

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA TROPICAL

MARIANA FERRAÇO

Magister Scientiae

**FITORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO COM
SULFENTRAZONE EM FUNÇÃO DA DENSIDADE
POPULACIONAL DE *Canavalia ensiformis* E
*Crotalaria juncea***

São Mateus, ES
2012

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA TROPICAL**

**FITORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO COM
SULFENTRAZONE EM FUNÇÃO DA DENSIDADE
POPULACIONAL DE *Canavalia ensiformis* E
*Crotalaria juncea***

MARIANA FERRAÇO

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical, para obtenção do título de Mestre em Agricultura Tropical.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Ribeiro Pires

**São Mateus, ES
2012**

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

F368f Ferrazo, Mariana, 1983-
Fitorremediação de solo contaminado com sulfentrazone em
função da densidade populacional de *Canavalia ensiformis* e
Crotalaria juncea / Mariana Ferrazo. – 2012.
68 f. : il.

Orientador: Fábio Ribeiro Pires.

Coorientadores: Alessandra Ferreira Belo, Marcelo Antonio de
Oliveira.

Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) –
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário
Norte do Espírito Santo.

1. Fitorremediação. 2. Herbicidas. 3. Solos -
Descontaminação. 4. Adubação verde. 5. Feijão-de-porco. 6.
Crotalaria. I. Pires, Fábio Ribeiro. II. Belo, Alessandra Ferreira. III.
Oliveira, Marcelo Antonio de. IV. Universidade Federal do Espírito
Santo. Centro Universitário Norte do Espírito Santo. V. Título.

CDU: 63


**Fitorremediação de Solo Contaminado com
Sulfentrazone em Função da Densidade
Populacional de *Canavalia ensiformis* e *Crotalaria
juncea***

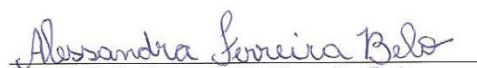
Mariana Ferraço


Dissertação apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical, para obtenção do título de Mestre em Agricultura Tropical.

Aprovada: 27/04/2012.


Dr. Sergio de Oliveira Procópio
EMBRAPA


Prof. Dr. Marcelo Antonio Oliveira
Universidade Federal do Espírito Santo


Dr^a. Alessandra Ferreira Belo
Universidade Federal do Espírito Santo
Co-Orientadora


Prof. Dr. Fábio Ribeiro Pires
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador

A DEUS

“Deus soberano e eterno, és a fonte pela qual vim ao mundo, que com tua bondade infinita deu-me força e coragem para alcançar mais uma vitória. Peço-lhe proteção e que continue iluminando cada passo de minha vida”.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Especialmente aos meus pais que com toda a humildade souberam me dar amor, carinho, incentivo durante o decorrer da minha existência. A vocês, meu eterno amor.

A Universidade Federal do Espírito Santo e ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical pela oportunidade de realização do curso e disponibilização da sua estrutura para a condução do trabalho.

Ao Prof. Dr. Fábio Ribeiro Pires, por ter me recebido como sua orientada com toda compreensão, atenção e tempo dedicados, agradeço pelas importantes sugestões e contribuições para a qualificação deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Marcelo Oliveira, pela colaboração e pela disposição em sempre me ajudar.

À Dra. Alessandra Ferreira Belo, não apenas pelas valiosas contribuições deste trabalho, mas pela amizade, pelos conselhos, pela paciência, alegrias e por toda ajuda. Muito obrigada por tudo!

Ao amigo Ademar pela grande força na execução deste trabalho.

A amiga Tânia, pelo conforto que me traz com seus conselhos e amizade. Muito obrigada!

Ao meu grande amigo irmão Tony, pela amizade, ensinamentos e companheirismo.

A Bernadeth, secretária da Pós-graduação pela atenção em todas as horas.

Aos colegas, Alex Favaro, Alex Campanharo, Bruno, Douglas, Helder, Joel, Luis Henrique e Kristhiano pelas contribuições no trabalho.

Ao meu esposo Alexsandro pela compreensão a minha ausência e por seu amor por mim.

Aos meus novos amigos com os quais convivi esses dois anos, tenho um carinho muito grande por todos, agradeço principalmente aqueles que tiveram uma

participação especial no desenvolvimento deste trabalho, aos amigos Ademar, Alessandra, André, Carmelita, Clemilton, Gizele, João, Karol, Tânia, Tony. O tempo de convívio com vocês nunca é demais. Sentirei saudades. Obrigada pelo carinho, amizade e apoio e, pela oportunidade de aprender e conviver com vocês.

BIOGRAFIA

Mariana Ferraço, natural de Linhares, ES. Filha de Jovaldir Ferraço e Angela Mariusa Fornaciare Ferraço. Concluiu a graduação em Ciências Biológicas pela Faculdade Pitágoras em 2006. No ano de 2010 iniciou o Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical, em nível de Mestrado, pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES/CEUNES), submetendo-se à defesa de dissertação em abril de 2012.

SUMÁRIO

RESUMO.....	VI
ABSTRACT.....	VIII
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1 Sulfentrazone.....	03
2.2 Mecanismos da Fitorremediação.....	05
2.3 Inferências sobre o manejo da cultura para o cultivo de espécies fitorremediadoras.....	08
2.4 Quantificação biológica e analítica do sulfentrazone.....	09
3. MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1 Potencial de espécies vegetais na remediação de solo contaminado com sulfentrazone.....	11
3.2 Reutilização da biomassa de <i>Canavalia ensiformis</i> e <i>Crotalaria juncea</i> após fitorremediação em solo contaminado com sulfentrazone.....	14
3.3 Determinações cromatográficas do herbicida sulfentrazone no solo e nas plantas (raiz e parte aérea).....	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
4.1 Potencial de espécies vegetais na remediação de solo contaminado com sulfentrazone em função da densidade de semeadura.....	17
4.1.1 Avaliação das espécies fitorremediadoras.....	17
4.1.2 Avaliação do bioensaio com milho no próprio vaso após cultivo de <i>Canavalia ensiformis</i>	20
4.1.3 Avaliação do bioensaio com milho no próprio vaso após cultivo de <i>Crotalaria</i>	

<i>juncea</i>	26
4.2 Reutilização da biomassa de <i>Canavalia ensiformis</i> e <i>Crotalaria juncea</i> após fitorremediação em solo contaminado com sulfentrazone.....	33
4.3 Determinações cromatográficas do herbicida sulfentrazone no solo e nas plantas (raiz e parte aérea).....	41
5. CONCLUSÕES.....	48
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
7. ANEXO.....	55

RESUMO

FERRAÇO, Mariana, M.Sc., Universidade Federal do Espírito Santo, Abril de 2012; **Fitorremediação de solo contaminado com sulfentrazone em função da densidade populacional de *Canavalia ensiformis* e *Crotalaria juncea*.** Orientador: Fábio Ribeiro Pires. Co-orientadores: Alessandra Ferreira Belo e Marcelo Antonio de Oliveira.

Objetivou-se neste trabalho avaliar a influência da densidade populacional de *Canavalia ensiformis* (feijão-de-porco) e *Crotalaria juncea* (crotalária juncea) sobre a fitorremediação de solo contaminado com o herbicida sulfentrazone. O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, em blocos casualizados, em esquema fatorial 4 x 3, com quatro repetições. Os tratamentos foram compostos pela combinação de quatro densidades populacionais das espécies fitorremediadoras *C. ensiformis* (0, 10, 20 e 40 plantas m⁻²) e *C. juncea* (0, 60, 120 e 240 plantas m⁻²) e três doses do herbicida sulfentrazone (0, 200 e 400 g ha⁻¹). Os vasos foram preenchidos com o solo adubado, e posteriormente aplicou-se o herbicida. Oito dias após aplicação procedeu-se a semeadura da espécie utilizada como fitorremediadora. Aos 21 e 75 dias após a emergência (DAE) das plantas, foram realizadas as avaliações de altura. Aos 75 DAE, as plantas foram cortadas e imediatamente pesadas para obtenção da biomassa fresca da parte aérea. Logo em seguida, todo esse material foi congelado para bioensaio e determinação de resíduos de sulfentrazone na parte aérea analisado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Após o corte das plantas, foram retiradas amostras de solo e raiz de todos os vasos em duas profundidades, 0 a 10 e 10 a 20 cm, para determinação da persistência do herbicida utilizando-se cromatografia. Neste mesmo período, efetuou-se no próprio vaso, a semeadura da espécie bioindicadora da presença do sulfentrazone no solo, *Pennisetum glaucum*. Aos 25 e 42 DAE do *P. glaucum* avaliou-se a intoxicação pelo herbicida e altura e aos 42 DAE determinou-se a biomassa fresca e seca da parte

aérea e raiz. Paralelamente, conduziu-se outro bioensaio, para o qual produziu-se um extrato com uma fração da parte aérea das plantas de *C. ensiformis* e *C. juncea* armazenadas anteriormente. O mesmo foi colocado em potes contendo areia lavada. O milho foi semeado em seguida e aos 15 e 30 DAE avaliou-se a intoxicação pelo herbicida e altura e aos 30 DAE determinou-se a biomassa fresca e seca da parte aérea e raiz. Outra parte dos materiais foi empregada para determinação dos resíduos de sulfentrazone. No solo, os resíduos foram determinados por extração com o uso de 80 mL de metanol para cada 40 g de solo, após agitação por 16 h. Para determinação do herbicida na parte aérea e raiz das plantas fitorremediadoras, o material vegetal foi submetido à extração por maceração com metanol. O cultivo prévio das espécies fitorremediadoras *C. ensiformis* e *C. juncea* promoveu a remediação do sulfentrazone. A densidade populacional mínima de *C. ensiformis* e *C. juncea* que possibilitam o desenvolvimento do *P. glaucum* é de 20 e 120 plantas m⁻² respectivamente. O extrato de *C. ensiformis* e *C. juncea* não foi fitotóxico para o milho indicando que essas espécies podem ser utilizadas como adubos verdes após remediar o sulfentrazone no solo. Não foi encontrado residual do herbicida na parte aérea e raiz de *C. juncea*. Somente detectaram-se resíduos de sulfentrazone na parte aérea de *C. ensiformis* quando foi aplicado no solo 400 g ha⁻¹ deste herbicida.

Palavras-chave: adubos verdes, feijão-de-porco, crotalária juncea, *Pennisetum glaucum*, herbicida.

ABSTRACT

FERRAÇO, Mariana, M.Sc., Universidade Federal do Espírito Santo, April 2012; **Phytoremediation of soil contaminated with sulfentrazone as a function of population density of *Canavalia ensiformis* and *Crotalaria juncea***. Advisor: Fábio Ribeiro Pires. Co-advisors: Alessandra Ferreira Belo and Marcelo Antonio de Oliveira.

The objective of this study was to evaluate the influence of population density of *Canavalia ensiformis* (jack bean) and *Crotalaria juncea* (madrás hemp) on phytoremediation of soil contaminated with the herbicide sulfentrazone. The experiment was conducted in green-house, in a randomized block design in 4 x 3 factorial design with four replications. The treatments consisted of combinations of four densities of the species phytoremediator *C. ensiformis* (0, 10, 20 and 40 plants m⁻²) and *C. juncea* (0, 60, 120 and 240 plants m⁻²) and three doses of sulfentrazone (0, 200 and 400 g ha⁻¹). The pots were filled with fertilized soil and subsequently were applied herbicide. Eight days after the application proceeded to the sowing of the species used as phytoremediation. At 21 and 75 days after emergence (DAE) of plants, evaluations were made of height (cm). At 75 DAE, the plants were cut and immediately weighed to obtain fresh mass (g) of the shoot. Soon after, all this material was frozen for bioassay and determination of residues of sulfentrazone in shoots analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). After cutting the plants soil samples were removed and root of all vessels from two layers, 0-10 and 10 to 20 cm to determine the persistence of herbicide using chromatography. In this same period, made in the same pot, sowing of species bioindicator the presence of sulfentrazone in soil, *Pennisetum glaucum*. At 25 and 42 DAE *P. glaucum* evaluated the toxicity by the herbicide and height at 42 DAE was determined fresh and dry weight of shoot and root. In parallel, another bioassay was conducted, for which an extract produced with a fraction of the aerial part of *C. ensiformis* and *C.*

juncea previously stored. It was placed in pots containing washed sand. The *P. glaucum* was sown and then at 15 and 30 DAE evaluated the toxicity by the herbicide and height at 30 DAE determined the fresh weight and dry shoot and root.

Another part of the frozen materials were used for residues of sulfentrazone. Soil were determined by extraction using 80 ml of methanol for every 40 g of soil, after stirring for 16 h. For determination of the herbicide in the shoots and roots of plants Phytoremediator the plant material was subjected to extraction by maceration with methanol. The prior cultivation Phytoremediator *C. ensiformis* and *C. juncea* promoted the remediation of sulfentrazone. The density minimum *C. ensiformis* and *C. juncea* enabling the development of *P. glaucum* is 20 to 120 plants m⁻² respectively. The extract of *C. ensiformis* and *C. juncea* was not phytotoxic to *P. glaucum* indicating that these species can be used as green manures sulfentrazone after the soil remedying. No residual herbicide was found in shoots and roots of *C. juncea*. Only it was detected residues of sulfentrazone the shoots of *C. ensiformis* when it was applied to the soil 400 g ha⁻¹ of this herbicide.

Key words: green manures, jack bean, madras hemp, *Pennisetum glaucum*, herbicide

1. INTRODUÇÃO

Existe atualmente grande preocupação no que diz respeito à contaminação ambiental causada pela utilização incorreta de xenobióticos. Sabe-se que o manejo incorreto desses produtos é considerado um dos principais fatores responsáveis pela degradação ambiental (LAW, 2001).

As moléculas herbicidas enquadram-se nessas substâncias que representam risco de contaminação, devido a sua persistência, toxicidade e bioacumulação. Os herbicidas, ao serem aplicados em pré ou pós-emergência, acabam direta ou indiretamente alcançando o solo, podendo causar danos às culturas subsequentes, à flora e à fauna do solo (CELIS et al., 2005; SANTOS et al., 2010). Ao atingirem o solo, iniciam-se os processos de redistribuição e degradação desses compostos, os quais podem ser extremamente curtos, como o que ocorre com algumas moléculas simples e não persistentes ou perdurar por meses ou anos, tal como ocorre com compostos altamente persistentes (FILIZOLA et al., 2002).

Dentre os herbicidas que apresentam longo período residual no solo destaca-se o sulfentrazone, que é recomendado para uso em pré-emergência no controle de plantas daninhas nas culturas da cana-de-açúcar, soja, citrus, café, eucalipto e em áreas não agrícolas (RODRIGUES & ALMEIDA, 2005). Por apresentar longa persistência no solo, este herbicida pode inviabilizar o cultivo de plantas sensíveis por um longo período após a sua aplicação, dependendo da dose aplicada e das condições edafoclimáticas (VIVIAN et al., 2006).

Para minimizar o impacto ambiental causado pelo uso de herbicidas especialmente aqueles com longo período de atividade no solo, várias técnicas têm sido empregadas, destacando-se a fitorremediação que consiste na utilização de espécies vegetais para acelerar a desintoxicação de solos e águas contaminados com compostos tóxicos (CUNNINGHAM et al., 1996). Essa técnica tem sido uma

opção promissora para o tratamento eficiente de ambientes edáficos e aquáticos contaminados com herbicidas (PIRES et al., 2003).

Pesquisas envolvendo espécies vegetais como adubos verdes para remediação de solos contaminados estão sendo mais indicadas (CORREA et al. 2010) pois além de essas espécies serem tolerantes a diversos herbicidas, podem ainda liberar exsudatos radiculares, que atuam ativando a microbiota do solo na decomposição dos compostos orgânicos aplicados. Além disso, produzem elevada biomassa fresca e seca e, por serem leguminosas, promovem a fixação do nitrogênio atmosférico, o que é bastante desejável ao sistema produtivo.

Dentre as espécies de adubos verdes selecionadas com potencial para fitorremediação do sulfentrazone, *Crotalaria juncea* e *Canavalia ensiformis* (MADALÃO, 2011) assim como, *Heliantum annuum* e *Dolichos lab lab* (BELO et al.; 2011) estão entre as que apresentam maior tolerância a esse herbicida.

Diversos estudos, com resultados promissores, vêm sendo desenvolvidos visando avaliar a eficácia de plantas na remoção de herbicidas do solo (SANTOS et al., 2004; PROCÓPIO et al., 2006; BELO et al., 2007; PIRES et al., 2008; PROCÓPIO et al., 2009; BELO et al., 2011), todavia existem poucas informações quanto a fitorremediação do herbicida sulfentrazone, reforçando assim a necessidade de pesquisas que visam oferecer alternativas seguras para sua utilização em sistemas que integram a sucessão/rotação de culturas, focando a sustentabilidade da produção agrícola, sem prejuízos ao sistema produtivo e ao ambiente. Além disso, há necessidade de se estabelecer as melhores práticas agrícolas visando otimizar o desempenho das espécies, como densidade de plantas por área, tempo necessário para fitorremediar determinado contaminante, influência de amenizantes aplicados ao solo, etc.

Considerando a longa persistência do sulfentrazone (GREY et al., 2000; POLUBESOVA et al., 2003) e os problemas ocasionados pelo seu efeito *carryover* em rotação de culturas (MAIN et al., 2004), objetivou-se, com este trabalho, avaliar a fitorremediação de solo contaminado com sulfentrazone, exercida por plantas de *Crotalaria juncea* e *Canavalia ensiformis*, cultivadas em diferentes densidades populacionais e quantificar, por meio da técnica cromatográfica, a capacidade remediadora dessas espécies em descontaminar solo tratado com este herbicida.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Sulfentrazone

Problemas resultantes dos processos de poluição e degradação dos recursos naturais por agrotóxicos têm recebido atenção especial, principalmente em áreas agrícolas que necessitam utilizar esses produtos no manejo integrado de insetos, doenças e plantas daninhas (SANTOS et al., 2005; SILVA et al., 2005). Esta questão se torna ainda mais relevante, pois muitos poluentes possuem utilidades não dispensáveis, como os herbicidas. Algumas destas moléculas possuem características que despertam preocupação, devido a sua persistência no solo e na água (COUTINHO & BARBOSA, 2007).

A utilização desses herbicidas que exibem prolongada ação no solo pode resultar em impacto ambiental ocasionado pela lixiviação de suas moléculas para camadas mais profundas do perfil do solo, podendo atingir águas subterrâneas (PIRES et al., 2003). Além da lixiviação, existe ainda a possibilidade dessas moléculas permanecerem no solo, resultando em efeito residual indesejável (*carryover*), o que implica em problemas quando se trata da sucessão de espécies sensíveis a esses compostos. (DORNELAS DE SOUZA et al., 2001).

