração pelo método, sendo a porcentagem de recuperação obtida entre 70,26 a 99,94%. Estes valores de porcentagem de recuperação estão dentro do limite estabelecido para a validação do teste, com intervalos aceitáveis 70 a 120% (Tabela 2) (ANVISA, 2011). Além do mais, os coeficientes de variação foram inferiores a 20% (Tabela 2).

Tabela 2. Nível de fortificação, porcentagens de recuperação e coeficiente de variação do indaziflam após extração no solo.

Concentração indaziflam (mg Kg⁻¹)	% Recuperação	% Coeficiente de Variação
0,25	85,55	15,70
0,50	70,26	1,35
1,00	99,94	5,69

A precisão intermediária foi realizada avaliando as porcentagens de recuperação do indaziflam e o coeficiente de variação (% CV). Como pode-se observar as taxas de recuperação foram elevadas para as diferentes concentrações em dias distintos, acima de 70% e os coeficientes de variação abaixo de 20% (Tabela 3).

Tabela 3. Taxa de recuperação (R) do indaziflam no solo e coeficientes de variação (CV) obtidos na análise da amostra de solo, fortificadas em três níveis de concentração, para os diferentes dias de análise.

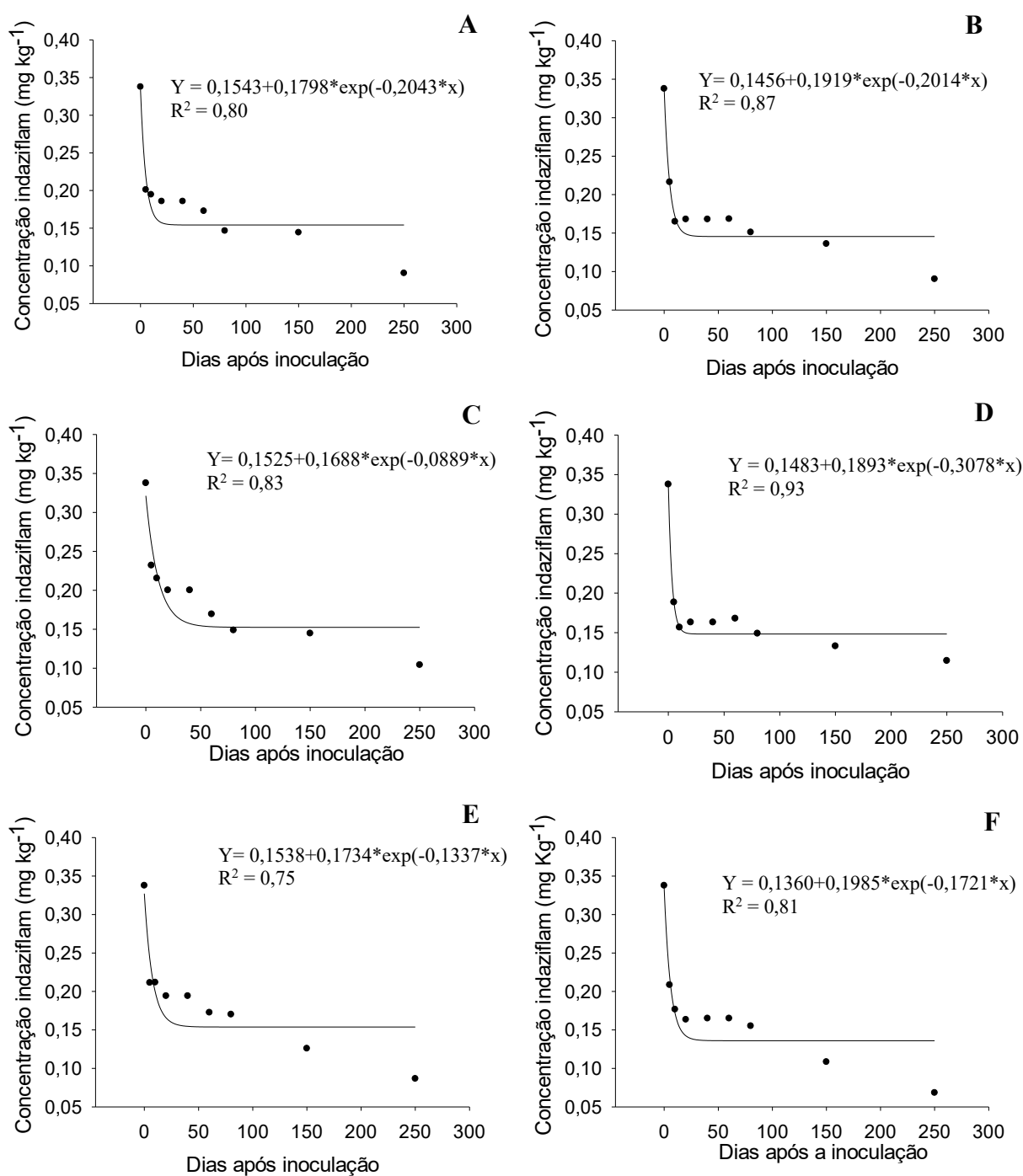
Concentração (mg kg⁻¹)	Recuperação (%)			CV (%)
	1º dia	3º dia	5º dia	
0,25	74,91	85,54	83,37	6,91
0,50	70,26	70,07	71,53	1,13
1,00	99,94	101,77	91,49	5,61

3.2 Cromatografia Líquida De Alta Eficiência

Na avaliação da capacidade de degradação do indaziflam pelos isolados bacterianos, por meio do método cromatográfico, a detecção e a quantificação desse herbicida foi possível até aos 250 dias após a inoculação das bactérias. No entanto, nas amostras de solo sem a inoculação dos isolados bacterianos, foram possíveis a detecção e a quantificação do herbicida até aos 360 dias. A dose máxima recomendada para aplicação do indaziflam é considerada baixa quando comparada com a maioria dos herbicidas aplicados em pré-emergência. Esse fato, torna o indaziflam um herbicida de difícil detecção pelo equipamento de cromatografia líquida de alta

eficiência, principalmente quando a sua concentração é reduzida à medida que vai sendo dissipado no ambiente, não sendo possível detectar e quantificar.

Foi observado redução nos níveis do indaziflam na dose de 100 g ha⁻¹ do i.a., nas amostras inoculadas com os isolados IN4, IN43, IN54, IN59, IN50 e no consórcio de todos os isolados, ou seja, ocorreu maior degradação do herbicida quando foi inoculado as bactérias em relação a amostra sem inoculação (Figura 6).



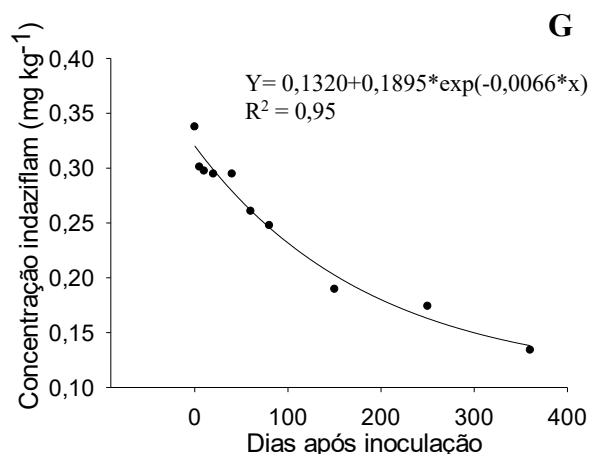


Figura 6. Concentração do indaziflam ao longo do tempo para os isolados bacterianos IN4 (A), IN43 (B), IN50 (C), IN54 (D), IN59 (E), consórcio dos isolados (F) e sem inoculação (G), quantificado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

Os micro-organismos podem utilizar os herbicidas como fonte de nutrientes e carbono para o crescimento no ambiente, trazendo aspectos positivos na diversidade microbiana e transformando esses compostos, ademais, os herbicidas podem ser degradados simultaneamente por diferentes vias metabólicas (PILEGGI et al., 2020). Estudos realizados por Faustino (2019) constataram que os isolados bacterianos IN4, IN43, IN50, IN54 e IN59 possuem capacidade de crescimento quando na presença do indaziflam e outras fontes de nutrientes, mais fáceis de metabolização, tornando possível seu crescimento em ambientes com fontes alternativas de carbono e consequentemente degradando o herbicida. Torres et al. (2018) relataram aumento na respiração do solo após o tratamento com 100 g ha⁻¹ do i.a. de indaziflam.

Ocorreu rápida degradação do indaziflam até aos 20 dias após a inoculação dos isolados bacterianos, se estabilizando no decorrer do tempo (Figura 6). Faustino (2019) avaliando a degradação do herbicida indaziflam em meio mínimo líquido suplementado com 1.000 µg mL⁻¹ do i.a., inoculado com isolados bacterianos IN4, IN43, IN50, IN54 e IN59, verificou redução de 35,91% a 48,72% em relação a concentração inicial do herbicida após 10 dias da inoculação das bactérias. A cianobactéria *Microcystis novacekii* também apresentou elevada tolerância ao atrazine com remoção média de 27,2% após 96 horas de inoculação, mineralizando e acumulando o herbicida (CAMPOS et al., 2013).

Para ocorrer a degradação de herbicidas por meio de micro-organismos, o composto precisa estar disponível na solução do solo (LEONEL et al., 2018; GONÇALVES e DELABONA, 2022). Com o passar do tempo pode ter ocorrido a sorção aos colóides do solo

ou formação de resíduos ligados, ficando menos disponíveis para serem degradados. Quanto maior a sorção do indaziflam, menor será a degradação desse herbicida pela microbiota, contudo, através do reequilíbrio contínuo entre as fases sorvida e a fase em solução, esses compostos podem ficar disponíveis novamente para a degradação (ALONSO et al., 2015).

As estimativas dos valores de tempo de meia-vida do herbicida indaziflam foram de 13 dias para o isolado IN4, 11 dias para o isolado IN43, 27 dias para o isolado IN50, 8 dias para o isolado IN54, 19 dias para o isolado IN59 e 11 dias para o consórcio de todos os isolados (Tabela 4). Todavia, o tempo de meia-vida para a amostra de solo sem a inoculação dos isolados bacterianos foi de 250 dias, confirmando a degradação do indaziflam nas amostras de solo onde ocorreu a inoculação das bactérias (Tabela 4).

Tabela 4. Estimativa do tempo de meia-vida no herbicida indaziflam sem inoculação e com a inoculação dos isolados bacterianos IN4, IN43, IN50, IN54, IN59, consórcio na amostra de solo.

Isolados bacterianos	Tempo de meia-vida (dias)
IN4	13
IN43	11
IN50	27
IN54	8
IN59	19
Consórcio	11
Sem isolados	250

Desse modo, as bactérias são agentes de degradação de substâncias orgânicas, podendo também mineralizar esses compostos. Apesar do isolado IN54 possuir menor tempo de meia-vida em relação aos demais isolados bacterianos, o consórcio de todos isolados apresentou maior estabilidade de degradação ao longo do ano experimental, o que reflete na porcentagem de redução do indaziflam (Figura 7).

A porcentagem de redução do indaziflam no final do período experimental em relação a dose inicial adicionada foi de 73,25%, 73,27%, 69,07%, 66,07%, 74,33%, 79,74% e 47,54% para os isolados bacterianos IN4, IN43, IN50, IN54, IN59, consórcio dos isolados e sem isolados bacterianos, respectivamente. O sistema solo possui diversificadas comunidades de micro-organismos com propriedades degradativas de compostos orgânicos, onde em consórcio,

o intermediário metabólico de uma bactéria pode ser utilizado por outra para uma degradação eficiente (VILLAYERDE et al., 2018).

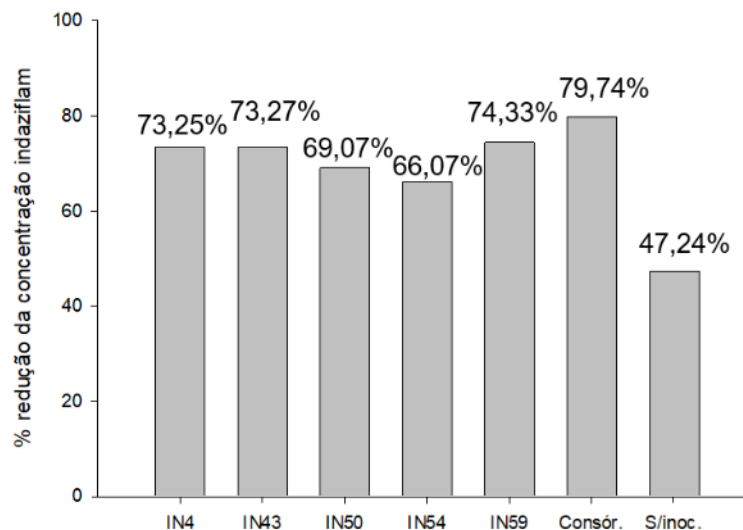


Figura 7. Porcentagem de redução do indaziflam em relação a concentração inicial adicionada para os isolados IN4, IN43, IN50, IN54, IN59, consórcio dos isolados e sem inoculação.

3.3 Bioensaio

Nas avaliações de bioensaio foi observado que o indaziflam causou morte das plantas de sorgo (planta bioindicadora da presença do herbicida) até aos 360 dias após a inoculação das bactérias para todos os isolados bacterianos (Figura 8), ou seja, em todas as épocas de avaliação ocorreu 100% de intoxicação das plantas de sorgo em relação a testemunha, não sendo possível determinar a massa da matéria seca.

