



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDONÓPOLIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA**

**BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NA MITIGAÇÃO DO EFEITO RESIDUAL DO
HERBICIDA PICLORAM EM SOLO CULTIVADO COM MILHETO (*Pennisetum
glaucum*)**

YASMIM BELTRÃO DIB

RONDONÓPOLIS – MT

2025



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDONÓPOLIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA**

**BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NA MITIGAÇÃO DO EFEITO RESIDUAL DO
HERBICIDA PICLORAM EM SOLO CULTIVADO COM MILHETO (*Pennisetum
glaucum*)**

**YASMIM BELTRÃO DIB
BIÓLOGA - LICENCIADA**

Orientador: Prof. Dr. Salomão Lima Guimarães - Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Rondonópolis, Mato Grosso, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Agrícola.

**RONDONÓPOLIS – MT
2025**

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte

Ficha Catalográfica elaborada de forma automática com os dados fornecidos pelo(a) autor(a). Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.

D543b

Dib, Yasmim Beltrão.

Bactérias diazotróficas na mitigação do efeito residual do herbicida picloram em solo cultivado com milheto (*Pennisetum glaucum*) [recurso eletrônico] / Yasmim Beltrão Dib. – Dados eletrônicos (1 arquivo : 65 f., il. color., pdf). – 2025.

Orientador(a): Salomão Lima Guimarães.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Rondonópolis, Instituto de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Rondonópolis, 2025. Inclui bibliografia.

1. Microbiota do solo. 2. Carbono da biomassa microbiana. 3. Biorremediação. I. Guimarães, Salomão Lima, *orientador*. II. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDONÓPOLIS
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA

FOLHA DE APROVAÇÃO

TÍTULO: BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NA MITIGAÇÃO DO EFEITO RESIDUAL DO HERBICIDA PICLORAM EM SOLO CULTIVADO COM *Pennisetum glaucum*

AUTORA: Yasmim Beltrão Dib

Dissertação defendida e aprovada em **27 de fevereiro de 2025**.

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

1. Prof. Dr Salomão Lima Guimarães (Orientador)

INSTITUIÇÃO: UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDONÓPOLIS

2. Prof. Dr. Márcio Koetz (Membro Interno)

INSTITUIÇÃO: UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDONÓPOLIS

3. Prof. Dra. Maria Aparecida Peres de Oliveira (Membro Externo)

INSTITUIÇÃO: UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDONÓPOLIS

Rondonópolis, dia 27 de fevereiro de 2025.



Documento assinado eletronicamente por **Marcio Koetz, Docente - UFR**, em 27/02/2025, às 11:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maria A Peres de Oliveira, Docente - UFR**, em 06/03/2025, às 10:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Salomão Lima Guimarães, Docente - UFR**, em 30/04/2025, às 08:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufr.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0469189** e o código CRC **EF51E9D5**.

Referência: Processo nº 23853.001568/2025-79

Aos meus honrosos pais Rezc-alá Badih Dib e Leony Rodrigues Beltrão Dib, aos meus irmãos Lucas Beltrão Rebouças dos Santos e Laila Beltrão Dib, a minha amada avó Virgulina Rodrigues Beltrão, ao meu noivo Magno Pereira da Silva Júnior.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradecer primeiramente ao que é início, meio e fim, se estou a escrever isso é graças ao inigualável sacrifício realizado por nosso Deus, que deu seu único filho a morrer por nós para que pudéssemos viver. Agradeço à Virgem Maria, minha mãezinha que nunca deixou de interceder por mim.

Aos meus pais, Rezc-alá e Leony, meus irmãos, Lucas e Laila, meu cunhado Felipe, minha avó Virgulina e minha amada sobrinha Maria Flor por serem minha base forte, obrigada por me crescer de conhecimentos que só são adquiridos dentro de casa, pela educação inquestionável, por me ensinarem a jamais desistir independente da adversidade, meu muito obrigada!

Ao meu amado noivo, Magno Júnior que me ajudou durante todo o curso, porém, mais do que isso, nunca questionou, muito menos desaprovou minhas decisões, sempre me apoiou até mesmo quando nem eu acreditava em mim mesma, eu te amo.

Meu orientador, prof. Dr. Salomão Lima Guimarães por tanto conhecimento compartilhado, paciência, cordialidade, minha eterna gratidão.

Agradeço a prof. Dra. Maria Aparecida Peres de Oliveira que me acompanhou desde a graduação e perdurou até o mestrado, por toda ajuda em tomada de decisões e dicas valiosas para execução deste trabalho.

Ao coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, prof. Dr. Thiago Franco Duarte por efetuar com maestria o trabalho que foi conferido e por tanta dedicação.

Agradecimento ao quadro de docentes por tantos ensinamentos e por serem exemplo de profissionalismo (Salomão Lima Guimarães, Patrícia Ferreira da Silva, Edna Maria Bonfim-Silva, Tonny José Araújo da Silva, Leandro Pereira Pacheco e Thiago Franco Duarte).

Agradeço aos meus sogros Vânia e Magno, meu cunhado Enzo Gabriel, meus compadres Marcos e Camila e minha afilhada que tanto amo, Isis, obrigada por tanto apoio e fortalecimento, principalmente na fé, por serem minha amada família e por tanto me incentivarem no que diz respeito aos estudos.

Minhas amadas amigas, Joyce Costa Cruz, Natalia do Val Tavares e Thaís Rodrigues Magalhães Guedes obrigada por toda ajuda, por tanto companheirismo, certamente com vocês os problemas foram muito mais fáceis de serem enfrentados. Da faculdade para vida!

Ao Grupo de Pesquisa: Microbiologia do Solo (GPMS) com seus integrantes: Aline, Hérica, Janaina e Matheus, muito obrigada pela ajuda dada, esse agradecimento se estende aos membros do Grupo de Pesquisa: Conservação de Solo e Água no Cerrado (GPAS).

**“Bendita seja a crise que me faz
crescer, a queda que me fez olhar para
o céu, o problema que me faz buscar a
Deus!”**

(São Padre Pio)

RESUMO

A utilização de agrotóxicos é indispensável na agricultura, proporcionando altas produtividades, a fim de atender à demanda alimentar populacional. No entanto, o uso intensivo gera problemas em culturas de relevância comercial, proveniente do efeito residual desses agrotóxicos. Objetivou-se com este estudo avaliar a atividade de bactérias associativas na mitigação do efeito residual do herbicida picloram. O experimento foi conduzido na Universidade Federal de Rondonópolis, em casa de vegetação, com solo natural do Cerrado, classificado como Latossolo Vermelho distrófico. Utilizou-se vasos com capacidade de 4dm³, dispostos em blocos casualizados, com esquema fatorial 5X3, correspondente a cinco doses do herbicida picloram (sal trietanolamina) a 1,5% da recomendação de 2 L ha⁻¹ (0, 3,7, 5,0, 6,2, e 7,5 g i.a L⁻¹ ha⁻¹) e o três corresponde às inoculações: B0 (sem inoculação bacteriana), B1 (estirpe MT8) e B2 (estirpe MT15), em 4 repetições, totalizando 60 unidades experimentais. Foram avaliados altura de plantas, diâmetro do colmo, índice SPAD, número de folhas, fitointoxicação, massa fresca da parte aérea e raiz, massa seca parte aérea e raiz e massa seca total (somatório da massa seca da parte aérea e raiz), carbono da biomassa microbiana e bactérias diazotróficas. Os resultados foi submetido à análise de variância, teste F até (p<0,10). O fator quantitativo (doses de herbicida) foram submetidos à regressão polinomial (linear ou quadrática) e para o fator qualitativo (estirpes bacterianas) aplicou-se o teste de comparação de médias Tukey até 10% de probabilidade, por meio do programa estatístico SISVAR. A presença das estirpes MT8 e MT15, com destaque para estirpe MT8, sugere uma adaptação microbiana ao estresse químico provocado pelo herbicida picloram, contribuindo para a sustentabilidade do solo a longo prazo.

Palavras-chave: microbiota do solo, carbono da biomassa microbiana, biorremediação

ABSTRACT

The use of pesticides is essential in agriculture, providing high productivity in order to meet the population's food demand. However, intensive use causes problems in commercially relevant crops due to the residual effect of these pesticides. The objective of this study was to evaluate the activity of associative bacteria in mitigating the residual effect of the herbicide picloram. The experiment was conducted at the Federal University of Rondonópolis, in a greenhouse, with natural soil from the Cerrado, classified as dystrophic Red Latosol. Pots with a capacity of 4 dm⁻³ were used, arranged in randomized blocks, with a 5X3 factorial scheme, corresponding to five doses of the herbicide picloram (triethanolamine salt) at 1.5% of the recommendation of 2 L ha⁻¹ (0, 3.7, 5.0, 6.2, and 7.5 g i.a L⁻¹ ha⁻¹) and the third corresponds to the inoculations: B0 (without bacterial inoculation), B1 (strain MT8) and B2 (strain MT15), in 4 replicates, totaling 60 experimental units. Plant height, stem diameter, SPAD index, number of leaves, phytotoxicity, fresh mass of aerial part and root, dry mass of aerial part and root and total dry mass (sum of dry mass of aerial part and root), microbial biomass carbon and diazotrophic bacteria were evaluated. The results were subjected to analysis of variance, F test up to ($p < 0.10$). The quantitative factor (herbicide doses) was subjected to polynomial regression (linear or quadratic) and for the qualitative factor (bacterial strains) the Tukey mean comparison test was applied up to 10% probability, using the SISVAR statistical program. The presence of strains MT8 and MT15, with emphasis on strain MT8, suggests microbial adaptation to the chemical stress caused by the herbicide picloram, contributing to long-term soil sustainability.