Herbicidas pertencentes ao grupo químico ariltiazolinonas são exemplos de compostos que possuem alta persistência no solo, podendo afetar culturas suscetíveis semeadas em rotação/sucessão. Dentre estes destaca-se o sulfentrazone (N - [2,4-dicloro-5-[4-(difluorometil)-4,5-diidro-3 metil -5-oxo-1H- 1,2,4-triazol-1-il] metanosulfonamida), fabricado pela FMC Corporation que teve o seu uso aprovado como agente no controle das plantas daninhas em 1997, nos Estados Unidos da América do Norte. No Brasil, o sulfentrazone é registrado para a cultura da soja (*Glicine max (L.) Merrill*), cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*), eucalipto (*Eucalyptus spp.*), citros (*Citrus spp.*), café (*Coffea spp.*) e áreas não agrícolas,

controlando amplo espectro de folhas largas e gramíneas (RODRIGUES & ALMEIDA, 2005).

A ação do herbicida sulfentrazone pode ser sistêmica ou por contato, podendo ser absorvido pelas raízes e folhas e sua translocação ocorre por pequena movimentação pelo floema. Age na inibição da PROTOX (enzima localizada no cloroplasto envolvida na biossíntese de clorofila) e por consequência há o acúmulo de protoporfina IX, causando peroxidação do oxigênio e a destruição das membranas celulares (HESS, 1993; REDDY & LOCKE, 1998). Este herbicida é praticamente não volátil, com pressão de vapor de 1×10^{-9} mmHg a 25 °C. A degradação microbiana é considerada o primeiro fator de dissipação. A solubilidade em água muda com o pH, sendo de 110, 780, e 1.600 mg L⁻¹ a pH 6,0; 7,0 e 7,5, respectivamente (TOMLIN, 2000). Ainda, segundo este autor, o sulfentrazone é um ácido fraco e tem constante de dissociação de 6,56. Sua fórmula estrutural está apresentada na Figura 1 e sua fórmula molecular é: C₁₁H₁₀F₂N₄O₃S.

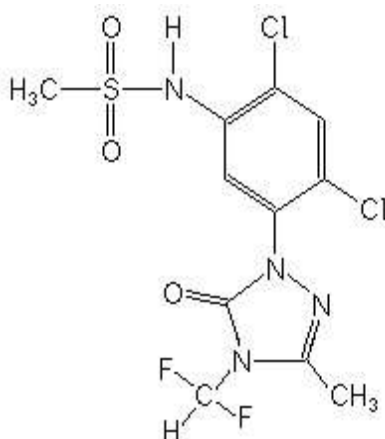


Figura 1: Fórmula estrutural da molécula de sulfentrazone.

Uma das características mais importantes em um herbicida é que ele permaneça ativo no ambiente tempo suficiente para o controle das plantas daninhas, porém sem causar danos nas culturas que virão em sucessão (KRAEMER, 2008). A persistência ou bioatividade de um herbicida depende da natureza química, da formulação, da dose aplicada do produto, das características do solo e dos fatores climáticos do meio. Por isso, dados de persistência obtidos em uma região não podem ser generalizados (BLANCO & OLIVEIRA, 1987).

Na tentativa de estabelecer esta determinação, Blanco & Velini (2005) constataram que a persistência do sulfentrazone, aplicado na cultura da soja, foi determinada em 376 dias após a aplicação de 0,6 kg ha⁻¹ do ingrediente ativo (i.a.); já na dose de 1,20 kg ha⁻¹ do i.a., não foi possível determinar o final da persistência, pois mesmo na última época amostrada (539 dias após os tratamentos), a beterraba, espécie utilizada como bioindicadora, mostrou-se sensível ao herbicida. Corroborando esses resultados, trabalhos realizados por Blanco et al. (2010) demonstraram que a persistência desse herbicida, aplicado na cultura da cana-de-açúcar, foi determinada em 601 dias após a aplicação da dose de 0,6 kg ha⁻¹ do i.a.; e 704 dias após a aplicação na dose de 1,20 kg ha⁻¹.

Além de persistente, o sulfentrazone é classificado como móvel e tem um alto potencial de lixiviação tanto vertical (para águas subterrâneas) quanto horizontal (TOMLIN, 2000; EPA, 2003; PARAÍBA et al., 2003; MARTINEZ, 2008), principalmente por sua baixa afinidade pela matéria orgânica (K_{oc} 43).

Um aspecto prático e relevante a se considerar é que a presença do sulfentrazone na lavoura é importante até o término do PTPI (Período Total de Prevenção à Interferência das plantas daninhas) da cana-de-açúcar; após esse período, que normalmente coincide com o fechamento do dossel, a própria cultura é capaz de impedir a infestação de espécies daninhas e a presença do sulfentrazone passa então a ser indesejável, pelo potencial de contaminação de mananciais de água subterrânea pela lixiviação e/ou superficiais via *runoff* (BARRA et al., 1999; PALMA et al., 2004; KRUTZ et al., 2005), pela impossibilidade de se cultivar espécies suscetíveis em sucessão (BELO et al., 2007a), pela toxicidade a organismos não-alvo (ROUSSEAU et al., 2003), podendo até, dependendo da recalcitrância do composto, acumular-se na cadeia alimentar (EDWARDS, 1973). Esses apontamentos sinalizam para a importância de se estudar a molécula do sulfentrazone no solo.

2.2 Mecanismos da Fitorremediação

A fitorremediação pode ser classificada em oito tipos, levando em consideração processos fisiológicos das plantas (CUNNINGHAM et al., 1996; WILSON et al., 2000), sendo eles: a **fitoextração**, que consiste no uso de plantas

acumuladoras para remover metais ou compostos orgânicos do solo ou água, concentrando-os nos órgãos de reserva; a **fitodegradação**, que por sua vez, se dá pela capacidade de metabolização do contaminante, onde as plantas podem degradar poluentes orgânicos diretamente por suas próprias atividades enzimáticas com transformação em compostos menos tóxicos que a molécula original. Pode ser citado também a **rizofiltração**, processo pelo qual as plantas utilizam suas raízes para absorver, principalmente metais pesados, de ambientes aquáticos; a **fitoestabilização**, que consiste na imobilização, lignificação ou humificação do contaminante do solo diminuindo assim a biodisponibilidade dos poluentes no ambiente; a **fitovolatilização**, que é caracterizado pela absorção e conversão do contaminante em uma forma volátil liberada na atmosfera; a **fitoestimulação** ou **rizodegradação** na qual há o estímulo à atividade microbiana, promovido pela liberação de exsudatos radiculares, que atuam degradando o composto no solo, o que caracteriza, em algumas plantas, a aptidão rizosférica para a biorremediação de compostos tóxicos. A fitoestimulação utiliza as raízes em crescimento (extremidade e ramificações laterais) para promover a proliferação de microrganismos degradadores na rizosfera, que usam os metabólitos exsudados da planta como fonte de carbono e energia; a **rizotransformação**, que consiste na bioconversão do contaminante pela comunidade microbiana associada à rizosfera da espécie vegetal; e por fim a **rizovolatilização** que consiste na volatilização de um contaminante rizotransformado a uma forma volátil, a qual é liberada na atmosfera.

Os principais mecanismos atuantes na fitorremediação de herbicidas são a rizodegradação e/ou fitoestimulação e a fitodegradação (PIRES et al., 2005).

Alguns requisitos para a implantação de programas de fitorremediação devem ser levados em consideração, principalmente as características físico-químicas do solo e do contaminante, e sua distribuição na área. Qualquer fator que venha a interferir negativamente no desempenho das plantas deve ser controlado ou minimizado, para favorecer sua ação descontaminante (PIRES et al., 2003).

Segundo Pires et al., (2003) é desejável que as plantas utilizadas em programas de descontaminação de solo e água apresentem determinadas características como uma boa capacidade de absorção, concentração e/ou metabolização e tolerância ao contaminante; retenção do contaminante nas raízes, no caso da fitoestabilização; sistema radicular profundo e denso; crescimento rápido; alta competitividade e vigor; fácil colheita, quando necessária a remoção da planta

da área contaminada; elevada taxa de exsudação radicular; resistência a pragas e doenças; sejam de fácil aquisição ou multiplicação de propágulos e de fácil controle ou erradicação; tenham capacidade de desenvolver-se bem em ambientes diversos; e seja de ocorrência natural em áreas poluídas.

Naturalmente, torna-se difícil reunir todas essas características numa só planta, porém aquela que for selecionada deve reunir o maior número delas. Outro aspecto a ser observado é que, embora a maioria dos testes avalie plantas isoladas, várias espécies podem ser usadas em um mesmo local, ao mesmo tempo ou subsequentemente, para promoverem maior descontaminação (MILLER, 1996).

Para que atue na fitodegradação ou fitotransformação de herbicidas e outros poluentes orgânicos, a característica desejável mais importante às espécies fitorremediadoras, excluindo-se a tolerância que obviamente deve existir, parece ser a capacidade de absorção e metabolização (FERRO et al., 1994; BURKEN & SCHNOOR, 1996; KVESITADZE et al., 2001). Promovendo a absorção, ou seja, a retirada de quantidades que resultem em níveis aceitáveis no solo, com posterior fitotransformação, resultando em sua mineralização, o que geralmente ocorre em pequena porcentagem (NEWMAN et al., 1998), ou na formação de metabólitos não-tóxicos ou menos tóxicos que a molécula original, assegura-se a eficiência do processo de remediação. Isso se torna ainda mais importante quando se pensa na utilização da fitorremediação em sistemas agrícolas que envolvam culturas importantes na sucessão/rotação de culturas utilizadas na renovação do canal.

O trabalho conduzido por Procópio et al. (2007), avaliando a campo a fitorremediação do herbicida trifloxissulfuron-sodium por mucuna-preta e feijão-deporco concluiu que a manutenção da palhada das espécies de adubos verdes durante o ciclo do feijão (espécie indicadora) não prejudicou o desenvolvimento das plantas e não provocou perdas na produtividade da cultura, indicando que a permanência da palhada na superfície do solo não promove a recontaminação da área. No entanto, resultados obtidos por Pires et al. (2009), em bioensaio sob condições controladas, mostraram a presença do picloram ou de metabólitos com atividade herbicida na parte aérea de capim-pé-de-galinha-gigante em níveis fitotóxicos para as plantas de soja, indicando que a permanência da palhada na superfície do solo pode promover a recontaminação da área.

2.3 Inferências sobre o manejo da cultura para o cultivo de espécies fitorremediadoras

Considerando os critérios estabelecidos por Santos et al. (2007) para implementação de um programa de fitorremediação de áreas contaminadas por herbicidas (pré-seleção, seleção, confirmação da capacidade fitorremediadora e, comprovação em ensaios *in situ*), faz-se necessário o estudo de aspectos agronômicos aplicados, como o tempo de cultivo mínimo das espécies fitorremediadoras e também o arranjo de plantas no campo para otimização do processo de descontaminação.

Quanto mais rápida for a descontaminação realizada por uma determinada espécie fitorremediadora, mais rápida será a liberação da área para o cultivo de uma espécie reconhecidamente sensível ao xenobiótico previamente utilizado e, também, menor a probabilidade desse composto lixiviar no solo e atingir os mananciais de água presentes no subsolo (MADALÃO, 2011). Diante disso, ações que possam intensificar o processo de descontaminação do solo são de grande interesse em programas de fitorremediação. Uma dessas práticas consiste no aumento da densidade de plantas remediadoras em determinada área, até certo limite, para incrementar a fitorremediação.

A densidade populacional das espécies fitorremediadoras, por exemplo, pode influenciar a atuação dos mecanismos principais fisiológicos responsáveis pela remediação, fitoextração e fitoestimulação, pois o aumento no volume de exploração do sistema radicular e da transpiração das plantas por área pode resultar em maior absorção dos xenobióticos, além de aumentar a população dos microrganismos rizodegradadores associados às suas raízes (SANTOS et al., 2006b).

A densidade adequada dependerá primordialmente da espécie utilizada, porém de acordo com Schnoor & Dee (1997), que trabalharam com espécies arbóreas como agentes fitorremediadores, a alta densidade populacional no início do estabelecimento das plantas assegura significativa taxa evapotranspirativa, o que é desejável até certo ponto, pois com o aumento demasiado da densidade, a competição intra-específica pode prejudicar o crescimento e o desenvolvimento das plantas. Esta pode ser a possível explicação para o fato de que o aumento do número de plantas por área não reduziu a fitotoxicidade de picloram pelo capim Tanzânia (PROCÓPIO et al., 2009).

Santos et al. (2006) verificaram que a densidade populacional mínima da espécie fitorremediadora *Canavalia ensiformis* que possibilitou o melhor desenvolvimento e a máxima produtividade do feijoeiro cultivado em solo contaminado com o herbicida trifloxysulfuron-sodium, foi de 20 plantas m⁻², correspondendo a 2,5 vezes àquela recomendada na adubação verde, concordando com Procópio et al. (2005), que avaliaram a mucuna-preta (*Stizolobium aterrimum*) na remediação do herbicida trifloxysulfuron-sodium. De forma semelhante, as densidades que otimizam a ação das espécies *Eleusine coracana* e *Panicum maximum* (cultivar Tanzânia) foram 172 e 122 plantas m⁻², respectivamente, quando o alvo da fitorremediação era o herbicida [picloram + 2,4-D] (PROCÓPIO et al., 2008; PROCÓPIO et al., 2009).

2.4. Quantificação biológica e analítica do sulfentrazone

Para que seja recomendado de forma segura em um programa de fitorremediação, torna-se necessário quantificar o herbicida no solo e nas plantas (raiz e parte aérea). A quase totalidade dos resultados obtidos envolvendo a fitorremediação de herbicidas advém de experimentos conduzidos apenas com avaliações biológicas.

Não obstante, os ensaios biológicos são essenciais, pois em certos casos, os limites de detecção obtidos em análises cromatográficas não são suficientes para se quantificar certas moléculas herbicidas que são aplicadas ao solo em concentrações muito baixas. Um exemplo típico é o trifloxysulfuron-sodium, cuja dose média é de 7,5 g ha⁻¹ (SANTOS et al.; 2004). Nesses casos, a correlação do bioensaio, ou seja, do comportamento de intoxicação ou tolerância ao herbicida consiste em indicativo mais exato que a determinação analítica (SANTOS et al., 2007). A metodologia de bioensaio tem sido considerada adequada para detecção de resíduos no solo do herbicida sulfentrazone (BLANCO & VELINI, 2005).

A destinação do herbicida no ambiente é uma informação fundamental, pois se o composto for absorvido pela planta, mas não totalmente mineralizado, e a biomassa vegetal retornar ao solo como cobertura morta, ele pode ser novamente absorvido por espécies suscetíveis à sua ação herbicida, como foi observado para *Eleusine coracana* após fitorremediar o herbicida picloram (PIRES et al., 2009). Por

outro lado, a quantificação da concentração do herbicida no solo pode indicar que ele apenas está adsorvido aos colóides organo-minerais, os quais, sob ocorrência de processos físico-químicos, poderiam novamente liberá-lo na solução do solo. Além disso, as determinações analíticas auxiliam na identificação do provável mecanismo de fitorremediação: rizodegradação (estimulação da biodegradação microbiana através dos exsudatos das raízes) ou fitodegradação (metabolização e ou acúmulo em estruturas celulares) (CUNNINGHAN et al., 2006). Essas inferências se tornam ainda mais importantes quando se pensa na utilização da fitorremediação em sistemas agrícolas que envolvam culturas de interesse econômico na sucessão/rotação de culturas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Potencial de espécies vegetais na remediação de solo contaminado com sulfentrazone

Foram realizados dois experimentos instalados em casa-de-vegetação localizada no campus do Centro Universitário Norte do Espírito Santo, da Universidade Federal do Espírito Santo (CEUNES/UFES), localizado em São Mateus, ES, no período de agosto de 2011 a fevereiro de 2012. Um experimento foi conduzido com a espécie crotalária juncea (*Crotalaria juncea*) e outro com feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*), duas espécies de adubos verdes potenciais fitorremediadoras do herbicida sulfentrazone no solo, selecionadas em experimento preliminar de seleção. Ambos os experimentos foram conduzidos de forma idêntica.

Os experimentos constaram de um fatorial 4 x 3, no delineamento em blocos casualizado, com quatro repetições. O primeiro fator foi constituído pela combinação de quatro densidades populacionais das espécies fitorremediadoras e o segundo de três doses de sulfentrazone (0, 200 e 400 g ha⁻¹), totalizando 12 tratamentos.

Para *C. juncea* foram utilizadas as densidades de 0, 60, 120 e 240 plantas m⁻² e para *C. ensiformis* as densidades foram de 0, 10, 20 e 40 plantas m⁻². Para as duas espécies, as densidades correspondem a zero, 1x, 2x, e 4x a densidade recomendada na adubação verde.

Como substrato para o crescimento das plantas utilizou-se amostras de solo coletadas em área sem histórico de aplicação de herbicidas na profundidade de 0-20 cm, de textura Franco Arenosa, peneirado em malha de 4 mm e posteriormente caracterizado físico-quimicamente (Tabela 1). Essa caracterização serviu de base para a correção e adubação realizada visando um bom desenvolvimento das espécies avaliadas como fitorremediadoras, com base nas exigências da cultura do feijoeiro.

Tabela 1. Composição físico-química da camada arável (0-20 cm) do solo utilizado no experimento

Análise Granulométrica g kg ⁻¹									
Argila	Silte		Areia		Classificação textural				
120	104		776		Franco Arenoso				
Análise Química									
pH	P	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	H+Al	Al ³⁺	CTC	V	MO
H ₂ O	mg dm ⁻³		cmol _c dm ⁻³					%	dag kg ⁻¹
5,2	90	17	0,6	0,2	2,4	0,4	3,2	26,0	2,0

* Análise de substrato realizada pelo Fullin - Laboratório de Análise Agronômica, Linhares – ES, 2011.

Após o preparo do solo, o mesmo foi colocado em vasos de 24 cm de altura revestidos com filme de polietileno. Foi utilizado 10,0 kg do substrato por vaso, estes foram irrigados ajustando a umidade em valor próximo a 80% da capacidade de campo, fazendo-se a seguir a aplicação do sulfentrazone com o auxílio de um micro-pulverizador, aplicando volume de calda equivalente a 400 L ha⁻¹.

