

## VIABILIDADE DA ATENUAÇÃO NATURAL EM SOLO DE MANEJO ORGÂNICO CONTAMINADO COM TEBUTHIURON

ALESSANDRA BARONI RODRIGUES NEVES<sup>1</sup>, VICTOR HUGO CRUZ<sup>1</sup>, BRUNO RAFAEL DE ALMEIDA MOREIRA<sup>1</sup>, RONALDO DA SILVA VIANA<sup>1</sup>, PAULO RENATO MATOS LOPES<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Produção Vegetal, Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Universidade Estadual Paulista – Unesp, Câmpus de Dracena. Rodovia Comandante João Ribeiro de Barros, km 651, Bairro das Antas, CEP: 17900-000, Dracena, São Paulo, Brasil - [alee\\_rodrigues06@hotmail.com](mailto:alee_rodrigues06@hotmail.com); [hugo.cruz@unesp.br](mailto:hugo.cruz@unesp.br); [b.moreira@unesp.br](mailto:b.moreira@unesp.br); [ronaldo.viana@unesp.br](mailto:ronaldo.viana@unesp.br); [prm.lopes@unesp.br](mailto:prm.lopes@unesp.br)

**RESUMO:** O presente trabalho visou avaliar o efeito da aplicação de diferentes doses de tebuthiuron associadas ou não à vinhaça em solo cultivado com cana-de-açúcar em sistema de manejo orgânico. Foi avaliado o efeito da atenuação natural de amostras de solo por 88 dias quanto ao metabolismo microbiano por respirometria, à comunidade microbiana por quantificação de unidades formadoras de colônias e o potencial ecotoxicológico por bioensaios com sementes de *Lactuca sativa*. Observou-se que a adição de vinhaça promoveu proporcional aumento na atividade microbiana, independentemente da dose de tebuthiuron presente no solo. Em consonância, houve maior presença bacteriana nas amostras com presença de vinhaça. Quanto à ecotoxicidade, a aplicação isolada do herbicida foi capaz de aumentar o efeito negativo para o organismo-teste, possivelmente pela geração de compostos intermediários mais tóxicos. Por outro lado, a presença da vinhaça no solo favoreceu a redução desse potencial ecotoxicológico, incluindo resultados de benefícios à germinação das sementes e ao desenvolvimento das plântulas. Portanto, concluiu-se que a presença de vinhaça foi o principal fator em relação a sua associação com tebuthiuron em solo de cultivo orgânico de cana-de-açúcar, revelando efeitos positivos quanto à respiração, comunidade microbiana e ecotoxicidade.

**Palavras-chave:** biodegradação, ecotoxicidade, herbicida, microbiota, respirometria.

## FEASIBILITY OF NATURAL ATTENUATION IN ORGANIC MANAGEMENT SOIL CONTAMINATED WITH TEBUTHIURON

**ABSTRACT:** The present study aimed to evaluate the effect of different doses of tebuthiuron associated or not to vinasse in soil cultivated with sugarcane in organic management system. Natural attenuation of soil samples was evaluated for 88 days, regarding the microbial metabolism by respirometry, the microbial community by the quantification of colony forming units quantification and the ecotoxicological potential by bioassays with *Lactuca sativa* seeds. The results showed that vinasse addition promoted a proportional increase in microbial activity, regardless of tebuthiuron dose in soil. Accordingly, there was a higher bacterial presence in samples with vinasse. As for ecotoxicity, the isolated application of the herbicide was able to increase the negative effect for the test organism, possibly by the generation of more toxic intermediate compounds. On the other hand, vinasse presence favored the reduction of this ecotoxicological potential, which included results of benefits to seed germination and seedling development. Therefore, it was concluded that the vinasse presence was the main factor in relation to its association with tebuthiuron in soil of sugarcane organic management production, which revealed positive effects in respiration, microbial community, and ecotoxicity.

**Keywords:** biodegradation, ecotoxicity, herbicide, microbiota, respirometry.

## 1 INTRODUÇÃO

Referência em produção de biocombustíveis, a atividade agroindustrial da cana-de-açúcar configura uma das mais rentáveis na economia brasileira (BORDONAL et al., 2018). A fim de obter altas produtividades, o emprego de técnicas de manejo e implementos avançados é comumente associado à cultura canavieira. Contudo, a proibição da queimada pré-colheita proporcionou um aumento considerável de plantas daninhas e, conseqüentemente, maior utilização de herbicidas para o seu controle (CARBONARI et al., 2020).

Nesse contexto, encontra-se um herbicida pré-emergente amplamente utilizado em áreas de cultivo de cana-de-açúcar para o controle das plantas infestantes: o tebuthiuron. Sua molécula apresenta toxicidade moderada a extrema, tempo de meia-vida de até 15 meses com alta persistência, elevado potencial de lixiviação e baixa capacidade de retenção pela fase sólida do solo (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011; MORAES et al., 2016). Logo, pode causar grandes impactos ambientais, principalmente quando aplicados de forma inadequada.

No entanto, o comportamento ambiental do herbicida no solo pode ser alterado pela presença de outros compostos orgânicos (LOURENCETTI; MARCHI; RIBEIRO, 2012) e impactar também em culturas vegetais não-alvo do tebuthiuron (FERREIRA et al., 2020). Na lavoura canavieira, um importante resíduo orgânico da indústria é amplamente aplicado no solo pela técnica da fertirrigação: a vinhaça. Seu reaproveitamento é economicamente viável devido aos elevados teores de potássio, cálcio, magnésio e matéria orgânica em sua composição, além de quantidades moderadas de nitrogênio e pode contribuir consideravelmente no aumento da atividade microbiana no solo (ORTEGÓN et al., 2016).