Keywords: soil microbiota, microbial biomass carbon, biorremediation

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 Efeitos dos Herbicidas no Solo e na Microbiota	17
2.2 Propriedades do Picloram e seus Impactos Ambientais	18
2.3 Agentes de Mitigação	19
2.3.1 Bactérias diazotróficas	19
2.3.2 Uso do <i>Pennisetum glaucum</i> em Solos Contaminados	21
3. MATERIAL E MÉTODOS	23
3.2 Delineamento, instalação e condução experimental	23
3.2.1 Coleta e calagem	23
3.2.2 Pulverização	25
3.2.3 Adubação, semeadura e desbaste	26
3.2.4 Inoculação	28
3.3 Parâmetros Avaliados	29
3.3.1. Fitointoxicação	29
3.3.2 Altura de Plantas	29
3.3.3 Diâmetro do Colmo	30
3.3.4 Índice SPAD	31
3.3.5 Número de Folhas	32
3.3.6 Massa Fresca da Parte Aérea e Raiz	32
3.3.7 Massa Seca da Parte Aérea e Raiz	33
3.3.8 Massa Seca Total	33
3.3.9 Carbono da Biomassa Microbiana	34
3.3.10 Bactérias diazotróficas	36
3.4 Estatística	37
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.1 Parâmetros avaliados	38
4.1.1 Fitointoxicação	38
4.1.2 Altura de plantas	42
4.1.3 Diâmetro do colmo	45
4.1.4 Índice de clorofila SPAD	48
4.1.5 Número de folhas	49
4.1.6 Massa fresca da parte aérea e raiz	54
4.1.7 Massa seca da parte aérea e raiz	54

4.1.8 Massa seca total	58
4.1.9 Carbono da biomassa microbiana.....	58
4.1.10 Bactérias diazotróficas	59
5. CONCLUSÃO	60
REFERÊNCIAS	61

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Casa de vegetação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Instituto de Ciências Agrárias e Tecnológicas localizada no campus da Universidade Federal de Rondonópolis.....	23
Figura 2 - Ponto de coleta do Latossolo Vermelho distrófico utilizado no experimento sob vegetação de Cerrado na camada de 0-20 cm de profundidade	24
Figura 3 - Latossolo Vermelho distrófico acondicionado em sacos plásticos em condições de terra fina seca ao ar procedendo-se o processo de calagem (adição de cálcario e água) para posterior incubação.....	24
Figura 4 - Latossolo Vermelho distrófico distribuído em vasos de (4 dm ³) para execução do experimento	25
Figura 5 - Pulverização dos tratamentos com o herbicida Picloram com o auxílio do pulverizador costal com jato plano tipo leque Magno 11002 AD.....	26
Figura 6 - Germinação das sementes.....	27
Figura 7 - Desbaste após o estabelecimento das plantas ao antigir 2 folhas com o intuito de manter 5 plantas por unidade experimental.....	27
Figura 8 - Disponibilidade hídrica dos vasos	28
Figura 9 - Meio DYGS para multiplicação bacteriana.....	28
Figura 10 - Inoculação dos tratamentos com o auxílio de uma pipeta automática.....	29
Figura 11 - Altura das plantas	30
Figura 12 - Diâmetro do colmo	31
Figura 13 - Leitura do índice de clorofila com auxílio do clorofilômetro clorofiLOG® Falker	32
Figura 14 - Corte das plantas (separação da parte aérea).....	32
Figura 15 - Separação das raízes	33
Figura 16 - Material em estufa para secagem.....	33
Figura 17 - Processo de extração do carbono da biomassa microbiana	35
Figura 18 - Diluição seriada seguida de inoculação em tubos de penicilina contendo meio NFb	37
Figura 19 - Análise visual de fitointoxicação aos 15 DAI das doses de herbicida em função dos tratamentos B0 sem inoculação (A), MT8 (B) e MT15 (C).	40
Figura 20 - Análise visual de fitointoxicação aos 30 DAI das doses de herbicida em função	

dos tratamentos B0 sem inoculação (A), MT8 (B) e MT15 (C) e aos 45 DAI (D), (E) e (F)..	42
Figura 21 – Altura das plantas aos 45 DAI dos tratamentos B0 sem inoculação, MT8 e MT15 em função das doses de herbicida 0 (A), 3,7 (B), 5 (C), 6,2 (D) e 7,5 (E).....	44
Figura 22 – Altura das plantas aos 45 DAI das doses de herbicida em função dos tratamentos B0 sem inoculação (A), MT8 (B) e MT15 (C).....	45
Figura 23 – Diâmetro do colmo aos 45 DAI dos tratamentos B0 sem inoculação, MT8 e MT15 em função das doses de herbicida 0 (A), 3,7 (B), 5 (C), 6,2 (D) e 7,5 (E).....	47
Figura 24 – Diâmetro do colmo aos 45 DAI das doses de herbicida em função dos tratamentos B0 sem inoculação (A), MT8 (B) e MT15 (C).....	48
Figura 25 – Número de folhas aos 30 DAI dos tratamentos B0 sem inoculação, MT8 e MT15 em função das doses de herbicida 0 (A), 3,7 (B), 5 (C), 6,2 (D) e 7,5 (E).....	51
Figura 26 – Número de folhas aos 30 DAI das doses de herbicida em função dos tratamentos B0 sem inoculação (A), MT8 (B) e MT15 (C).....	52
Figura 27 – Número de folhas aos 45 DAI das doses de herbicida em função dos tratamentos B0 sem inoculação (A), MT8 (B) e MT15 (C).....	54
Figura 28 – Massa seca da parte aérea dos tratamentos B0 sem inoculação, MT8 e MT15 em função das doses de herbicida 0 (A), 3,7 (B), 5 (C), 6,2 (D) e 7,5 (E).....	56
Figura 29 – Massa seca da parte aérea das doses de herbicida em função dos tratamentos B0 sem inoculação (A), MT8 (B) e MT15 (C).	58
Figura 30 - Carbono da biomassa microbiana em função das doses de herbicida	59

LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Caracterização química granulométrica de Latossolo Vermelho na camada de 0-20cm de profundidade	24
Tabela 2 - Resumo da análise de variância para avaliação da fitointoxicação visual das plantas aos 15, 30 e 45 dias após a inoculação (DAI).	38
Tabela 3 - Resumo da análise de variância para avaliação da altura de plantas aos 15, 30 e 45 dias após a inoculação (DAI).....	42
Tabela 4 - Resumo da análise de variância para avaliação do diâmetro do colmo aos 15, 30 e 45 dias após a inoculação (DAI).	45
Tabela 5 - Resumo da análise de variância para avaliação do índice de clorofila SPAD aos 15, 30 e 45 dias após a inoculação (DAI).....	49
Tabela 6 - Tabela 5 - Resumo da análise de variância para avaliação número de folhas aos 15, 30 e 45 dias após a inoculação (DAI).....	49
Tabela 7 - Resumo das análises de variância para as variáveis massa fresca da parte aérea e raiz (MFPA e MFPR respectivamente).	54
Tabela 8 - Resumo das análises de variância para as variáveis massa seca da parte aérea e raiz (MSPA e MSPR respectivamente).	54
Tabela 9 - Resumo da análise de variância para a variável somatório da massa seca total da parte aérea e raiz (MST).	58
Tabela 10 - Resumo da análise de variância para a variável carbono da biomassa microbiana (CBM).....	58
Tabela 11 - Resumo da análise de variância para a variável bactérias diazotróficas em meio de cultura NFb.	59

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos principais produtores agrícolas do mundo, de modo a manter altas produtividades acaba sendo o país líder no ranking no consumo de agrotóxicos, consumo este destinado a contornar adversidades que levaria à redução da produtividade, exemplo disso é a presença de plantas espontâneas, um dos principais fatores que interfere no insucesso da produção (Souza et al., 2018; Silva, 2020; Ogino; Bacha, 2021; Santos et al., 2025). Registros que só no ano de 2022, foi comercializado no Brasil mais de 800 mil toneladas de agrotóxicos, representando em média 3,7kg de agrotóxico por habitante por ano (Ibama, 2024).

Com isso, a manutenção da produção é dependente da eficiência com a qual essas culturas são manejadas, favorecendo-se em grande parte da tecnificação do ambiente rural acompanhada da utilização de insumos como os herbicidas. Todavia, indiretamente ou diretamente, a ação desses agrotóxicos no ambiente pode atingir efeitos fora do objetivo proposto para sua utilização, uma vez que o solo tem sido o destino final, acarretando o que se denomina carryover, que seria o efeito residual do herbicida que provoca danos e perdas em produções (da Silva, 2017; Duque et al., 2020).