A semeadura das espécies de *C. ensiformis* e *C. juncea* foi realizada oito dias após a aplicação do sulfentrazone. Sete dias após a emergência (DAE) foi realizado o desbaste, deixando-se o número de plantas por vaso correspondente a cada tratamento. Foram feitas irrigações diárias, mantendo-se a umidade do solo próxima a 80% da capacidade de campo de acordo com a necessidade de cada tratamento.

Aos 21 e 75 (DAE), foram realizadas as avaliações de altura (cm), tomando-se como base para medição o meristema apical das espécies. Aos 75 DAE, as plantas foram cortadas na altura do coleto e imediatamente pesadas para obtenção da biomassa fresca (g) da parte aérea. Logo em seguida todo esse material foi congelado a temperatura de aproximadamente -20 °C para bioensaio e determinação de resíduos de sulfentrazone na parte aérea, sendo analisado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Logo após a coleta das espécies fitorremediadoras, foram retiradas amostras de solo e raiz de todos os vasos em duas profundidades, 0 a 10 e 10 a 20 cm, em um total de 24 amostras para cada espécie fitorremediadora, essas amostras foram acondicionadas para determinação dos resíduos de sulfentrazone por cromatografia líquida.

Neste mesmo período, também foi realizada a coleta das amostras para análise química (pH, macro e micronutrientes). Após a análise dos resultados procedeu-se uma adubação de plantio específica para cada tratamento, a fim de se uniformizar a disponibilidade de nutrientes em cada unidade experimental.

Terminada esta etapa foi realizada a semeadura da espécie bioindicadora da presença do sulfentrazone no solo, milheto (*Pennisetum glaucum* var. ADR 7010), distribuindo-se 15 sementes por vaso. O milheto foi utilizado com base em sua elevada suscetibilidade ao sulfentrazone, comprovada em experimentos anteriores (MADALÃO, 2011). Após a emergência da planta bioindicadora, foi realizado o desbaste deixando-se duas plantas por vaso. Estas foram irrigadas diariamente de acordo com a necessidade de cada tratamento.

Aos 25 e 42 DAE do milheto foram avaliadas a fitotoxicidade de forma visual utilizando-se escala percentual, onde 0 (zero) significa ausência de sintomas, e 100% morte de todas as plantas, e a altura de plantas, utilizando-se escala graduada, tendo como referência o meristema apical.

Aos 42 DAE o milheto foi cortado rente ao solo, sendo o material vegetal imediatamente pesado em balança analítica, determinando-se a biomassa fresca da parte aérea. A mesma determinação foi efetuada para as raízes, após serem retiradas cuidadosamente dos vasos e lavada. Posteriormente, o material vegetal (parte aérea e raízes) foi colocado em estufa de circulação forçada de ar (70 ± 2 °C) até peso constante, e pesado novamente em balança analítica, determinando-se assim a biomassa seca da parte aérea e da raiz.

Após a coleta e tabulação dos dados, estes foram submetidos à análise de variância. A análise dos efeitos significativos da densidade populacional da espécie fitorremediadora dentro de cada dose do herbicida foi realizada por análise de regressão, sendo os coeficientes das equações testados pelo teste t a 5% de significância, cujas equações foram ajustadas conforme a variável em questão e seu respectivo comportamento biológico.

Os efeitos significativos das doses do sulfentrazone, em cada densidade populacional, foram verificados por meio do teste de Tukey a 5% de significância, devido ao número insuficiente de níveis para o ajuste das equações de regressão.

3.2 Reutilização da biomassa de *Canavalia ensiformis* e *Crotalaria juncea* após fitorremediação em solo contaminado com sulfentrazone

As plantas cortadas rente ao solo e congeladas nos experimentos (3.1) foram submetidas a um bioensaio.

O material vegetal congelado foi triturado manualmente e posteriormente macerado em água, constituindo um extrato vegetal que foram aplicados em potes de plástico de 300 mL contendo areia lavada como substrato (PIRES et al., 2009). A parte aérea das plantas fitorremediadoras foi utilizada na forma de extrato para disponibilizar prontamente o sulfentrazone para a solução do substrato, e conseqüentemente, para as plantas de milho cultivadas em sucessão.

A quantidade de extrato da parte aérea foi determinada em função de cada espécie (*C. juncea* e *C. ensiformis*), e corresponderam à aplicação da quantidade de biomassa seca normalmente produzida por hectare pelas espécies testadas. Após o preparo do substrato foi semeada a planta bioindicadora da presença de sulfentrazone (milho – *Pennisetum glaucum* var. ADR 7010).

Aos 15 e 30 dias após a emergência (DAE) do milho foram avaliadas a fitotoxicidade de forma visual - utilizando-se escala percentual, onde 0 (zero) significa ausência de sintomas, e 100% morte de todas as plantas, e a altura, utilizando-se escala graduada, tendo como referência o meristema apical. Aos 30 DAE as plantas de milho foram cortadas rente ao substrato, imediatamente pesadas em balança analítica, determinando-se a biomassa fresca da parte aérea. A mesma determinação foi efetuada para as raízes, após serem retiradas cuidadosamente dos potes e lavada. Posteriormente o material vegetal (parte aérea e raízes) foi colocado em estufa de circulação forçada de ar (70 ± 2 °C) por 72 horas, e pesados novamente em balança analítica, determinando-se assim a biomassa seca da parte aérea e da raiz.

A utilização desta metodologia tem o objetivo de detectar se o acúmulo do herbicida nos tecidos da planta ocorre em forma fitotóxica, após absorvê-lo do solo, afetando plantas sensíveis em eventual manutenção das plantas fitorremediadoras no campo, como fonte de palhada ou incorporadas para adição de matéria orgânica.

Após a coleta e tabulação dos dados, estes foram submetidos à análise de variância. A análise dos efeitos significativos da densidade populacional da espécie fitorremediadora dentro de cada dose do herbicida foi realizada por análise de

regressão, sendo os coeficientes das equações testados pelo teste t a 5% de significância, cujas equações foram ajustadas conforme a variável em questão e seu respectivo comportamento biológico. Os efeitos significativos das doses do sulfentrazone, em cada densidade populacional, foram verificados por meio do teste de Tukey a 5% de significância, devido ao número insuficiente de níveis para o ajuste das equações de regressão.

3.3 Determinações cromatográficas do herbicida sulfentrazone no solo nas plantas (raiz e parte aérea)

As amostras de solo e de plantas de *C. juncea* e *C. ensiformis*, coletados nos experimentos 3.1 foram utilizadas nesta etapa para determinação da persistência do herbicida no solo (biodisponibilidade), e acumulação na planta (parte aérea e raiz), utilizando-se cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

A análise cromatográfica foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-HPLC), utilizando um equipamento modelo Waters 2695 equipado com detector UV/DAD, auto-injetor e forno para colunas. A condição cromatográfica foi otimizada e validada de acordo com o descrito por Ohmes & Mueller (2007), e foi utilizada: fase móvel constituída de acetonitrila - ácido fosfórico 0,1% (60 : 40); coluna RP-18, 250 x 4,6 mm, 5 μm ; fluxo de 1 mL^{-1} min; injeção de 10 μL , detecção em 220 nm e temperatura da coluna de 30 $^{\circ}\text{C}$. A solução padrão foi preparada a partir do padrão de sulfentrazone com teor declarado de 99,8% na concentração de 0,01 mg mL^{-1}

Os resíduos de sulfentrazone no solo foram determinados por extração com o uso de 80 mL de metanol para cada 40 g de solo, após agitação por 16 h em um agitador operado a 180 rotações por minuto (rpm). Após a etapa de agitação, as amostras foram centrifugadas por 15 minutos a 3.200 (rpm) para separação. Em seguida, uma parte do extrato sobrenadante foi retirado com auxílio de seringa e filtrado à 0,45 μm em membrana de PTFE da Millipore® para “vials” de 1,5 mL, os quais foram submetidos à análise cromatográfica.

Para a determinação dos resíduos de sulfentrazone na parte aérea e raiz das plantas fitorremediadoras, o material vegetal foi submetido a extração por

maceração. As amostras previamente congeladas foram retiradas do freezer e, após atingirem a temperatura ambiente foram secadas em papel toalha e pesadas em balança analítica na proporção de 1:10 (BARBOSA, 2001; SERAFIM et al.; 2007), sendo 5 g de material vegetal para 50 mL de metanol. Em seguida, macerou-se a mistura até a completa dispersão da amostra. Após a etapa de maceração, as amostras foram filtradas em papel de filtro, e posteriormente centrifugadas por 15 minutos a 3.200 (rpm) para separação. Parte do extrato sobrenadante foi retirado com auxílio de seringa e filtrado à 0,45 μm em membrana de PTFE da Millipore® para “vials” de 1,5 mL, os quais foram submetidos à análise cromatográfica.

A análise qualitativa, com a identificação do sulfentrazone nos extratos foi realizada por comparação do tempo de retenção obtido nos cromatogramas da solução padrão e de cada amostra.

A análise quantitativa foi realizada por comparação das áreas dos picos entre a solução padrão e as soluções das amostras. A quantidade de herbicida encontrada nas amostras de solo, parte aérea e raiz foram calculadas em mg Kg^{-1} de amostra.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Potencial de espécies vegetais na remediação de solo contaminado com sulfentrazone em função da densidade de semeadura

4.1.1 Avaliação das espécies fitorremediadoras

A avaliação feita nas duas espécies fitorremediadoras, conduzidas simultaneamente, revelou diferenças entre os tratamentos na Análise de Variância e, conseqüentemente, nos testes de médias.

Observou-se aos 21 dias após a emergência (DAE) da espécie fitorremediadora, na densidade de 10 plantas m^{-2} , redução na altura de *Canavalia ensiformis* com o aumento das doses de sulfentrazone. O mesmo não ocorreu para as demais densidades que não apresentaram diferença estatística (Tabela 2).

Na testemunha sem sulfentrazone, nas duas avaliações, aos 21 e 75 DAE, houve redução na altura de *C. ensiformis* na maior densidade avaliada (40 plantas m^{-2}) em relação a menor (10 plantas m^{-2}). Isso, provavelmente, ocorreu devido à competição entre as plantas por luz, água e nutrientes. Na presença de sulfentrazone nas doses de 200 e 400 $g\ ha^{-1}$ aos 21 DAE não houve diferença significativa (Tabela 2), apesar de, em valores absolutos, haver uma ligeira tendência de redução da altura com o aumento da densidade.

Aos 75 DAE houve redução na altura de *C. ensiformis* à medida que aumentou a dose do herbicida, nas densidades de 10 e 20 plantas m^{-2} . Neste mesmo período a presença do sulfentrazone no solo resultou na diminuição de biomassa fresca dessa espécie em todas as densidades avaliadas (Tabela 2).

O maior acúmulo de biomassa constitui-se numa característica interessante para espécies fitorremediadoras, pois pode corresponder a uma maior capacidade

de absorção do herbicida pelas raízes (NEWMAN et al., 1998) e maior acúmulo e, ou, degradação do xenobiótico na parte aérea.

Não foram observados sintomas de intoxicação nas plantas de *C. ensiformis*, comprovando a tolerância dessa espécie ao sulfentrazone, que é uma característica altamente desejável para que uma espécie seja utilizada como fitorremediadora.

Tabela 2. Altura de *Canavalia ensiformis* aos 21 e 75 dias após a emergência (DAE) e biomassa fresca da parte aérea aos 75 DAE, em três densidades populacionais, cultivadas em solo contaminado com três níveis do herbicida sulfentrazone

Doses de sulfentrazone (g. ha ⁻¹)	Plantas de <i>C. ensiformis</i> m ⁻²		
	10	20	40
Altura (cm) aos 21 DAE			
0	18,75 aA	15,81 aAB	14,91 aB
200	16,12 abA	13,87 aA	13,54 aA
400	15,25 bA	13,81 aA	13,37 aA
C.V. (%)	12,93		
Altura (cm) aos 75 DAE			
0	389,25 aA	302,62 aB	238,91 aC
200	292,25 bA	238,75 bA	166,58 bB
400	191,75 cA	147,37 cA	147,91 bA
C.V. (%)	13,31		
Biomassa fresca (g) aos 75 DAE			
0	374,00 aA	434,00 aA	444,50 aA
200	267,50 bB	291,00 bAB	354,50 bA
400	256,25 bA	255,00 bA	285,00 bA
C.V. (%)	13,31		

*Médias seguidas de uma mesma letra minúscula, na coluna, e maiúscula, na linha, não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

As mesmas avaliações feitas para *Crotalaria juncea*, aos 21 DAE mostraram que houve diminuição da altura nas densidades de 60 e 120 plantas m⁻² na dose de 400 g ha⁻¹ quando comparado com a dose de 0 g ha⁻¹. Na dose de 200 g ha⁻¹ constatou-se que a altura de *C. juncea* foi maior na densidade de 60 plantas m⁻² quando comparada a 240 plantas m⁻² (Tabela 3). Como mencionado anteriormente para *C. ensiformis* este fato pode ser devido à competição intraespecífica.

Aos 75 DAE verificou-se que na densidade de 60 plantas m⁻² não houve diferença significativa na altura de *C. juncea* entre as doses 0 e 400 g ha⁻¹, o oposto ocorreu aos 21 DAE nessa mesma densidade (Tabela 3). Isso pode ter ocorrido

devido uma maior metabolização do sulfentrazone em função do estágio fenológico de *C. juncea*. Quando comparado à altura em função das densidades constatou-se que esta reduziu com o aumento de plantas m^{-2} .

Na densidade de 240 plantas m^{-2} a biomassa fresca de *C. juncea* cultivada em solo sem aplicação de sulfentrazone foi maior que a biomassa fresca quando cultivada no solo com aplicação de 400 $g\ ha^{-1}$ (Tabela 3). Este resultado mostra que, apesar de mostrar-se tolerante ao herbicida, advinda de uma seleção de mais de 20 espécies visando identificar seu efeito remediador no solo (MADALÃO, 2011), a presença do sulfentrazone no solo interfere no crescimento de *C. juncea*.

Nas menores doses avaliadas (0 e 200 $g\ ha^{-1}$) a biomassa fresca de *C. juncea* nas densidades 60 e 120 plantas m^{-2} não diferiram estatisticamente, no entanto, na densidade de 240 plantas m^{-2} houve um acréscimo para esta variável (Tabela 3).

Tabela 3. Altura de *Crotalaria juncea* aos 21 e 75 dias após a emergência (DAE) e biomassa fresca da parte aérea aos 75 DAE, em três densidades populacionais, cultivadas em solo contaminado com três níveis do herbicida sulfentrazone

Doses de sulfentrazone ($g\ ha^{-1}$)	Plantas de <i>C. juncea</i> m^{-2}		
	60	120	240
Altura (cm) aos 21 DAE			
0	25,25 aA	23,63 aA	18,81 aA
200	26,85 aA	19,94 abAB	19,41 aB
400	15,56 bA	15,13 bA	17,35 aA
C.V. (%)	20,08		
Altura (cm) aos 75 DAE			
0	171,66 abA	138,62 aB	120,77 aB
200	159,16 bA	122,91 aB	111,83 aB
400	183,83 aA	130,54 aB	111,02 aB
C.V. (%)	8,12		
Biomassa fresca (g) aos 75 DAE			
0	262,75 aB	267,50 aB	345,50 aA
200	212,50 aB	212,50 aB	290,75 abA
400	233,50 aA	225,50 aA	274,25 bA
C.V. (%)	14,39		

*Médias seguidas de mesma letra minúscula, na coluna, e maiúscula, na linha, não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

4.1.2 Avaliação do bioensaio com milho no próprio vaso após cultivo de *Canavalia ensiformis*

Aos 25 e 42 DAE a altura de *Pennisetum glaucum* (milheto) reduziu com o aumento da dose de sulfentrazone, independente da densidade populacional da espécie fitorremediadora (*C. ensiformis*) (Tabela 4).

Tabela 4. Altura e fitotoxicidade em plantas de *Pennisetum glaucum* semeadas após o cultivo prévio de *C. ensiformis*, em quatro densidades populacionais, em solo contaminado com três níveis do herbicida sulfentrazone

Doses de sulfentrazone (g ha ⁻¹)	Plantas de <i>C. ensiformis</i> m ⁻²			
	0	10	20	40
Altura (cm) aos 25 DAE*				
0	20,37 a	19,93 a	19,87 a	21,62 a
200	11,96 b	15,22 b	15,41 b	16,93 b
400	0,00 c	7,02 c	8,21 c	12,71 c
C.V. (%)	17,16			
Altura (cm) aos 42 DAE				
0	114,65 a	124,87 a	135,50 a	138,25 a
200	67,42 b	80,37 b	90,65 b	95,92 b
400	0,00 c	21,62 c	35,00 c	53,52 c
C.V. (%)	8,69			
Fitotoxicidade (%) aos 25 DAE				
0	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c
200	67,50 b	42,87 b	35,00 b	32,50 b
400	100,00 a	81,75 a	80,50 a	71,25 a
C.V. (%)	17,31			
Fitotoxicidade (%) aos 42 DAE				
0	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c
200	68,75 b	46,25 b	31,25 b	20,75 b
400	100,00 a	82,50 a	72,50 a	58,75 a
C.V. (%)	18,56			

*Médias seguidas por mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. *DAE: dias após a emergência.

Quando não se efetuou o cultivo prévio das plantas de *C. ensiformis*, e aplicou-se a dose de 400 g ha⁻¹ de sulfentrazone, as plantas de *P. glaucum* não sobreviveram (Tabela 4). Isso aponta para o efeito significativo do cultivo da espécie fitorremediadora antecedendo ao milho e também para a importância da

fitorremediação na descontaminação de solos contaminados com sulfentrazone. O cultivo prévio das plantas *C. ensiformis* reduziu a fitotoxicidade sobre as plantas de *P. glaucum* tanto aos 25 quanto aos 42 DAE.

O cultivo prévio de *C. ensiformis* em solos contaminados com 200 e 400 g ha⁻¹ de sulfentrazone resultou em aumento da altura nas plantas de *P. glaucum* aos 25 e 42 DAE, com o aumento das densidades populacionais avaliadas (Figuras 2 e 3).