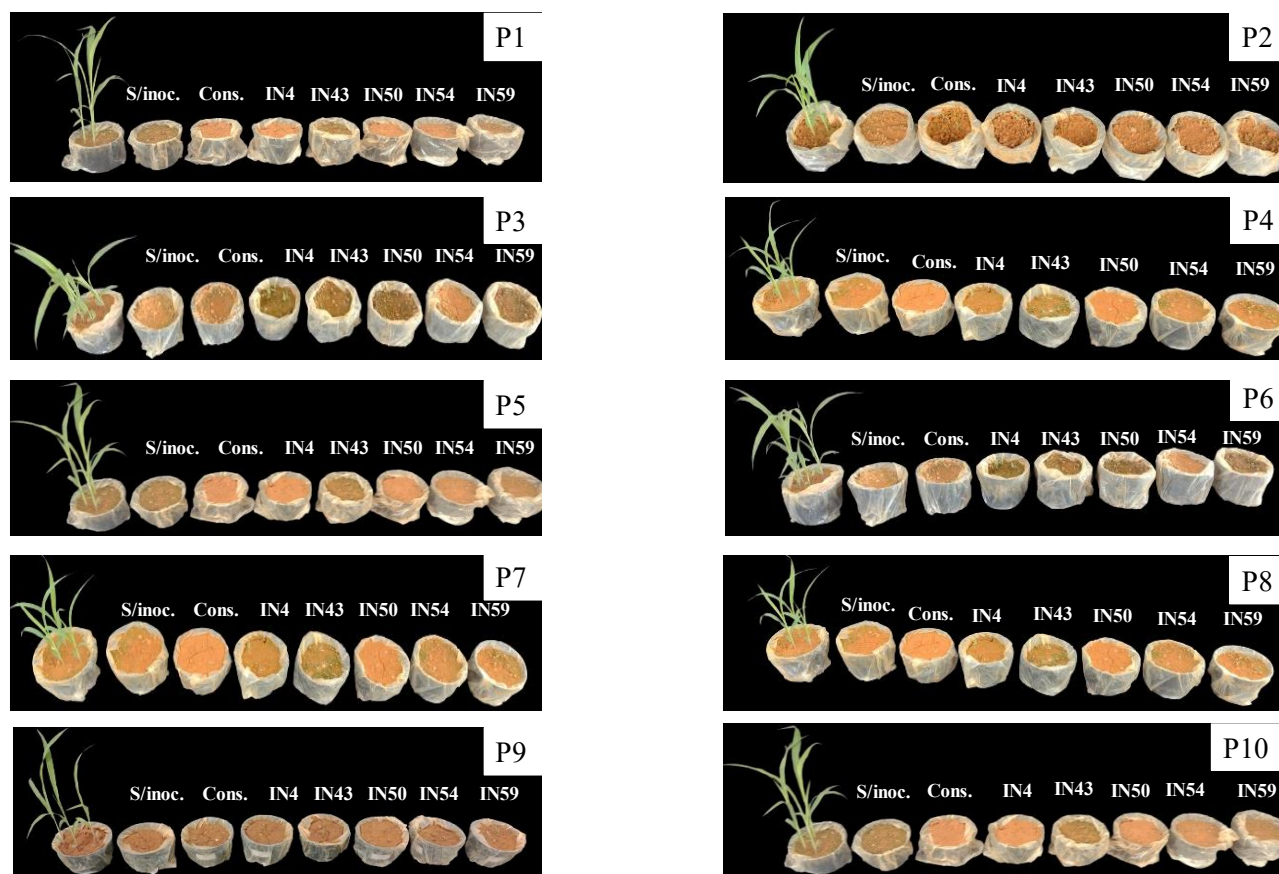


Figura 8: Bioensaio utilizando como espécie bioindicadora da presença do indaziflam, *Sorghum bicolor*, para os 10 períodos de avaliação: 0 (P1); 5 (P2); 10 (P3); 20 (P4); 40 (P5), 60 (P6), 80 (P7), 150 (P8), 250 (P9) e 360 (P10) dias após a inoculação das bactérias.

O bioensaio mostrou ser mais eficiente na detecção do herbicida do que a cromatografia, embora não possibilite a determinação da concentração do mesmo. O bioensaio é uma ferramenta muito útil na investigação da atividade residual de herbicidas no solo, porque é capaz de detectar concentrações pequenas, muita das vezes não quantificadas por métodos cromatográficos, mas que são capazes de causar toxicidade nas plantas. Souza (2018) também relatou que o bioensaio foi eficiente na detecção de resíduos de indaziflam no solo, mesmo não conseguindo quantificar por CLAE. Todavia deve-se destacar que, a CLAE apresenta importante vantagem que é quantificar a concentração do herbicida no solo (SILVA et al., 2012; BRAGA, 2017).

Desse modo, os tratamentos foram capazes de reduzir a concentração do indaziflam no solo (Figura 6), porém, os resíduos remanescentes ainda causaram alta intoxicação e redução no acúmulo de matéria seca da espécie bioindicadora. Além do mais, a degradação do herbicida pode gerar metabólitos ainda mais tóxicos, nesse sentido, a diminuição na concentração do herbicida no solo não é o suficiente para confirmar a redução na fitotoxicidade (LARA-

MORENO et al., 2022).

O indaziflam pode sofrer transformação ao longo do tempo por meio da ação de agentes químicos e biológicos, originando metabólitos que apresentam menor sorção, maior dessorção e maior mobilidade do que a molécula original, aumentando o risco de lixiviação, contaminação ambiental e intoxicação de culturas. A molécula de indaziflam é degradada através da oxidação do radical indanil em indaziflam-triazina indanona (ITI) e indaziflam-ácido carboxílico (ICA) (ALONSO et al., 2015). Esses metabólitos, juntamente com o composto original, são posteriormente degradados para formar fluoroetildiaminotriazina (indaziflam-triazinodiamina ou FDAT), onde podem ser mais tóxicos do que o composto indaziflam (ALONSO et al., 2015).

O aumento do tempo de biorremediação e, ou o aumento da carga de células bacterianas inoculadas pode ser uma possibilidade para aumentar o potencial da técnica e a eficiência da biorremediação.

4. CONCLUSÃO

- Todos os isolados bacterianos avaliados reduzem o tempo de meia-vida do indaziflam quando a avaliação foi realizada por CLAE;
- A inoculação do solo com consórcio bacteriano reduziu a concentração do indaziflam em 79,74% aos 250 dias após aplicação;
- Na avaliação por bioensaio, o indaziflam foi detectado até aos 360 dias independente da inoculação com isolados bacterianos;
- O método do bioensaio foi mais eficiente que a CLAE na detecção do indaziflam no solo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALONSO, D. G. et al. Changes in sorption of indaziflam and three transformation products in soil with aging. **Geoderma**, v. 239, p. 250-256, 2015.

ANDRADE, J. A. et al. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Eclética Química**, 35 - 3: 17 – 43. 2010.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE n 899, 29 de maio de 2011, p. 1–15. 2011.

BASTABAK, B. et al. A holistic approach to soil contamination and sustainable phytoremediation with energy crops in the Aegean Region of Turkey. **Chemosphere**, v. 276, 130192. 2021.

BRAGA, R. R. **Sorção de indaziflam e isoxaflutole em solos tropicais**. 2017. 54f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2017.

CAMPOS, M. M. et al. Evaluation of the capacity of the cyanobacterium *Microcystis novacekii* to remove atrazine from a culture medium. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 48, n. 2, p. 101-107. 2013.

CARLES, L. et al. Potential of preventive bioremediation to reduce environmental contamination by pesticides in an agricultural context: A case study with the herbicide 2, 4-D. **Journal of Hazardous Materials**, v. 416, p. 125740. 2021.

DAN, H. A. et al. Resíduos de herbicidas utilizados na cultura da soja sobre o milho cultivado em sucessão. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 1, p. 86-91. 2012.

EPA - Environmental Protection Agency – **Introduction to phytoremediation**. Cincinnati, Ohio: EPA, 2000. Disponível em: <https://nepis.epa.gov>. Acesso em: 04/03/2023.

FAUSTINO, L. A. (2019). **Desenvolvimento de técnica para biorremediação de solos contaminados com indaziflam**. Tese de doutorado, 2019. Universidade Federal de Viçosa, MG, Brasil. Disponível: <https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/28824/1/texto%20completo.pdf>. Acesso em: 19 mar. 2023.

GONÇALVES, C. R.; DEBOLANA, P. S. Strategies for bioremediation of pesticides: challenges and perspectives of the Brazilian scenario for global application – A review. **Environmental Advances**, v. 8, 100220, 2022.

INMETRO. **Coordenação Geral de Acreditação ORIENTAÇÃO SOBRE VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS**, 2011. Disponível em: <<https://www.ufjf.br/baccan/files/2011/05/Validacao-Inmetro.pdf>>. Acesso em: 30 mar. 2022.

LANE, M. et al. Microbial activity, community structure and potassium dynamics in rhizosphere soil of soybean plants treated with glyphosate. **Pedobiologia - International Journal of Soil Biology**, v. 55, p. 153 – 159. 2012.

LARA-MORENO, A. et al. Bioremediation of a trifluralin contaminated soil using bioaugmentation with novel isolated bacterial strains and cyclodextrin. **Science of The Total Environment**, 840, 156695. 2022.

LEONEL, L. V. et al. Biorremediação do solo. **Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa**, v. 26, n. 51, p. 37-52. 2018.

LEWIS, K. A. et al. An international database for pesticide risk assessments and management. **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 22, n. 4, p. 1050-1064. 2016.

OECD. OECD GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS Adsorption-Desorption Using a Batch Equilibrium Method. **OECD Library**, p. 44, 2000. Disponível em:

<<https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264069602-en.pdf?expires=1648663275&id=id&accname=guest&checksum=A8C07F2CBDA60C9C5C2AECBBA9FAC12F>>. Acesso em: 30 mar. 2022.

PILEGGI, M. et al. Herbicide bioremediation: from strains to bacterial communities. **Heliyon**, v. 6, n. 12, p. e05767. 2020.

PROCÓPIO, S. O. et al. Development of bean plants in soil contaminated with the herbicide trifloxysulfuron-sodium after *Stizolobium aterrimum* and *Canavalia ensiformis* cultivation. **Planta Daninha**, v. 25, n. 1, p. 87-96. 2007.

PROCÓPIO, S. O. et al. Efeito da densidade populacional de *Panicum maximum* (cultivar Tanzânia) na fitorremediação de solo contaminado com o herbicida picloram. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 2, p. 295 – 304. 2009.

RAMBORG, B. P. et al. The phytoremediation potential of *Plectranthus neochilus* on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and the role of antioxidant capacity in herbicide tolerance. **Chemosphere**, v. 188, n. 1, p. 231-240. 2017.

ROMERO RAMÍREZ, Ana Cecilia. **Dinâmica do indaziflam em solos condicionados com biocarvão**. 2018. Tese de doutorado, 2018. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil. Disponível: <https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/27584/1/texto%20completo.pdf>. Acesso em: 19 mar. 2023.

SANTOS, J. B. et al. Fitorremediação de áreas contaminadas por herbicidas. In: SILVA, A. A.; SILVA, J.F. (Editores). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG: Ed. UFV. p. 210- 239. 2007.

SILVA, G. S. et al. Impact of sulfentrazone, isoxaflutole and oxyfluorfen on the microorganisms of two forest soils. **Bragantia**, v. 73, n. 3, p. 292 – 299. 2014.

SILVA, L. O. C. et al. Mobilidade do ametryn em Latossolos brasileiros. **Planta Daninha**, v. 30, n. 4, p. 883-890. 2012.

SOUZA, W. M. **Influência dos atributos do solo na sorção e lixiviação do indaziflam em solos tropicais**. Dissertação de Mestrado, 2018. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil. Disponível em: <<https://www.locus.ufv.br/handle/123456789/22476>>. Acesso em: 29 mar. 2022.

USEPA. Pesticide fact sheet, 2010. Conditional registration, 2010. 108 p.

VIEIRA, R. F. et al. Soil microbial biomass C and symbiotic processes associated with soybean after sulfentrazone herbicide application. **Plant Soil**, v. 300, p. 95 – 103. 2007.

VILLAYERDE, J. et al. Combined use of microbial consortia isolated from different agricultural soils and cyclodextrin as a bioremediation technique for herbicide contaminated soils. **Chemosphere**, v. 193, p. 118-125. 2018.

OTTO S. et al. Effect of vegetative filter strips on herbicide runoff under various types of rainfall. **Chemosphere**, v. 88, p. 113 – 119. 2012.

SUN, S. et al. Pesticide pollution in agricultural soils and sustainable remediation methods: a review. **Current Pollution Reports**, v. 4, n. 3, p. 240-250. 2018.

TORRES, B.A. et al. Saflufenacil and indaziflam herbicide effects on agricultural crops and microorganisms. **African Journal of Agricultural Research**, v.13, n. 16, p. 872-885. 2018.