Os agrotóxicos aplicados, potencialmente se dispersam onde são aplicados, contaminando o ar, o solo, água e conseqüentemente os organismos não-alvo, incluindo nestes o próprio ser humano (Siede, 2019; Maritano et al., 2022; Alehashem et al., 2024;). Os herbicidas, por exemplo, apesar de solucionar o problema inicial que seria o controle de plantas espontâneas, acaba comprometendo o desenvolvimento de culturas sucessoras, devido a ação residual de determinados agrotóxicos (Santos et al., 2006; da Silva, 2017; Duque et al., 2020). Nesse cenário, torna-se indispensável o desenvolvimento de estratégias para mitigar os efeitos residuais de agrotóxicos, preservando a qualidade do solo e favorecendo a sustentabilidade agrícola.

Uma forma de minimizar o risco de impacto ambiental por resíduos de agrotóxicos no solo, é mitigar os seus efeitos. Dessa maneira, agentes biorremediadores podem absorver e degradar moléculas de agrotóxicos ou estimular a microbiota do solo para que haja a transformação desses contaminantes em compostos menos tóxicos ao meio ambiente (Melo et al., 2017; (Cao et al., 2018).

Entre as abordagens promissoras para a mitigação dos impactos de herbicidas estão as bactérias diazotróficas, microrganismos capazes de fixar nitrogênio atmosférico em associação com plantas e também pode ajudar na degradação de compostos tóxicos no solo (de Souza Moreira et al., 2010; Morais, 2024). Além de promoverem o crescimento vegetal, essas

bactérias desempenham um papel crucial na biorremediação, contribuindo para a degradação de compostos químicos no solo, incluindo agrotóxicos persistentes (Procópio et al., 2008).

O uso de bactérias promotoras de crescimento vegetal podem auxiliar no desenvolvimento de plantas sob condições de estresse, devido ao estímulo à produção de fitohormônios e fixação biológica de nitrogênio, que em conjunto com outras características induzidas por esses microrganismos, atuam reduzindo os efeitos negativos que o estresse pode causar no desenvolvimento das plantas (Filgueiras, 2015).

Neste sentido, a ONU lançou A Agenda 2030 em 2015 que tem relacionado dezessete Objetivos de Desenvolvimento Sustentáveis (ODS) que visa melhorar a qualidade de vida para o planeta, este trabalho atende a ODS 2 (fome zero e agricultura sustentável) e OSD 12 (consumo e produção responsáveis) (ONU, 2015). Deste modo, objetivou-se avaliar a eficácia de bactérias diazotróficas na mitigação dos efeitos residuais do herbicida picloram em solos cultivados com *Pennisetum glaucum*. A abordagem integra estratégias microbiológicas e agronômicas para promover a sustentabilidade do manejo agrícola e contribuir para a conservação do solo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Efeitos dos Herbicidas no Solo e na Microbiota

Os herbicidas podem impactar significativamente a atividade microbiana do solo, com efeitos variando com base no tipo de herbicida, características do solo e genótipos de plantas, agrotóxicos como o picloram acredita-se que pode alterar a estrutura da comunidade microbiana e reduzir a diversidade de organismos essenciais para a ciclagem de nutrientes (Galon et al., 2014).

Estudos indicam que herbicidas persistentes afetam a biomassa microbiana e a atividade enzimática do solo, dificultando a recuperação natural da microbiota (Alvear et al., 2006; Tironi et al., 2009; Galon et al., 2014; Pertile, 2022; Corrêa et al., 2025). Em contrapartida, microrganismos adaptados ao ambiente contaminado podem desenvolver mecanismos de degradação, utilizando os compostos como fontes de carbono e energia, esse potencial adaptativo torna a microbiota do solo uma aliada importante na mitigação dos efeitos negativos dos herbicidas (Souza et al., 1999; Machado et al., 2021).

O uso intensivo de herbicidas nas práticas agrícolas modernas tem promovido significativos avanços no controle de plantas daninhas e no aumento da produtividade. Contudo, seu uso contínuo, especialmente em sistemas de monocultura e rotação acelerada de culturas, como ocorre em estados como o Mato Grosso, levanta preocupações quanto aos efeitos negativos desses compostos sobre a saúde do solo, particularmente sobre a microbiota edáfica (Liu et al., 2018; Wang et al., 2024).

Herbicidas são compostos xenobióticos, ou seja, substâncias químicas que não ocorrem naturalmente no ambiente, e que podem afetar diretamente a estrutura e funcionalidade da comunidade microbiana do solo. A extensão desses impactos depende de diversos fatores, incluindo o tipo de herbicida, a dose aplicada, a frequência de aplicação, as características físico-químicas do solo, e o histórico de uso agrícola da área (Singh et al., 2020; Silva et al., 2023).

Estudos indicam que herbicidas persistentes, como o picloram, podem reduzir a diversidade microbiana, afetar negativamente a biomassa e a atividade enzimática, além de interferir nos ciclos biogeoquímicos essenciais, como o ciclo do nitrogênio e do carbono (Tironi et al., 2009; Kepler et al., 2020). Essas alterações podem comprometer os processos naturais de regeneração do solo, dificultando sua capacidade de sustentar cultivos sucessivos, especialmente em sistemas de produção intensivos que exigem elevada resiliência do solo.

Por outro lado, a microbiota do solo pode desenvolver mecanismos adaptativos diante

da exposição contínua a herbicidas. Microrganismos específicos, muitas vezes presentes na rizosfera, são capazes de metabolizar compostos tóxicos como fonte alternativa de carbono e energia, contribuindo para a degradação ou transformação dessas substâncias (Machado et al., 2021; Ruuskanen et al., 2023). Essa capacidade é a base das estratégias de biorremediação, que exploram o potencial de bactérias e fungos para mitigar os impactos negativos causados por esses agroquímicos no ambiente.

Cabe destacar que os impactos dos herbicidas não se limitam apenas à redução da biodiversidade microbiana, mas também podem afetar as interações simbióticas entre microrganismos e plantas, como as associações micorrízicas e fixadoras de nitrogênio, comprometendo o desenvolvimento vegetal e os processos naturais de fertilização do solo (Pessoa-de-Souza et al., 2021).

2.2 Propriedades do Picloram e seus Impactos Ambientais

Existem diversas moléculas de herbicidas com características físico-químicas que propiciam funcionalidades únicas e comportamentos ambientais distintos, sendo as principais razões da utilização dessas moléculas o seu custo, a alta seletividade desses produtos às culturas e sua eficiência no rendimento operacional de acordo com as suas classes e grupos (Procópio et al. 2004; Armas; Monteiro, 2005; Duke; Dayan, 2015).

O picloram é um herbicida altamente persistente, pertencente à classe dos ácidos piridinocarboxílicos. Sua longa meia-vida em solos agrícolas, que pode variar de meses a anos dependendo das condições ambientais, representa um grande desafio para a sustentabilidade agrícola (Passos et al., 2018).

Trata-se de um herbicida sistêmico pertencente à classe dos ácidos piridinocarboxílicos, amplamente utilizado no controle de plantas daninhas de folhas largas, especialmente em pastagens, áreas reflorestadas e em culturas resistentes. Seu uso é preferido devido à alta eficácia, seletividade e ampla mobilidade sistêmica nas plantas-alvo (Duke & Dayan, 2015).

Do ponto de vista ambiental, o picloram é classificado como um composto altamente persistente. Essa característica é atribuída à sua elevada solubilidade em água, baixa volatilidade e resistência à degradação biológica, fatores que contribuem para sua mobilidade no perfil do solo e potencial de contaminação de águas subterrâneas (Passos et al., 2018;).

A meia-vida do picloram pode variar significativamente conforme as condições edafoclimáticas, oscilando entre 90 e até mais de 365 dias em solos tropicais (Mendes et al., 2023). Em solos com baixa atividade microbiana ou baixa matéria orgânica, a degradação pode

ser ainda mais lenta, aumentando o risco de fitotoxicidade para culturas subsequentes.

Esse comportamento residual do picloram representa um desafio relevante em sistemas agrícolas tropicais, como o brasileiro, e especialmente no estado do Mato Grosso, onde são comuns até quatro ciclos de cultivo por ano (soja, milho safrinha, algodão e culturas de cobertura). Nessas regiões, a persistência do herbicida pode inviabilizar a introdução de culturas sensíveis ou causar perdas significativas na produtividade por intoxicação residual, afetando diretamente o planejamento da rotação de culturas e a sustentabilidade produtiva (Paulo et al., 2020).

Além disso, o uso intensivo de herbicidas com longa meia-vida como o picloram pode acelerar a seleção de biótipos de plantas daninhas resistentes, sobretudo em áreas onde há uso combinado com culturas transgênicas tolerantes a herbicidas (Mendes et al., 2022). Essa resistência dificulta o manejo e demanda doses cada vez mais altas ou misturas de produtos, intensificando os impactos ambientais e econômicos.