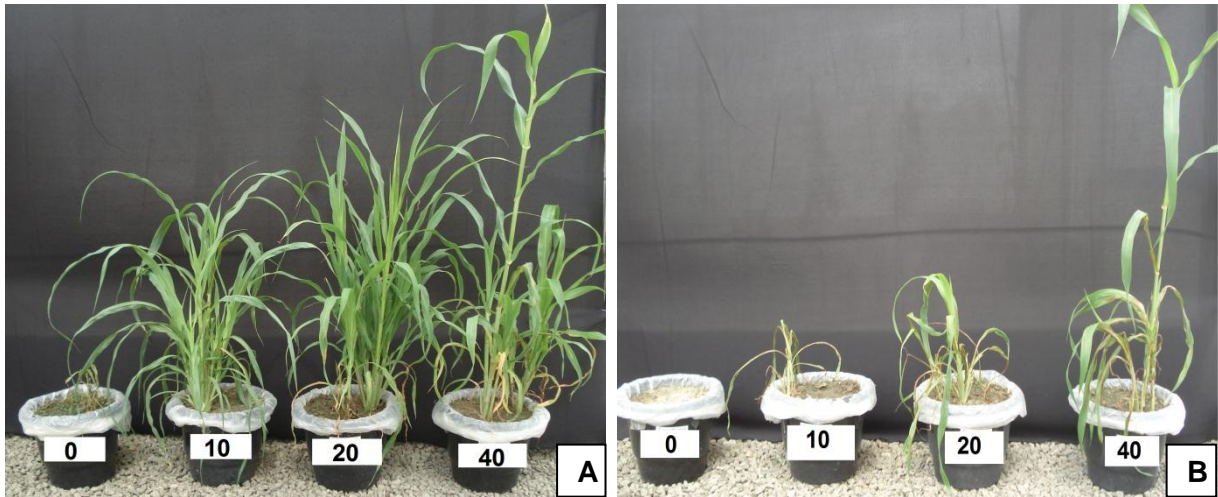


Figura 2. Bioensaio com *Pennisetum glaucum* após o cultivo prévio de *Canavalia ensiformis* em quatro densidades populacionais (0, 10, 20 e 40 plantas m⁻²) nas doses de 200 g ha⁻¹ (A) e 400 g ha⁻¹ (B) de sulfentrazone.

O aumento da densidade populacional de *C. ensiformis*, cultivadas nos vasos onde foi realizada aplicação prévia do sulfentrazone, provocou diminuição da fitotoxicidade nas plantas de *P. glaucum*. Na dose de 400 g ha⁻¹ onde não houve o cultivo prévio de *C. ensiformis* as plantas de *P. glaucum* (planta indicadora) tiveram 100% de intoxicação (Figura 3). Sendo suas equações de regressão apresentadas na tabela 5.

Este fato comprova a sensibilidade de *P. glaucum* ao sulfentrazone. A alta sensibilidade do *P. glaucum* ao sulfentrazone foi comprovada por Dan et al. (2011) ao analisar a atividade residual desse herbicida, aplicado em pré-emergência na cultura da soja, sobre o milho cultivado em sucessão.

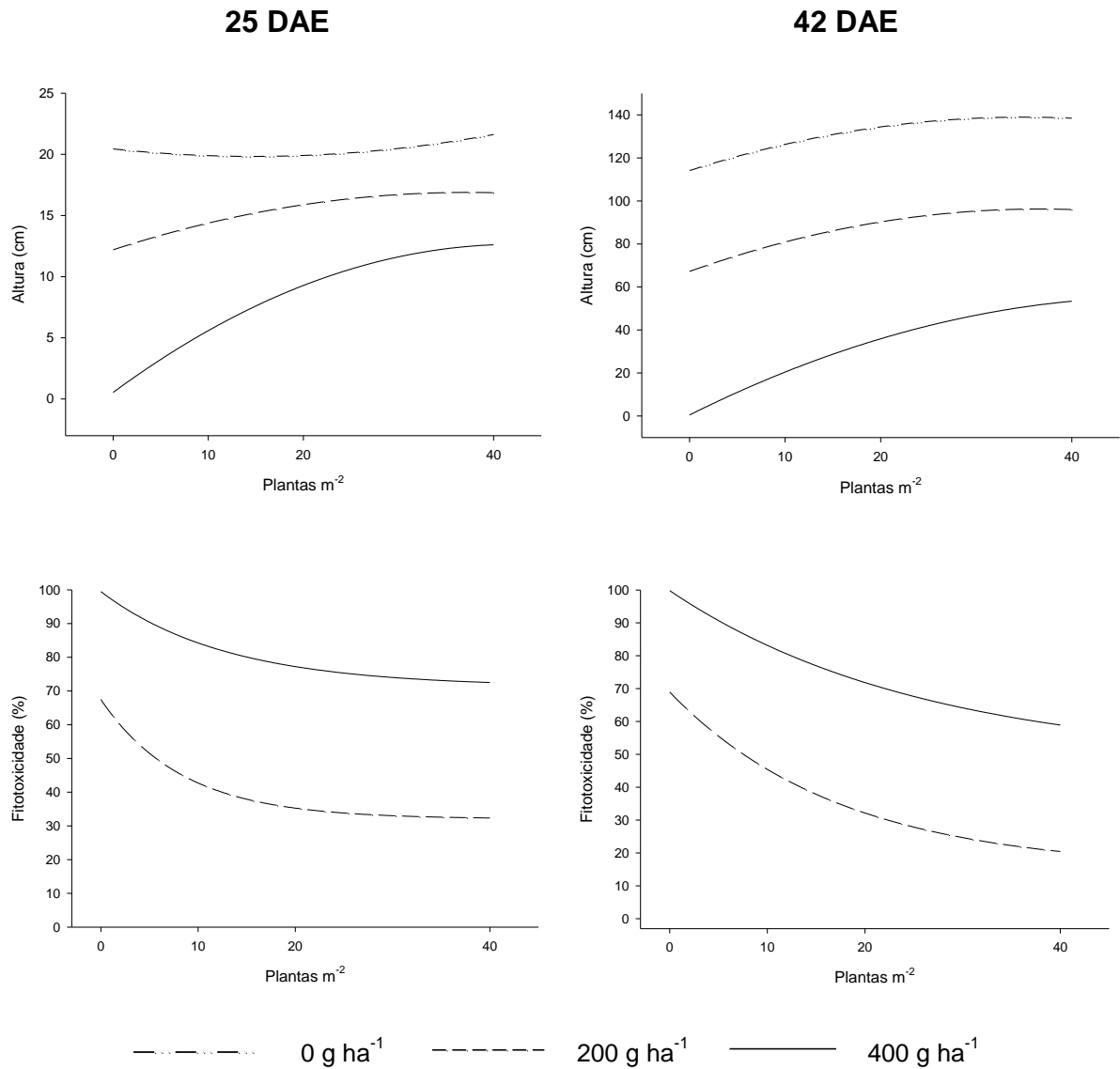


Figura 3. Altura e fitotoxicidade em plantas de *Pennisetum glaucum* aos 25 e 42 dias após a emergência (DAE), semeadas após o cultivo prévio de *Canavalia ensiformis*, em função da densidade populacional, em solo contaminado com três níveis do herbicida sulfentrazone.

Tabela 5. Equações de regressão para valores médios de altura e fitotoxicidade, aos 25 e 42 dias após a emergência (DAE), de *Pennisetum glaucum* cultivado após *Canavalia ensiformis* sob quatro diferentes densidades populacionais, em solo contaminado com três níveis do herbicida sulfentrazone

Doses (g ha ⁻¹)	25 DAE		42 DAE	
	Equação	R ²	Equação	R ²
	Altura (cm)			
0	$\hat{Y} = 20,4368 - 0,0824X + 0,0028X^2$	0,99	$\hat{Y} = 114,1127 + 1,4234X - 0,0204X^2$	0,99
200	$\hat{Y} = 12,1964 + 0,2518X - 0,0034X^2$	0,95	$\hat{Y} = 67,2273 + 1,5836X - 0,0216X^2$	0,99
400	$\hat{Y} = 0,5320 + 0,5727X - 0,0068X^2$	0,96	$\hat{Y} = 0,4507 + 2,2220X - 0,0225X^2$	0,99
	Fitotoxicidade (%)			
200	$\hat{Y} = 32,0651 + 35,4559 e^{(0,1202X)}$	0,99	$\hat{Y} = 14,9862 + 53,9645 e^{(0,0572X)}$	0,99
400	$\hat{Y} = 71,2546 + 28,2262 e^{(0,0775X)}$	0,97	$\hat{Y} = 47,8110 + 51,9996 e^{(0,0386X)}$	0,99

Com relação à biomassa fresca da parte aérea e da raiz das plantas de *P. glaucum* observou-se que à medida que aumentou a dose de sulfentrazone ocorreu uma redução da biomassa fresca independentemente das densidades avaliadas (10, 20 e 40 plantas m⁻²). A aplicação de 200 g ha⁻¹ de sulfentrazone no solo não interferiu na massa seca da parte aérea e da raiz de *P. glaucum*, cultivado após o cultivo prévio de *C. ensiformis* nas densidades de 0 e 10 plantas m⁻² quando comparado com a ausência do sulfentrazone (Tabela 6).

Para biomassa fresca da parte aérea de *P. glaucum* onde se cultivou anteriormente *C. ensiformis* nas densidades de 20 e 40 plantas m⁻² houve uma redução dessa variável com o aumento do sulfentrazone no solo, no entanto, para a biomassa seca da raiz houve redução somente na dose de 400 g ha⁻¹ (Tabela 6).

Tabela 6. Biomassa fresca e seca da parte aérea e da raiz de *Pennisetum glaucum*, aos 42 dias após a emergência (DAE), semeado após o cultivo prévio de *Canavalia ensiformis*, em quatro densidades populacionais, em solo contaminado com três níveis do herbicida sulfentrazone

Doses de sulfentrazone (g ha ⁻¹)	Plantas de <i>C. ensiformis</i> . m ⁻²			
	0	10	20	40
Biomassa fresca da parte aérea (g)				
0	321,00 a	330,00 a	360,25 a	362,50 a
200	232,50 b	261,50 b	276,00 b	296,50 b
400	0,00 c	89,00 c	90,25 c	91,87 c
C.V. (%)	9,91			
Biomassa seca da parte aérea (g)				
0	45,00 a	50,96 a	58,54 a	64,97 a
200	37,34 a	43,48 a	42,88 b	47,46 b
400	0,00 b	10,42 b	10,47 c	11,05 c
C.V. (%)	16,60			
Biomassa fresca da raiz (g)				
0	76,00 a	117,00 a	130,00 a	131,75 a
200	58,00 a	76,50 b	87,00 b	100,00 b
400	0,00 b	36,00 c	37,00 c	38,50 c
C.V. (%)	16,66			
Biomassa seca da raiz(g)				
0	26,58 a	34,63 a	39,01 a	43,96 a
200	18,61 a	25,10 a	29,02 a	31,75 a
400	0,00 b	8,52 b	9,97 b	11,07 b
C.V. (%)	30,80			

*Médias seguidas por mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Para as características biomassa fresca e seca da parte aérea e da raiz, a espécie fitorremediadora (*C. ensiformis*) contribui para o aumento nos valores dessas variáveis, independentemente das doses de sulfentrazone avaliadas, ou seja, à medida que aumentou a densidade populacional de *C. ensiformis* houve um incremento na biomassa seca e fresca tanto da parte aérea quanto do sistema radicular (Figura 4). Sendo suas equações de regressão apresentadas na tabela 7.

Segundo Santos et al. (2006a), aumentos na densidade populacional de plantas remediadoras em determinada área, até certo limite, também podem proporcionar maior volume de raízes e de solo explorado, podendo resultar em incremento da absorção/degradação do contaminante e, ou, degradação rizosférica.

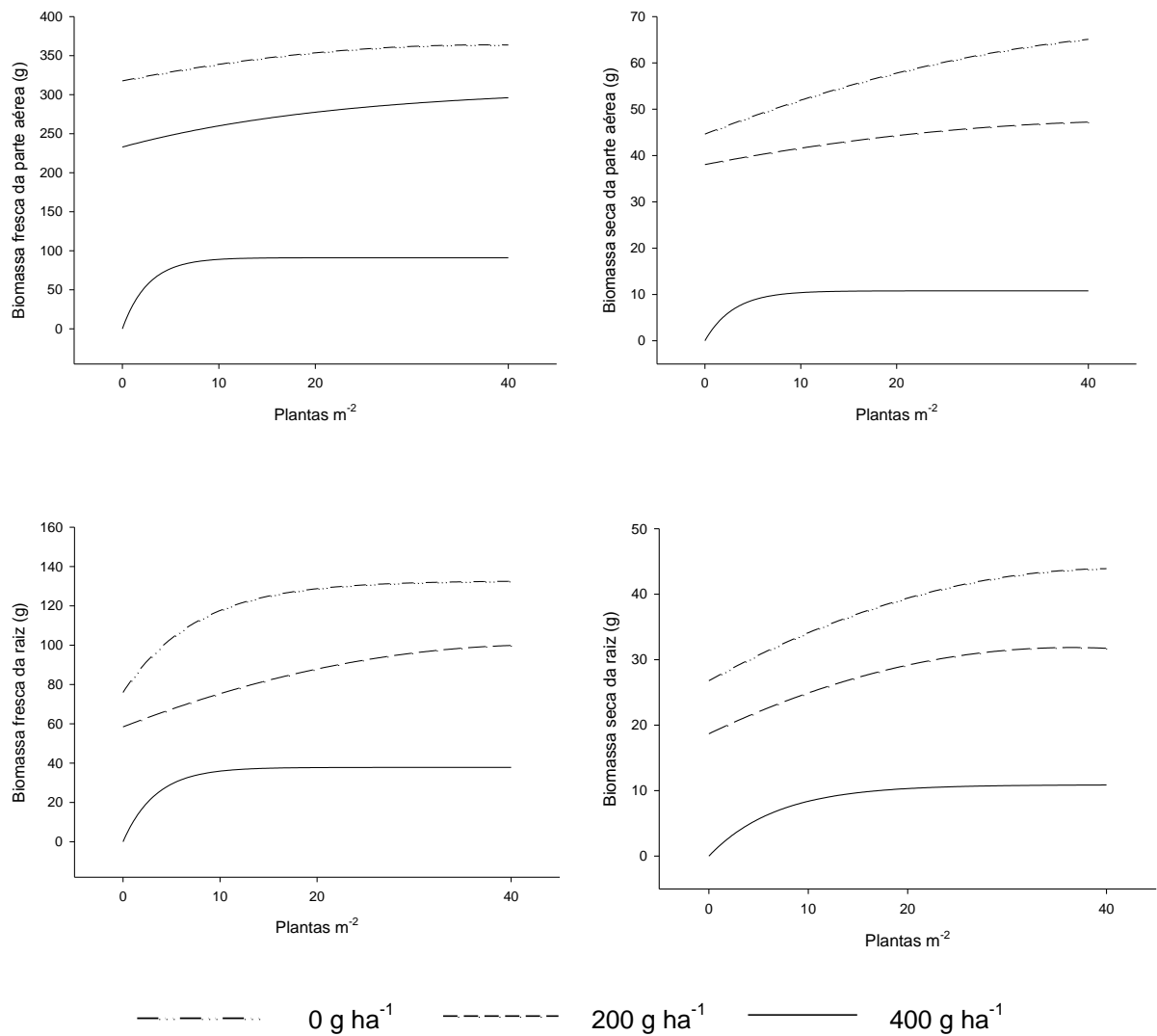


Figura 4. Biomassa fresca e seca da parte aérea e da raiz de *Pennisetum glaucum* aos 42 dias após a emergência (DAE), semeado após o cultivo prévio de *Canavalia ensiformis*, em função da densidade populacional, em solo contaminado com três níveis do herbicida sulfentrazone.

Tabela 7. Equações de regressão para valores médios de biomassa fresca e seca da parte aérea e raiz aos 42 dias após a emergência de *Pennisetum glaucum* cultivado após *Canavalia ensiformis* sob quatro densidades populacionais, em solo contaminado com três níveis do herbicida sulfentrazone

Doses (g ha ⁻¹)	Equação	R ²	Equação	R ²
	Biomassa fresca da parte aérea		Biomassa seca da parte aérea	
0	$\hat{Y} = 317,6727 + 2,4439X - 0,0324X^2$	0,90	$\hat{Y} = 44,6300 + 0,8053X - 0,0073X^2$	0,99
200	$\hat{Y} = 233,4545 + 2,8773X - 0,0327X^2$	0,99	$\hat{Y} = 38,0496 + 0,3956X - 0,0042X^2$	0,88
400	$\hat{Y} = 91,1065 (1 - e^{(0,3749X)})$	0,99	$\hat{Y} = 10,7803 (1 - e^{(0,3357X)})$	0,99
	Biomassa fresca da raiz		Biomassa seca da raiz	
0	$\hat{Y} = 75,9209 + 56,8428 (1 - e^{(0,13238X)})$	0,99	$\hat{Y} = 26,7801 + 0,8347X - 0,0102X^2$	0,99
200	$\hat{Y} = 58,4364 + 1,9082X - 0,0218X^2$	0,99	$\hat{Y} = 18,6831 + 0,7220X - 0,0099X^2$	0,99
400	$\hat{Y} = 37,8344 (1 - e^{(0,2987X)})$	0,99	$\hat{Y} = 10,8988 (1 - e^{(0,1464X)})$	0,99

4.1.3 Avaliação do bioensaio com milho no próprio vaso após cultivo de *Crotalaria juncea*

Quando não houve o cultivo prévio de *C. juncea*, a altura das plantas de *P. glaucum* decresceu em função das doses de sulfentrazone aos 25 e 42 DAE. Observou-se ainda que na aplicação da maior dose do herbicida no solo (400 g ha⁻¹) *P. glaucum* não se desenvolveu em razão da elevada toxicidade do herbicida (Tabela 8).

Entre os tratamentos que receberam cultivo prévio da espécie fitorremediadora (*C. juncea*) percebe-se que o aumento da dose de sulfentrazone no solo proporcionou uma redução na altura de *P. glaucum* aos 42 DAE. O mesmo ocorreu quando *P. glaucum* foi cultivado em sucessão ao cultivo de *C. juncea* na densidade de 240 plantas m⁻² aos 25 DAE (Tabela 8).

Aos 25 DAE houve evolução dos sintomas de fitotoxicidade nas plantas de *P. glaucum* com aumento das doses do sulfentrazone no solo, sendo que sem o cultivo prévio da espécie fitorremediadora as plantas de *P. glaucum* apresentaram 100% de fitotoxicidade não sobrevivendo à atividade do herbicida no solo.

O cultivo prévio de *C. juncea* nas densidades de 120 e 240 plantas m⁻² contribuiu para descontaminação do solo contaminado com 200 g ha⁻¹ de sulfentrazone, pois a fitotoxicidade apresentada nas plantas de *P. glaucum* aos 42 DAE, não diferiu estatisticamente daquelas cultivadas na ausência do herbicida

(Tabela 8). Nestas mesmas densidades, nota-se também o efeito benéfico da descontaminação do solo promovida pela crotalaria, pois na dose mais elevada de sulfentrazone houve redução de cerca de 50% na fitotoxicidade do milho, em relação ao tratamento que não foi fitorremediado, aos 42 DAE (Figura 6).