Capítulo 3- Eficiência da associação entre *Canavalia ensiformis* e o consórcio de isolados bacterianos na biorremediação de solo contaminado com indaziflam

RESUMO

Eficiência da associação entre *Canavalia ensiformis* e o consórcio de isolados bacterianos na biorremediação de solo contaminado com indaziflam

A biorremediação por meio de plantas e, ou micro-organismos é uma alternativa para degradar ou estabilizar os herbicidas com longo período de ação residual no solo, como o indaziflam, de modo a reduzir os riscos de contaminação ambiental e intoxicação em culturas sucessoras. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de biorremediação de solos contaminados com o indaziflam por meio de micro-organismos e plantas biorremediadores. Os tratamentos avaliados foram: inoculação do consórcio bacteriano, cultivo de *Canavalia ensiformis* (*C. ensiformis*), cultivo de *C. ensiformis* + consórcio bacteriano e testemunha sem a inoculação das bactérias e sem a *C. ensiformis*. Em cada um desses tratamentos foram aplicados quatro doses do indaziflam (0; 25; 50 e 100 g ha⁻¹ do i.a.) para posterior avaliação do resíduo do herbicida no solo em seis períodos de avaliação (0; 15; 30; 60; 90 e 120 dias após a aplicação (DAA)). Em cada período de avaliação foram realizadas avaliações de intoxicação e crescimento das plantas de *C. ensiformis* e coleta das amostras de solo para avaliação do resíduo do indaziflam por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e bioensaio, utilizando o sorgo (*Sorghum bicolor*) como planta indicadora. O indaziflam provocou sintomas severos de intoxicação na *C. ensiformis* nas primeiras avaliações principalmente na dose mais alta de 100 g ha⁻¹ do i.a., contudo as plantas se recuperaram progressivamente, com redução nas notas de intoxicação, evidenciando a tolerância da espécie ao herbicida. A CLAE detectou e quantificou o indaziflam quando se utilizou o consórcio bacteriano, cultivo de *C. ensiformis* e associação desses somente no dia da aplicação (0 DAA) para a dose de 25 g ha⁻¹ do i.a. e até 15 DAA para as doses de 50 e 100 g ha⁻¹ do i.a. No entanto, para as amostras de solo sem a inoculação dos isolados bacterianos e sem as plantas de *C. ensiformis* o indaziflam foi detectado e quantificado até 120 DAA para todas as doses. Na avaliação por meio de bioensaio, verificou-se ação do indaziflam e, ou de seus metabólitos até 120 DAA para a dose de 100 g ha⁻¹ do i.a., porém com menores índices de intoxicação quando se utilizou micro-organismos e, ou plantas biorremediadores (aproximadamente 55%) em relação à testemunha sem adição de micro-organismos e cultivo de *C. ensiformis* (92,5%). Conclui-se que a *C. ensiformis*, o consórcio dos isolados bacterianos e a associação desses é viável para a biorremediação de solos contaminados com o herbicida indaziflam.

Palavras-chave: Fitorremediação; Micro-organismos; CLAE; Bioensaio.

ABSTRACT

Efficiency of the association between *Canavalia ensiformis* and a consortium of bacterial isolates in the bioremediation of indaziflam-contaminated soil

Bioremediation through plants and/or microorganisms is a viable strategy to degrade or stabilize herbicides with long residual activity in the soil, such as indaziflam, thereby reducing the risk of environmental contamination and phytotoxicity in subsequent crops. This study aimed to evaluate the bioremediation potential of soils contaminated with indaziflam using bioremediating microorganisms and plants. The treatments evaluated were: inoculation with a bacterial consortium, cultivation of *Canavalia ensiformis* (*C. ensiformis*), cultivation of *C. ensiformis* combined with the bacterial consortium, and a control without bacterial inoculation or *C. ensiformis* cultivation. Each treatment received four application rates of indaziflam (0, 25, 50, and 100 g ha⁻¹ of active ingredient) to assess herbicide residue in the soil over six evaluation periods (0, 15, 30, 60, 90, and 120 days after application – DAA). At each evaluation time point, assessments of phytotoxicity and growth of *C. ensiformis* were conducted, and soil samples were collected to quantify indaziflam residues via High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) and bioassays using *Sorghum bicolor* as the indicator species. Indaziflam caused severe phytotoxic symptoms in *C. ensiformis* during the initial evaluations, particularly at the highest dose (100 g ha⁻¹ a.i.), although the plants progressively recovered, as evidenced by decreasing phytotoxicity scores, indicating a degree of tolerance to the herbicide. HPLC analysis detected and quantified indaziflam residues in treatments with the bacterial consortium, *C. ensiformis*, or their combination only on the day of application (0 DAA) for the 25 g ha⁻¹ a.i. dose, and up to 15 DAA for the 50 and 100 g ha⁻¹ a.i. doses. In contrast, in soil samples without bacterial inoculation or plant cultivation, indaziflam residues were detected and quantified up to 120 DAA for all doses. The bioassay analysis revealed the presence of indaziflam and/or its metabolites up to 120 DAA at the 100 g ha⁻¹ a.i. dose. However, lower phytotoxicity levels were observed when microorganisms and/or bioremediating plants were used (approximately 55%) compared to the untreated control without microbial inoculation or *C. ensiformis* cultivation (92.5%). It can be concluded that *C. ensiformis*, the bacterial isolate consortium, and their combined application are effective alternatives for the bioremediation of soils contaminated with the herbicide indaziflam.

Keywords: Phytoremediation; Microorganism; HPLC; Bioassay.

1. INTRODUÇÃO

Os herbicidas com longo efeito residual, como o indaziflam, são amplamente utilizados na agricultura para o controle de plantas daninhas. Todavia, o uso indiscriminado desses herbicidas pode acarretar em contaminação do solo e de recursos hídricos, e causar intoxicação em culturas sucessoras (VIEIRA et al., 2007; DAN et al., 2012; LANE et al., 2012; OTTO et al., 2012; SILVA et al., 2014). O indaziflam (N-[(1R,2S)-2,6-dimethyl-2,3-dihydro-1H-inden-1-yl]-6-(1-fluoroethyl)-1,3,5-triazine-2,4-diamine) é um herbicida aplicado em pré-emergência, que pertence à classe química “fluoroalkyltriazine” e possui tempo de meia-vida no solo ($t_{1/2}$) superior a 150 dias (LEWIS et al., 2016).

Desse modo, em consequência dos problemas agronômicos e ambientais causados por esses herbicidas, a biorremediação surge como alternativa promissora, utilizando micro-organismos e, ou plantas para degradar ou transformar essas substâncias tóxicas em compostos menos nocivos ou não nocivos, reduzindo a persistência dos resíduos no ambiente (BASTABAK et al., 2021). A degradação microbiana é considerada a principal via de degradação de herbicidas no solo, contudo, o consórcio de micro-organismos com espécies vegetais, pode ser realizada com a finalidade de potencializar a degradação ou acumulação desses compostos.

O uso de plantas na remediação é denominado de fitorremediação e se baseia no emprego de espécies vegetais com a capacidade de degradar, remover ou estabilizar os contaminantes do solo, como os herbicidas (CUNNINGHAM et al., 1996; PIRES et al., 2003; JEEVANANTHAM et al., 2019). As plantas podem absorver e metabolizar os herbicidas e, ou promover o aumento da atividade microbiana degradando-os (TAVARES, 2009). A fitorremediação abrange diversos processos, como fitoextração, fitoacumulação, fitodegradação, fitovolatilização, fitoestimulação, rizodegradação, rizovolatilização e rizoestabilização (PROCÓPIO et al., 2009; JEEVANANTHAM et al., 2019). No entanto, quando se trata da remediação de herbicidas do solo, a fitoestimulação, a rizodegradação e a fitodegradação se destacam como os mecanismos mais relevantes (SANTOS et al., 2007), e são influenciados pelas características morfofisiológicas de cada espécie vegetal (PROCÓPIO et al., 2009).

Diversas espécies têm sido avaliadas para fitorremediação de herbicidas, entre elas, a *Canavalia ensiformis* (*C. ensiformis*) foi considerada fitorremediadora eficiente (MELO, 2015; MADALÃO et al., 2016; FAUSTINO, 2019). A *C. ensiformis* é uma leguminosa amplamente utilizada na adubação verde, devido ao seu crescimento rápido, alta produção de biomassa e

capacidade de fixação biológica de nitrogênio. Entretanto, apesar do crescente interesse da comunidade científica, pouco se sabe sobre os efeitos da associação de *C. ensiformis* com isolados bacterianos visando intensificar a fitorremediação de solos contaminados por indaziflam. Diante do exposto, objetivou-se nessa pesquisa avaliar o potencial de biorremediação de solos contaminados com o indaziflam por consórcio bacteriano previamente selecionado, por *C. ensiformis* e pela associação desses.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no período de novembro de 2023 a março de 2024, sendo realizado em casa de vegetação na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Produção de Grandes Culturas e Bioenergia (UEPE Aeroporto) (20°74'8231"S e 42°84'1574"O e altitude 660 m), e no Laboratório de Manejo Integrado de Plantas Daninhas pertencentes ao Departamento de Agronomia; e no Laboratório de Ecologia Microbiana, pertencente ao Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa-MG. Os dados climatológicos, como temperaturas máxima e mínima durante o período experimental estão apresentados na Figura 1.

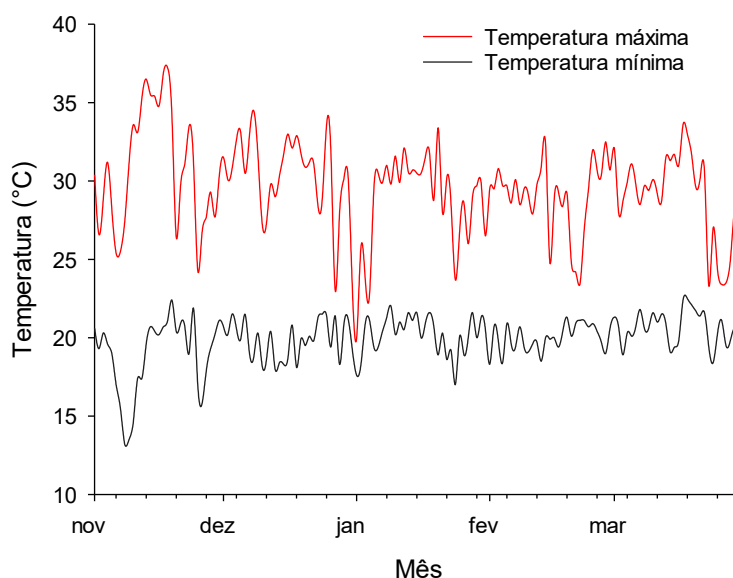


Figura 1. Temperaturas máxima e mínima durante o período experimental. Fonte: INMET, 2024.

Cada unidade experimental foi composta por um vaso de polietileno com capacidade de 5,0 L que foram revestidos com saco plástico e preenchidos com solo sem histórico de aplicação

de herbicida, previamente adubado e corrigido conforme análise química e física e exigência da cultura (Tabela 1).

Tabela 1. Resultados das análises químicas e físicas do solo.

Características químicas													
pH	P	K ⁺	B	Fe	Mn	Ca ²⁺	Mg ² ₊	Al ³⁺	H ⁺ Al	T	SB	MO	P-Rem
(H ₂ O)	----- (mg dm ⁻³) -----					----- (cmol _c dm ⁻³) -----				----- (dag kg ⁻¹) -----			
6,3	3,0	190	0	29,2	40,6	3,18	0,67	0,0	1,98	6,3	4,34	2,00	22,9
Características físicas													
Argila					Silte				Areia			Classe textural	
----- (%) -----													
49					13				38			Argiloso	

* Análises realizadas no Laboratório de Análises de Solo Viçosa Ltda. pH: água, KCL e CaCl₂- relação 1:2,5. P-K: Extrator Mehlich 1. Ca-Mg e Al: Extrator: KCL – 1 mol L⁻¹. H + Al – Acidez potencial – Extrator: acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹; SB - Soma de bases trocáveis; T – Capacidade de troca catiônica a pH 7,0; MO – Matéria orgânica; (P-Rem) – Fósforo Remanescente.

* Análises realizadas segundo a metodologia da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA 1997).

A partir da seleção dos isolados bacterianos realizados no capítulo 2 e da planta remediadora *C. ensiformis*, selecionado nos ensaios realizados por Faustino (2019), foi conduzido o experimento em um esquema em parcelas subdivididas, tendo nas parcela um esquema fatorial 4 x 4, sendo 4 tratamentos (inoculação do consórcio bacteriano isoladamente, *C. ensiformis* + consórcio bacteriano, *C. ensiformis* sem a inoculação das bactérias e testemunha sem *C. ensiformis* e sem consórcio bacteriano) e quatro doses do indaziflam (0; 25; 50 e 100 g ha⁻¹ do i.a.). E na subparcela o tempo de biorremediação (0; 15; 30; 60; 90 e 120 dias após a aplicação), no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições.

O solo adubado foi colocado em caixa de madeira (4,0 m de comprimento x 1,0 m de largura x 0,15 m de profundidade) revestida com filme de polietileno e a aplicação do indaziflam foi realizada com pulverizador costal, pressurizado com gás carbônico (CO₂), equipado com três pontas de pulverização tipo leque TT110 02 espaçadas de 0,50 m, com volume de calda de 170 L ha⁻¹. Após a aplicação, o solo foi homogeneizado de modo a incorporar o herbicida antes de ser colocado nos vasos.

A semeadura da *C. ensiformis*, foi realizada a 5 cm de profundidade utilizando-se seis sementes por vaso. Decorridos 15 dias da semeadura realizou-se o desbaste deixando três plantas em cada unidade experimental. A irrigação foi realizada diariamente, de modo a manter o solo com aproximadamente 80% da capacidade de campo.