Entretanto, a aplicação excessiva e contínua desse biofertilizante nos solos agrícolas pode resultar em severos impactos ambientais devido ao seu pH ácido, alta corrosividade e elevada demanda biológica de oxigênio (LIMA et al., 2016).

Com relação aos impactos da associação de vinhaça e tebuthiuron no solo de produção de cana-de-açúcar, Faria et al. (2019) relataram que a aplicação do resíduo em concentrações recomendadas aumentou significativamente a atividade microbiológica no solo e contribuiu para a biodegradação do herbicida. Contudo, esta pesquisa recente avaliou o solo em sistema convencional, tornando o presente estudo a primeira avaliação em solo com manejo orgânico.

A presença das comunidades microbianas em solos contaminados é um dos fatores relevantes para a remoção dos poluentes no ecossistema edáfico (YANG et al., 2017). Dessa forma, o processo de atenuação natural, que ocorre por meio da atuação da microbiota indígena, possui o intuito de degradar os compostos prejudiciais ao ambiente (SUN et al., 2020), neste caso os pesticidas. Porém, essa degradação resulta na emancipação de metabólitos secundários, que percentualmente podem ser mais tóxicos que a molécula original (FENG et al., 2020). Assim, são realizados distintos testes ecotoxicológicos para avaliar os potenciais riscos ecológicos dos pesticidas e respectivos metabólitos formados após a atenuação natural.

Logo, o teste de fitotoxicidade, bioensaio comumente empregado pela comunidade científica, utiliza sementes de plantas responsivas a quaisquer tratamentos químicos (SONG et al., 2017). Segundo Aparicio et al. (2019), tomate, rabanete, repolho, mostarda, milho, feijão-de-porco, e, principalmente, a alface, são as plantas bioindicadoras mais encontradas na bibliografia acadêmica. A consideração de sementes de alface (*Lactuca sativa*) para realização dos bioensaios são bem interessantes do ponto de vista prático, dado pela simplicidade de manuseio, boas características fisiológicas e alta sensibilidade à contaminação do ambiente (GONÇALVES; COELHO; CAMILI, 2016). Vale ressaltar a aplicação deste organismo-teste em bioensaios de ecotoxicidade em recentes pesquisas em solo com o herbicida tebuthiuron (FARIA et al., 2019; FERREIRA et al., 2021). Nesse sentido, o desenvolvimento experimental teve como objetivo avaliar o comportamento ambiental de diferentes doses do herbicida

tebuthiuron associados ou não à vinhaça em solo cultivado com cana-de-açúcar em sistema de produção orgânica, antes e após a atenuação natural.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Coleta do solo, tebuthiuron e vinhaça

Provenientes de propriedade de manejo orgânico na cultura de cana-de-açúcar, as amostras de solo foram coletadas em até no máximo 20 cm de profundidade, posteriormente, foram peneiradas, homogeneizadas e acondicionadas em recipiente plástico a 4 °C para utilização no decorrer do experimento. Salienta-se que não havia histórico de aplicação de pesticidas e vinhaça na área.

O herbicida tebuthiuron foi adquirido em estabelecimento comercial pelo produto comercial Combine<sup>®</sup> 500SC (Dow AgroSciences Industrial Ltda). A vinhaça foi coletada em uma usina sucroenergética localizada no estado de São Paulo, sendo acondicionada a 4 °C até seu uso.

### 2.2 Delineamento experimental e período de realização

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, no esquema fatorial 3x4 com três repetições. O primeiro fator estava ligado à dose recomendada (DR) de tebuthiuron (DR= 0; 0,5 e 1,0), pelo produto comercial Combine<sup>®</sup> 500C para solo de textura arenosa e o segundo fator ao volume de vinhaça

(VV) (VV= 0; 0,5; 1,0 e 2,0), de acordo com a Norma Técnica P4.231 da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB, 2015). Assim, a composição dos tratamentos foi: T1 (controle); T2 (0,5\*DR); T3 (1,0\*DR); T4 (0,5\*VV); T5 (0,5\*DR e 0,5\*VV); T6 (1,0\*DR e 0,5\*VV); T7 (1,0\*VV); T8 (0,5\*DR e 1,0\*VV); T9 (1,0\*DR e 1,0\*VV); T10 (2,0\*VV); T11 (0,5\*DR e 2,0\*VV) e T12 (1,0\*DR e 2,0\*VV).

O período de incubação foi de aproximadamente três meses. Durante esse tempo, realizou-se o monitoramento contínuo do metabolismo microbiano nos respectivos tratamentos e as análises temporais da comunidade microbiana e do potencial ecotoxicológico. Deste modo, foi avaliado o efeito da atenuação natural nas amostras de solo nos tempos inicial (t0) e final – após 88 dias (t88).

### 2.3 Atividade e comunidade microbiana

O monitoramento do metabolismo microbiano nas amostras de solo foi realizado até o 88º dia (t88) com análises semanais, de acordo com método respirométrico descrito pela NBR 14283 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 1999).