Tabela 8. Altura e fitotoxicidade em plantas de *Pennisetum glaucum* semeadas após o cultivo prévio de *Crotalaria juncea*, em quatro densidades populacionais, em solo contaminado com três níveis do herbicida sulfentrazone

Doses de sulfentrazone (g ha ⁻¹)	Plantas de <i>C. juncea</i> m ⁻²			
	0	60	120	240
Altura (cm) aos 25 DAE*				
0	18,32 a	18,52 a	19,77 a	23,38 a
200	12,76 b	13,93 a	15,82 ab	18,45 b
400	0,00 c	8,92 b	11,92 b	13,80 c
C.V. (%)	18,09			
Altura (cm) aos 42 DAE				
0	100,50 a	101,93 a	100,62 a	111,31 a
200	58,37 b	76,87 b	77,56 b	87,81 b
400	0,00 c	35,00 c	55,30 c	65,12 c
C.V. (%)	16,92			
Fitotoxicidade (%) aos 25 DAE				
0	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c
200	60,00 b	46,25 b	41,25 b	37,50 b
400	100,00 a	83,75 a	77,50 a	58,75 a
C.V. (%)	18,32			
Fitotoxicidade (%) aos 42 DAE				
0	0,00 c	0,00 c	0,00 b	0,00 b
200	53,75 b	25,00 b	15,00 b	12,50 b
400	100,00 a	70,00 a	58,75 a	43,75 a
C.V. (%)	28,39			

*Médias seguidas por mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. *DAE: dias após a emergência.

O cultivo prévio de *C. juncea* em solo contaminado com sulfentrazone contribuiu para o aumento da altura de *P. glaucum* aos 25 e 42 DAE, independentemente da densidade avaliada embora este aumento seja inferior quando comparado com a altura de *P. glaucum* cultivado na ausência do herbicida (Figuras 5 e 6). As equações ajustadas encontram-se na tabela 9.

As plantas de *P. glaucum* quando cultivadas em sucessão à *C. juncea* apresentaram menor fitotoxicidade aos 25 e 42 DAE quando comparado com o tratamento sem cultivo prévio, independentemente da dose de sulfentrazone avaliada. Sendo que aos 42 DAE a porcentagem de intoxicação nas plantas de *P. glaucum* foi inferior àquela apresentada aos 25 DAE. Ou seja, as plantas de *P. glaucum* apresentaram uma recuperação considerável (Figura 6). Este comportamento também foi observado por Belo et al., (2011), trabalhando com sorgo como espécie indicadora de resíduos de sulfentrazone no solo, após ter sido fitorremediado por *Heliantus annuus*.

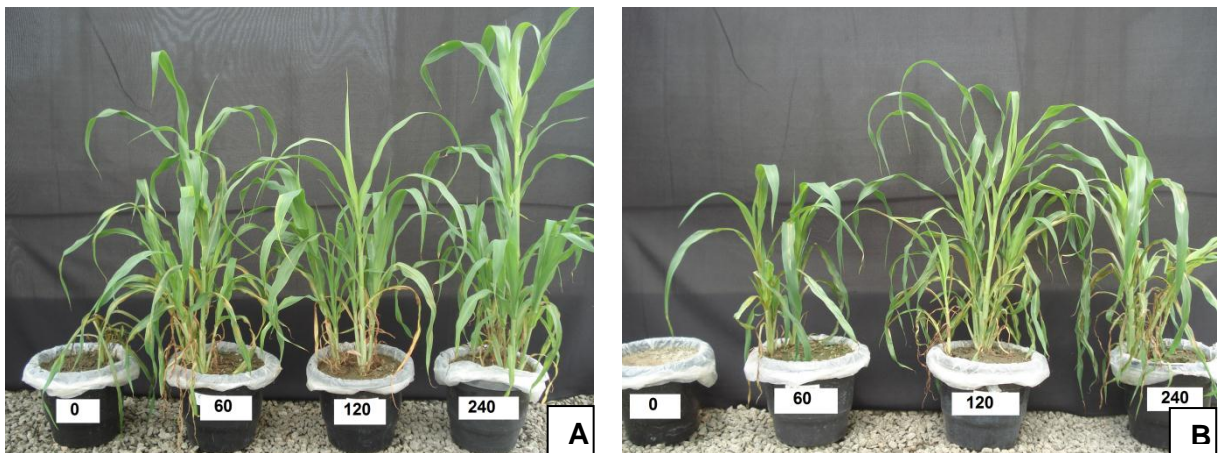


Figura 5. Bioensaio com *Pennisetum glaucum* após o cultivo prévio de *Crotalaria juncea* em quatro densidades populacionais (0, 60, 120 e 240 plantas m^{-2}) nas doses de $200g\ ha^{-1}$ (A) e $400\ g\ ha^{-1}$ (B) de sulfentrazone.

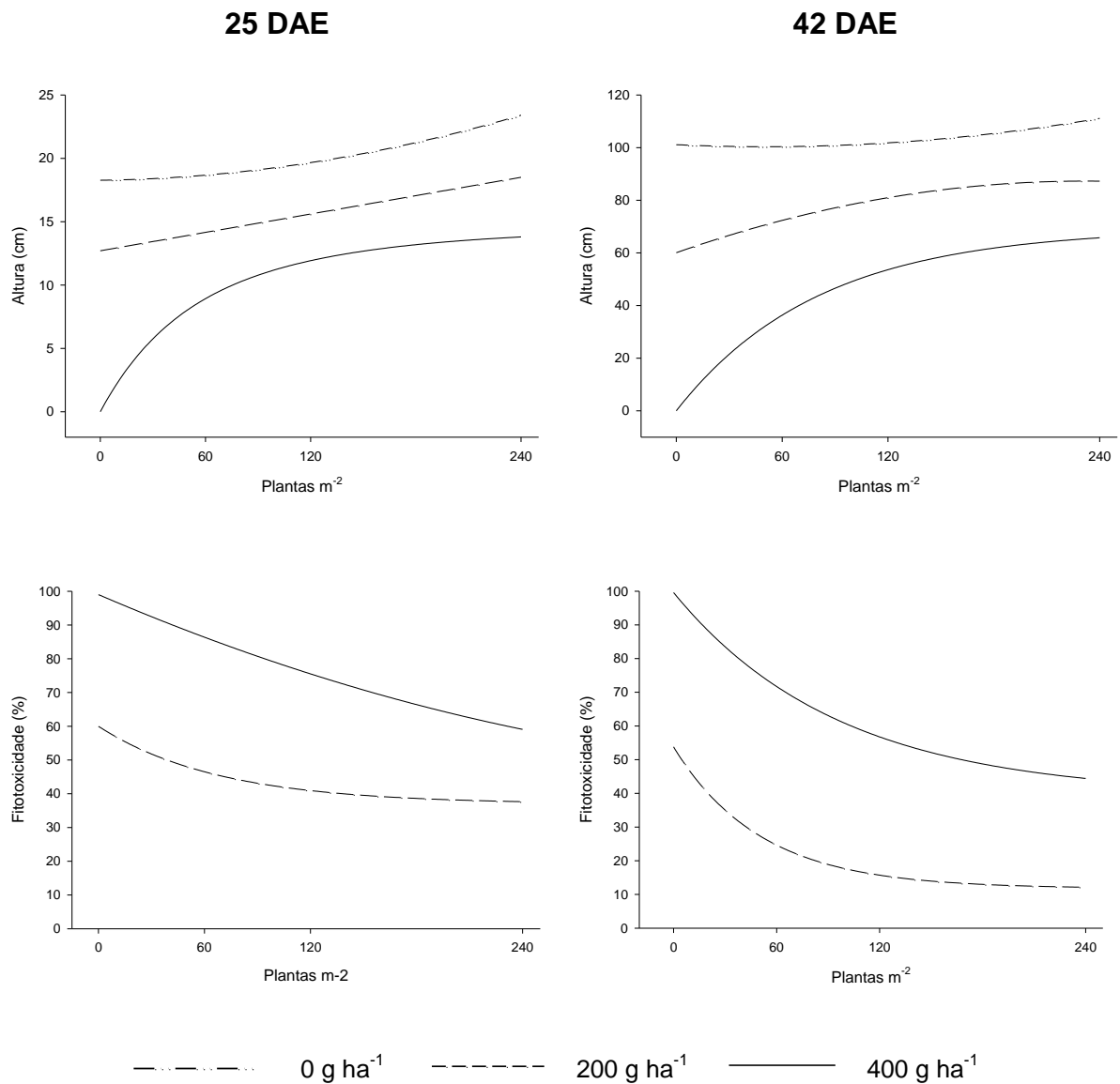


Figura 6. Altura e fitotoxicidade em plantas de *Pennisetum glaucum* aos 25 e 42 dias após a emergência (DAE), semeadas após o cultivo prévio de *Crotalaria juncea*, em função da densidade populacional, em solo contaminado com três níveis do herbicida sulfentrazone.

Tabela 9. Equações de regressão para valores médios de altura e fitotoxicidade aos 25 e 42 dias após a emergência (DAE) de *Pennisetum glaucum* cultivado após *C. juncea* sob quatro densidades populacionais, em solo contaminado com três níveis do herbicida sulfentrazone

Doses (g ha ⁻¹)	25 DAE		42 DAE	
	Altura (cm)			
	Equação	R ²	Equação	R ²
0	$\hat{Y} = 18,2694 + 0,0018X + 0,00008X^2$	0,99	$\hat{Y} = 101,0877 - 0,0299X + 0,0003X^2$	0,95
200	$\hat{Y} = 12,7075 + 0,0242X$	0,99	$\hat{Y} = 60,0744 + 0,2349X - 0,0005X^2$	0,92
400	$\hat{Y} = 0,0000 + 13,9868 (1 - e^{(0,0166X)})$	0,99	$\hat{Y} = 69,2895 (1 - e^{(0,0124X)})$	0,99
Fitotoxicidade (%)				
200	$\hat{Y} = 36,9677 + 22,9870 e^{(0,0147X)}$	0,99	$\hat{Y} = 11,7657 + 42,0396 e^{(0,0198X)}$	0,99
400	$\hat{Y} = 99,0114 - 0,2251X + 0,0002X^2$	0,98	$\hat{Y} = 39,4427 + 60,1528 e^{(0,0104X)}$	0,99

Todas as densidades populacionais de *C. juncea* (60, 120 e 240 plantas m⁻²) foram capazes de garantir o acúmulo da biomassa da planta bioindicadora, quando esta foi cultivada em solo contaminado com sulfentrazone. Na densidade de 60 plantas m⁻² a biomassa fresca e seca da parte aérea de *P. glaucum* cultivado em solo contaminado com 200 g ha⁻¹ de sulfentrazone não diferiu do tratamento sem aplicação do herbicida, evidenciando que esta densidade de *C. juncea* é adequada para descontaminar solo com aplicação de até 200 g ha⁻¹ de sulfentrazone (Tabela 10).

Quando cultivado em sucessão a *C. juncea*, o *P. glaucum* apresentou diminuição da biomassa fresca e seca da raiz com aumento da dose do sulfentrazone no solo, exceto na densidade de 240 plantas m⁻² de *C. juncea* onde tanto na ausência quanto na aplicação de 200 g ha⁻¹ de sulfentrazone a biomassa seca da raiz não diferiu (Tabela 10).

Tabela 10. Biomassa fresca e seca da parte aérea e raiz de *Pennisetum glaucum* aos 42 dias após a emergência (DAE), semeado após o cultivo prévio de *Crotalaria juncea*, em quatro densidades populacionais, em solo contaminado com três níveis do herbicida sulfentrazone

Doses de sulfentrazone (g ha ⁻¹)	Plantas de <i>C. juncea</i> m ⁻²			
	0	60	120	240
Biomassa fresca da parte aérea(g)				
0	326,75 a	341,50 a	358,50 a	384,75 a
200	144,25 b	301,00 a	316,25 b	325,25 b
400	0,00 c	102,87 b	152,25 c	191,00 c
C.V. (%)	9,64			
Biomassa seca da parte aérea (g)				
0	52,39 a	53,43 a	54,84 a	58,28 a
200	20,00 b	50,30a	50,38 a	52,50 a
400	0,00 c	9,68 b	21,30 b	28,72 b
C.V. (%)	18,65			
Biomassa fresca da raiz (g)				
0	61,25 a	96,00 a	95,50 a	102,00 a
200	18,50 b	74,25 b	70,00 b	77,50 b
400	0,00 c	21,75 c	40,00 c	41,00 c
C.V. (%)	17,59			
Biomassa seca da raiz (g)				
0	28,17 a	44,49 a	45,93 a	50,97 a
200	13,05 b	34,06 b	35,02 b	40,99 a
400	0,00 c	9,38 c	20,65 c	21,30 b
C.V. (%)	20,88			

*Médias seguidas por mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Na ausência de cultivo prévio de *C. juncea* a biomassa fresca e seca da parte aérea e raiz foram inferiores àquelas obtidas com cultivo prévio. À medida que aumentou a densidade populacional de *C. juncea* houve um incremento na biomassa fresca e seca, independentemente da dose de sulfentrazone aplicada no solo (Figura 7). As equações ajustadas encontram-se na Tabela 11.

Pires et al. (2008), avaliando a fitorremediação de solo contaminado com diferentes níveis de tebuthiuron, utilizando *Crotalaria juncea* como espécie indicadora da presença desse herbicida, verificaram que as espécies *Canavalia ensiformis* e *Cajanus cajan* apresentaram os melhores desempenhos, sendo

indicadas para fitorremediação de solos que receberam até 1.000 g ha^{-1} de tebuthiuron.

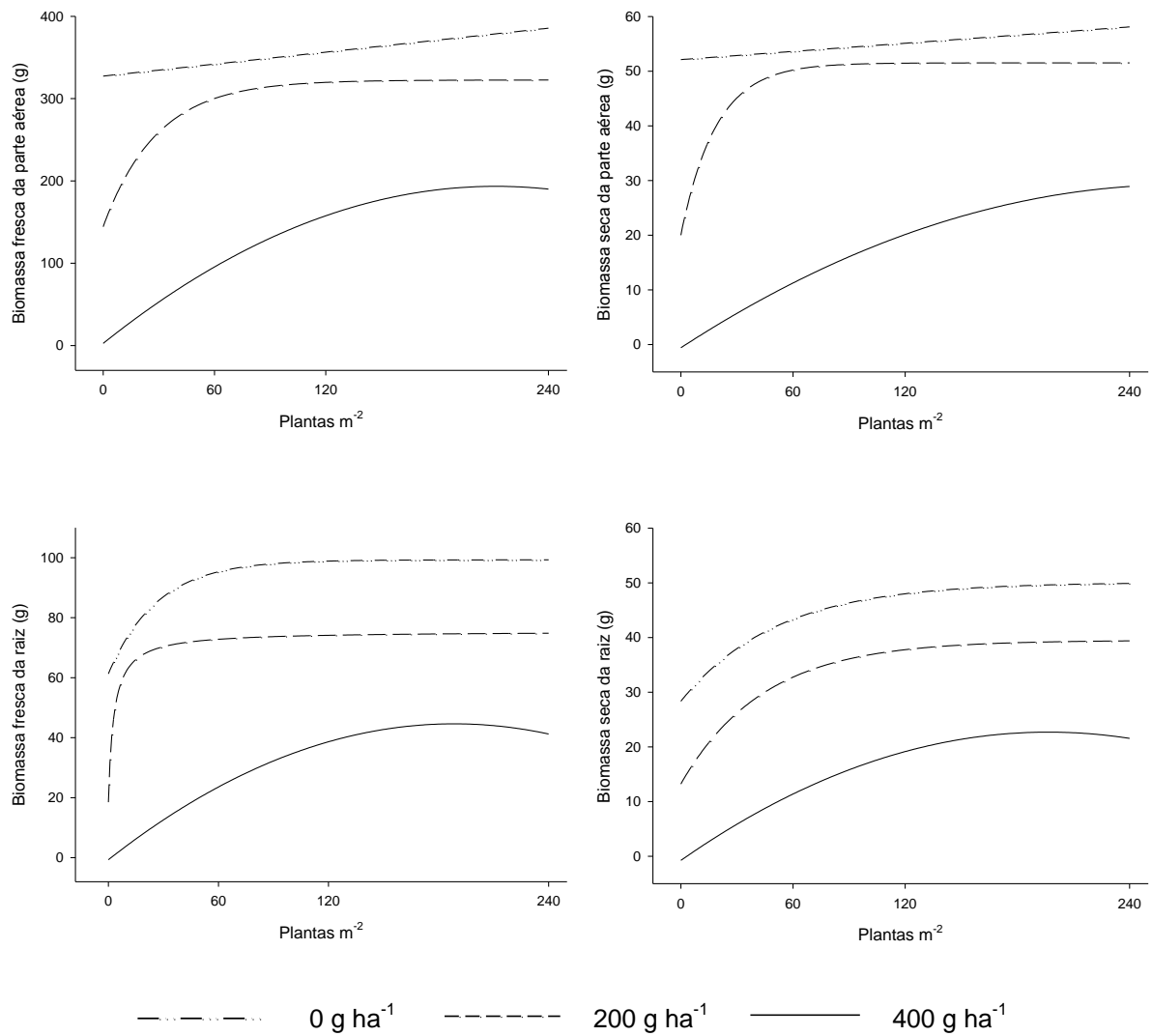


Figura 7. Biomassa fresca e seca da parte aérea e raiz de *Pennisetum glaucum* aos 42 dias após a emergência (DAE), semeado após o cultivo prévio de *Crotalaria juncea*, em função da densidade populacional, em solo contaminado com três níveis do herbicida sulfentrazone.