O consórcio bacteriano foi formado por cinco isolados identificados como IN4, IN43, IN50, IN54 e IN59, selecionados em ensaio anterior (Capítulo 2). Estes foram cultivados separadamente em meio caldo nutriente (1,0 L água; 2,0 g Na₂HPO₄; 3,0 g NaCl; 3,0 g extrato de carne; 5,0 g peptona; pH 6,8) por aproximadamente 10 horas a 30 °C e 150 rpm até densidade óptica de 0,6. O meio foi submetido à centrifugação (5000 rpm, 5 min e 4 °C) e as células bacterianas suspensas em solução salina (NaCl 0,85%). O consórcio foi adicionado ao solo após o semeio da espécie vegetal e 15 dias após o semeio, pipetando-se volumes de 37,5 mL de solução do consórcio dos cinco isolados.

Aos 0; 15; 30; 60; 90 e 120 dias após aplicação do indaziflam foi realizado as avaliações de altura de plantas, massa de matéria seca da parte aérea, das raízes e do total da planta, área foliar, comprimento de raízes e volume de raízes. A massa de matéria seca da planta foi obtida por meio de pesagem do material colhido, seco em estufa de circulação forçada (70 ± 2 °C) por 72 horas. Para a área foliar (AF - cm²/planta) foi utilizado o medidor de área foliar LI-3100 e o volume de raízes (VR - cm³/planta) foi feito pelo método do volume de água deslocado em proveta graduada.

Após cada colheita da espécie fitorremediadora, foram retiradas amostras de solo para a detecção do resíduo de indaziflam por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e por bioensaio.

Deteção do resíduo do herbicida indaziflam por meio de bioensaio

Amostras de solo de cada unidade experimental foram homogeneizadas. Posteriormente, foram semeadas dez sementes da espécie bioindicadora da presença do indaziflam, *Sorghum bicolor* (BRAGA, 2017), deixando-se, após o desbaste, três plântulas por vaso. Aos 21 dias após a emergência foram avaliados os sintomas de intoxicação (%), atribuindo-se notas de 0 a 100, para ausência de sintomas na parte aérea e morte da planta, respectivamente. A massa de matéria seca da parte aérea, das raízes e do total da planta foram obtidas por meio de pesagem do material colhido, secado em estufa de circulação forçada (70 ± 2 °C) por 72 horas.

Detecção do resíduo do herbicida indaziflam por meio de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Para quantificação da concentração do indaziflam por cromatografia, amostras homogeneizadas de solo foram coletadas e armazenadas em freezer (-20 °C). Para extração do herbicida no solo, 2,0 g do solo anteriormente congelado foi transferido para tubos falcon de tampa rosqueável com capacidade para 50,0 mL. Posteriormente, foram adicionados 10,0 mL de acetonitrila e agitados em agitador vertical por 24 horas. Após a agitação, as amostras foram centrifugadas a 7000 rpm durante 7 minutos e o sobrenadante filtrado em filtros com membrana PTFE de 0,45 µm, para ser armazenado em “vials” de 1,5 mL de capacidade, para posterior análise cromatográfica.

Foi utilizado o instrumento de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), modelo Shimadzu. O equipamento conta com detector de arranjo de fotodiodos (Shimadzu SPD-M20A) e coluna C18 de aço inox (Shimadzu VP-ODS Shim-pack 250 mm x 4,6 mm d. i., 5 µm de tamanho de partícula). Como fase móvel foi utilizada acetonitrila e água (acidificada com 0,01% de ácido fosfórico) na proporção de 43:57 (V:V), com volume de injeção de 10 µL, a um fluxo de 1,0 mL min⁻¹ e comprimento de onda de 190 nm, a temperatura de 30 °C. A quantificação foi realizada utilizando a curva de calibração externa.

Validação do método de extração do herbicida no solo

O método de extração do indaziflam foi validado considerando os parâmetros de desempenho analítico: seletividade, linearidade, limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), precisão e exatidão, segundo o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO, 2011).

A seletividade do método foi validada pela comparação dos cromatogramas de extratos obtidos pelo método otimizado, da matriz isenta do herbicida com o cromatograma da matriz fortificada com o indaziflam. Já a linearidade de resposta da faixa de trabalho foi avaliada pela análise de regressão dos dados cromatográficos em função da concentração do herbicida no solo na faixa de 0,50 a 5,0 mg L⁻¹.

Para isto, foram fortificadas amostras dos solos nas concentrações de 0,50; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 mg L⁻¹ de indaziflam e estas foram submetidas ao método de extração. Com as áreas

obtidas para cada concentração foi construída a curva analítica para o solo. A linearidade do método foi avaliada por regressão linear e pela análise dos resíduos.

O limite de detecção (LD) foi determinada pela razão da estimativa do desvio-padrão (s) da resposta analítica gerada pelo branco, pela inclinação da curva analítica (S), multiplicando esta razão por 3,3.

$$LD = 3,3 \times s/S \text{ (Equação 1).}$$

E o limite de quantificação (LQ) foi determinado usando os mesmos parâmetros adotados para o LD (s/S), porém a relação desvio/inclinação foi de 10:1.

$$LQ = 10 \times s/S \text{ (Equação 2).}$$

A exatidão foi avaliada em ensaios de recuperação (%R) (INMETRO, 2011). As amostras de solos foram fortificadas em três níveis de concentração: 0,50; 3,0 e 5,0 mg L⁻¹, em triplicatas, e foram submetidas ao método de extração. A porcentagem de recuperação foi calculada a partir da equação 3. Para as concentrações que foram avaliadas a porcentagem de recuperação aceitável é de 80 a 110%.

$$\text{Recuperação (\%)} = [(C_1 - C_2)/C_3] \times 100 \text{ (Equação 3).}$$

Onde:

C₁: Concentração do analito na amostra fortificada.

C₂: Concentração do analito na amostra não fortificada.

C₃: Concentração do analito adicionado à amostra fortificada.

A precisão foi avaliada pela precisão intermediária e pela repetibilidade (INMETRO, 2011). Na repetibilidade, as amostras de solos foram fortificadas em três níveis de concentração: 0,50; 3,0 e 5,0 mg L⁻¹, em seis replicatas, e foram submetidas ao método de extração. E foi avaliada por meio do desvio padrão relativo (Equação 4).

$$CV = DPR = (DP/CMD) \times 100 \text{ (Equação 4).}$$

Onde DP é o desvio padrão e CMD é a concentração média determinada.

Para as concentrações avaliadas o desvio padrão relativo aceitável é de até 15% para o primeiro nível de concentração e de até 11% para os demais.

A precisão intermediária foi avaliada ao longo de três dias não consecutivos (1º, 3º e 5º dias) em três níveis de concentração (0,50; 3,0 e 5,0 mg L⁻¹) para um mesmo analista e o mesmo equipamento. O parâmetro adotado para avaliação foi a análise de variância (ANOVA) para verificar a semelhança entre os ensaios. Dentro da análise de variância foi realizado o teste F para verificar a semelhança entre as amostras de mesma concentração.

Análises estatísticas

Os dados foram analisados por meio de metodologia da superfície de resposta. Os modelos foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão, utilizando o teste de Student “t” adotando o nível de 1% e 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação e no comportamento do fenômeno em estudo. Foi ajustado um modelo de superfície de resposta para cada tratamento.

As variáveis intoxicação e concentração do indaziflam no solo foram analisadas por meio da estatística descritiva.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Cultivo de *Canavalia ensiformis*, potencialmente fitorremediadora em associação com consórcio bacteriano – Avaliação de crescimento

Na avaliação da variável intoxicação das plantas de *Canavalia ensiformis* (*C. ensiformis*), observa-se que nos tratamentos com a *C. ensiformis* e *C. ensiformis* + consórcio dos isolados bacterianos, houve redução dos níveis de intoxicação ao longo do tempo, sendo que o maior nível de intoxicação foi em função da maior dose do indaziflam, que é correspondente à dose comercial recomendada na bula (MAPA, 2019) (Figura 2). Além do mais, não foram observadas variações no tratamento com *C. ensiformis* associado ao consórcio bacteriano em relação ao cultivo da *C. ensiformis* isoladamente.

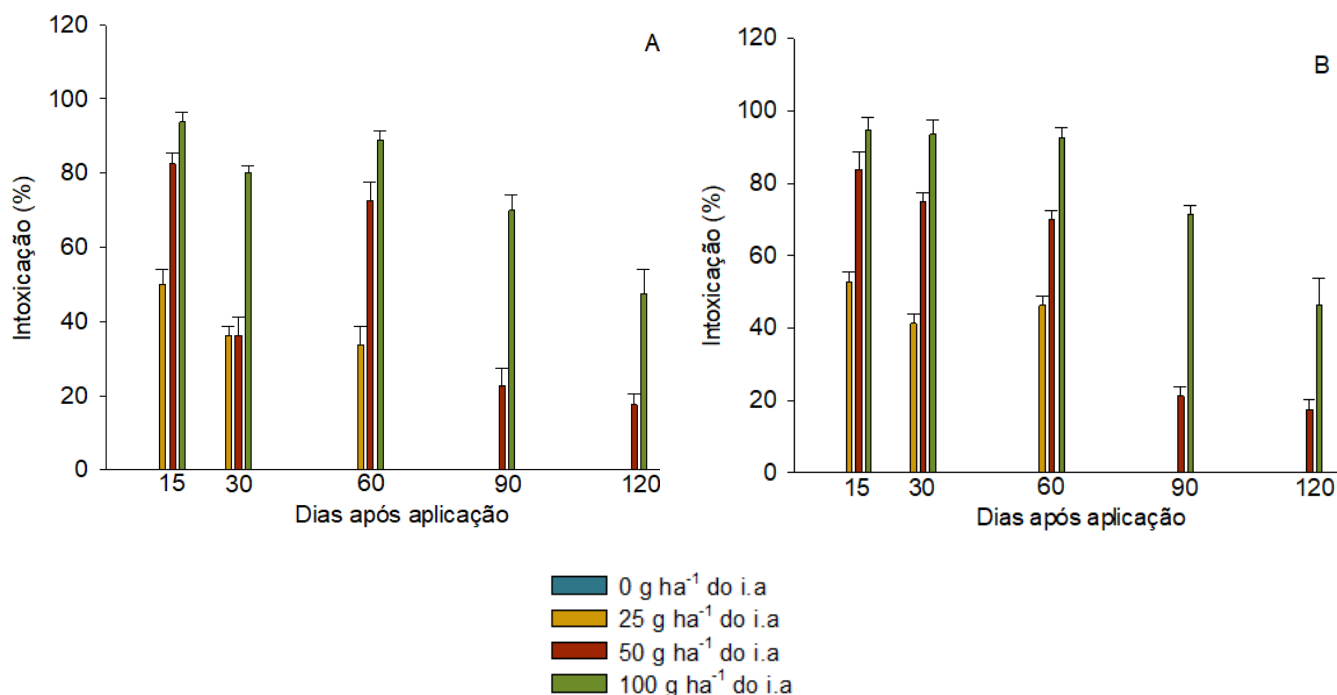


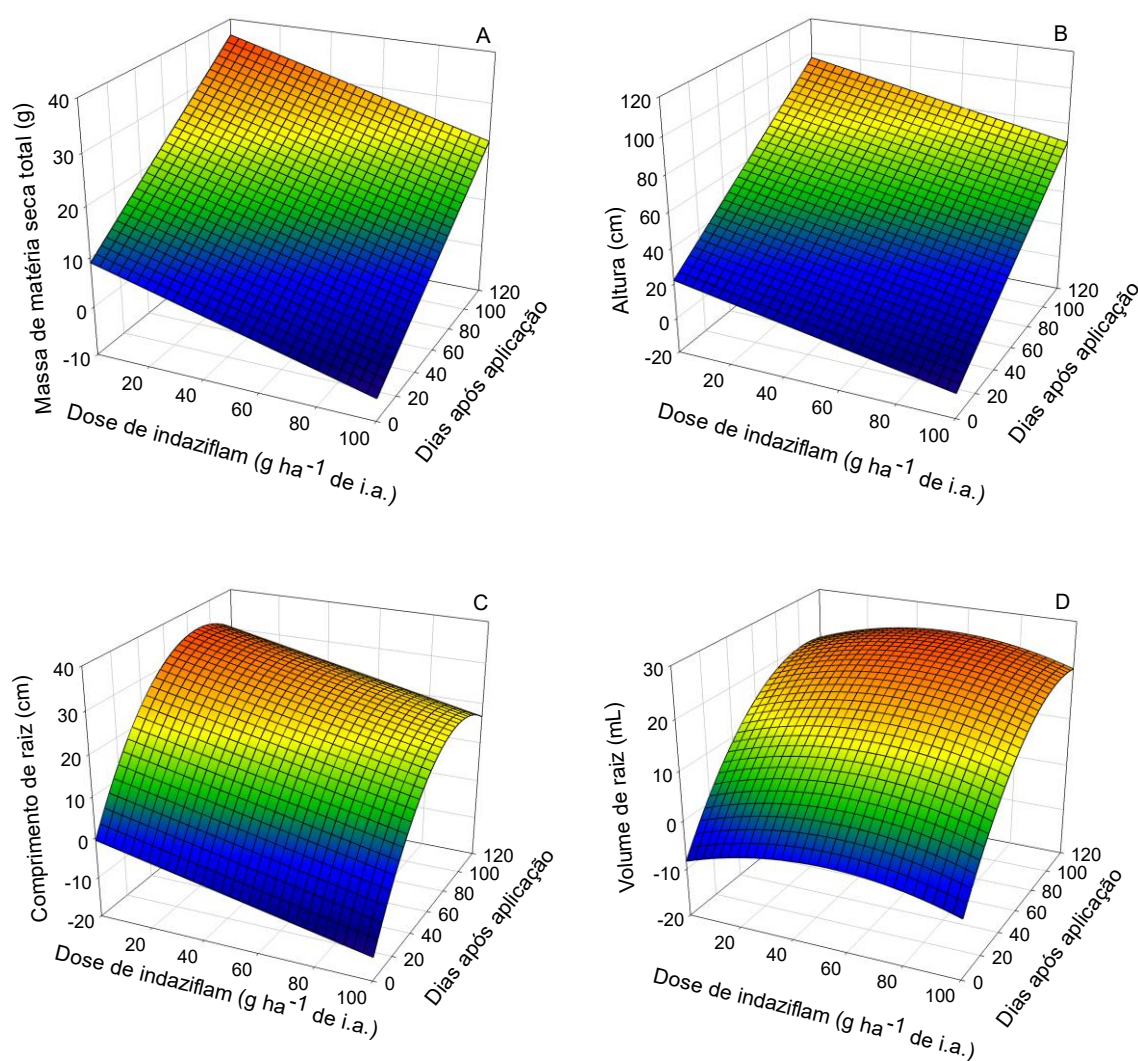
Figura 2. Porcentagem de intoxicação das plantas de *Canavalia ensiformis* aos 15, 30, 60, 90 e 120 dias após aplicação do herbicida indaziflam, para os tratamentos com a *Canavalia ensiformis* (A) e *Canavalia ensiformis* + consórcio de isolados bacterianos (B) com os desvios-padrão.