O respirômetro de Bartha e Pramer (1965) consiste em um sistema fechado, apresentando duas câmaras conectadas, no qual se monitora a produção de CO<sub>2</sub> por meio da condutivimetria (FARIA; MARIN-MORALES; ANGELIS, 2013) segundo a Equação 1:

$$GCO_2 = 1554,8 - 95,726 * C \quad (R^2 = 0,9997) \quad (1)$$

Em que,  
GCO<sub>2</sub> refere-se à geração de gás carbônico em mg; e  
C refere-se à condutividade em mS cm<sup>-1</sup>.

O acompanhamento da comunidade microbiana foi realizado pela contagem de unidades formadoras de colônias (UFC). Contabilizaram-se UFC bacterianas utilizando

meio de cultura *Plate Count Agar* (PCA), previamente autoclavado a 121 °C durante 15 min. Desta forma, o procedimento foi baseado na microbiologia clássica por diluição seriada das amostras de solo. O plaqueamento foi realizado em triplicata pelo método de *Pour Plate*, com inoculação de 1,0 mL do extrato aquoso de solo solubilizado, conforme a NBR 10006 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE

NORMAS TÉCNICAS, 2004), sendo posteriormente adicionado o meio de cultura. A incubação das placas para cada tratamento foi realizada durante 48 h a 35 °C.

## 2.4 Bioensaios de ecotoxicidade

Os bioensaios monitoraram o potencial ecotoxicológico nas amostras de solo em duas etapas: início do experimento (t0) e após 88 dias de atenuação natural (t88), utilizando sementes de alface (*Lactuca sativa*) como organismo-teste.

A determinação do efeito fitotóxico de cada tratamento foi realizada em seis replicatas a partir do extrato aquoso (solubilizado), com a metodologia proposta por Sobrero e Ronco (2004). Ensaios de controle positivo (CP) e controle negativo (CN) foram preparados utilizando sulfato de zinco 0,050 M e água deionizada, respectivamente, para testar a sensibilidade das sementes. Assim, foi determinado o índice de germinação (GI - *Germination Index*). O parâmetro GI combina as medidas de germinação de sementes relativa ao CN (%G) e alongamento da raiz relativo ao CN (%R), e é calculado conforme a Equação 2:

$$GI = (\%G) * (\%R) \quad (2)$$

Em que,

GI refere-se ao índice de germinação;

%G refere-se à germinação de sementes relativa ao controle negativo; e

%R refere-se ao alongamento da raiz relativo ao controle negativo.

## 2.5 Análise estatística

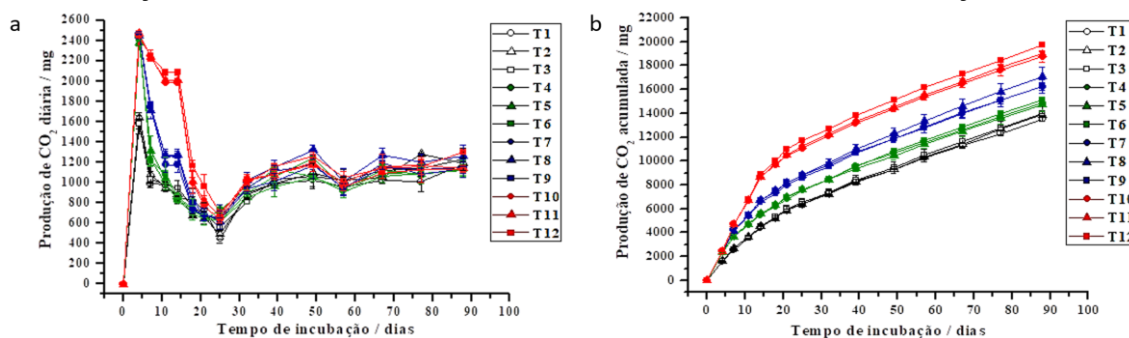
Os dados dos experimentos para cada ensaio foram submetidos à análise de variância, correlação simples e teste Tukey a 5,0% de probabilidade para a comparação de médias, utilizando os softwares Microcal Origin®9.0 e Systat SigmaPlot®11.0.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Atividade e comunidade microbiana

Os resultados da atividade microbiana pela respirometria estão apresentados na Figura 1 pela produção diária e acumulada de CO<sub>2</sub>.

**Figura 1.** Produção de CO<sub>2</sub> diária (a) e acumulada (b) durante 88 dias de atenuação natural.



Fonte: Próprio autor (2021).

Nota-se, pela Figura 1a, um pico de produção de CO<sub>2</sub> por volta do 4º dia, indicando o maior consumo da matéria orgânica no início. Em relação aos volumes de vinhaça utilizados, os tratamentos com a maior concentração (2,0\*VV - T10, T11 e T12) tiveram inicialmente maior respiração. Por outro lado, T1, T2 e T3 (ausentes de vinhaça) apresentaram as menores produções de CO<sub>2</sub>.

Na Figura 1b, é possível evidenciar a formação de quatro grupos baseados no volume

de vinhaça: (I) T1, T2 e T3, que não possuíam adição de vinhaça e apresentaram a menor taxa respiratória; (II) T4, T5 e T6, com metade do volume (0,5\*VV), que ficaram na faixa intermediária de produção de CO<sub>2</sub>, seguidos por (III) T7, T8 e T9 com a concentração comumente utilizada na lavoura (1,0\*VV); e por fim, (IV) os tratamentos com maior volume de vinhaça (2,0\*VV), T10, T11 e T12, que apresentaram maior taxa metabólica. Portanto,

foi demonstrado que a adição do herbicida não alterou o metabolismo microbiano no solo.