A recorrência do picloram no ambiente também é agravada por seu potencial de adsorção em argilas de baixa carga e pela limitada atuação de microrganismos degradadores naturais, o que reforça a necessidade de estratégias alternativas, como o uso de microrganismos específicos para biorremediação (Faustino et al., 2019).

2.3 Agentes de Mitigação

Os compostos químicos sintéticos persistentes são chamados de xenobióticos ou contaminantes emergentes, os agrotóxicos, conseqüentemente os herbicidas estão relacionados como destaque quando se trata de xenobióticos presentes nas matrizes ambientais (solo, água e ar) (Richardson e Kimura, 2016); Ai-Jawhari, 2018; Štefanac, 2021).

Frente a isso, a biorremediação é uma técnica vantajosa e de baixo custo que conta com organismos vivos, sendo plantas, bactérias ou fungos com intuito de remover ou fazer com que compostos tóxicos sejam eliminados totalmente ou tornam-se menos prejudiciais ao meio ambiente (Štefanac, 2021; Al-Baldawi, 2021).

2.3.1 Bactérias diazotróficas

Diversas pesquisas têm identificado microrganismos com potencial para degradar herbicidas em ambientes agrícolas, mesmo sob condições adversas. Bactérias e fungos com essa capacidade podem metabolizar compostos como o picloram, utilizando-os como fontes alternativas de carbono, nitrogênio ou energia (Pileggi et al., 2021; Jaiswal et al., 2023).

Espécies do gênero *Pseudomonas*, por exemplo, demonstram alta versatilidade metabólica e têm sido frequentemente associadas à degradação de herbicidas em solos tropicais. Essas bactérias são capazes de produzir enzimas específicas que catalisam a quebra das moléculas do herbicida, acelerando sua degradação (Pessoa-de-Souza et al., 2021). Outras linhagens, como *Bacillus* e *Azospirillum*, também vêm sendo exploradas por seu potencial em consórcios microbianos que favorecem tanto a biorremediação quanto o crescimento vegetal (Ribeiro et al., 2021; Cruz-Hernández et al., 2022).

Além dos microrganismos livres no solo, cepas endofíticas, ou seja, bactérias que vivem no interior de tecidos vegetais sem causar danos, também têm mostrado eficiência na remediação de ambientes contaminados por xenobióticos. Essas bactérias, ao colonizarem as plantas, contribuem para sua sobrevivência em solos contaminados e facilitam a degradação de herbicidas por vias enzimáticas internas (Tétard-Jones & Edwards, 2016; Masotti et al., 2023).

As bactérias diazotróficas, conhecidas por sua capacidade de fixar nitrogênio atmosférico, têm se destacado como agentes de biorremediação em solos contaminados por herbicidas. Esses microrganismos, ao associar-se com plantas, promovem não apenas o crescimento vegetal, mas também a degradação de compostos químicos como o picloram (Procópio et al., 2008; de Souza Moreira et al., 2010; Morais, 2024).

Entre os mecanismos utilizados por essas bactérias está a produção de enzimas específicas que degradam resíduos químicos, além da promoção de ambientes que favorecem a decomposição natural dos herbicidas (Pileggi et al., 2021).

A interação entre plantas e microrganismos na rizosfera é fundamental para a fixação biológica de nitrogênio e a manutenção dos ecossistemas terrestres (Marchetti & Barp, 2015). Além disso, bactérias associadas às plantas com características promotoras de crescimento vegetal apresentam promessas de biorremediação de solos contaminados por glifosato, contribuindo para a solução de problemas ambientais causados pelo uso exacerbado desse herbicida (Masotti et al., 2023).

Técnicas de biorremediação, como o uso de microrganismos de solo selecionados, são alternativas promissoras para redução de resíduos de agrotóxicos em solos. Pesquisas têm identificado diversas bactérias e fungos capazes de degradar herbicidas, com alguns isolados apresentando crescimento potencializado em meios contaminados (Bernoth et al., 2000; Machado et al., 2021).

As respostas metabólicas da microbiota do solo a herbicidas pré-emergentes em solos tropicais têm sido estudadas, revelando impactos positivos e negativos na biodiversidade do

solo, com *Pseudomonas* sp. demonstrando versatilidade em processos de degradação (Pessoa-de-Souza et al., 2021). As cepas endofíticas podem contribuir para a sobrevivência de plantas agrícolas em ambientes contaminados por herbicidas por meio de vias de degradação xenobiótica (Tétard-Jones e Edwards, 2016).

2.3.2 Uso do *Pennisetum glaucum* em Solos Contaminados

O *Pennisetum glaucum* (L.), conhecido popularmente como milheto, é uma gramínea anual pertencente à família Poaceae, originária da África e amplamente cultivada em regiões tropicais e subtropicais devido à sua rusticidade e adaptação a solos de baixa fertilidade. No Brasil, tem ganhado destaque como cultura de cobertura em sistemas de plantio direto, especialmente na região do Cerrado, onde é utilizado para melhorar a qualidade física, química e biológica do solo entre as safras de grãos (Cruz et al., 2006; de Almeida et al., 2023).

O milheto apresenta um ciclo curto, alta produção de biomassa, excelente capacidade de enraizamento profundo e elevada tolerância a estresses abióticos, como a salinidade e a seca (Lucena et al., 2019). Essas características o tornam uma opção estratégica em sistemas de rotação de culturas intensivos, como os do estado do Mato Grosso, onde se realizam até quatro safras por ano. Além disso, a planta tem rápida cobertura do solo, favorecendo a conservação da umidade e a proteção contra processos erosivos.

Do ponto de vista da ciclagem de nutrientes, o milheto é eficiente na absorção de potássio, fósforo e nitrogênio, e sua decomposição, sobretudo no estágio de floração, proporciona liberação gradual desses nutrientes, favorecendo a cultura seguinte (Teixeira et al., 2011). Esse manejo é benéfico não só para a produtividade agrícola, mas também para a microbiota do solo, que é estimulada pela matéria orgânica liberada.

Além dos benefícios agronômicos, estudos recentes têm indicado que o *Pennisetum glaucum* possui potencial de uso em fitorremediação, que é a técnica de uso de plantas para remover, imobilizar ou degradar contaminantes presentes no solo (Carmo et al., 2008; Silva et al., 2023). Essa capacidade está relacionada à sua tolerância a compostos tóxicos como o picloram e à interação com microrganismos benéficos na rizosfera, que auxiliam na degradação de xenobióticos.

Pesquisas demonstram que o milheto pode suportar a presença de herbicidas no solo sem apresentar sintomas severos de fitotoxicidade, o que indica sua viabilidade em áreas com resíduos de produtos persistentes (Carmo et al., 2008). Além disso, seu cultivo pode favorecer o aumento da atividade microbiana local, criando um ambiente propício para microrganismos

degradadores de herbicidas, como as bactérias diazotróficas (Dan et al., 2009).

A associação entre o milheto e microrganismos biorremediadores, como as *Pseudomonas spp.*, *Azospirillum spp.* e outras bactérias promotoras de crescimento vegetal, pode potencializar a remediação de solos contaminados, ao mesmo tempo em que promove a recuperação da fertilidade e da estrutura biológica do solo (Masotti et al., 2023). Essa interação simbiótica é especialmente importante em sistemas conservacionistas, onde se busca reduzir o uso de insumos químicos e aumentar a resiliência ecológica do agroecossistema.

Portanto, o uso do *Pennisetum glaucum* em sistemas agrícolas sob risco de contaminação por herbicidas como o picloram representa uma alternativa sustentável, especialmente quando associado a estratégias de biorremediação baseadas em consórcios microbianos. Essa abordagem integrada alinha-se aos princípios da agricultura regenerativa e pode ser aplicada com sucesso em regiões de alta intensidade produtiva como o Cerrado brasileiro.

Pennisetum glaucum, comumente conhecido como milheto, é uma gramínea anual com diversas aplicações na agricultura. É amplamente utilizado como cultura de cobertura em sistemas de plantio direto, particularmente na região do Cerrado do Brasil, devido ao seu excelente potencial de cobertura do solo (Cruz et al., 2006).

A cultura acumula nutrientes de forma mais eficaz no estágio inicial de floração, sendo o potássio o nutriente mais facilmente liberado durante a decomposição (Carpim et al., 2008). O milheto demonstra tolerância ao estresse salino, com altura ideal da planta, comprimento do caule e diâmetro alcançados em condutividades elétricas entre 1,8 e 2,66 dS m⁻¹ (Lucena et al., 2019). O cultivo de *Pennisetum glaucum* melhorou a qualidade do solo em campos de mandioca influenciando a microbiota do solo (Mercante et al., 2008).

Pesquisas sugerem que *Pennisetum glaucum* e outras espécies de plantas podem aumentar a atividade microbiana do solo e potencialmente auxiliar na remediação de solos contaminados (Mercante et al., 2008).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local da Condução Experimental

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Universidade Federal de Rondonópolis (Figura 1), com coordenadas geográficas 16°27'49" latitude Sul, 54°34'46" longitude Oeste e altitude de 290 m, com temperatura que varia de 22 a 27°, índice médio pluviométrico anual de 1.436 mm e clima Aw, segundo a classificação de Köppen, ou seja, clima tropical com estação chuvosa no verão e estação seca no inverno (Klink e Machado, 2005).