Tabela 11. Equações de regressão para valores médios de biomassa fresca e seca da parte aérea e raiz aos 42 dias após emergência de *Pennisetum glaucum* cultivado após *Crotalaria juncea* sob quatro densidades populacionais em solo contaminado com três níveis do herbicida sulfentrazone

Doses (g ha ⁻¹)	Equação	R ²	Equação	R ²
	Biomassa fresca da parte aérea		Biomassa seca da parte aérea	
0	$\hat{Y} = 327,4000 + 0,2426X$	0,99	$\hat{Y} = 52,1240 + 0,0249X$	0,99
200	$\hat{Y} = 144,3040 + 178,3204 (1 - e^{(0,0345X)})$	0,99	$\hat{Y} = 20,0018 + 31,5138 (1 - e^{(0,053X)})$	0,90
400	$\hat{Y} = 2,7409 + 1,8026X - 0,0043X^2$	0,99	$\hat{Y} = -0,5885 + 0,2223X - 0,0004X^2$	0,99
	Biomassa fresca da raiz		Biomassa seca da raiz	
0	$\hat{Y} = 61,2861 + 38,0046 (1 - e^{(0,0376X)})$	0,98	$\hat{Y} = 28,3410 + 21,7520 (1 - e^{(0,0195X)})$	0,98
200	$\hat{Y} = 18,5012 + 57,0159X / (2,9955 + X)$	0,98	$\hat{Y} = 13,2099 + 26,2923 (1 - e^{(0,0227X)})$	0,98
400	$\hat{Y} = -0,6818 + 0,4807X - 0,0013X^2$	0,99	$\hat{Y} = -0,7516 + 0,2387X - 0,0006X^2$	0,98

4.2 Reutilização da biomassa de *Canavalia ensiformis* e *Crotalaria juncea* após fitorremediação em solo contaminado com sulfentrazone

O *P. glaucum* cultivado por 30 dias em substrato que recebeu extrato foliar de *C. ensiformis* e *C. juncea*, anteriormente cultivadas em solos com a presença de sulfentrazone, não apresentou nenhum sintoma de intoxicação de resíduo desse herbicida, conforme pode ser verificado na Figura 8.

Para as variáveis altura, biomassa fresca e seca da parte aérea e raiz de *P. glaucum*, aos 30 DAE, quando se comparam as doses de sulfentrazone, não foram observadas diferenças entre os tratamentos com presença do extrato de *C. ensiformis* ou *C. juncea* e na ausência deste (Tabelas 12 e 13). Este resultado concorda com os obtidos por Procópio et al. (2007), que avaliando a campo a fitorremediação do herbicida trifloxissulfuron-sodium por mucuna-preta e feijão-deporco, concluíram que a manutenção da palhada das espécies de adubos verdes durante o ciclo do feijão (espécie indicadora) não prejudicou o desenvolvimento das plantas e não provocou perdas na produtividade da cultura, indicando que a permanência da palhada na superfície do solo não promove a recontaminação da área. Por outro lado, os dados discordam do encontrado por Pires et. al. (2009), que detectaram a presença do picloram no extrato foliar de *Panicum maximum* cv. Tanzânia e pé-de-galinha-gigante em níveis fitotóxicos para as plantas de soja.

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que estas espécies fitorremediadoras (*C. ensiformis* e *C. juncea*) podem ser reutilizadas como adubação verde após fitorremediar o sulfentrazone no solo, viabilizando a inserção das mesmas num programa de rotação ou sucessão de culturas. Esta informação é de suma importância quando se pensa no emprego agrônômico que pode ter a fitorremediação de herbicidas. No entanto, a continuação dos estudos de fitorremediação, utilizando-se essas duas espécies, é necessária, agora, em nível de campo, visando à confirmação dos resultados obtidos.

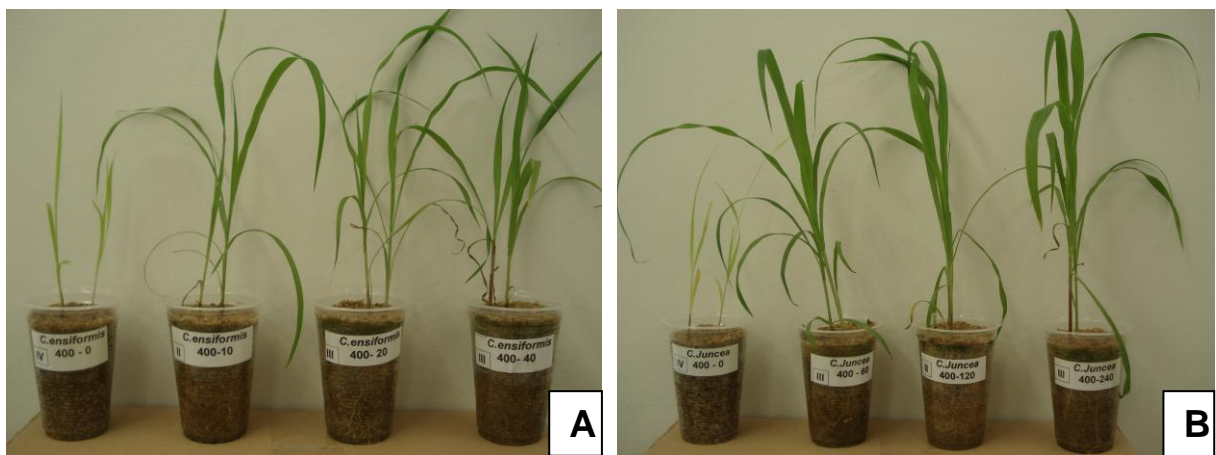


Figura 8. Comparação das plantas de milho aos 30 dias após a emergência, após receber extrato foliar das espécies fitorremediadoras *Canavalia ensiformis* (A) e *Crotalaria juncea* (B), anteriormente cultivadas em solos com a presença de sulfentrazone, na dose de 400 g ha^{-1} , nas densidades de semeadura de 0, 10, 20 e 40 plantas m^{-2} e 0, 60, 120 e 240 plantas m^{-2} , respectivamente.

Tabela 12. Altura, biomassa fresca e seca da parte aérea e raiz de *Pennisetum glaucum*, cultivado em areia contendo extrato da parte aérea de *Canavalia ensiformis*, obtidos após fitorremediação em quatro densidades populacionais, em solo contaminado com três níveis do herbicida sulfentrazone

Doses de sulfentrazone (g ha ⁻¹)	Biomassa de <i>C. ensiformis</i> m ⁻²			
	0	10	20	40
	Altura (cm) aos 15 DAE*			
0	2,64	3,58 a	3,55 a	3,75 a
200	-	3,32 a	3,76 a	3,62 a
400	-	3,55 a	4,25 a	4,21 a
C.V. (%)	14,63			
	Altura (cm) aos 30 DAE			
0	3,96	5,28 a	5,31 a	5,12 a
200	-	5,42 a	5,98 a	5,83 a
400	-	5,68 a	6,02 a	6,03 a
C.V. (%)	12,30			
	Biomassa fresca da parte aérea (g) aos 30 DAE			
0	0,24	0,60 a	0,70 a	0,80 a
200	-	0,66 a	0,78 a	0,98 a
400	-	0,71 a	0,80 a	1,01 a
C.V. (%)	42,17			
	Biomassa seca da parte aérea (g) aos 30 DAE			
0	0,03	0,09 a	0,10 a	0,12 a
200	-	0,09 a	0,12 a	0,13 a
400	-	0,09 a	0,10 a	0,13 a
C.V. (%)	36,86			
	Biomassa fresca da raiz (g) 30 DAE			
0	0,36	0,54 a	0,55 a	0,62 a
200	-	0,51 a	0,64 a	0,68 a
400	-	0,56 a	0,59 a	0,78 a
C.V. (%)	57,69			
	Biomassa seca da raiz (g) 30 DAE			
0	0,04	0,10 a	0,11 a	0,11 a
200	-	0,09 a	0,10 a	0,10 a
400	-	0,09 a	0,10 a	0,13 a
C.V. (%)	61,85			

*Médias seguidas por mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. *DAE: dias após a emergência.

Tabela 13. Altura, biomassa fresca e seca da parte aérea e raiz de *Pennisetum glaucum*, cultivadas em areia contendo extrato da parte aérea de *Crotalaria juncea*, obtidos após fitorremediação em quatro densidades populacionais, em solo contaminado com três níveis do herbicida sulfentrazone

Doses de sulfentrazone (g ha ⁻¹)	Biomassa de <i>C. juncea</i> m ⁻²			
	0	60	120	240
Altura (cm) aos 15 DAE*				
0	2,99	3,97 a	4,43 a	4,55 a
200	-	3,16 a	3,25 a	3,76 a
400	-	3,68 a	4,33 a	4,65 a
C.V. (%)	15,97			
Altura (cm) aos 30 DAE				
0	4,22	6,85 a	6,90 a	7,31 a
200	-	6,27 a	6,52 a	6,70 a
400	-	6,27 a	6,52 a	7,20 a
C.V. (%)	12,74			
Biomassa fresca da parte aérea (g) aos 30 DAE				
0	0,25	1,32 a	1,59 a	1,77 a
200	-	1,34 a	1,49 a	1,92 a
400	-	1,52 a	1,86 a	1,98 a
C.V. (%)	24,31			
Biomassa seca da parte aérea (g) aos 30 DAE				
0	0,03	0,19 a	0,25 a	0,26 a
200	-	0,14 a	0,18 a	0,27 a
400	-	0,20 a	0,25 a	0,25 a
C.V. (%)	32,44			
Biomassa fresca da raiz (g) aos 30 DAE				
0	0,36	0,91 a	1,25 a	1,25 a
200	-	0,66 a	0,76 a	1,25 a
400	-	0,89 a	1,12 a	1,17 a
C.V. (%)	40,22			
Biomassa seca da raiz (g) aos 30 DAE				
0	0,05	0,19 a	0,30 a	0,34 a
200	-	0,11 a	0,18 a	0,29 a
400	-	0,14 a	0,20 a	0,24 a
C.V. (%)	59,88			

*Médias seguidas por mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. *DAE= dias após a emergência.

Quando se avaliou a altura *P. glaucum* aos 15 e 30 DAE após ter sido cultivado em substrato contendo extrato da parte aérea de *C. ensiformis* observou-se que esta variável aumentava em função do aumento das densidades de *C. ensiformis*. O mesmo foi observado para biomassa fresca e seca da parte aérea e raiz avaliadas aos 30 DAE (Figura 9), sendo suas equações de regressão apresentadas na Tabela 14. Este fato pode ser devido ao aumento na densidade populacional das espécies fitorremediadoras influenciando a uma maior absorção dos nutrientes presentes no solo, os quais podem ter retornado via extrato ao substrato areia lavada, e assim favorecendo um maior crescimento do milho.

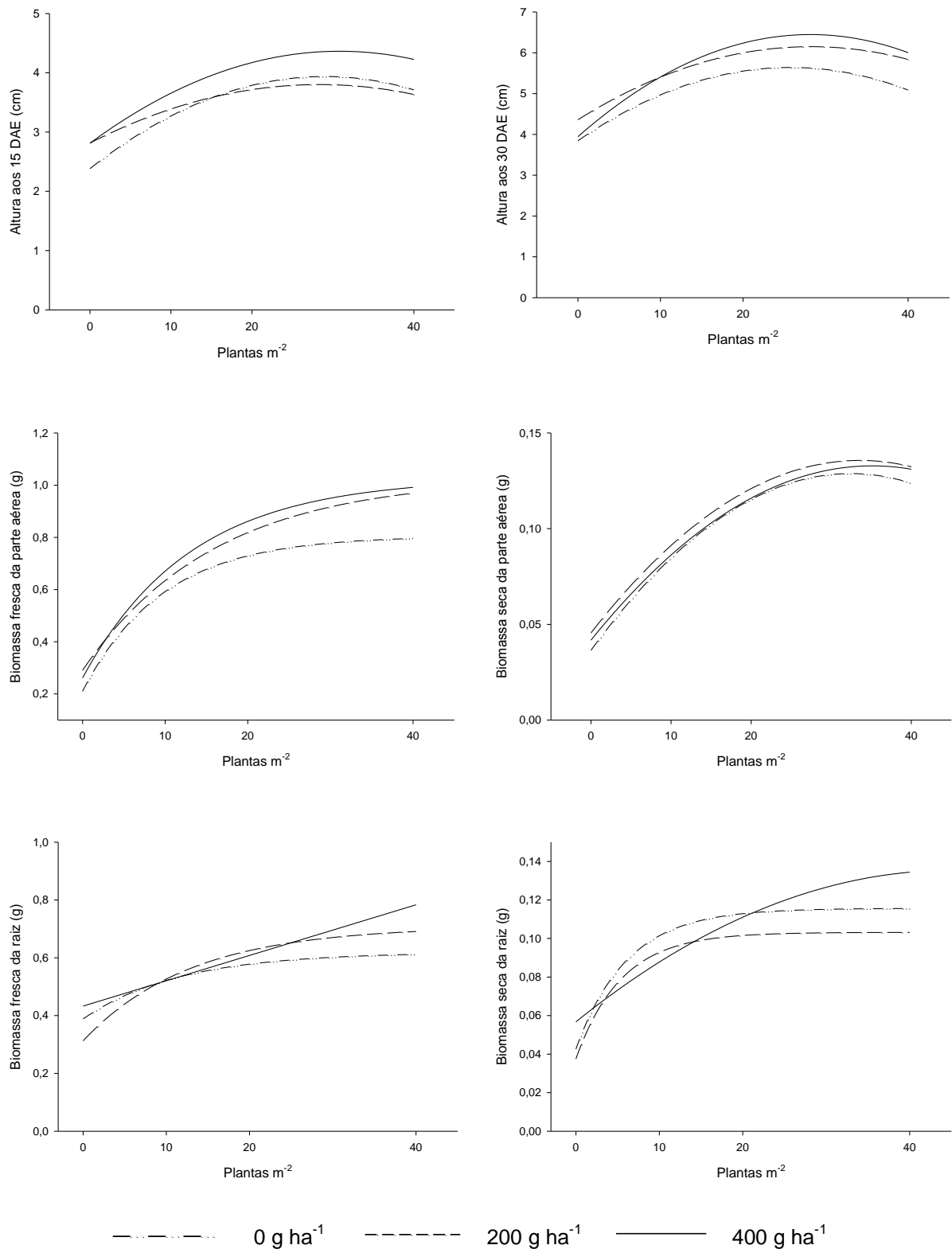


Figura 9. Altura de *Pennisetum glaucum* aos 15 e 30 dias após a emergência (DAE), biomassa fresca e seca da parte aérea e raiz aos 30 DAE, cultivado em areia lavada contendo extrato da parte aérea de *Canavalia ensiformis*, obtidos após fitorremediação em quatro densidades populacionais, em solo contaminado com três níveis do herbicida sulfentrazone.

Tabela 14. Equações de regressão para valores médios de altura, biomassa fresca e seca da parte aérea e raiz nas plantas de *Pennisetum glaucum* cultivado em areia lavada contendo extrato da parte aérea de *Canavalia ensiformis* após fitorremediação em quatro densidades populacionais, em solo contaminado com três níveis do herbicida sulfentrazone

Doses (g ha ⁻¹)	Altura (cm) 15 DAE		Altura (cm) 30 DAE	
	Equação	R ²	Equação	R ²
0	$\hat{Y} = 2,3815 + 0,1074X - 0,0019X^2$	0,88	$\hat{Y} = 3,8443 + 0,1397X - 0,0027X^2$	0,90
200	$\hat{Y} = 2,8140 + 0,0697X - 0,0012X^2$	0,99	$\hat{Y} = 4,3582 + 0,1270X - 0,0023X^2$	0,99
400	$\hat{Y} = 2,8108 + 0,1007X - 0,0016X^2$	0,99	$\hat{Y} = 3,9432 + 0,1778 - 0,0032X^2$	0,96
	Biomassa fresca da parte aérea 30 DAE		Biomassa seca da parte aérea 30 DAE	
0	$\hat{Y} = 0,2100 + 0,5958 (1 - e^{(0,1026X)})$	0,99	$\hat{Y} = 0,0364 + 0,0057X - 0,00008X^2$	0,96
200	$\hat{Y} = 0,2903 + 0,7395 (1 - e^{(0,0626X)})$	0,99	$\hat{Y} = 0,0455 + 0,0054X - 0,00008X^2$	0,99
400	$\hat{Y} = 0,2612 + 0,7664 (1 - e^{(0,0764X)})$	0,98	$\hat{Y} = 0,0417 + 0,0052X - 0,00007X^2$	0,95
	Biomassa fresca da raiz 30 DAE		Biomassa seca da raiz 30 DAE	
0	$\hat{Y} = 0,3885 + 0,2306 (1 - e^{(0,0861X)})$	0,96	$\hat{Y} = 0,0426 + 0,0731 (1 - e^{(0,1635X)})$	0,99
200	$\hat{Y} = 0,3126 + 0,3960 (1 - e^{(0,0777X)})$	0,99	$\hat{Y} = 0,0375 + 0,0657 (1 - e^{(0,1841X)})$	0,99
400	$\hat{Y} = 0,4330 + 0,0088X$	0,97	$\hat{Y} = 0,0568 + 0,0035X - 0,00003X^2$	0,99

*DAE = dias após a emergência.

Aos 15 e 30 DAE de *P. glaucum* depois de ter sido cultivado em substrato contendo extrato da parte aérea de *C. juncea* observou-se que altura aumentava em função do aumento das densidades de *C. juncea*, semelhante ao observado para *C. ensiformis*. O mesmo foi observado para biomassa fresca e seca da parte aérea e raiz, avaliadas aos 30 DAE (Figura 10), sendo suas equações de regressão apresentadas na Tabela 15.