Na Tabela 1, é apresentada a análise de variância da taxa acumulada de CO<sub>2</sub> após 88

dias de atenuação natural nas amostras de solo. Constatou-se estatisticamente que as doses de tebuthiuron não tiveram diferença significativa com seus respectivos volumes de vinhaça.

**Tabela 1.** Comparação de médias na produção de CO<sub>2</sub> após 88 dias de atenuação natural.

Tratamentos	Produção de CO <sub>2</sub> acumulada (88 dias)	
<b>T1</b>	13509,37 ± 174,01	e
<b>T2</b>	13884,75 ± 121,61	de
<b>T3</b>	13980,16 ± 620,91	de
<b>T4</b>	14858,33 ± 200,41	d
<b>T5</b>	14721,21 ± 584,41	d
<b>T6</b>	15096,59 ± 253,04	cd
<b>T7</b>	16241,00 ± 314,76	bc
<b>T8</b>	17071,75 ± 790,80	b
<b>T9</b>	16251,86 ± 608,99	bc
<b>T10</b>	18736,10 ± 450,87	a
<b>T11</b>	18990,92 ± 253,92	a
<b>T12</b>	19762,25 ± 171,00	a

\*letras minúsculas representam diferença significativa das médias entre os tratamentos na coluna (teste Tukey  $p < 0,05$ ). T1=controle, T2=0,5\*DR, T3=1,0\*DR; T4=0,5\*VV, T5= 0,5\*DR e 0,5\*VV; T6= 1,0\*DR e 0,5\*VV; T7=1,0\*VV; T8= 0,5\*DR e 1,0\*VV; T9= 1,0\*DR e 1,0\*VV; T10= 2,0\*VV; T11=0,5\*DR e 2,0\*VV; e T12=1,0\*DR e 2,0\*VV, em que DR é a dose recomendada de tebuthiuron e VV é o volume de vinhaça. **Fonte:** Próprio autor (2021).

É possível observar também que os tratamentos com 0,5\*VV (T4, T5 e T6) não apresentaram diferença significativa em comparação aos tratamentos ausentes deste resíduo (T2 e T3), com exceção da amostra controle T1. Porém, a associação de um volume de vinhaça, independentemente, da dose do herbicida (T7, T8 e T9), apresentou resultados diferentes estatisticamente em comparação aos tratamentos sem adição de vinhaça. Além disso, quando utilizado duas vezes esse resíduo (2,0\*VV), o metabolismo microbiano aumentou muito e este fato foi evidenciado pela diferença significativa de T10, T11 e T12 em relação aos demais para a produção de CO<sub>2</sub> acumulada em 88 dias (Figura 1 e Tabela 1).

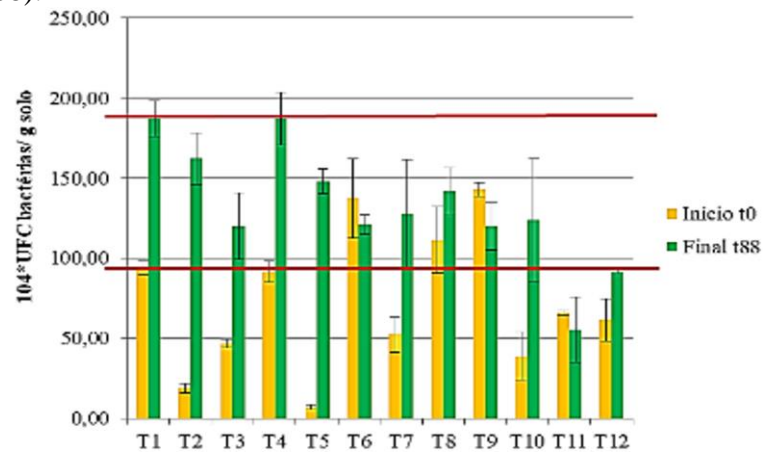
Este resultado pode estar associado ao maior nível de matéria orgânica presente nestes respectivos tratamentos. Para degradar grandes proporções de compostos orgânicos, os microrganismos aumentam exponencialmente

sua atividade metabólica conduzindo-os à elevadas taxas de liberação de CO<sub>2</sub>. Além disso, Yamaguchi et al. (2017) destacaram em seu trabalho que a vinhaça é uma excelente fonte nutricional prontamente disponível, contendo entre 3,5 e 36 g L<sup>-1</sup> de carbono solúvel. Assim, a matéria orgânica presente neste resíduo representa um fator relevante na produtividade agrícola em virtude do seu efeito positivo nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo (HAZBAVI; SADEGHI, 2016).

Dessa forma, a presença de nutrientes como potássio, cálcio, magnésio e sódio pode favorecer o metabolismo microbiano no solo quando se aplica esse biofertilizante em solos canavieiros (ORTEGÓN et al., 2016).

Os resultados da quantificação da comunidade bacteriana antes (t0) e após 88 dias de atenuação natural (t88) estão apresentados na Figura 2.

**Figura 2.** Quantificação da comunidade bacteriana no tempo inicial (t0) e após 88 dias de atenuação natural (t88).



T1=controle, T2=0,5\*DR, T3=1,0\*DR; T4=0,5\*VV, T5= 0,5\*DR e 0,5\*VV; T6= 1,0\*DR e 0,5\*VV; T7=1,0\*VV; T8= 0,5\*DR e 1,0\*VV; T9= 1,0\*DR e 1,0\*VV; T10= 2,0\*VV; T11=0,5\*DR e 2,0\*VV; e T12=1,0\*DR e 2,0\*VV, em que DR é a dose recomendada de tebuthiuron e VV é o volume de vinhaça. **Fonte:** Próprio autor (2021).