Aos 90 e 120 dias após a aplicação (DAA) não foi observado intoxicação das plantas na dose de 25 g ha⁻¹ do i.a., para ambos os tratamentos. Na dose de 100 g ha⁻¹ do i.a., aos 15 DAA a intoxicação das plantas era de 93,75% e 94,75% para os tratamentos com a *C. ensiformis* e *C. ensiformis* + consórcio de isolados bacterianos, todavia, aos 120 DAA a intoxicação foi de 47,5% e 46,25%, respectivamente, ou seja, mesmo na maior dose do herbicida, não foi observado a morte das plantas, indicando a tolerância da planta de *C. ensiformis* ao indaziflam. Faustino (2019) avaliando o potencial da *C. ensiformis* na fitorremediação do indaziflam, também verificou redução dos índices de intoxicação nas plantas cultivadas ao longo do tempo nas doses de 10, 20, 40 e 80 g ha⁻¹ do i.a.

A *C. ensiformis* destaca-se na fitorremediação de herbicidas devido ao seu sistema radicular profundo, crescimento rápido, à liberação de exsudatos que estimulam micro-organismos degradadores na rizosfera e à sua alta biomassa, que favorece a absorção e transformação dos contaminantes (FERRAÇO et al., 2017; MELO et al., 2019). Além disso, sua tolerância a solos contaminados e a capacidade de fixação biológica de nitrogênio

melhoram as condições do solo, tornando-o propício para a degradação de herbicidas (SANTOS et al., 2007).

Na avaliação de massa de matéria seca total, altura de plantas e área foliar verifica-se que quando se realizou o cultivo da espécie *C. ensiformis* isoladamente e *C. ensiformis* + consórcio dos isolados bacterianos, houve decréscimo para essas variáveis com o aumento da dose do herbicida e acréscimo com o aumento do tempo de biorremediação, evidenciado pelos valores negativos de β_1 e positivos de β_2 das equações lineares e quadráticas (Figura 3, Figura 4 e Tabela 2).



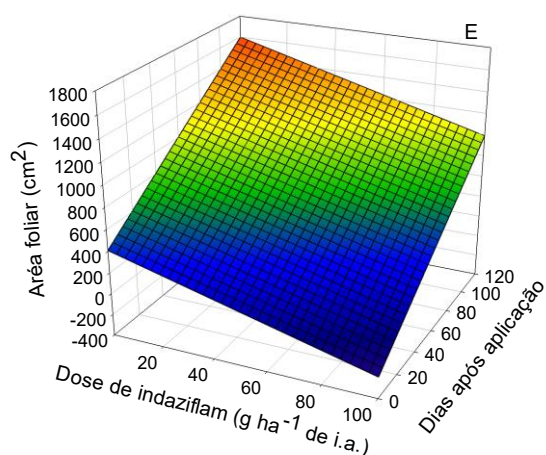
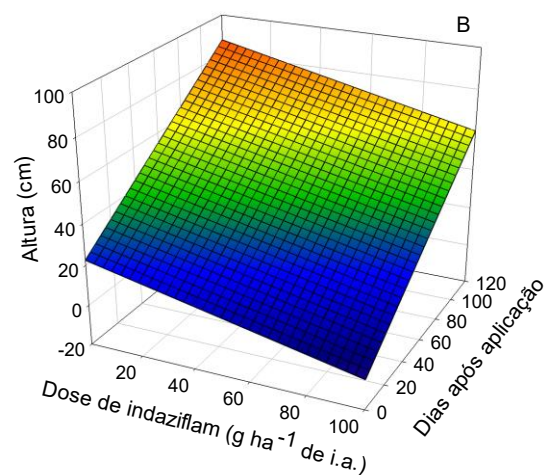
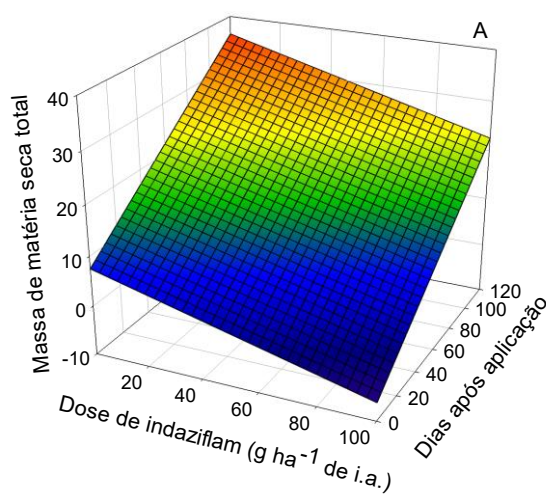


Figura 3. Massa de matéria seca total das plantas de *Canavalia ensiformis* (A), altura de plantas (B), comprimento de raiz (C), volume de raiz (D) e área foliar (E) para o tratamento com a *Canavalia ensiformis* isoladamente, aos 0, 15, 30, 60, 90 e 120 dias após aplicação do herbicida indaziflam nas doses de 0, 25, 50 e 100 g ha⁻¹ do i.a.



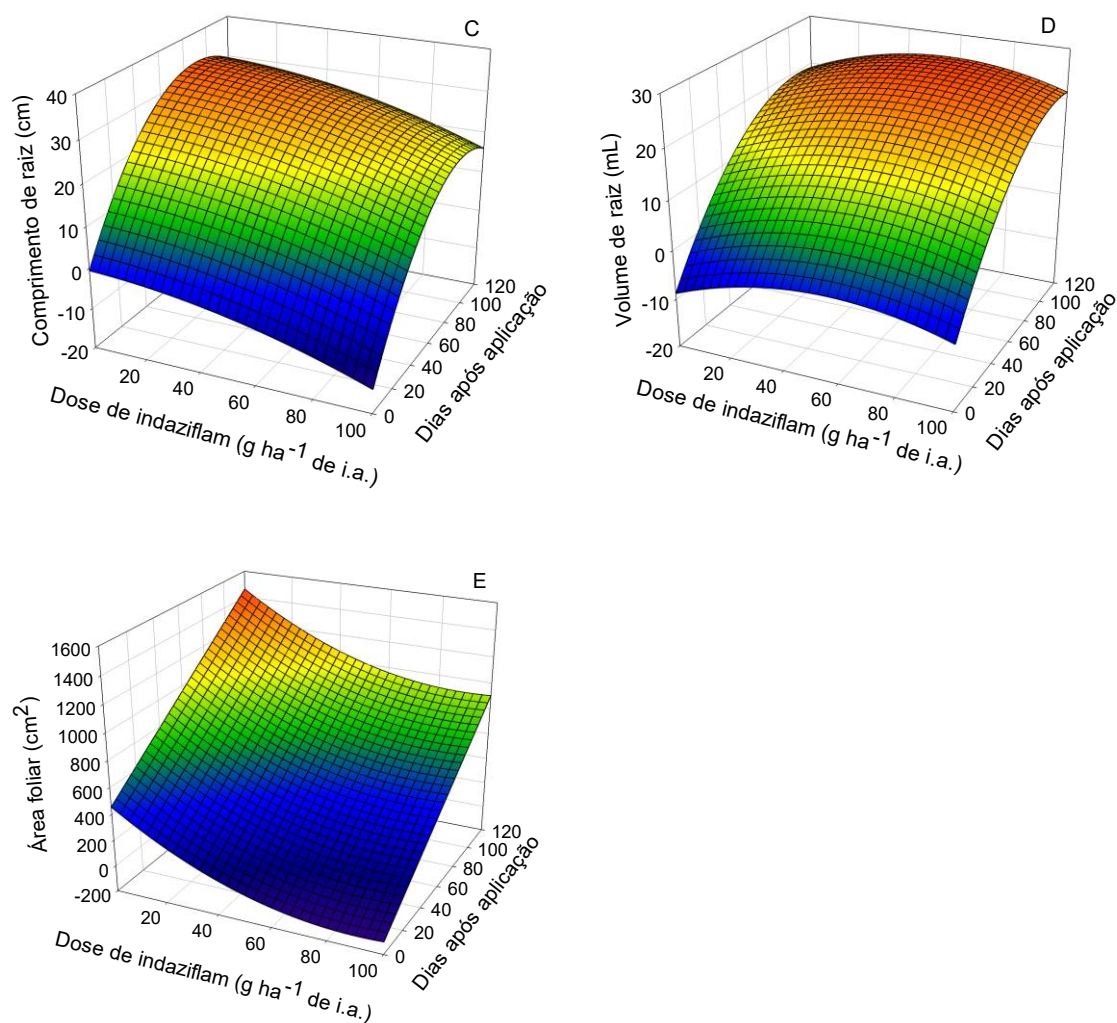


Figura 4. Massa de matéria seca total das plantas de *Canavalia ensiformis* (A), altura de plantas (B), comprimento de raiz (C), volume de raiz (D) e área foliar (E) para o tratamento com a *Canavalia ensiformis* + consórcio de isolados bacterianos, aos 0, 15, 30, 60, 90 e 120 dias após aplicação do herbicida indaziflam nas doses de 0, 25, 50 e 100 g ha⁻¹ do i.a.

Tabela 2. Equações de regressão ajustadas para as variáveis massa da matéria seca total / planta (g), altura de planta (cm), comprimento de raiz (cm), volume de raiz (mL) e área foliar (cm²) de *Canavalia ensiformis* em função de doses do herbicida indaziflam e do tempo de biorremediação para os respectivos tratamentos e dos coeficientes de determinação (R²).

Tratamento	Variáveis	Equações ajustadas	R ²
<i>C. ensiformis</i>	Massa de matéria seca/planta	$\hat{Y}=8,97285-0,144292^{**}HE+0,231182^{**}TE$	0,9121
	Altura	$\hat{Y}=22,0814-0,280057^{**}HE+0,625534^{**}TE$	0,9403
	Comp. de raiz	$\hat{Y}=-0,62254-0,135581^{**}HE+0,793409^{**}TE-0,0044668^{**}TE^2$	0,9454
	Vol. de raiz	$\hat{Y}=-8,37481+0,192621^{**}HE-0,00185152^{**}HE^2+0,534896^{**}TE-0,0025077^{**}TE^2$	0,9288
	Área foliar/planta	$\hat{Y}=409,536-6,10603^{**}HE+9,91039^{**}TE$	0,8122
<i>C. ensiformis</i> + consórcio bacteriano	Massa de matéria seca/planta	$\hat{Y}=7,5222-0,138405^{**}HE+0,240499^{**}TE$	0,9212
	Altura	$\hat{Y}=22,5066-0,27857^{**}HE+0,54037^{**}TE$	0,8791
	Comp. de raiz	$\hat{Y}=-0,589702-0,0288364^{NS}HE-0,00106788^{*}HE^2+0,73438^{**}TE-0,0040305^{**}TE^2$	0,9461
	Vol. De raiz	$\hat{Y}=-8,81289+0,221103^{**}HE-0,00198545^{*}HE^2+0,519117^{**}TE-0,0023875^{**}TE^2$	0,8681
	Área foliar/planta	$\hat{Y}=455,33-12,5272^{**}HE+0,069287^{*}HE^2+8,3787^{**}TE$	0,8533

** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste “t”. * Significativo a 5% de probabilidade pelo teste “t”.

No tratamento com a *C. ensiformis*, à medida que aumenta a dose em 1 g ha⁻¹ do i.a. de indaziflam, mantendo o tempo de biorremediação constante, diminui em 0,144292 g a massa de matéria seca total, 0,280057 cm a altura e 6,10603 cm² a área foliar (Tabela 2). Todavia, mantendo a dose do herbicida constante, à medida que aumenta um dia no tempo de biorremediação, ocorre aumento de 0,23118 g na massa de matéria seca total, 0,625534 cm na altura e 9,91039 cm² na área foliar (Tabela 2).