Figura 1 - Casa de vegetação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Instituto de Ciências Agrárias e Tecnológicas localizada no campus da Universidade Federal de Rondonópolis. Acervo do autor.

3.2 Delineamento, instalação e condução experimental

O delineamento estatístico foi em blocos inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5X3, correspondente a cinco doses do herbicida picloram (sal trietanolamina) a 1,5% da recomendação de 2L/ha⁻¹ (0, 3,7, 5,0, 6,2, e 7,5 g i.a L⁻¹ ha⁻¹) e o três corresponde às inoculações: B0 (sem inoculação bacteriana), B1 (estirpe MT8) e B2 (estirpe MT15), em 4 repetições, totalizando 60 unidades experimentais.

3.2.1 Coleta e calagem

O solo foi coletado em área de abrangência do bioma Cerrado, localizada na Universidade Federal de Rondonópolis (Figura 2), classificado como Latossolo Vermelho distrófico (SANTOS et al., 2013), na profundidade de 0-20 cm, peneirado em peneira com malha de 4 mm acondicionados em sacos plásticos, e secos à sombra até atingir terra seca fina ao ar. No ato da coleta foi retirado uma amostra composta para análise químico-granulométrica, para fins de calagem e adubação.

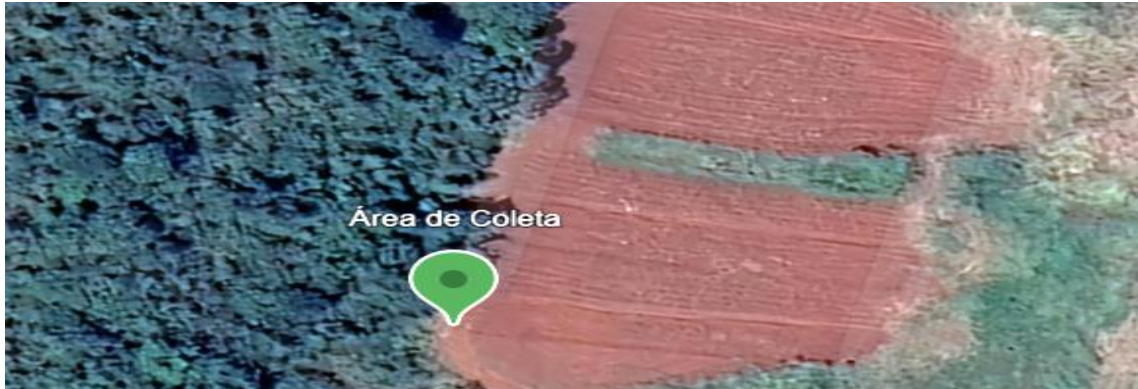


Figura 2 - Ponto de coleta do Latossolo Vermelho distrófico utilizado no experimento sob vegetação de Cerrado na camada de 0-20 cm de profundidade.

Tabela 1 - Caracterização química granulométrica de Latossolo Vermelho na camada de 0-20cm de profundidade.

pH	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	CTC	V	M.O.	Areia	Silte	Argila
CaCl ₂	mg dm ⁻³c	mol _c dm ⁻³	%g	kg ⁻¹
4,3	4,1	76,0	0,7	0,5	0,3	4,1	1,4	5,5	25	16,6	495	100	405

Conforme a necessidade, realizou-se o processo de calagem até atingir 60% da saturação por bases, adicionando calcário dentro dos sacos, em seguida umedecendo, vedados e incubados por um período de 30 dias (Figura 3), de acordo com a metodologia descrita por Bomfim-Silva et al. (2011).



Figura 3 - Latossolo Vermelho distrófico acondicionado em sacos plásticos em condições de terra fina seca ao ar procedendo-se o processo de calagem (adição de calcário e água).

Posterior ao período de incubação os sacos foram alocados em vasos com capacidade de 4 dm³ (Figura 4).

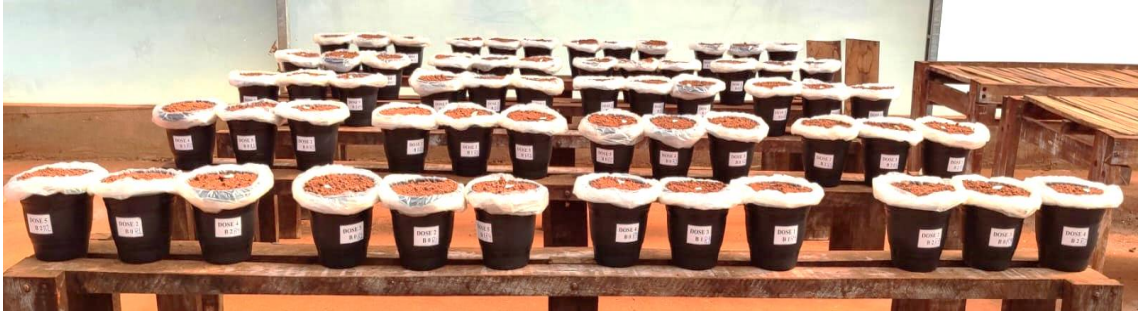


Figura 4 - Latossolo Vermelho distrófico distribuído em vasos de (4 dm^3) para execução do experimento.

3.2.2 Pulverização

O produto utilizado é registrado no Ministério da Agricultura e Planejamento - MAPA sob nº 02997 e segundo a bula a composição da calda comercial é de 1% a 2% do produto (equivalente a 2 e 4 g i.a. $\text{L}^{-1} \text{ ha}^{-1}$) com seletividade para controle de plantas daninhas dicotiledôneas de porte arbóreo, arbustivo e sub-arbustivo em áreas de pastagens na forma de concentrado solúvel, no experimento foi utilizado 1,5% da recomendação, correspondente (0, 3,7, 5,0, 6,2, e 7,5 g i.a $\text{L}^{-1} \text{ ha}^{-1}$)

A pulverização ocorreu seguindo as normas de segurança para aplicação de defensivos agrícolas da Norma regulamentadora NR 38.1 – Prevenção de Acidentes com Defensivos Agrícolas (Figura 5). Foi realizada no período matutino ao ar livre, obedecendo à ordem de aplicação da menor dose para maior dose, a fim de evitar contaminação em outros tratamentos.

O conjunto pulverizador utilizado foi pressurizado a CO_2 , com barra de pulverização munida com seis pontas de jato plano tipo leque Magno 11002 AD, espaçadas de 0,5m e posicionadas a 0,5m de altura em relação a superfície dos alvos. A velocidade de deslocamento foi de 4 km h^{-1} com consumo de calda correspondente a 200 L ha^{-1} . O equipamento foi operado com pressão constante de 2 bar.



Figura 5 - Pulverização dos tratamentos com o herbicida Picloram com o auxílio do pulverizador costal com jato plano tipo leque Magno 11002 AD.

3.2.3 Adubação, semeadura e desbaste

A adubação fosfatada (P_2O_5) e adubação potássica (K_2O) foram realizados em todos os tratamentos, nas doses de 150 mg dm^{-3} e 100 mg dm^{-3} , respectivamente no dia da semeadura da cultivar *Pennisetum glaucum* (milheto).

Foram semeadas 30 sementes de *Pennisetum glaucum* por vaso, após germinação (Figura 6) e estabelecimento das plantas ao atingir duas folhas, procedeu-se de desbaste, mantendo 5 plantas por vaso (Figura 7). A umidade do solo foi mantida de 60-80% da capacidade de vaso diariamente durante todo o período experimental (Figura 8), de acordo com a metodologia proposta por Bonfim-Silva et al., 2011.



Figura 6 - Germinação das sementes.



Figura 7 - Desbaste após o estabelecimento das plantas ao atingir 2 folhas com o intuito de manter 5 plantas por unidade experimental.



Figura 8 - Disponibilidade hídrica dos vasos.

3.2.4 Inoculação

Após 10 dias da emergência das plantas, foram inoculados os isolados bacterianos, através do preparo para a multiplicação das bactérias (estirpe MT8 e MT15) em meio YMA (Figura 9) durante 24 horas sob agitação de 100 rpm. Após, uma alíquota de 0,5 mL de caldo bacteriano contendo 10^8 células mL^{-1} foi aplicada nas proximidades da raiz das plantas (Figura 10).



Figura 9 - Meio YMA para multiplicação bacteriana.



Figura 10 - Inoculação dos tratamentos com o auxílio de uma pipeta automática.

3.3 Parâmetros Avaliados

O tempo de condução experimental foi de 50 dias, com avaliações de 15 em 15 dias, contados após 10 dias da inoculação com os isolados. Foram avaliados os seguintes parâmetros: fitointoxicação, altura de plantas, diâmetro do colmo, índice SPAD, número de folhas, massa fresca da parte aérea e raiz, massa seca da parte aérea e raiz, massa seca total (somatório da parte aérea total e raiz), carbono da biomassa microbiana e bactérias diazotróficas.

3.3.1. Fitointoxicação

Com objetivo de avaliar a toxidez do herbicida nas plantas foi avaliado a fitointoxicação aos 15, 30 e 45 dias após a inoculação.