Inicialmente, foi observado um impacto negativo de modo geral pela adição de tebuthiuron e/ou vinhaça em relação ao solo controle (T1), com exceção de T4, T6, T8 e T9. Após o período de atenuação natural (t88), houve um aumento no número de colônias nas amostras de solo, com exceção de três tratamentos (T6, T9 e T11).

Baseando-se na amostra de solo sem qualquer adição de tebuthiuron e vinhaça (T1), nota-se que houve majoritariamente um menor número de colônias bacterianas nos tratamentos associando as duas substâncias antes e após a atenuação natural. A fim de estabelecer a significância estatística dos dados, foi elaborada a Tabela 2 com a análise de variância.

**Tabela 2.** Comparação de médias no número de unidades formadoras de colônias (UFC) nas amostras de solo no tempo inicial (t0) e após 88 dias de atenuação natural (t88).

Tratamentos	10 <sup>4</sup> *UFC bactérias/g solo			
	t0		t88	
T1	94,00 ± 4,24	Bd	187,33 ± 11,24	Aa
T2	19,00 ± 2,83	Bde	162,33 ± 16,07	Aab
T3	46,67 ± 2,52	Bcd	120,00 ± 20,81	Abc
T4	91,67 ± 6,81	Bb	187,33 ± 16,26	Aa
T5	7,00 ± 1,41	Be	148,00 ± 7,94	Aab
T6	137,50 ± 24,75	a	121,00 ± 6,00	bc
T7	52,33 ± 10,97	Bcd	128,00 ± 33,81	Abc
T8	111,50 ± 20,51	ab	142,00 ± 14,14	b
T9	143,00 ± 4,24	a	120,00 ± 15,00	bc
T10	39,00 ± 14,80	Bd	124,00 ± 38,18	Abc
T11	66,00 ± 1,41	c	55,33 ± 20,55	d
T12	61,50 ± 13,44	Bc	91,67 ± 1,53	Acđ

\*letras minúsculas e maiúsculas representam diferença significativa das médias entre os tratamentos nas colunas e nas linhas, respectivamente (Tukey p<0,05). T1=controle, T2=0,5\*DR, T3=1,0\*DR; T4=0,5\*VV, T5= 0,5\*DR e 0,5\*VV; T6= 1,0\*DR e 0,5\*VV; T7=1,0\*VV; T8= 0,5\*DR e 1,0\*VV; T9= 1,0\*DR e 1,0\*VV; T10= 2,0\*VV; T11=0,5\*DR e 2,0\*VV; e T12=1,0\*DR e 2,0\*VV, em que DR é a dose recomendada de tebuthiuron e VV é o volume de vinhaça. **Fonte:** Próprio autor (2021).

Quanto à comparação entre a comunidade bacteriana no mesmo tratamento, oito tratamentos apresentaram resultados estatisticamente maiores após o período de atenuação natural: T1, T2, T3, T4, T5, T7, T10 e T12. Ao analisar a relação do herbicida com a vinhaça, Fernández-Bayo et al. (2008) identificaram que a adição do resíduo reduziu a disponibilidade de diuron e ametrina no solo devido à vinhaça aumentar a atividade microbiana, estimulando a biodegradação desses herbicidas. Prata et al. (2001) também relataram que o processo de mineralização do diuron foi acelerado na presença de vinhaça. Esta maior atividade dos microrganismos foi revelada pelo método respirométrico (Figura 1) e, conseqüentemente, pode ter auxiliado neste resultado (Figura 2).

Realizando ensaios semelhantes com solo de cultivo canavieiro de manejo convencional, Faria et al. (2019) verificaram que, quando comparada a presença do herbicida no mesmo tratamento, não houve impacto na população bacteriana entre os tratamentos com relação à dose de tebuthiuron.

Após 88 dias de atenuação natural, os tratamentos contendo apenas vinhaça (T4, T7 e T10) tiveram maior número de UFC, sendo significativamente diferente em relação ao tempo inicial (Tabela 2). A adição de compostos orgânicos prontamente disponíveis para a microbiota oriundos da vinhaça certamente favoreceu esse aumento de colônias (PRATA et al., 2001). Quando realizada adequadamente, a fertirrigação com vinhaça promove aumento da biomassa microbiana no solo devido à sua composição nutricional (YANG et al., 2013). Portanto, estes microrganismos podem representar potenciais bioindicadores na avaliação qualitativa de solos fertirrigados em função da sua sensibilidade em relação às alterações ambientais (MARTINS; CAMPOS, 2011).