No tratamento com a *C. ensiformis* + consórcio dos isolados bacterianos, à medida que aumenta a dose em 1 g ha⁻¹ do i.a., mantendo o tempo de biorremediação constante, diminui

em 0,138405 g a massa de matéria seca total e 0,27857 cm a altura. Todavia, mantendo a dose do herbicida constante, à medida que aumenta um dia no tempo de biorremediação, ocorre aumento de 0,240499 g na massa de matéria seca total, 0,54037 cm na altura e 8,3787 cm² na área foliar.

Para a variável volume de raiz houve estímulo no crescimento com o aumento da dose e aumento do tempo de biorremediação, com posterior decréscimo para ambos os tratamentos. O indaziflam atua inibindo a biossíntese de celulose, impedindo a formação de novas células da parede celular e interrompendo o crescimento da planta, essa inibição ocorre, possivelmente, na fase de reticulação das microfibrilas de celulose (GRIFFIN, 2005; TOMPIKINS, 2010; GUERRA et al., 2013). Além disso, o herbicida interfere na organização dos cristais de celulose, afetando o alongamento e a divisão celular devido à estruturação inadequada da parede celular (GUERRA et al., 2013), onde um dos sintomas causados pelo indaziflam é o engrossamento das raízes, que explica o maior volume de raiz com o aumento da dose do herbicida e do tempo de biorremediação.

3.2 Validação do método de extração do herbicida no solo

O tempo total de corrida foi de 10 minutos, sendo que o indaziflam apresentou tempo de retenção de aproximadamente 7,9 minutos sob as condições empregadas. A metodologia cromatográfica demonstrou ser seletiva para o indaziflam, conforme evidenciado pela análise comparativa dos cromatogramas da matriz do solo com e sem o herbicida. Nesse intervalo de retenção, não foram detectadas interferências que comprometessem a identificação do pico cromatográfico do indaziflam (Figura 5).

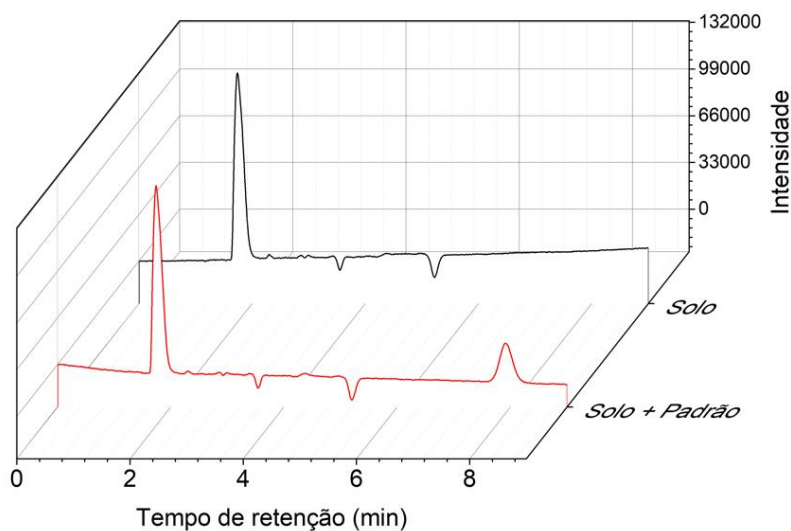


Figura 5. Seletividade do herbicida indaziflam no solo nas condições cromatográficas.

A linearidade foi avaliada na faixa de trabalho de 0,5 a 5,0 mg L⁻¹ com valor do coeficiente de determinação (r^2) acima de 0,990, demonstrando bom ajuste linear para o solo analisado (Figura 6). Ou seja, a regressão linear é adequada para descrever os dados. Desta forma, a curva analítica apresenta linearidade nas concentrações avaliadas. O limite de detecção (LD) foi de 0,04 mg L⁻¹ e o limite de quantificação (LQ) em torno de 0,11 mg L⁻¹.

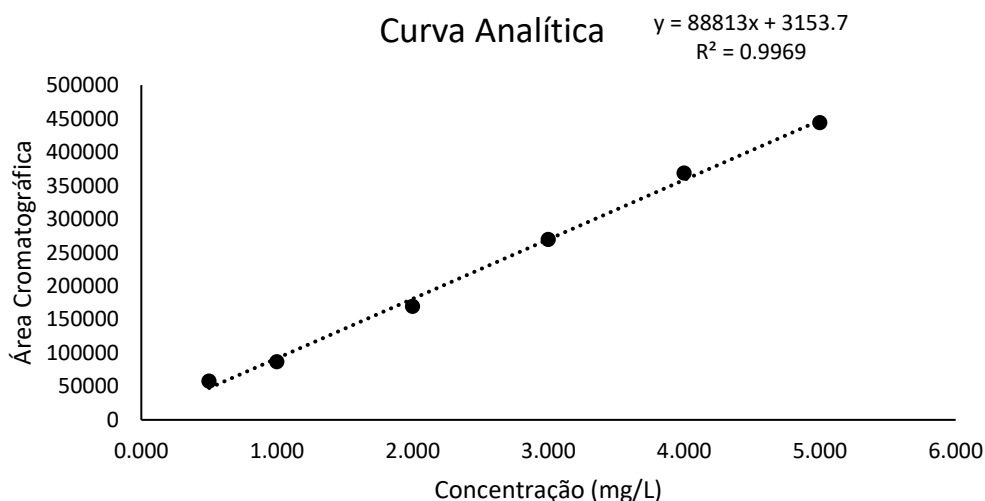


Figura 6. Curva analítica no solo obtido de amostras de solo fortificados em diferentes concentrações.

Para verificar a qualidade do ajuste do modelo de regressão, foi construído o gráfico dos resíduos, no qual se observou distribuição aleatória. Esse resultado indica que as suposições

dos mínimos quadrados foram atendidas, sem impactar a resposta. Dessa forma, a linearidade do método dentro da faixa analisada mostrou-se adequada, uma vez que os resíduos não apresentaram padrões sistemáticos (Figura 7).

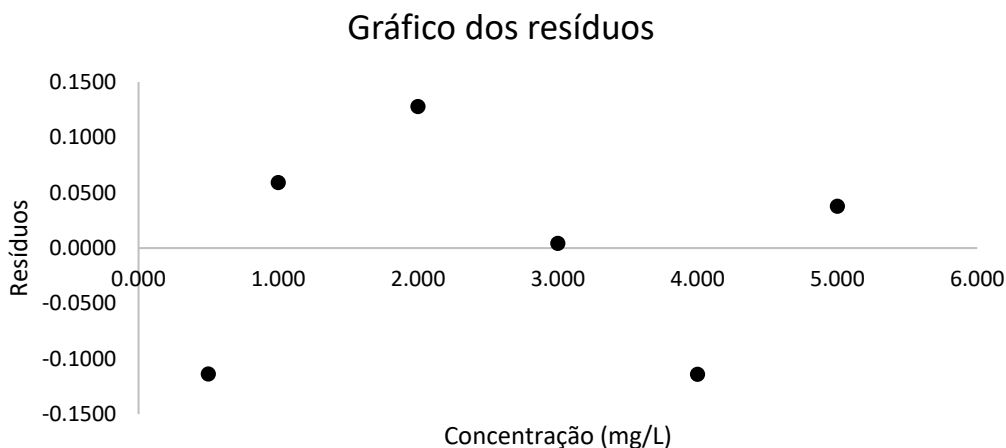


Figura 7. Dispersão de resíduos da regressão da resposta analítica em função da concentração do indaziflam no solo.

O teste de exatidão avaliou a recuperação do indaziflam após a fortificação das amostras em três concentrações, seguida da extração pelo método proposto. Os valores obtidos variaram de 90% a 100%, estando dentro do limite estabelecido para a validação do teste, que aceita intervalos entre 80% e 110% (Tabela 3) (INMETRO, 2011).

Tabela 3. Nível de fortificação e porcentagens de recuperação do indaziflam após extração no solo.

Concentração indaziflam (mg L ⁻¹)	% Recuperação
0,5	90
3,0	99
5,0	100

A repetibilidade foi avaliada por meio do desvio-padrão relativo, onde os valores obtidos estão dentro do limite estabelecido para a validação, que aceita os intervalos de até 15% para o primeiro nível de concentração e de até 11% para os demais.

Tabela 4. Nível de fortificação e porcentagens de desvio padrão relativo.

Concentração indaziflam (mg L ⁻¹)	% Desvio-padrão relativo
0,5	9,87
3,0	6,95
5,0	2,21

Na precisão intermediária o parâmetro adotado para avaliação foi a análise de variância (ANOVA). Verifica-se que ao analisar as diferentes concentrações dentro do mesmo dia de avaliação, ocorreu diferença estatística. Já analisando os diferentes dias de avaliação dentro da mesma concentração não houve diferença estatística, demonstrando a semelhança entre as amostras de mesma concentração.

Tabela 5. Análise de variância para a precisão intermediária, onde a variável A corresponde a diferentes concentrações analisadas no mesmo dia e a variável B corresponde a análise de diferentes dias dentro da mesma concentração

Fonte de Variação	SQ	GL	MQ	F	p
Variável A	2,40E+11	2,00E+00	1,20E+11	2,49E+02	6,34E-05
Variável B	1,31E+09	2,00E+00	6,55E+08	1,36E+00	3,54E-01
Resíduos	1,93E+09	4,00E+00	4,81E+08		
Total	2,43E+11	0,00E+00	8,00E+00	α	0,05
Conclusão variável A	Há pelo menos uma diferença				
Conclusão variável B	Não há diferença				

3.3 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Na avaliação da capacidade de degradação do indaziflam pelo consórcio bacteriano, por *C. ensiformis* e pela associação desses, verificou-se que a detecção e a quantificação do herbicida foi possível somente no dia da aplicação (0 DAA) para a dose de 25 g ha⁻¹ do i.a. e

até aos 15 DAA para as doses de 50 e 100 g ha⁻¹ do i.a. do indaziflam (Figura 8). No entanto, para as amostras de solo sem a inoculação dos isolados bacterianos e sem o plantio da *C. ensiformis* foram possíveis a detecção e a quantificação do indaziflam até 120 DAA nas doses de 25, 50 e 100 g ha⁻¹ do i.a. (Figura 8).

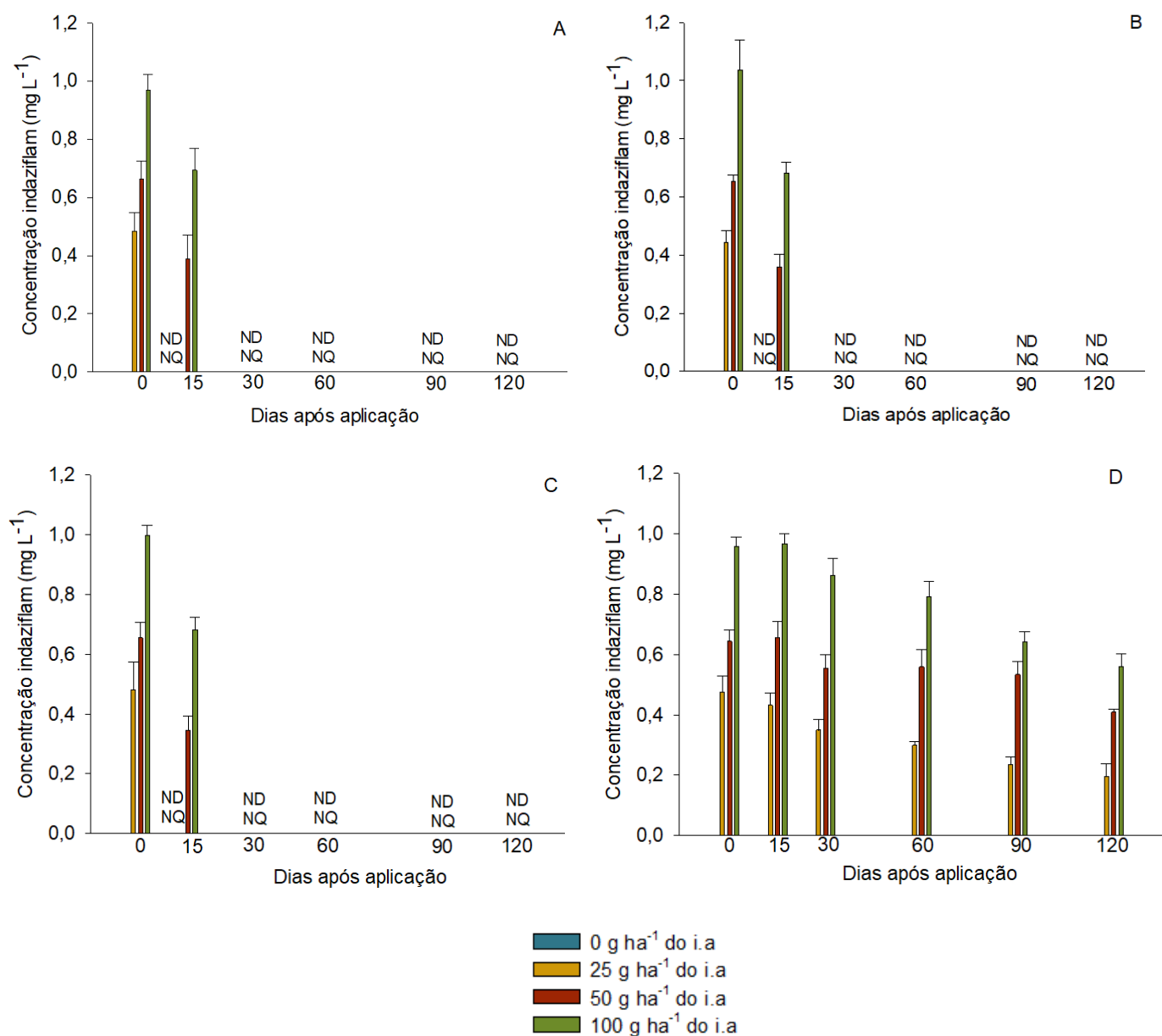


Figura 8. Concentração do indaziflam aos 0, 15, 30, 60, 90 e 120 dias após aplicação do herbicida nas doses de 0, 25, 50 e 100 g ha⁻¹ do i.a., para os tratamentos com a *Canavalia ensiformis* (A), inoculação do consórcio bacteriano isoladamente (B), *Canavalia ensiformis* + consórcio de isolados bacterianos (C) e sem *Canavalia ensiformis*, sem consórcio bacteriano (D).