Realizada de acordo com escala adaptada de notas de 0 a 100% de intoxicação (EWRC, 1964), e pelo modelo proposto pela Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas (SBCPD, 1995) em que 0% corresponde à ausência de intoxicação e 100% à morte da planta. Nessa escala, a nota foi atribuída de acordo com os sintomas de intoxicação por planta em relação ao tratamento controle (sem herbicida).

3.3.2 Altura de Plantas

A altura das plantas foram avaliadas após a inoculação com o auxílio de uma régua (Figura 11), medindo a partir da distância da superfície do solo até a extremidade do perfilho mais alto, obtendo-se um valor médio através das medidas obtidas das 5 plantas por unidade experimental.

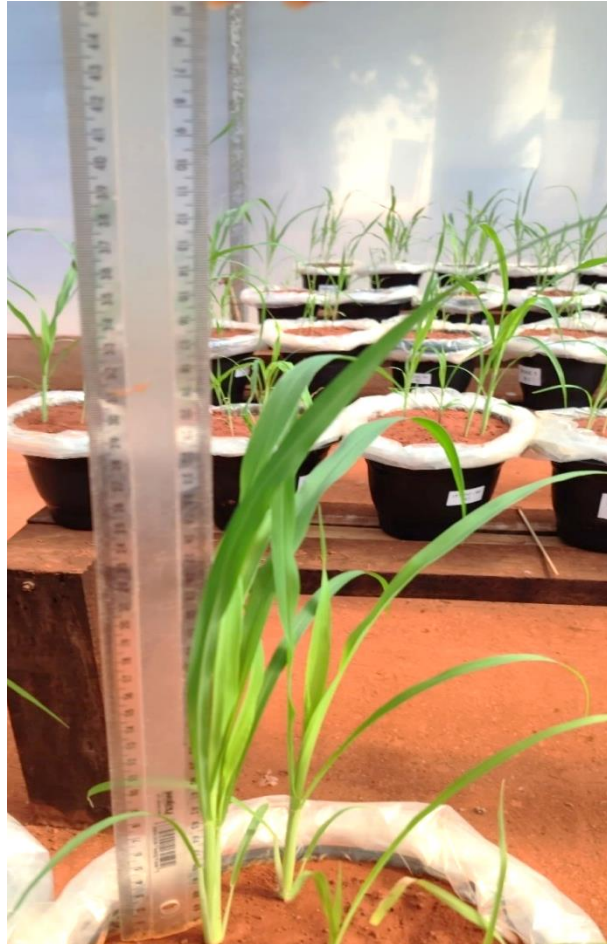


Figura 11 - Altura das plantas.

3.3.3 Diâmetro do Colmo

O diâmetro médio do colmo foi dado através do auxílio de um paquímetro (Figura 12).



Figura 12 - Diâmetro do colmo.

3.3.4 Índice SPAD

O índice de clorofila foi efetuado com o auxílio do clorofilômetro clorofiLOG® Falker. A leitura foi realizada no terço médio da lâmina foliar, na primeira folha abaixo da lígula visível (Figura 13).

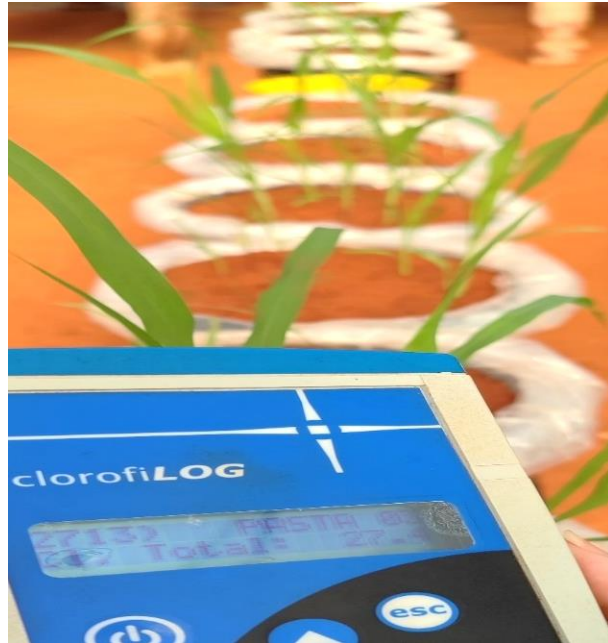


Figura 13 - Leitura do índice de clorofila com auxílio do clorofilômetro clorofiLOG® Falker.

3.3.5 Número de Folhas

Número de folhas foi realizado através da contagem por planta em cada unidade experimental.

3.3.6 Massa Fresca da Parte Aérea e Raiz

As plantas foram cortadas na altura do coleto e em seguida são pesadas, obtendo assim o valor da massa fresca da parte aérea (g) (Figura 14). As raízes foram coletadas (Figura 15), lavadas, e o excesso de umidade retirado em papel toalha e posteriormente pesadas em balança semi-analítica.



Figura 14 - Corte das plantas (separação da parte aérea).



Figura 15 - Separação das raízes.

3.3.7 Massa Seca da Parte Aérea e Raiz

Para determinação da massa seca, tanto da parte aérea quanto das raízes, as amostras foram alocadas em sacos de papel e levadas para secar em estufa (Figura 16) de circulação de ar (70 ± 2 °C) por 72 h, obtendo assim peso constante.



Figura 16 - Material em estufa para secagem.

3.3.8 Massa Seca Total

Massa seca total foi quantificada por meio do somatório dos valores de massa seca encontrado para parte aérea e a massa seca das raízes.

3.3.9 Carbono da Biomassa Microbiana

Para determinar o carbono da biomassa microbiana utilizou-se o método de colorimetria (Keeney; Nelson, 1982). A determinação ocorreu com base em dois processos: fumigação e da extração das amostras de solo (Figura 17), conforme proposto por Vance et al., (1987), sendo realizadas leituras colorimétricas posteriormente através do uso de um espectrofotômetro ajustado a 496nm.

Sendo necessário 5 g de amostra de solo de cada unidade experimental armazenadas em tubos Falcon de 50 mL, esse mesmo procedimento repetiu-se duas vezes, para que uma das amostras seja submetida a fumigação com adição de 0,25 mL de clorofórmio isento de álcool e a outra não, representando amostras de solo não-fumigadas, a partir desse momento o tratamento das amostras fumigadas e não-fumigadas são os mesmos. Os tubos com as amostras foram vedadas e armazenadas em local livre de luminosidade e com temperatura entre 25 a 28 °C para incubação por um período de 24 horas.

Após o período de incubação, os tubos foram abertos em capela de exaustão por uma hora para que o clorofórmio evaporasse, finalizando o processo de fumigação. Em seguida, adicionou-se 20 mL de solução extratora (sulfato de potássio) K_2SO_4 (0,5 M) em cada tubo, após foram levados ao agitador orbital a 220 rpm por 30 minutos, após esse período as amostras foram filtradas, obtendo-se o extrato.

Na análise de colorimetria do carbono da biomassa microbiana, foram acrescentados em tubos de ensaio com tampa, 1 mL do extrato da etapa anterior, adicionou-se 1 mL de solução Mn-pirofosfato de manganês que é composta por (água destilada; solução de pirofosfato de sódio; solução de ácido sulfúrico; solução de permanganato de potássio e solução de sulfato de manganês), 1 mL de ácido sulfúrico concentrado.

Na última adição, conforme coloca-se o ácido nos tubos os mesmos são passados no vórtex para completa homogenização, após foram fechados e encaminhados para local sem luminosidade por 16 horas.

O branco para análise foi feito com solução de sulfato de potássio 0,25 M, substituindo o extrato das amostras. Após às 16 horas procedeu-se a leitura em espectrofotômetro ajustado a 495 nanômetro de absorbância (KEENEY; NELSON, 1982).



Figura 17 - Processo de extração do carbono da biomassa microbiana.

A determinação das concentrações de carbono nas amostras ocorreu por meio da confecção de uma curva de calibração, sendo determinada por meio de uma solução de ácido oxálico diluída nas concentrações de 0, 5, 10, 20, 50, 100, 120, 150 e 200 mg de carbono (Figura 18).

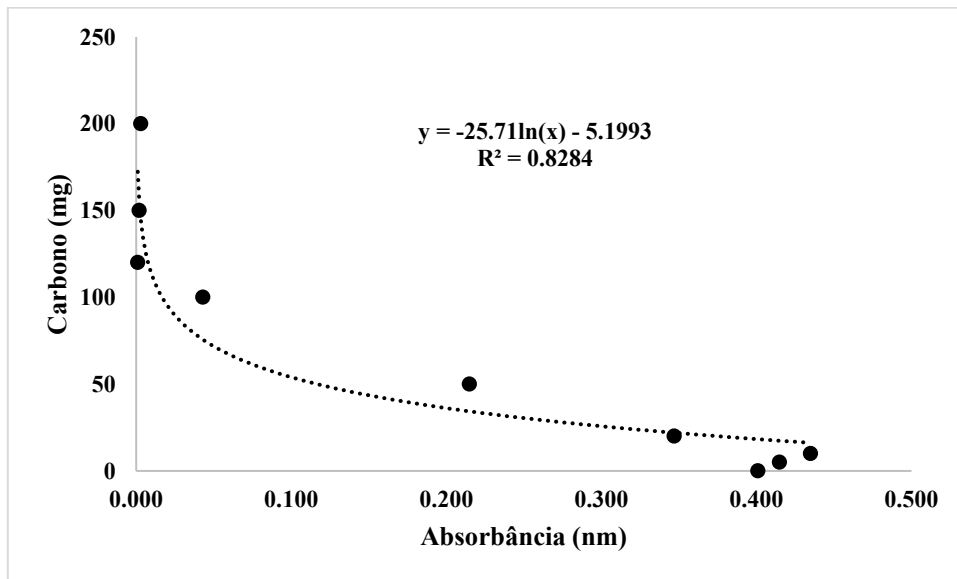


Figura 18 - Equação da absorbância versus concentração de carbono.