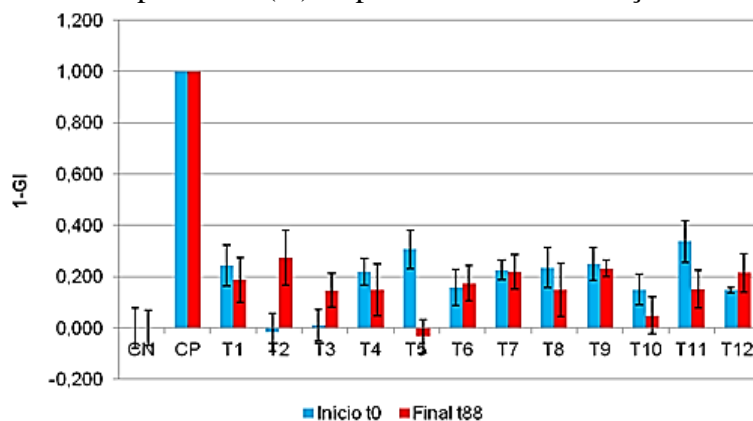
### 3.2 Bioensaios de ecotoxicidade

Os resultados dos bioensaios de ecotoxicidade para as amostras de solo estão representados na Figura 3. O índice de germinação está expresso em “1-GI”, sendo que valores acima de zero indicam prejuízos ao

organismo-teste, enquanto valores negativos representam benefícios a *L. sativa*. A representação dos valores e a diferença

estatística entre as amostras de solo e as avaliações temporais podem ser observadas na Tabela 3.

**Figura 3.** Índice de germinação nos bioensaios de ecotoxicidade para as amostras de solo dos tratamentos no tempo inicial (t0) e após 88 dias de atenuação natural (t88).



T1=controle, T2=0,5\*DR, T3=1,0\*DR; T4=0,5\*VV, T5= 0,5\*DR e 0,5\*VV; T6= 1,0\*DR e 0,5\*VV; T7=1,0\*VV; T8= 0,5\*DR e 1,0\*VV; T9= 1,0\*DR e 1,0\*VV; T10= 2,0\*VV; T11=0,5\*DR e 2,0\*VV; e T12=1,0\*DR e 2,0\*VV, em que DR é a dose recomendada de tebuthiuron; VV é o volume de vinhaça; CP é o controle positivo e CN é o controle negativo. **Fonte:** Próprio autor (2021).

**Tabela 3.** Comparação de médias do índice de germinação (1-GI) nos bioensaios de ecotoxicidade para as amostras de solo no tempo inicial (t0) e após 88 dias de atenuação natural (t88).

Tratamentos	1-GI			
	t0		t88	
CN	-0,013 ± 0,079	c	0,000 ± 0,070	de
CP	1,000 ± 0,000	a	1,000 ± 0,000	a
T1	0,243 ± 0,079	b	0,187 ± 0,086	bc
T2	-0,016 ± 0,074	Ac	0,272 ± 0,107	Bb
T3	0,011 ± 0,062	Ac	0,146 ± 0,066	Bbcde
T4	0,220 ± 0,052	b	0,149 ± 0,101	bcde
T5	0,306 ± 0,076	Ab	-0,034 ± 0,064	Be
T6	0,157 ± 0,070	bc	0,174 ± 0,069	bc
T7	0,225 ± 0,039	b	0,219 ± 0,067	b
T8	0,235 ± 0,078	b	0,148 ± 0,104	bcde
T9	0,249 ± 0,065	b	0,232 ± 0,032	b
T10	0,149 ± 0,060	Abc	0,049 ± 0,071	Bcde
T11	0,337 ± 0,080	b	0,152 ± 0,074	bcd
T12	0,147 ± 0,011	bc	0,214 ± 0,075	b

\*letras minúsculas e maiúsculas representam diferença significativa das médias entre os tratamentos na coluna e na linha, respectivamente (Tukey  $p < 0,05$ ). T1=controle, T2=0,5\*DR, T3=1,0\*DR; T4=0,5\*VV, T5= 0,5\*DR e 0,5\*VV; T6= 1,0\*DR e 0,5\*VV; T7=1,0\*VV; T8= 0,5\*DR e 1,0\*VV; T9= 1,0\*DR e 1,0\*VV; T10= 2,0\*VV; T11=0,5\*DR e 2,0\*VV; e T12=1,0\*DR e 2,0\*VV, em que DR é a dose recomendada de tebuthiuron; VV é o volume de vinhaça; CP é o controle positivo e CN é o controle negativo. **Fonte:** Próprio autor (2021).

Pela Figura 3 e Tabela 3, o solo controle (T1) apresentou-se com, no mínimo, 18% de efeito negativo para as sementes de *L. sativa*. Porém, vale ressaltar que este resultado não indica toxidez da amostra e deve-se lembrar que

o sistema de manejo orgânico estudado não promovia fertilização mineral. Conseqüentemente, os resultados dos bioensaios revelaram que não se tratava de um



solo totalmente propício para o desenvolvimento do organismo-teste.

Na avaliação do efeito da atenuação natural, foi possível notar que a maioria dos tratamentos apresentaram menores prejuízos após os 88 dias. No entanto, apenas T5 e T10 apresentaram significância estatística para este resultado. Em contrapartida, dois tratamentos (T2 e T3), que foram ausentes de vinhaça e com tebuthiuron, tiveram aumento significativo da ecotoxicidade para *L. sativa*.

De acordo com Abraham e Gajendiran (2019), a biodegradação de um herbicida objetiva transformar o composto original tóxico em menos tóxico ou completamente atóxico. Porém, alguns metabólitos gerados por meio da sua biodegradação podem ser mais tóxicos em relação à molécula original (WU et al., 2008). Neste sentido, possivelmente compostos intermediários da biodegradação do tebuthiuron, mais tóxicos, foram formados e culminaram nos resultados das amostras ausente de vinhaça (T2 e T3), conforme a Tabela 3.