Nos tratamentos com a *C. ensiformis* isolado, inoculação do consórcio isolado e associação destes não foi observado variação em relação a degradação. Todavia, esses tratamentos promoveram redução nos níveis do indaziflam na dose de 25, 50 e 100 g ha⁻¹ do i.a., ou seja, ocorreu maior degradação do herbicida em relação a amostra sem inoculação e sem a *C. ensiformis* (Figura 8).

Desse modo, os isolados bacterianos, adicionados ao solo, foram capazes de degradar a molécula indaziflam, assim como observado no capítulo 2. As bactérias atuam como agentes na degradação de substâncias orgânicas, sendo capazes tanto de mineralizá-las, quanto de acumulá-las (MIELKE et al., 2023). A maioria dos micro-organismos são capazes de utilizar múltiplos compostos como fonte de carbono, preferencialmente direcionando o metabolismo para substâncias de fácil acesso e estrutura simples, além do mais, certos compostos podem ser degradados simultaneamente por diferentes vias metabólicas, um processo conhecido como co-metabolismo (MARTINS, 2012).

A *C. ensiformis* também foi capaz de degradar ou metabolizar a molécula herbicida, reduzindo a concentração deste no solo, evidenciando o seu potencial de fitorremediação e consequentemente diminuindo os riscos de fitotoxicidade a culturas sensíveis e de contaminação ambiental. As espécies vegetais podem atuar direta ou indiretamente na redução e/ou remoção dos contaminantes do solo, onde os herbicidas são mineralizados ou degradados a compostos intermediários estáveis que podem ser transportados e armazenados na própria planta dentro das células vegetais (TAVARES, 2009). As plantas de *C. ensiformis* contribuem para a remediação rizosférica por meio da liberação de exsudatos radiculares, que estimulam o crescimento e a atividade microbiana, esse processo auxilia na degradação dos herbicidas, reduzindo sua toxicidade para as plantas (VAIL et al., 2015). A espécie vegetal *C. ensiformis* também foi capaz de remediar áreas contaminadas com sulfentrazone (MADALÃO et al., 2017) e de degradar o herbicida indaziflam nas doses de 10, 20, 40 e 80 g ha⁻¹ do i.a. (FAUSTINO, 2019).

O tratamento com a associação de espécies vegetais com o consórcio dos isolados bacterianos também foi eficiente na remediação do indaziflam no solo. O consórcio de micro-organismos com espécies vegetais pode potencializar a degradação ou acumulação dos herbicidas. Estudos avaliando o potencial de biorremediação de plantas com isolados bacterianos, demonstraram que o cultivo simultâneo entre *C. ensiformis* + *M. pruriens* associado com o consórcio bacteriano proporcionou resultados satisfatórios na degradação do herbicida indaziflam nas doses de 10, 20, 40 e 80 g ha⁻¹ do i.a. (FAUSTINO, 2019).

3.4 Bioensaio utilizando o *Sorghum bicolor* como espécie bioindicadora da presença do herbicida indaziflam

No bioensaio foi observado que nos tratamentos com a *C. ensiformis*, *C. ensiformis* + consórcio de isolados bacterianos, inoculação do consórcio bacteriano isoladamente e sem *C. ensiformis* e sem isolados bacterianos, o indaziflam causou 100% de intoxicação, ou seja morte das plantas de sorgo, quando o semeio da espécie indicadora foi realizado no solo coletado no dia da aplicação (0 DAA) para as dose de 25; 50 e 100 g ha⁻¹ do i.a. (Figura 9).

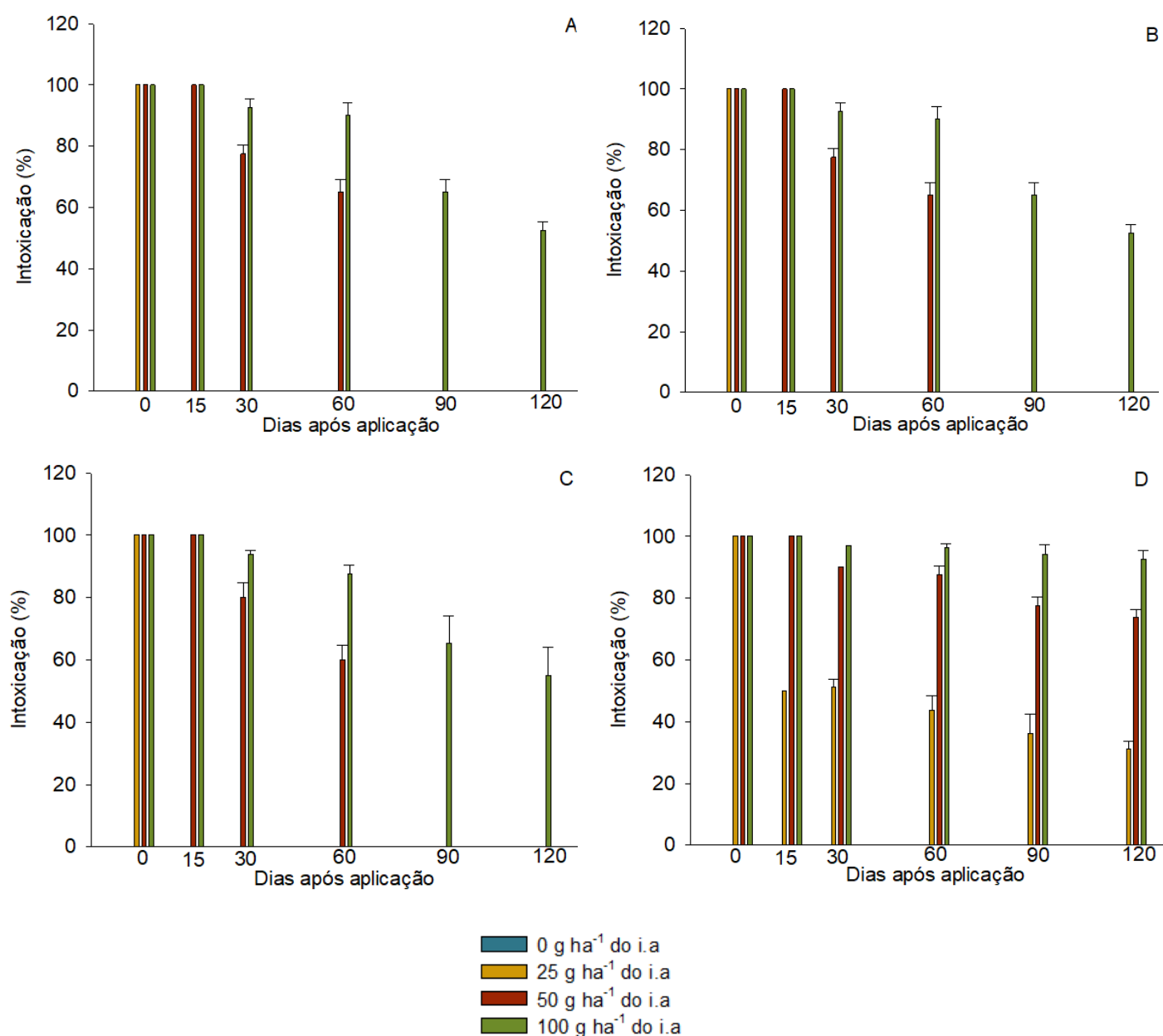


Figura 9. Intoxicação (%) das plantas de *Sorghum bicolor* aos 0, 15, 30, 60, 90 e 120 dias após aplicação do herbicida indaziflam nas doses de 0, 25, 50 e 100 g ha⁻¹ do i.a., para os tratamentos

com a *Canavalia ensiformis* (A), inoculação do consórcio bacteriano isoladamente (B), *Canavalia ensiformis* + consórcio de isolados bacterianos (C) e sem *Canavalia ensiformis*, sem consórcio bacteriano (D).

Todavia para os tratamentos com a *C. ensiformis*, *C. ensiformis* + consórcio de isolados bacterianos e consórcio bacteriano isoladamente, a intoxicação das plantas de sorgo foram reduzindo consideravelmente ao longo do tempo para todas as doses aplicadas (Figura 9). Aos 15, 30, 60 e 120 DAA não foi observado intoxicação das plantas de sorgo para os tratamentos com a *C. ensiformis*, *C. ensiformis* + consórcio de isolados bacterianos e consórcio bacteriano isoladamente na dose de 25 g ha⁻¹ do i.a. do indaziflam. Quando se aplicou a dose de 50 g ha⁻¹ do i.a. não foram observados sintomas de intoxicação nas plantas de sorgo aos 90 e 120 DAA. Todavia no tratamento sem a *C. ensiformis* e sem o consórcio bacteriano, constatou-se intoxicação nas plantas de sorgo até aos 120 DAA (Figura 9).

Quando o indaziflam foi aplicado na dose máxima recomendada em bula (100 g ha⁻¹ do i.a.), observou-se para os tratamentos com *C. ensiformis*, consórcio bacteriano isoladamente e *C. ensiformis* + consórcio de isolados bacterianos índices de 52,5%, 56,25% e 55,0 % de intoxicação nas plantas de sorgo, respectivamente, aos 120 DAA. Já no tratamento sem a *C. ensiformis* e sem o consórcio bacteriano a intoxicação das plantas de sorgo foi de 92,5%, confirmando a maior degradação do indaziflam pelos tratamentos com a *C. ensiformis*, *C. ensiformis* + consórcio de isolados bacterianos e consórcio bacteriano isoladamente.

Na avaliação de massa de matéria seca total, verifica-se que quando se realizou o cultivo da espécie *C. ensiformis*, *C. ensiformis* + consórcio dos isolados bacterianos e inoculação do consórcio bacteriano isolado, houve decréscimo para essa variável com o aumento da dose do herbicida e acréscimo para essa variável com o aumento do tempo de biorremediação (Figura 10 e Tabela 6). Esse fato também é evidenciado pelos valores negativos de β_1 e positivos de β_2 das equações lineares e quadráticas, indicando potencial do consórcio bacteriano e da *C. ensiformis* na degradação do indaziflam (Tabela 6).

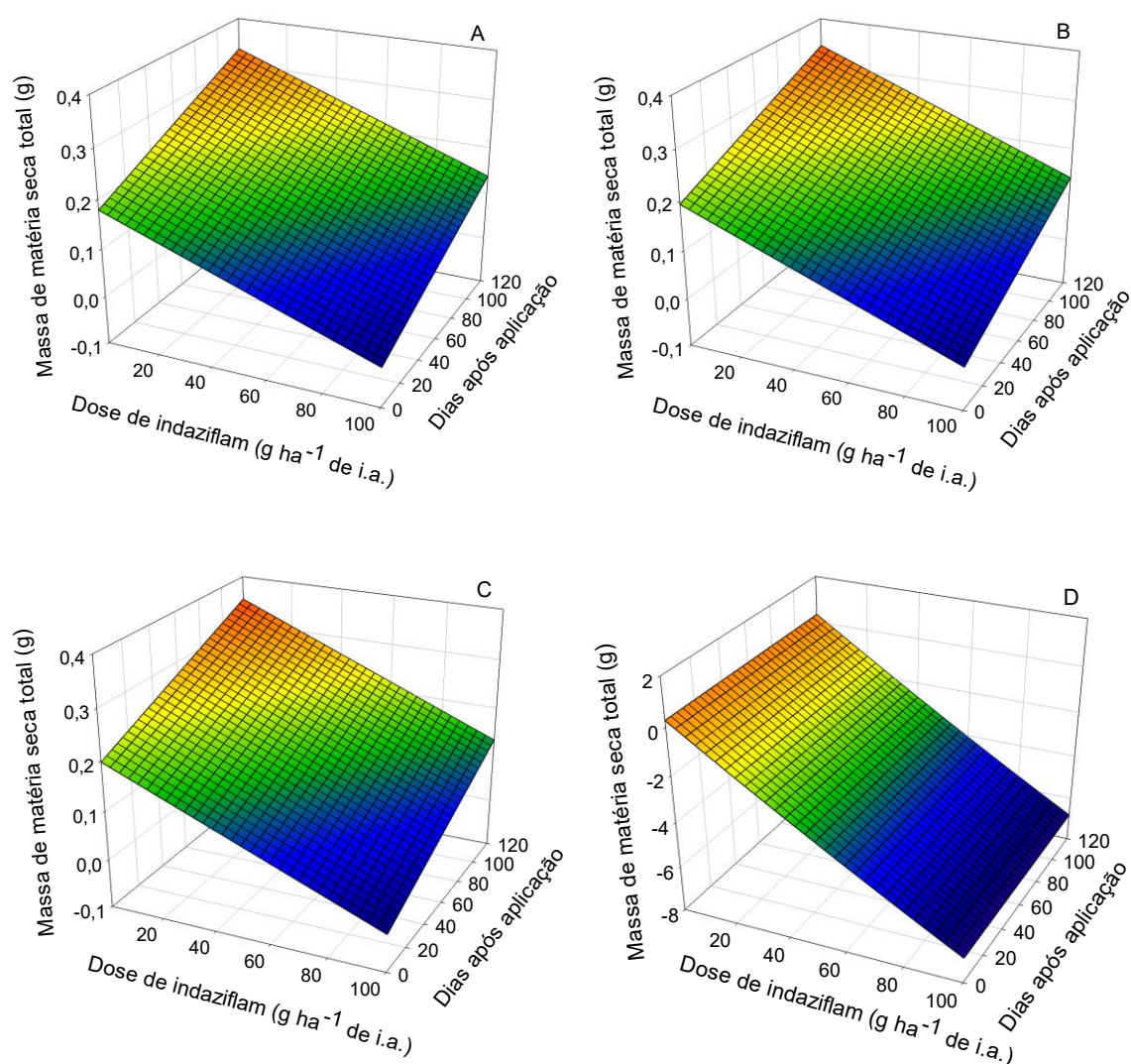


Figura 10. Massa de matéria seca total das plantas de *Sorghum bicolor* aos 0, 15, 30, 60, 90 e 120 dias após aplicação do herbicida indaziflam nas doses de 0, 25, 50 e 100 g ha⁻¹ do i.a., para os tratamentos com a *Canavalia ensiformis* (A), inoculação do consórcio bacteriano isoladamente (B), *Canavalia ensiformis* + consórcio de isolados bacterianos (C) e sem *Canavalia ensiformis*, sem consórcio bacteriano (D).