Após obtenção da equação, os valores passaram por cálculos até resultarem em $\mu\text{g g}^{-1}$ de solo.

$$C(\text{mgCL}^{-1} \text{ do extrato}) = CL * fd$$

CL = Concentração de C (mg L^{-1}) na solução de leitura;

fd = fator de diluição (3,0).

Através da equação gerada com auxílio do Excel, os valores de absorvância dados pelo espectrofotômetro foram submetidos a cálculos até resultarem em $\mu\text{g g}^{-1}$ de solo.

$$CS (mgCg^{-1})=(C*Vt1000)/MS$$

Vt = volume total do extrato (mL);

Ms = massa de solo seco.

$$Vt=VE+VS$$

VE = volume do extrato

VS = volume de água na amostra de solo (mL).

$$CBM(\mu g g^{-1})=CEKEC$$

CE = (Carbono orgânico extraído da amostra fumigada) – (Carbono orgânico extraído da amostra não-fumigada);

KEC = 0,38 (Fator de recuperação do carbono das amostras de solo).

3.3.10 Bactérias diazotróficas

Para se avaliar o desenvolvimento das bactérias diazotróficas foram preparados dois meios de cultura semi-específicos, sendo eles: NFb (utilizado para *Azospirillum* spp.) e JMV (utilizado para *Burkholderia* spp.). Esse processo utiliza-se do procedimento de diluição seriada descrita por (Döbereiner et al., 1995), realizando-se diluição seriada em solução salina (10^{-2} a 10^{-6}) (Figura 18), após o preparo do meio de cultura foram distribuídos 5 mL, posteriormente procederá a inoculação do meio com 0,1 mL de cada diluição seriada (10^{-2} a 10^{-6}), em triplicata. Os meios inoculados ficaram alocados em estufa para incubação, por um período que variou de 7 a 10 dias conforme a necessidade de cada bactéria em relação ao tempo de crescimento.



Figura 19 - Diluição seriada seguida de inoculação em tubos de penicilina contendo meio NFb

Depois do período de incubação, mudança de cor e a presença de uma lâmina esbranquiçada na parte central ou superior no meio de cultura é indicativo da presença de bactérias, sendo avaliadas como; crescimento positivo (+) para as amostras que resultaram em desenvolvimento bacteriano e negativo (-) para as amostras que não apresentaram desenvolvimento conforme mostra a Figura 9 (Döbereiner et al.,1995).

3.4 Estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo teste F a ($p < 0,10$), quando significativos foram submetidos ao teste de regressão para as doses de herbicida e teste Tukey para estirpes bacterianas até 10% de probabilidade através do programa estatístico SISVAR da Universidade Federal de Lavras (Ferreira, 2008).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Parâmetros avaliados

4.1.1 Fitointoxicação

A variável fitointoxicação não apresentou, na análise de variância, diferença estatística para interação entre os fatores de bactérias e aplicação de doses de herbicida pelo teste F até 10% de probabilidade, conforme consta na (Tabela 2). Todavia, aos 15, 30 e 45 dias após a inoculação (DAI) observou-se diferença significativa de forma isolada para o fator doses de herbicida a 0,05% de significância, com isso aplicou-se a análise de regressão onde as doses foram expressas pelo modelo quadrático, o qual apresentou melhor ajuste.

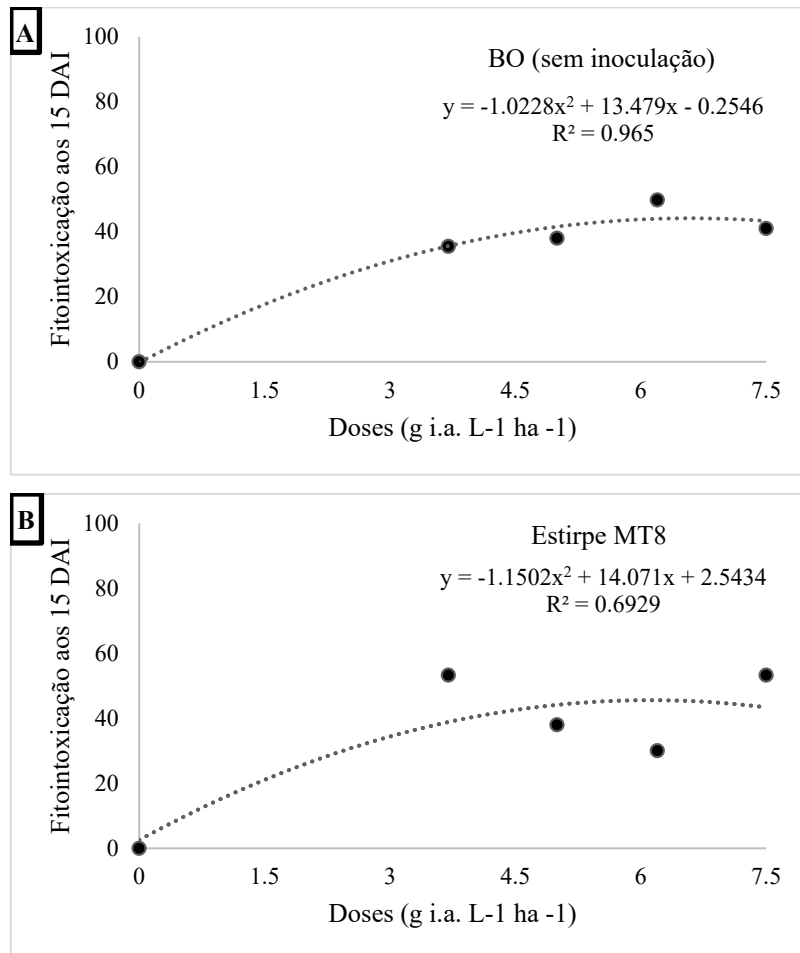
Tabela 2 - Resumo da análise de variância para avaliação da fitointoxicação visual das plantas aos 15, 30 e 45 dias após a inoculação (DAI).

Fator de variação	Fitointoxicação		
	15 DAI	30 DAI	45 DAI
Bactérias	0,6379 ^{ns}	0,3800 ^{ns}	0,3800 ^{ns}
Doses	0,0000 [*]	0,0000 [*]	0,0000 [*]
Bactérias x			
Doses	0,4342 ^{ns}	0,2983 ^{ns}	0,2983 ^{ns}
CV (%)	29,25	19,64	19,64
Lambda (λ)	$(\sqrt{x+0,5})$	$(\sqrt{x+0,5})$	$(\sqrt{x+0,5})$

(*) significativo até 10% de probabilidade ($p \leq 0,10$); (ns) não significativo ($p > 0,10$); (CV) coeficiente de variação; (Lambda λ) fator de transformação utilizado para tratar os dados.

Ao analisar o efeito isolado da aplicação das doses de herbicida, conforme o desdobramento dentro de cada nível das estirpes de bactérias diazotróficas (MT8 e MT15), houve diferença estatística aos 15, 30 e 45 DAI, no qual foi observado um aumento na fitointoxicação, independente da presença ou ausência das bactérias (Figura 19 A, B e C). Apesar de ocorrer um aumento da fitointoxicação, aos 30 DAI houve uma diminuição da fitointoxicação no tratamento com a estirpe MT8, em dados, aos 15 DAI a fitointoxicação era de aproximadamente 56,63%, aos 30 DAI foi de 47,66%.

Resultado este esperado, pois o herbicida picloram apresenta longa persistência, fato este proveniente de sua relativa solubilidade em água, fracamente adsorvido no solo e lentamente degradado no ambiente, considerado um herbicida com alto potencial de fitointoxicação (Inoue et al., 2003; Fairchild et al., 2009; Paulo et al., 2020).