Por outro lado, a redução da ecotoxicidade pode estar baseada na adição da vinhaça no solo. A adição análoga à fertirrigação promoveu maior atividade e crescimento microbianos (Tabelas 2 e 3, respectivamente). Em consequência, a presença de vinhaça não promoveu aumento significativo da ecotoxicidade. Além disso, os resultados de T5 e T10 revelaram um efeito significativamente benéfico nos bioensaios de ecotoxicidade após a atenuação natural (Tabela 3).

Neste sentido, um estudo recente de Ferreira et al. (2021) avaliou a presença de duas espécies vegetais, *M. pruriens* e *P. glaucum*, em solo com associação de vinhaça e tebuthiuron. Seus resultados revelaram que a presença desse resíduo também reduziu a fitotoxicidade nas plantas e também a ecotoxicidade nas amostras com o herbicida para o mesmo organismo teste aqui utilizado (*L. sativa*).

Por fim, nota-se que a presença de vinhaça foi o principal fator nas análises realizadas em relação a sua associação com o tebuthiuron em solo de cultivo orgânico de

cana-de-açúcar. Os resultados dos bioensaios ecotoxicológicos (Tabela 3) evidenciam os efeitos positivos da sua presença em consonância com as análises de respirometria e quantificação da comunidade bacteriana (Tabelas 1 e 2, respectivamente). Ressalta-se, assim, que a sua composição físico-química promove um aumento da biomassa e a da atividade de microrganismos no solo, em concordância com o comportamento relatado por diversos autores (PRATA et al., 2001; YANG et al., 2013; HAZBAVI; SADEGHI, 2016; YAMAGUCHI et al., 2017).

Dessa forma, o presente trabalho revelou que compreender os processos envolvidos na dinâmica e no comportamento ambiental do tebuthiuron no solo, associado ou não à vinhaça, permite elaborar recomendações mais precisas sobre a sua aplicação e estabelecer estratégias de remediação eficientes e ecologicamente viáveis para ambientes contaminados. No entanto, esta avaliação não deve apenas direcionar para a redução da concentração do herbicida.

## 4 CONCLUSÃO

A adição de vinhaça em doses elevadas impulsionou a atividade metabólica microbiana. Entretanto, independentemente do volume de tebuthiuron adicionado no solo, não houve diferença na produção de CO<sub>2</sub>. Além disso, na maioria dos tratamentos houve incremento no número de colônias bacterianas que aumentaram após o período de atenuação natural.

Quanto ao teste ecotoxicológico, as amostras de solo com tebuthiuron e ausentes de vinhaça demonstraram aumento da ecotoxicidade após 88 dias de atenuação natural. Por outro lado, a presença da vinhaça teve efeito positivo na redução deste potencial fitotóxico após a ação biológica.

## 5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES, ao CNPq, à FAPESP e às Pró-Reitorias de Graduação e de Pesquisa da Unesp.

## 6 REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, J.; GAJENDIRAN, A. Biodegradation of fipronil and its metabolite fipronil sulfone by *Streptomyces rochei* strain AJAG7 and its use in bioremediation of contaminated soil. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Maryland Heights, v. 155, p. 90-100, 2019.
- ABNT. **NBR 14283**: Resíduos em solos - Determinação da biodegradação pelo método respirométrico. Rio de Janeiro: ABNT, 1999.
- ABNT. **NBR 10006**: Procedimento para obtenção de extrato solubilizado de resíduos sólidos. Rio de Janeiro: ABNT, 2004.
- APARICIO, J. D.; GARCIA-VELASCO, N.; URIONABARRENETXEA, E.; SOTO, M.; ÁLVAREZ, A.; POLTI, M. A. Evaluation of the effectiveness of a bioremediation process in experimental soils polluted with chromium and lindane. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 181, p. 255-263, 2019.
- BARTHA, R.; PRAMER, D. Features of a flask and method for measuring the persistence and biological effects of pesticides in soil. **Soil Science**, Philadelphia, v. 100, n. 1, p. 68-70, 1965.
- BORDONAL, R. O.; CARVALHO, J. L. N.; LAL, R.; FIGUEIREDO, E. B.; OLIVEIRA, B. G.; LA SCALA, N. Sustainability of sugarcane production in Brazil. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 38, n. 2, p. 1-23, 2018.
- CARBONARI, C. A.; MATOS, A. K. A.; BRITO, I. P. F. S.; VELINI, E. D.; DAYAN, F. E. Impact of green cane harvesting on pest management in sugarcane. **Outlooks on Pest Management**, Burnham, v. 31, n. 2, p. 64-73, 2020.
- CETESB. **Norma Técnica P4.231**. Vinhaça – Critérios e procedimentos para aplicação no solo agrícola. 3. ed. São Paulo: Cetesb, 2015.
- FARIA, A. U.; MARIN-MORALES, E.; ANGELIS, D. F. **Manual de protocolos de laboratório**. Rio Claro: Departamento de Bioquímica e Microbiologia/UNESP, 2013.
- FARIA, M. A.; LOPES, P. R. M.; BIDOIA, E. D.; FERREIRA, L. C.; VIANA, R. S.; PRADO, E. P.; BONINI, C. S. B.; TOMAZ, R. S. Vinasse and tebuthiuron application to sugarcane soil and its effects on bacterial community and ecotoxicity after natural attenuation. **International Journal of Development Research**, [S. l.], v. 9, n. 8, p. 28898-28904, 2019.
- FENG, J.; SHENTU, J.; ZHU, Y.; TANG, C.; HE, Y.; XU, J. Crop-dependent root-microbe-soil interactions induce contrasting natural attenuation of organochlorine lindane in soils. **Environmental Pollution**, Oxford, v. 257, p. 113580-113588, 2020.
- FERNÁNDEZ-BAYO, J. D.; ROMERO, E.; SCHNITZLER, F.; BURAUDEL, P. Assessment of pesticide availability in soil fractions after the incorporation of winery-distillery vermicomposts. **Environmental Pollution**, Oxford, v. 154, n. 2, p. 330-337, 2008.
- FERREIRA, L. C.; MOREIRA, B. R. A.; MONTAGNOLLI, R. N.; PRADO, E. P.; VIANA, R. S.; TOMAZ, R. S.; CRUZ, J. M.; BIDOIA, E. D.; FRIAS, Y. A.; LOPES, P. R. M. Green manure species for phytoremediation of soil with tebuthiuron and vinasse. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, Lausanne, v. 8, p. 613642-613655, 2021.