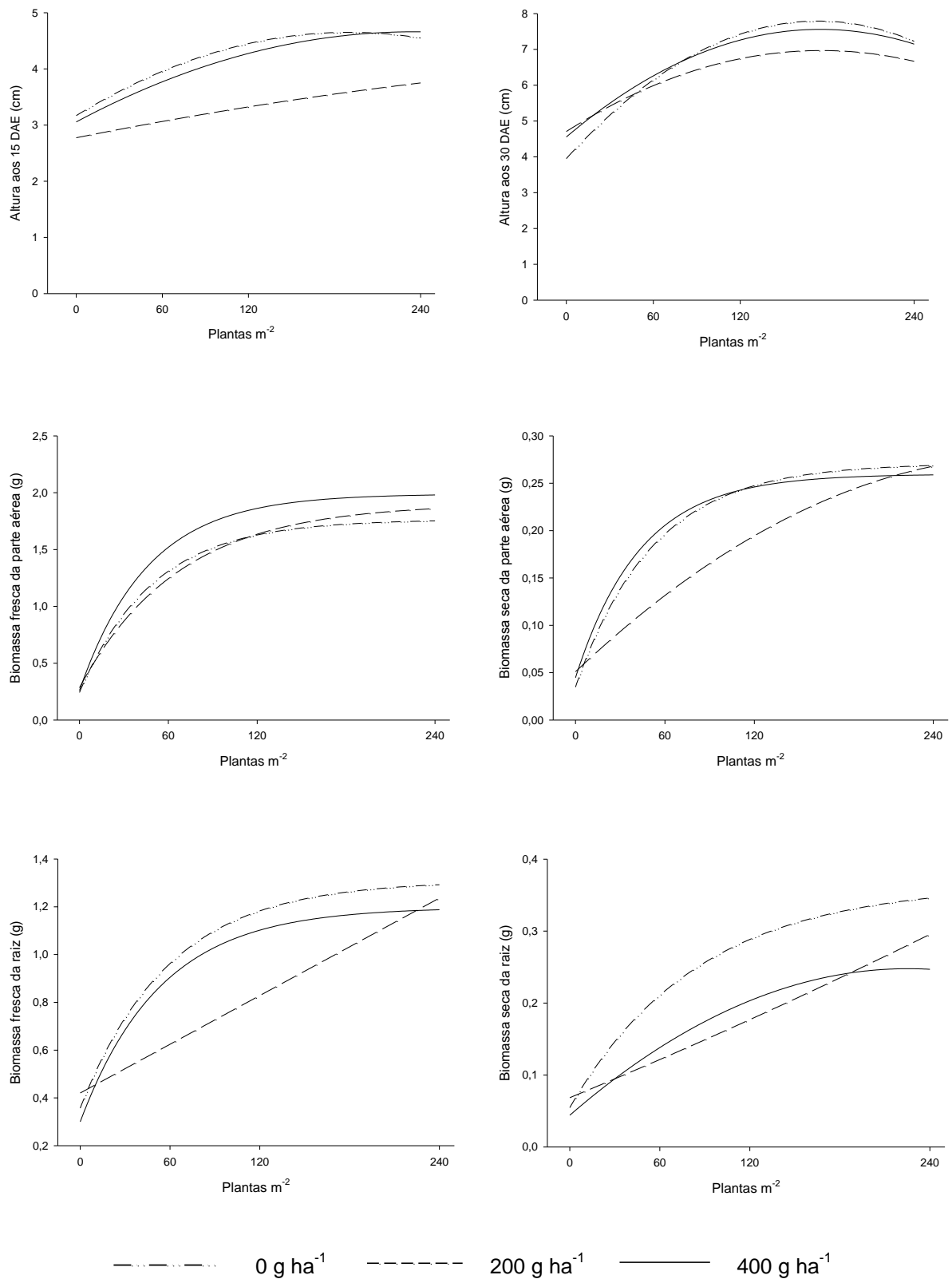


Figura 10. Altura de *Pennisetum glaucum* aos 15 e 30 dias após emergência (DAE), biomassa fresca e seca da parte aérea e raiz aos 30 (DAE) cultivado em areia lavada contendo extrato da parte aérea de *Crotalaria juncea*, obtidos após fitorremediação em quatro densidades populacionais, em solo contaminado com três níveis do herbicida sulfentrazone.

Tabela 15. Equações de regressão para valores médios de altura, biomassa fresca e seca da parte aérea e raiz nas plantas de *Pennisetum glaucum* cultivado em areia contendo extrato da parte aérea de *Crotalaria juncea* após fitorremediação em quatro densidades populacionais, em solo contaminado com três níveis do herbicida sulfentrazone

Doses (g ha ⁻¹)	Altura (cm) 15 DAE		Altura (cm) 30 DAE	
	Equação	R ²	Equação	R ²
0	$\hat{Y} = 3,1690 + 0,0156X - 0,0004X^2$	0,99	$\hat{Y} = 3,9507 + 0,0443X - 0,0001X^2$	0,90
200	$\hat{Y} = 2,7743 + 0,0051X - 0,00004X^2$	0,97	$\hat{Y} = 4,7077 + 0,0257X - 0,00007X^2$	0,95
400	$\hat{Y} = 3,0565 + 0,0136X - 0,0002X^2$	0,99	$\hat{Y} = 4,5555 + 0,0343 - 0,00009X^2$	0,94
	Biomassa fresca da parte aérea 30 DAE		Biomassa seca da parte aérea 30 DAE	
0	$\hat{Y} = 0,2426 + 1,5217 (1 - e^{(0,0201X)})$	0,99	$\hat{Y} = 0,0348 + 0,2364 (1 - e^{(0,0192X)})$	0,99
200	$\hat{Y} = 0,2839 + 1,6207 (1 - e^{(0,0149X)})$	0,97	$\hat{Y} = 0,0510 + 0,0015X + 0,000002X^2$	0,98
400	$\hat{Y} = 0,2600 + 1,7296 (1 - e^{(0,0217X)})$	1,00	$\hat{Y} = 0,0446 + 0,2150 (1 - e^{(0,0230X)})$	0,99
	Biomassa fresca da raiz 30 DAE		Biomassa seca da raiz 30 DAE	
0	$\hat{Y} = 0,3570 + 0,9523 (1 - e^{(0,0168X)})$	0,99	$\hat{Y} = 0,0545 + 0,3103 (1 - e^{(0,0117X)})$	0,99
200	$\hat{Y} = 0,4205 + 0,0034X$	0,98	$\hat{Y} = 0,0685 + 0,0009X + 0,0000003X^2$	0,99
400	$\hat{Y} = 0,3002 + 0,8978 (1 - e^{(0,0186X)})$	0,99	$\hat{Y} = 0,0441 + 0,0018X - 0,000004X^2$	0,99

*DAE= dias após a emergência.

4.3 Determinações cromatográficas do herbicida sulfentrazone no solo e nas plantas (raiz e parte aérea)

Não foi possível realizar a análise estatística para os resultados da determinação analítica do sulfentrazone no solo e nas plantas, por isso, são apresentadas as médias dos valores encontrados (Tabelas 16 a 18).

Pela Figura 11 (Anexo) pode-se comparar os picos do sulfentrazone registrados a 5,1 min. do tempo de corrida da injeção cromatográfica, constando a presença do sulfentrazone no padrão e nas amostras de folha e de solo. Nas raízes, o sulfentrazone não foi detectado, e por isso, seus dados não são apresentados.

É possível observar algumas tendências gerais nos resultados de cromatografia. Primeiramente, quando houve o cultivo prévio de *C. ensiformis* e *C. juncea*, independentemente das densidades avaliadas, a porcentagem total quantificada de resíduo de sulfentrazone no solo nas duas profundidades não causou danos tão severos ao *P. glaucum* quanto os verificados na dose 400 g ha⁻¹

sem cultivo prévio. Ou seja, nos solos cultivados com *C. ensiformis* e *C. juncea*, os teores de sulfentrazone foram sempre inferiores aos dos solos não cultivados, evidenciando a capacidade dessas espécies em fitorremediar o herbicida (Tabelas 16 e 17). Resultado semelhante foi observado por Madalão (2011) verificando a capacidade de remediação por essas mesmas espécies, todavia, utilizando a técnica de bioensaio. Contudo, os valores percentuais indicam que os níveis encontrados no solo são muito baixos em relação aos aplicados, podendo-se sugerir como possíveis causas: 1) o herbicida pode ter ficado adsorvido ao solo; 2) o herbicida pode ter sido rizodegradado e 3) o herbicida pode ter sido fitoextraído.

Parece não haver uma perfeita correlação entre os resultados analíticos dos teores de sulfentrazone no solo e aqueles obtidos no bioensaio com milho. Mesmo com pequenas diferenças nos percentuais encontrados no solo, há, contudo, diferenças significativas quanto ao desenvolvimento do milho, tanto em função das doses quanto das densidades. Isto pode indicar que os ensaios biológicos podem traduzir melhor o comportamento agrônômico esperado em sucessões envolvendo a fitorremediação, especialmente quando se trata de princípios ativos aplicados em doses muito baixas no solo, abaixo do limite de detecção dos cromatógrafos, mas ainda com atividade herbicida no solo. Quando trabalhou com picloram, Pires et al. (2009) constataram sua fitotoxicidade à soja cultivada sobre a palhada das espécies fitorremediadoras, todavia, o picloram não foi detectado pela análise de cromatografia (dados não publicados).

Uma segunda constatação é que há uma coerência nos resultados, já que na dose de 200 g ha⁻¹ os valores são, na sua quase totalidade, inferiores aos encontrados com a aplicação de 400 g ha⁻¹ (Tabelas 16 e 17).

Nota-se também, principalmente para a *C. juncea*, que há uma distinção clara entre as duas profundidades. O herbicida foi detectado no solo predominantemente na camada de 0 a 10 cm. Em todas as doses avaliadas para *C. juncea* verificou-se ausência de resíduo do sulfentrazone no solo na camada de 10 a 20 cm. O mesmo foi observado após o cultivo de *C. ensiformis* na densidade 20 e 40 plantas m⁻². O maior acúmulo na superfície poderia ser explicado por uma possível adsorção, todavia, o K_{oc} do sulfentrazone é baixo (TOMLIN, 2000), e se tornaria ainda menos provável em decorrência dos baixos teores de argila e matéria orgânica no solo utilizado (Tabela 1). Isto leva a crer que a distribuição radicular nos vasos pode explicar este comportamento, já que com a maior concentração de raízes na parte

inferior do vaso, espera-se, conseqüentemente, que haja, nesta profundidade, maior absorção de água, nutrientes e de sulfentrazone. Outra possibilidade ainda poderia ser a associação entre as espécies fitorremediadoras (*C. ensiformis* e *C. juncea*) e os microrganismos do solo, o que reforça a possibilidade de fitoestimulação e, ou, rizodegradação (CUNNINGHAM et al., 1996; WILSON, et al., 2000).

Uma quarta inferência é que à medida que se aumenta a densidade de plantas há uma redução nos valores de sulfentrazone encontrados no solo. Esta redução é muito discreta na camada de 0 a 10 cm, na dose de 400 g ha⁻¹, para *C. juncea*, todavia, bastante expressiva para *C. ensiformis* (Tabelas 16 e 17). Quando esta espécie foi cultivada na densidade de 40 plantas m⁻², observou-se uma redução de 99% do residual na maior dose de sulfentrazone, na camada de 0 a 10 cm do solo. Já na camada de 10 a 20 cm nas mesmas condições, não foram detectados resíduos de sulfentrazone no solo, confirmando o potencial fitorremediador da espécie (Tabela 16).

O maior número de plantas por área pode implicar em maior fitoextração/fitoacumulação/fitodegradação ou maior fitoestabilização/rizodegradação do sulfentrazone, concordando com Santos et al. (2006a), os quais afirmam que o incremento na densidade populacional das espécies fitorremediadoras pode influenciar a atuação dos mecanismos principais fisiológicos responsáveis pela remediação, fitoextração e fitoestimulação, pois o aumento no volume de exploração do sistema radicular e da transpiração das plantas por área pode resultar em maior absorção dos xenobióticos, além de aumentar a população dos microrganismos rizodegradadores associados às suas raízes.

Tabela 16. Quantidade de sulfentrazone encontrado em duas profundidades de solo contaminado com três níveis do herbicida, após o cultivo prévio de *Canavalia ensiformis*, em quatro densidades populacionais

Doses (g ha ⁻¹)		Plantas de <i>C. ensiformis</i> m ⁻²							
		0		10		20		40	
		µg de sulfentrazone por g de solo							
0-10 (cm)	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	200	0,0183	(9,89)*	0,0148	(8,00)	0,0095	(5,13)	-	-
	400	0,0297	(16,05)	0,0138	(7,45)	0,0104	(5,62)	0,0017	(0,91)
10-20(cm)	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	200	0,0138	(7,45)	0,0100	(5,40)	-	-	-	-
	400	0,0285	(15,40)	-	-	-	-	-	-

*Valor percentual quantificado em relação ao aplicado no solo.

Tabela 17. Quantidade de sulfentrazone encontrado em duas profundidades de solo contaminado com três níveis do herbicida, após o cultivo prévio de *Crotalaria juncea*, em quatro densidades populacionais

Doses (g ha ⁻¹)		Plantas de <i>C. juncea</i> m ⁻²							
		0		60		120		240	
		µg de sulfentrazone por g de solo							
0-10 (cm)	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	200	0,0163	(8,81)	0,0160	(8,64)	0,0089	(4,81)	0,0087	(4,70)
	400	0,0222	(12,00)	0,0210	(11,35)	0,0209	(11,29)	0,0186	(10,05)
10-20(cm)	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	200	0,0146	(7,89)	-	-	-	-	-	-
	400	0,0238	(12,86)	-	-	-	-	-	-

*Valor percentual quantificado em relação ao aplicado no solo.

Ao quantificar a porcentagem do residual de sulfentrazone no solo com aplicação de 400 g ha⁻¹, sem cultivo prévio nas camadas de 0 a 10 e 10 a 20 cm, observou-se um valor médio para cada profundidade de cerca de 12% em relação ao total aplicado, o que não permitiu o desenvolvimento da espécie indicadora *P. glaucum* (Tabela 17).

Independentemente das doses avaliadas de sulfentrazone e das densidades de *C. juncea* não foi encontrado residual do herbicida na parte aérea, indicando que

o mesmo pode estar sendo degradado (fitodegradação). Resultados semelhantes foram encontrados na parte aérea de *C. ensiformis* em todas as densidades avaliadas nas doses de 0 e 200 g ha⁻¹. Quando foi aplicado no solo 400 g ha⁻¹ de sulfentrazone quantificou-se na parte aérea de *C. ensiformis* resíduos do herbicida em todas as densidades, exceto na densidade de 40 plantas m⁻², na qual ele foi detectado, mas não quantificado (Tabela 18), por encontrar-se em concentração muito baixa.

Tabela 18. Quantidade de sulfentrazone encontrado na parte aérea das plantas fitorremediadoras *Crotalaria juncea* e *Canavalia ensiformis* cultivadas em quatro diferentes densidades populacionais, em solo contaminado com três níveis do herbicida

Doses (g ha ⁻¹)	Plantas de <i>C. juncea</i> m ⁻²					
	60		120		240	
µg de sulfentrazone por g de folhas						
0	-	-	-	-	-	-
200	-	-	-	-	-	-
400	-	-	-	-	-	-
	Plantas de <i>C. ensiformis</i> m ⁻²					
	10		20		40	
0	-	-	-	-	-	-
200	-	-	-	-	-	-
400	0,0905	(48,91)*	0,0783	(42,32)	**	**

*Valor percentual quantificado em relação ao aplicado no solo.

**Foi possível detectar a presença do sulfentrazone, mas não quantificou.

Os valores encontrados na parte aérea de *C. ensiformis*, nas densidades de 10 e 20 plantas m⁻², corresponderam a quase 50% do total aplicado ao solo, o que equivale a uma fitoextração muito significativa (Tabela 18). Segundo Pires (2009), quando a molécula herbicida é detectada na parte aérea de espécies fitorremediadoras pode-se inferir que o mesmo foi absorvido do solo e translocado até a parte aérea (fitoextração) e em seguida acumulado (fitoacumulação). Não se pode precisar, com base nos resultados, se parte do herbicida extraído foi degradada, ou ainda, se a planta absorveu somente (exatamente) a quantidade detectada. Pode-se afirmar, porém, que a molécula não foi completamente mineralizada ou mesmo degradada (metabolizada), caso contrário não seria detectada a molécula de sulfentrazone na folha.

Em casos como o do herbicida picloram, a fitoextração e conseqüente fitoacumulação implica em fitotoxicidade a espécies sensíveis cultivadas sobre a palhada contendo este herbicida, o que inviabiliza sua reutilização e dificulta a viabilização da fitorremediação de picloram (Pires et al., 2009). Contudo, para o sulfentrazone, o bioensaio com a reutilização da palhada mostrou que é possível permanecer com a palhada dos adubos verdes na área (Figuras 8 e 9 e Tabelas 12 e 13), concordando com os resultados de Procópio et al. (2007), ao trabalharem com trifloxysulfuron-sodium.

Nota-se que com o aumento da densidade diminuiu o resíduo de sulfentrazone na parte aérea, até o ponto em que na maior densidade de *C. ensiformis* o herbicida foi detectado, mas não quantificado. A área do pico gerado no cromatograma foi tão pequena que não permitiu sua quantificação. Este resultado poderia ser atribuído ao fato de que, com maior número de plantas e sua correspondente maior biomassa produzida, houvesse um efeito de diluição do herbicida na parte aérea. Porém, a biomassa fresca quantificada para *C. ensiformis* aos 75 DAE não diferiu entre as densidades (Tabela 2).

Outra inferência a ser feita é que 53% do sulfentrazone aplicado foram detectados no solo+planta de *C. ensiformis* na densidade de 20 plantas m⁻² (Tabelas 16 e 18). Todavia, os 47% restantes não detectados podem ter sido degradados ou perdidos por outras vias no sistema solo-planta, sendo a microbiológica uma das principais para explicar o ocorrido.

Diante do exposto, quanto aos mecanismos da fitorremediação do sulfentrazone, primeiramente, pode-se afirmar que este herbicida foi absorvido pelas plantas e não apenas imobilizado no solo, excluindo-se a hipótese de fitoestabilização. Segundo, a atuação rizosférica como provável mecanismo de detoxificação do picloram não foi comprovada por este ensaio, descartando-se a fitoestimulação e a rizotransformação como únicos e prováveis mecanismos biológicos de fitorremediação, já que quantidade significativa foi acumulada na parte aérea de *C. ensiformis*. Uma terceira inferência é que a molécula foi absorvida do solo e translocada até a parte aérea (fitoextração), acumulada (fitoacumulação), mas não completamente mineralizada, comportamento que seria desejável para atuação na fitorremediação de áreas agrícolas, apesar de não resultar em toxicidade posterior. Contudo, são necessários novos ensaios com o objetivo de se investigar a

destinação do sufentrazone e de seus possíveis metabólitos e ainda dos mecanismos envolvidos na fitorremediação deste herbicida.

5. CONCLUSÕES

O cultivo prévio de *Canavalia ensiformis* e *Crotalaria juncea* promoveu a remediação do sulfentrazone.

A densidade populacional mínima de *Canavalia ensiformis* e *Crotalaria juncea* que possibilitam o desenvolvimento do *Pennisetum glaucum* é de 20 e 120 plantas m⁻² respectivamente.

O extrato de *Canavalia ensiformis* e *Crotalaria juncea* não foram fitotóxico para o milho indicando que essas espécies podem ser utilizadas como adubação verde após fitorremediar o sulfentrazone no solo.

A técnica de cromatografia foi adequada, pois foi possível detectar e quantificar o sulfentrazone no solo e na planta.

O mecanismo de fitorremediação de sulfentrazone por *Canavalia ensiformis* e *Crotalaria juncea* está relacionado à fitoextração (absorção e acúmulo na parte aérea), mas sem descartar a possibilidade de estar associado à rizodegradação, ou seja, à ação de microrganismos em nível rizosférico.

Há a necessidade de se realizar futuramente trabalhos a campo para que se possa confirmar os efeitos da fitorremediação do sulfentrazone, particularmente, a ausência de fitotoxicidade ao milho em sucessão e a permanência da palhada de *Canavalia ensiformis* e *Crotalaria juncea* na superfície do solo sem promover a recontaminação da aérea.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, W. L. R. **Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais**. (Edição Revisada). Universidade Federal do Pará. p.19, 2001.