Tabela 6. Equações de regressão de massa de matéria seca total (g/planta) das plantas de sorgo em função das doses de indaziflam e dos tempos de avaliação para os respectivos tratamentos e os coeficientes de determinação.

Tratamento	Equações ajustadas	R ²
<i>C. ensiformes</i>	$\hat{Y}=0,178866-0,001968^{**}HE+0,0012966^{**}TE$	0,7210
Consórcio bacteriano	$\hat{Y}=0,193555-0,002056^{**}HE+0,0012442^{**}TE$	0,7277
<i>C. ensiformes</i> + consórcio bacteriano	$\hat{Y}=0,197649-0,002213^{**}HE+0,0012925^{**}TE$	0,7224
Sem <i>C. ensiformes</i> e sem consórcio bacteriano	$\hat{Y}=0,266074-0,076443^{**}HE+0,000049397^{**}HE^2+0,00052742^{**}TE$	0,9412

** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste “t”

Para os tratamentos com *C. ensiformis*, *C. ensiformis* + consórcio dos isolados bacterianos e inoculação do consórcio bacteriano isolado, à medida que aumenta a dose em 1 g ha⁻¹ do i.a., fixando o tempo de biorremediação, diminui a massa de matéria seca total em 0,0019; 0,0022 e 0,0020 g, respectivamente. Fixando a dose do herbicida, à medida que aumenta um dia no tempo de biorremediação houve aumento de 0,00129; 0,00129 e 0,00124 g na massa da matéria seca para os mesmos tratamentos, respectivamente.

Já para o tratamento sem a *C. ensiformis* e sem a inoculação dos isolados bacterianos, à medida que aumenta um dia no tempo de biorremediação, fixando a dose no herbicida, aumenta a massa de matéria seca total em 0,0005 g. Porém, mantendo o tempo constante, tem comportamento quadrático, ou seja, a medida que aumenta a dose há uma tendência de diminuir a massa de matéria seca, chegando a um ponto de mínima, que é representado pela dose de 78 g ha⁻¹ de i.a.

Assim como na CLAE, no bioensaio verificou-se que ocorreu maior degradação do herbicida indaziflam ao longo do tempo pelos cultivos com *C. ensiformis*, *C. ensiformis* + consórcio dos isolados bacterianos e inoculação do consórcio bacteriano isolado, em relação ao tratamento sem a *C. ensiformis* e sem a inoculação dos isolados bacterianos. Todavia, pelo método do bioensaio foi possível a detecção do herbicida indaziflam por maior período em relação a cromatografia, se mostrando mais eficiente na detecção de resíduos do indaziflam.

O bioensaio e a cromatografia são métodos complementares na detecção de herbicidas (GONÇALVES et al., 2021). O bioensaio utiliza organismos vivos, como plantas, para indicar a presença do herbicida no solo, sendo sensível a concentrações muito baixas, mesmo não quantificáveis por cromatografia (GONÇALVES et al., 2021). No entanto, não fornece valores de concentração. Já a cromatografia permite a detecção e a quantificação do herbicida, mas pode não detectar concentrações mínimas que ainda causam efeitos biológicos (TEJU et al., 2017).

Além do mais, a degradação do indaziflam pode gerar metabólitos ainda mais tóxicos, que apesar de não terem sido detectados pela metodologia utilizada na cromatografia podem intoxicar as plantas no bioensaio. O indaziflam, ao se transformar por ação química e biológica, origina metabólitos com menor sorção e maior mobilidade, elevando o risco de lixiviação e contaminação (ALONSO et al., 2015). Sua degradação ocorre pela oxidação do radical indanil, formando compostos como indaziflam-triazina indanona (ITI), indaziflam-ácido carboxílico (ICA) e fluoroetildiaminotriazina (indaziflam-triazinodiamina ou FDAT), que são mais tóxicos que o indaziflam (ALONSO et al., 2015).

Desse modo a biorremediação de solos contaminados com indaziflam é importante técnica na descontaminação dos solos, reduzindo a intoxicação de plantas cultivadas em sucessão ou rotação e a contaminação do solo e de águas superficiais e subterrâneas.

4. CONCLUSÃO

A *Canavalia ensiformis*, o consórcio dos isolados bacterianos e a associação desses, possuem capacidade para biorremediação de solos contaminados com o indaziflam, reduzindo a persistência desse herbicida no ambiente.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALONSO, D. G. et al. Changes in sorption of indaziflam and three transformation products in soil with aging. **Geoderma**, v. 239, p. 250-256. 2015.
- BASTABAK, B. et al. A holistic approach to soil contamination and sustainable phytoremediation with energy crops in the Aegean Region of Turkey. **Chemosphere**, v. 276, 130192. 2021.
- BRAGA, R. R. **Sorção de indaziflam e isoxaflutole em solos tropicais**. 2017. 54f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2017.

CUNNINGHAM, S. D. et al. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. **Advances in Agronomy**, v. 56, n.1, p. 55-114. 1996.

DAN, H. A. et al. Resíduos de herbicidas utilizados na cultura da soja sobre o milho cultivado em sucessão. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 1, p. 86-91. 2012.

FAUSTINO, L. A. (2019). **Desenvolvimento de técnica para biorremediação de solos contaminados com indaziflam**. Tese de doutorado, 2019. Universidade Federal de Viçosa, MG, Brasil. Disponível: <https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/28824/1/texto%20completo.pdf>. Acesso em: 19 mar. 2023.

FERRAÇO, M. et al. Efeito da densidade populacional de Canavalia ensiformis na fitorremediação de solo contaminado com sulfentrazone. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, p. 32-40. 2017.

GRIFFIN, J.L. Inhibition of cell wall synthesis. **Weed Course**. p.150-153, 2005.

GONÇALVES, V. A. et al. Sorção do indaziflam em solos do Brasil com diferentes valores de pH. **Revista Caatinga**, v. 34, n. 3, p. 494-504. 2021.

GUERRA, N. et al. Aminocyclopyrachlor e indaziflam: seletividade, controle e comportamento no ambiente. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 12, n. 3, p. 285-295. 2013.

INMETRO. **Coordenação Geral de Acreditação orientação sobre validação de métodos analíticos**, 2011. Disponível em: <<https://www.ufjf.br/baccan/files/2011/05/Validacao-Inmetro.pdf>>. Acesso em: 30 mar. 2023.

JEEVANANTHAM, S. et al. Removal of toxic pollutants from water environment by phytoremediation: A survey on application and future prospects. **Environmental Technology & Innovation**, v. 13, p. 264-276. 2019.

LANE, M. et al. Microbial activity, community structure and potassium dynamics in rhizosphere soil of soybean plants treated with glyphosate. **Pedobiologia - International Journal of Soil Biology**, v. 55, p. 153 – 159. 2012.

LEWIS, K. A. et al. An international database for pesticide risk assessments and management. **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 22, n. 4, p. 1050-1064. 2016.

MADALÃO, J. C. et al. Fitorremediação de solo contaminado com sulfentrazone em função do tempo de cultivo de Canavalia ensiformis. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 10, n. 1, p. 36-43. 2016.

MADALÃO, J. C. et al. Leaching of sulfentrazone in Brazilian “Cerrado” soils by chromatographic and biological methods. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 12, p. 446-451. 2017.

MAPA; MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Portal Agrofit- Consulta aberta de defensivos agrícolas**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/primeira_pagina/extranet/AGROFIT.html>. Acesso em: 31 jan. 2025.

MARTINS, P. F. **Aspectos da regulação metabólica bacteriana em respostas a herbicidas: um enfoque ao sistema antioxidante**. 2012. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

MELO, C. A. D. **Biorremediação de solo contaminado com sulfentrazone associada a plantas e micro-organismos**. Tese de doutorado, 2015. Universidade Federal de Viçosa, viçosa, MG, Brasil.

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

MIELKE, K. C. et al. Does *Canavalia ensiformis* inoculation with *Bradyrhizobium* sp. enhance phytoremediation of sulfentrazone-contaminated soil? **Chemosphere**, v. 255, p.e127033. 2020.

MIELKE, K. C. et al. Remediação de solos contaminados com herbicidas. In: MENDES, K. F. (org.). Plantas daninhas: Avanços tecnológicos. 3. ed. São Paulo: Oficina de Textos, 2023, p. 157-224.

OTTO S. et al. Effect of vegetative filter strips on herbicide runoff under various types of rainfall. **Chemosphere**, v. 88, p. 113 – 119. 2012.

PIRES, F. R. et al. Fitorremediação de solos contaminados por herbicidas. **Planta Daninha**, v. 21, n.1, p. 335-341. 2003.

PROCÓPIO, S. O. et al. Efeito da densidade populacional de *Panicum maximum* (cultivar Tanzânia) na fitorremediação de solo contaminado com o herbicida picloram. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 2, p. 295 – 304. 2009.

SANTOS, J. B. et al. Fitorremediação de áreas contaminadas por herbicidas. In: SILVA, A. A.; SILVA, J.F. (Editores). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG: Ed. UFV. p. 210- 239. 2007.

SILVA, G. S. et al. Impact of sulfentrazone, isoxaflutole and oxyfluorfen on the microorganisms of two forest soils. **Bragantia**, v. 73, n. 3, p. 292 – 299. 2014.

TAVARES, S. R. L. **Fitorremediação em solo e água de áreas contaminadas por metais pesados provenientes da disposição de resíduos perigosos**. Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, p. 23-24. 2009.

TEJU, E. et al. Salting-out-assisted liquid-liquid extraction for the preconcentration and quantitative determination of eight herbicide residues simultaneously in different water samples with high-performace liquid chromatography. **Separation Science and Technology**, p. 1-11. 2017.

TOMPKINS, J. 2010. Pesticide Fact Sheet: Indaziflam. Environmental Protection Agency. Unites States. Disponível em:

<http://www.epa.gov/opp00001/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-80818_26-Jul10.pdf> Acessado em: 20 de jan. de 2025.

VAIL, A. W. et al. Biodegradation of Atrazine by Three Transgenic Grasses and Alfalfa Expressing a Modified Bacterial Atrazine Chlorohydrolase Gene. **Transgenic Research**, v. 24, p. 475–488. 2015.

VIEIRA, R. F. et al. Soil microbial biomass C and symbiotic processes associated with soybean after sulfentrazone herbicide application. **Plant Soil**, v. 300, p. 95 – 103. 2007.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ação residual do herbicida indaziflam no solo por tempo prolongado pode causar danos às culturas sensíveis cultivadas em sucessão e, ou rotação à cana-de-açúcar, como a soja e o amendoim. Desse modo, a biorremediação é uma importante ferramenta para descontaminação de solos com resíduos desse herbicida, disponibilizando a área para cultivo das espécies sensíveis mais rapidamente. Nesse sentido, novas perspectivas foram exploradas em relação a ação residual do herbicida indaziflam nas culturas da soja e do amendoim, sua persistência e mobilidade no solo. Além do mais, foram explorados o potencial de bactérias e espécies vegetais em consórcio e, ou isolados em degradar o indaziflam em solos contaminados.

Os resultados obtidos nesse trabalho contribuem para pesquisas sobre a biorremediação de solos contaminados com indaziflam, proporcionando compreensão mais aprofundada da associação entre isolados bacterianos e espécies vegetais na degradação deste herbicida. A eficácia da biorremediação depende das características físicas e químicas do solo, das características do herbicida e dos fatores ambientais, devendo ser estudada de forma específica para cada condição, devido a sua complexidade.

Por meio da biorremediação torna-se possível acelerar e aprimorar o processo de descontaminação, permitindo a liberação da área para o cultivo de espécies sensíveis ao herbicida em um menor intervalo de tempo, além de reduzir os riscos potenciais de contaminação do solo e de recursos hídricos.