GONÇALVES, V. D.; COELHO, M. F. B.; CAMILI, E. C. Bioensaios em sementes de *Lactuca sativa* L. com extrato de folhas de *Kielmeyera coriacea* Mart. & Zucc. **Revista Internacional de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 6, n. 2, p. 160-170, 2016.

HAZBAVI, Z.; SADEGHI, S. H. R. Potential effects of vinasse as a soil amendment to control runoff and soil loss. **Soil**, Goettingen, v. 2, n. 1, p. 71-78, 2016.

LIMA, F. A.; SANTOS JUNIOR, A. C.; MARTINS, L. C.; SARROUH, B.; LOFRANO, R. C. Z. Revisão sobre a toxicidade e impactos ambientais relacionados à vinhaça, efluente da indústria sucroalcooleira. **Cadernos UniFOA**, Volta Redonda, v. 11, n. 32, p. 27-34, 2016.

LOURENCETTI, C.; MARCHI, M. R. R.; RIBEIRO, M. L. Influence of sugar cane vinasse on the sorption and degradation of herbicides in soil under controlled conditions. **Journal of Environmental Science and Health - Part B**, New York, v. 47, n. 10, p. 949-958, 2012.

MARTINS, M. D.; CAMPOS, D. T. Qualidade microbiológica do solo fertirrigado com vinhaça. **Revista de Ciências Agroambientais**, Caceres, v. 9, n. 2, p. 273-282, 2011.

MORAES, D. A. C.; SPADOTTO, C. A.; SARTORI, A. A. C.; ZIMBACK, C. R. L. Variabilidade espacial do risco de contaminação de águas subterrâneas por tebuthiuron em área de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 51, n. 12, p. 1992-1999, 2016.

ORTEGÓN, G. P.; ARBOLEDA, F. M.; CANDELA, L.; TAMOH, K.; VALDES-ABELLAN, J. Vinasse application to sugar cane fields. Effect on the unsaturated zone and groundwater at Valle del Cauca (Colombia). **Science of The Total Environment**, Amsterdam, v. 539, p. 410-419, 2016.

PRATA, F.; LAVORENTI, A.; REGITANO, J. B.; TORNISIELO, V. L. Degradação e sorção de ametrina em dois solos com aplicação de vinhaça. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 36, n. 7, p. 975-981, 2001.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 6. ed. Londrina: IAPAR, 2011. v. 1.

SOBRERO, M. C.; RONCO, A. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.). In: MORALES, G. C. (ed.). **Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas**: standerización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Cidade do México: IMTA, 2004. p. 71-79.

SONG, B.; ZENG, G.; GONG, J.; ZHANG, P.; DENG, J.; DENG, C.; YAN, J.; XU, P.; LAI, C.; ZHANG, C.; CHENG, M. Effect of multi-walled carbon nanotubes on phytotoxicity of sediments contaminated by phenanthrene and cadmium. **Chemosphere**, Oxford, v. 172, p. 449-458, 2017.

SUN, Y.; KUMAR, M.; WANG, L.; GUPTA, J.; TSANG, D. C. W. Biotechnology for soil decontamination: opportunity, challenges, and prospects for pesticide biodegradation. In: PACHECO-TORGAL, F.; IVANOV, V.; TSANG, D. C. W. (ed.). **Bio-Based Materials and Biotechnologies for Eco-Efficient Construction**. Woodhead Publishing Series in Civil and Structural Engineering. Sawston: Woodhead Publishing, 2020. p. 261-283.

YAMAGUCHI, C. S.; RAMOS, N. P.; CARVALHO, C. S.; PIRES, A. M. M.; ANDRADE, C. A. Sugarcane straw decomposition and carbon balance as a function of initial biomass and vinasse addition to soil surface. **Bragantia**, Campinas, v. 76, n. 1, p. 135-144, 2017.

YANG, S. D.; LIU, J. X.; WU, J.; TAN, H. W.; LI, Y. R. Effects of vinasse and press mud application on the biological properties of soils and productivity of sugarcane. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 2, n. 15, p. 152-158, 2013.

YANG, Y.; WANG, N.; GUO, X.; ZHANG, Y.; YE, B. Comparative analysis of bacterial community structure in the rhizosphere of maize by high-throughput pyrosequencing. **PLOS ONE**, San Francisco, v. 12, n. 5, p. e0178425- e0178435-, 2017.

WU, D.; MAHMOOD, Q.; WU, L.; ZHENG, P. Activated sludge-mediated biodegradation of dimethyl phthalate under fermentative conditions. **Journal of Environmental Sciences**, Amsterdam, v. 20, n. 8, p. 922-926, 2008.