BARRA, R.; MAFFIOLI, G.; NOTARIANNI, V.; MAZZUCHELLI, P. & VIGHI, M. Patrones de contaminación por herbicidas en aguas superficiales en una cuenca agrícola, **Ecotoxicology Environmental Restoration**, v. 2, p. 75-83, 1999.

BELO, A.F.; SANTOS, E.A.; SANTOS, J.B.; FERREIRA, L.R.; SILVA, A.A.; CECON, P.R.; SILVA, L.L. Fitorremediação de solo adubado com composto orgânico e contaminado com trifloxysulfuron-sodium. **Planta Daninha**, v. 25, p. 251-258, 2007.

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

BELO, A.F.; COELHO, A.T.C.P.; FERREIRA, L.R.; SILVA, A.A.; SANTOS, J.B. Potencial de espécies vegetais na remediação de solo contaminado com sulfentrazone. **Planta Daninha**, v.29, n.4, p.821-828, 2011.

BLANCO, H. G; OLIVEIRA, D. A. Persistência de herbicidas em Latossolo Vermelho-Amarelo em cultura de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.22, n.7, p.681-687, 1987.

BLANCO, F.M.G.; VELINI, E.D.; BATISTA FILHO, A. Persistência do herbicida sulfentrazone em solo cultivado com cana-de-açúcar. **Bragantia**, v. 69, p. 71-75, 2010.

BLANCO, F.M.G.; VELINI, E.D. Persistência do herbicida sulfentrazone em solo cultivado com soja e seu efeito em culturas sucedâneas. **Planta Daninha**, v.23, p.693-700, 2005.

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

CELIS, R.; REAL, M.; HERMOSÍN, M.C.; CORNEJO, J.; Sorption and leaching behaviour of polar aromatic acids in agricultural soils by batch and column leaching tests. **European Journal of Soil Science**, v.56, p.287-297, 2005.

COUTINHO, H.D.; BARBOSA, A.R. Fitorremediação: considerações gerais e características de utilização. **Silva Lusitana**, Lisboa, v. 15, n.1, p. 103-117, 2007.

CORREA, M.; SILVA, P.V.; ORZARI, I.; MONQUERO, P.A. Seleção de plantas com potencial para remediação de solos contaminados pelo herbicida diclosulam. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, **Anais...** Ribeirão Preto, SP, p. 3368-3371, 2010.

CUNNINGHAM, S.D.; ANDERSON, T.A.; SCHWAB, A.P. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. **Advances in Agronomy**, San Diego, v.56, n.1 p.55-114, 1996.

DAN, H.A.; DAN, L.G.M.; BARROSO, A.L.L.; PROCÓPIO, S.O.; OLIVEIRA JR.; R.S., ASSIS, R.L.; SILVA, A.G.; FELDKIRCHER, C. Atividade residual de herbicidas pré-emergentes aplicados na cultura da soja sobre o milho cultivado em sucessão. **Planta Daninha**, v. 29, p. 437-445, 2011.

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

EDWARDS, C.A. **Persistent pesticides in the environment**. 2. ed. U.S.A.: CRC Press, 170p. 1973.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA): **Federal register: sulfentrazone**; pesticide tolerances, 2003. Disponível em: <http://www.federalregister.gov/articles/2003/09/24/03-24011/sulfentrazone-pesticide-tolerances>. Consultado em 22 mar. 2012.

FERRO, A.M.; SIMS, R.C.; BUGBEE, B. Hycrest crested wheatgrass accelerates the degradation of pentachlorophenol in soil. **Journal of Environmental Quality**, v.23, p.272-279, 1994.

FILIZOLA, H. F.; FERRACINI, V. L.; SANS, L. M. A.; GOMES, M. A. F.; FERREIRA, C. J. A. Monitoramento e avaliação do risco de contaminação por pesticidas em água superficial e subterrânea na região de Guaíra. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 5, p. 659-667, 2002.

GREY, T. L.; WALKER, R. H.; WEHTJE, G. R.; ADAMS, JR. J.; DAYAN, F. E.; WEETE, J. D.; HANCOCK, H. G.; KWON, O. Behavior of sulfentrazone in ionic

exchange resins electrophoresis gels, and cation-saturated soils. **Weed Science**, Ithaca, v.48, p.239-247, 2000.

HESS, D. F. Herbicide effects on plant structure, physiology, and biochemistry. In: ALTMAN, J. **Pesticide Interactions in Crop Production: beneficial and deleterious effects**, Boca Raton: CRC Press, p. 13-34, 1993.

KRAEMER, A.F. **Residual da mistura formulada dos herbicidas imazethapyr e imazapic em áreas de arroz sob diferentes manejos de solo**. 2008. 66f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.

KRUTZ, L.J.; SENSEMAN, S.A.; ZABLOTOWICZ, R.M.; MATOCHA, M.A. Reducing herbicide runoff from agricultural fields with vegetative filter strips: a review. **Weed Science**, v. 53, p. 353–367, 2005.

KVESITADZE, G.; GORDEZIANI, M.; KHATISASHVILI, G.; SADUNISHVILI, Y; RAMSDEN J. Some aspects of the enzymatic basic of phytoremediation. **Journal of Biological Physics and Chemistry**, v.1, p.49-57, 2001.

LAW, S.E. Agricultural electrostatic spray application: a review of significant research and development during the 20th century. **Journal of Electrostatics**, v. 51/52, p. 25-42, 2001.

MADALÃO, J.C. **Seleção de espécies para a fitorremediação de solos contaminados com o herbicida sulfentrazone**. 2011. 103f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Federal do Espírito Santo, ES, 2011.

MAIN, C. L.; MUELLER, T.C.; HAYES, R.M.; WILCUT, J.W.; PEEPER, T.F.; TALBERT, R.E.; WITT, W.W. Sulfentrazone persistence in southern soils: bioavailable concentration and effect on a rotational cotton crop. **Weed Technology**. v. 18, n. 2, p. 346-352, 2004.

MILLER, R. R. **Phytoremediation, technology overview report**. Groundwater remediation technologies Analysis Center, Pittsburgh, PA, 80p, 1996.

MARTINEZ, C.O.; SILVA, C. M. M.S.; FAY, E. F.; MAIA, A. DE H. N.; ABAKERLI R.B.; DURRANT, L. R. Degradation of the herbicide sulfentrazone in a Brazilian Typic Hapludox soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 40, p. 879-888. 2008.

NEWMAN, L.A.; DOTY, S.L.; GERY, K.L.; HEILMAN, P.E.; MUIZNIEKS, I.; SHANG, Q.T.; SIEMIENIEC, S.T.; STRAND, S.E.; WANG, X.; WILSON, A.M.; GORDON, M.P. Phytoremediation of organic contaminants: a review of phytoremediation research at the university of Washington. **Journal of Soil Contaminant**, v.7, p.531-542, 1998.

OHMES, G.A.; MUELLER, T.C. Sulfentrazone Adsorption and Mobility in Surface Soil of the Southern United States. **Weed Technology**. v. 21, p. 796-800, 2007.

PALMA, G.; SANCHEZ, A.; OLAVE, Y.; ENCINA, F.; PALMA R.; BARRA, R. Pesticides levels in surfaces waters in an agricultural-forestry basin in Southern Chile. **Chemosphere**, v. 57, p. 763-770, 2004.

PARAÍBA, L.C.; CERDEIRA, A.L.; SILVA, E.F.; MARTINS, J. S.; COUTINHO, H.L.C. Evaluation of soil temperature effect on the herbicide leaching potential into groundwater in the Brazilian cerrado. **Chemosphere**, v. 53, p. 1087-1095, 2003.

PIRES, F. R.; NASCIMENTO, A. F.; PROCÓPIO, S.O.; CARGNELUTTI F., A.; CHAGAS, K. ; BELINELO, V. J. Risco de recontaminação do solo em função do uso da palhada de *Eleusine coracana* após fitorremediação de picloram. CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 32. **Anais...** Fortaleza: SBCS. 2009.

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

PIRES, F.R.; SOUZA, C.M.; CECON, P.R.; SANTOS, J.B.; TÓTOLA, M.R.; PROCÓPIO, S.O.; SILVA, A.A.; SILVA, C.S.W. Inferências sobre atividade rizosférica de espécies com potencial para fitorremediação do herbicida tebuthiuron. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.29, p.627-634, 2005.

PIRES, F.R.; SOUZA, C.M.; SILVA, A.A.; PROCÓPIO, S.O.; FERREIRA, L.R. Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. **Planta Daninha**, v. 21, p.335-341, 2003.

POLUBESOVA, T.; NIR, S.; RABINOVITZ, O.; BORISOVER, M.; RUBIN, B. Sulfentrazone adsorbed on micelle-montmorillonite complexes for slow release in soils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 51, p. 3410-3414, 2003.

PROCÓPIO, S.O.; SANTOS, J.B.; PIRES, F.R.; SILVA, A.A.; SANTOS, E.A.; FERREIRA, L.R. Fitorremediação de solo contaminado com trifloxysulfuron sodium por mucuna-preta (*Stizolobium aterrimum*). **Planta Daninha**, v. 23, p.719-724, 2005.

PROCÓPIO, S. O.; CARMO, M. L.; PIRES, F. R.; CARGNELUTTI FILHO, A.; BRAZ, G.B.P.; SILVA, W.F.P.S.; BARROSO, A.L.L.; SILVA, G.P.; CARMO, E.L.; BRAZ, A.J.B.P.; PACHECO, L.P. Efeito da densidade populacional de *Panicum maximum* (cultivar Tanzânia) na fitorremediação de solo contaminado com o herbicida picloram. **Seminário: Ciências Agrárias**, v. 30, p. 295-304, 2009.

PROCÓPIO, S.O.; SANTOS, J.B.; PIRES, F.R.; SILVA, A.A.; SANTOS, E.A. Fitorremediação de solo contaminado com trifloxysulfuron sodium por diferentes

densidades populacionais de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L). DC.). **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, p.444-449, 2006.

PROCÓPIO, S.O.; CARMO, M.L.; PIRES, F.R.; CARGNELUTTI FILHO, A.; BRAZ, G.B.P.; SILVA, W.F.P.; BARROSO, A.L.L.; SILVA, G.P.; CARMO, E.L.; BRAZ, A.J.B.P. Fitorremediação de solo contaminado com picloram por capim-pé-degalinha- gigante (*Eleusine coracana*). **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 32, p. 2517-2524, 2008.

PROCÓPIO, S.O.; SANTOS, J.B.; PIRES, F.R.; SILVA, A.A.; SANTOS, E.A.; CARGNELUTTI FILHO, A. Development of bean plants in soil contaminated with trifloxysulfuron-sodium after *Stizolobium aterrimum* and *Canavalia ensiformis* cultivation. **Planta Daninha**, v.25, p.87-96, 2007.

REDDY, K. N.; LOCKE, M. A. Sulfentrazone sorption, desorption, and mineralization in soils from two tillage systems. **Weed Science**, Ithaca, v.46, p.494-500, 1998.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 5 ed. Londrina: Edição dos Autores, p.591, 2005.

ROUSSEAU, S.; HARTMANN A.; ROUARD N.; SOULAS G. A simplified procedure for terminal restriction fragment length polymorphism analysis of the soil bacterial community to study the effects of pesticides on the soil microflora using 4,6-dinitroorthocresol as test case. **Biology and Fertility of Soils**, v. 37, p. 250-254, 2003.

SANTOS, J.B.; PROCÓPIO, S.O.; PIRES, F.R.; SILVA, A.A.; SANTOS, E.A. Fitorremediação de solo contaminado com trifloxysulfuron sodium por diferentes densidades populacionais de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L). dc.). **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, p.444-449, 2006(a).

SANTOS, E.A.; SANTOS, J.B.; COSTA, M.D.; FERREIRA, L.R. Fitoestimulação como processo de descontaminação de solos com trifloxysulfuron-sodium. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 25, 2006, Brasília. **Anais...** Brasília: SBCPD, p.142, 2006(b).

SANTOS, J.B.; SILVA, A.A.; PROCÓPIO, S.O.; FERREIRA, L.R.; PIRES, F.R. Fitorremediação de áreas contaminadas por herbicidas residuais. In: SILVA, A. A. & SILVA, J. F. (Eds.) **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa: UFV, p.249-278, 2007.

SANTOS, J.B.; PROCÓPIO, S.O.; SILVA, A.A.; PIRES, F.R.; RIBEIRO JUNIOR, J.I.; SANTOS, E.A.; FERREIRA, L.R. Fitorremediação do herbicida trifloxysulfuron sodium. **Planta Daninha**, v.22, p.223-330, 2004.

SANTOS, L.B.O.; INFANTE, C.M.C.; MASINI, C. Determination of picloram in Waters by sequential injection chromatography with UV detection. **Journal of Brazilian Chemical Society**. v.21, n.8, p. 1557-1562, 2010.

SANTOS, J.B.; JAKELAITIS, A.; SILVIA, A.A.; VIVIAN, R.; COSTA, M.D.; SILVIA, A.F. Atividade microbiana do solo após aplicação de herbicidas em sistemas de plantio direto e convencional. **Planta Daninha**, v.23, n.4, p. 683-691, 2005.

SILVA, A.A.; FREITAS, F.M.; FERREIRA, L.R.; JAKELAITIS, A.; SILVA, A.F. Aplicações sequenciais e épocas de aplicação de herbicidas em mistura com chlorpirifos no milho e em plantas daninhas. **Planta Daninha**, v.23, n.3, p.527-534, 2005.

SCHNOOR, J.L. & DEE, P.E. **Technology evaluation report: phytoremediation**. Pittsburgh, Ground-Water Remediation Technologies Analysis Center, p.37, 1997.

SERAFIM, C.; NART, V.; MALHEIROS, A.; CRUZ, A. B.; MONACHE, F. D.; GETTE, M. A.; ZACCHINO, S.; FILHO, V. C. Avaliação do potencial antimicrobiano de *Plinia glomerata* (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, p. 578-582, 2007.

TOMLIN, C. D. S. **The pesticide manual: A world compendium**. 12th. ed. Croydon: British Crop Protection Council, p.1250, 2000.

VIVIAN, R.; REIS, M.R.; JAKELAITIS, A.; SILVA, A.F.; GUIMARÃES, A.A.; SANTOS, J.B.; SILVA, A.A. Persistência de sulfentrazone em argissolo vermelho-amarelo cultivado com cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v. 24, p.741-750, 2006.

WILSON, P.C.; WHITWELL, T.; KLAINE, S.J. Phytotoxicity, uptake, and distribution of ¹⁴C-simazine in *Acorus gramineus* and *Pontederia cordata*. **Weed Science**, v.48, p.701-709, 2000.

7. ANEXO

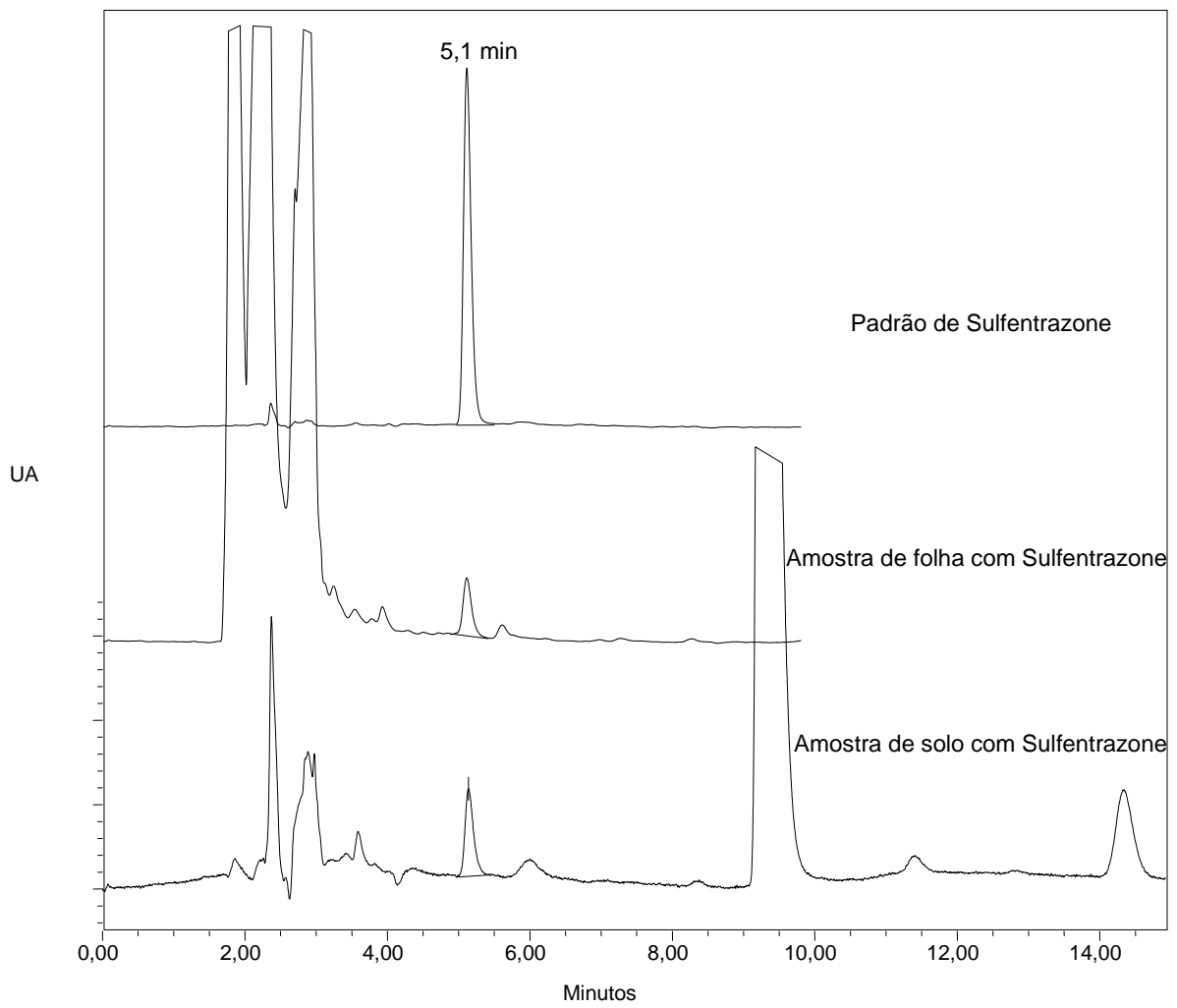


Figura 11. Cromatogramas das amostras avaliadas contaminadas por sulfentrazone.