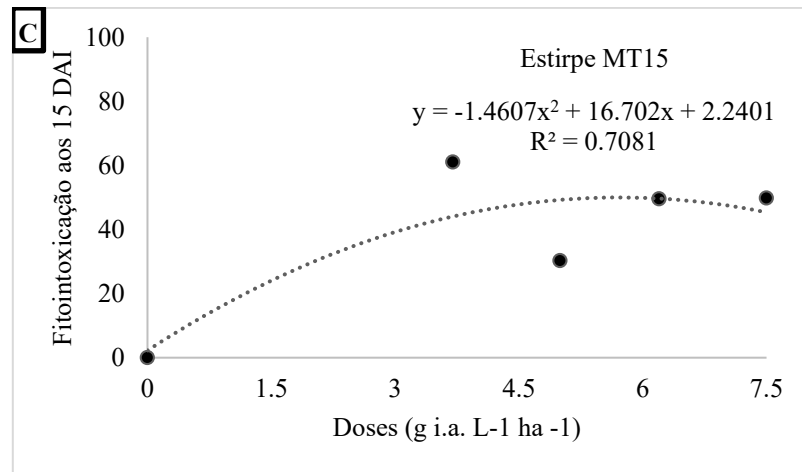
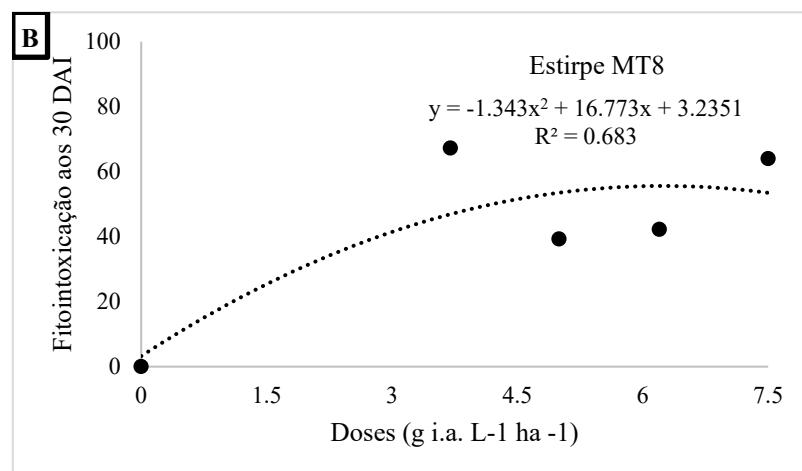
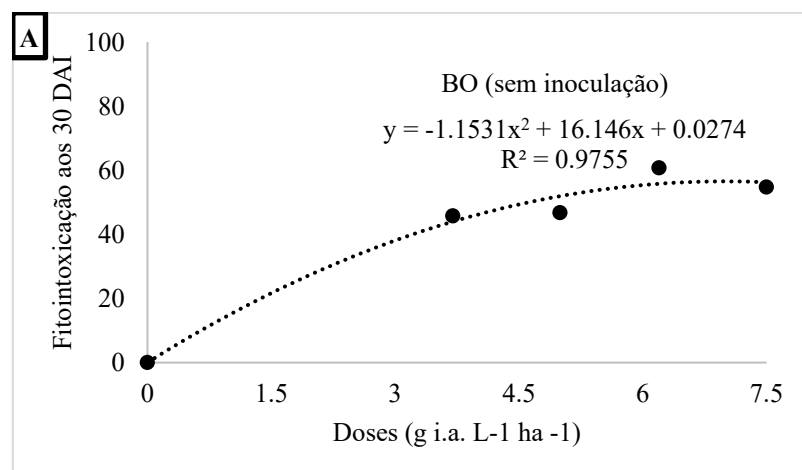
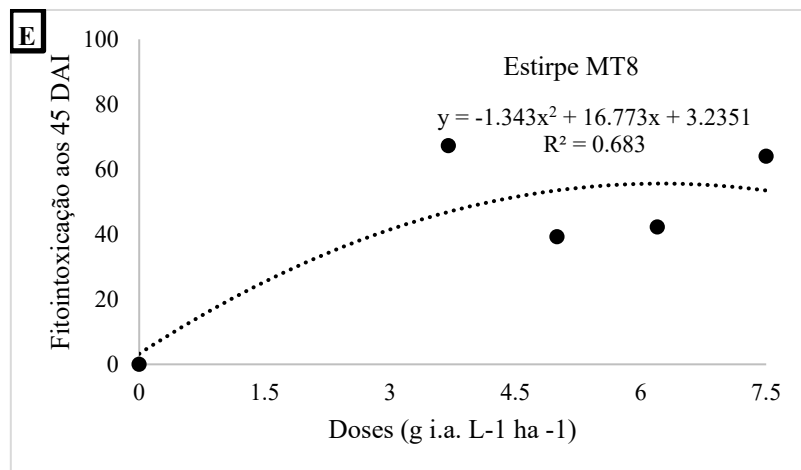
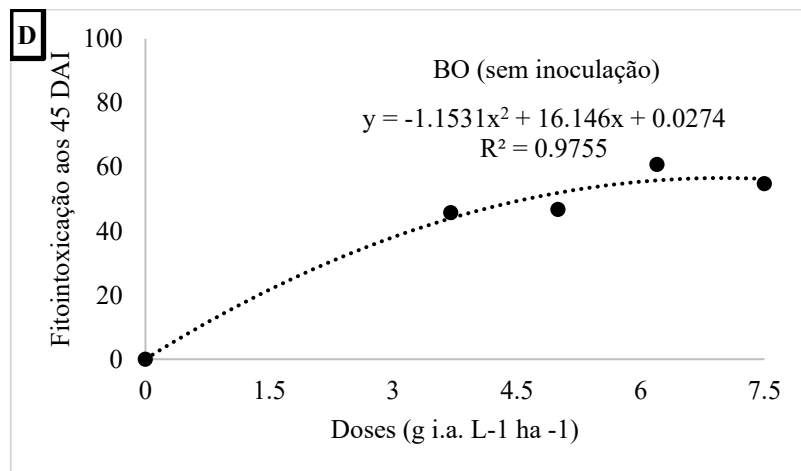
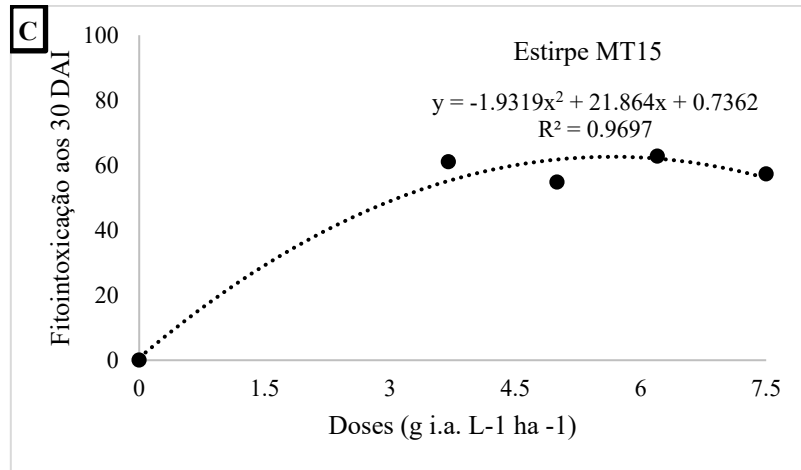


Figura 20 - Análise visual de fitointoxicação aos 15 DAI das doses de herbicida em função dos tratamentos BO sem inoculação (A), MT8 (B) e MT15 (C).

Aos 30 e 45 DAI foi observado que houve intensificação do nível de fitointoxicação (Figura 20 A, B, C, D, E, F).





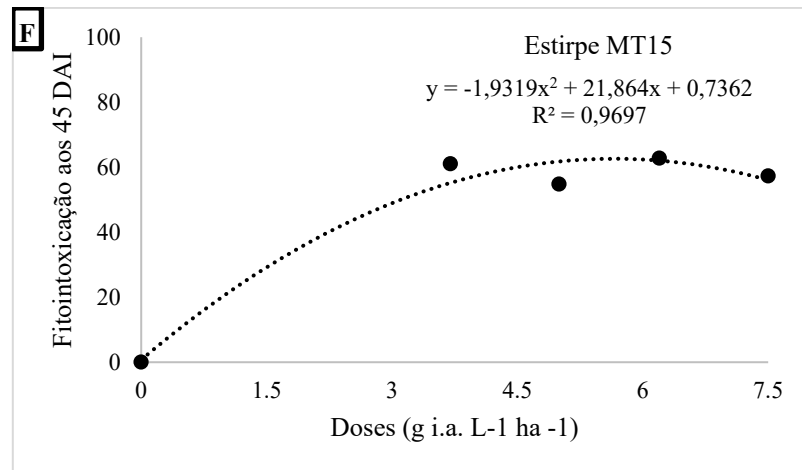


Figura 21 – Análise visual de fitointoxicação aos 30 DAI das doses de herbicida em função dos tratamentos B0 sem inoculação (A), MT8 (B) e MT15 (C) e aos 45 DAI (D), (E) e (F).

4.1.2 Altura de plantas

A variável altura de plantas não apresentou, na análise de variância, diferença estatística para interação entre os fatores de bactérias e doses de herbicida pelo teste F até 10% de probabilidade aos 15 e 30 DAI, no entanto aos 45 DAI houve diferença significativa a 0,05% de significância, conforme (Tabela 3), com isso aplicou-se teste análise de regressão para as doses de herbicida, sendo expressas pelo modelo linear, o que apresentou melhor ajuste e teste Tukey para comparativo de médias do fator bactérias.

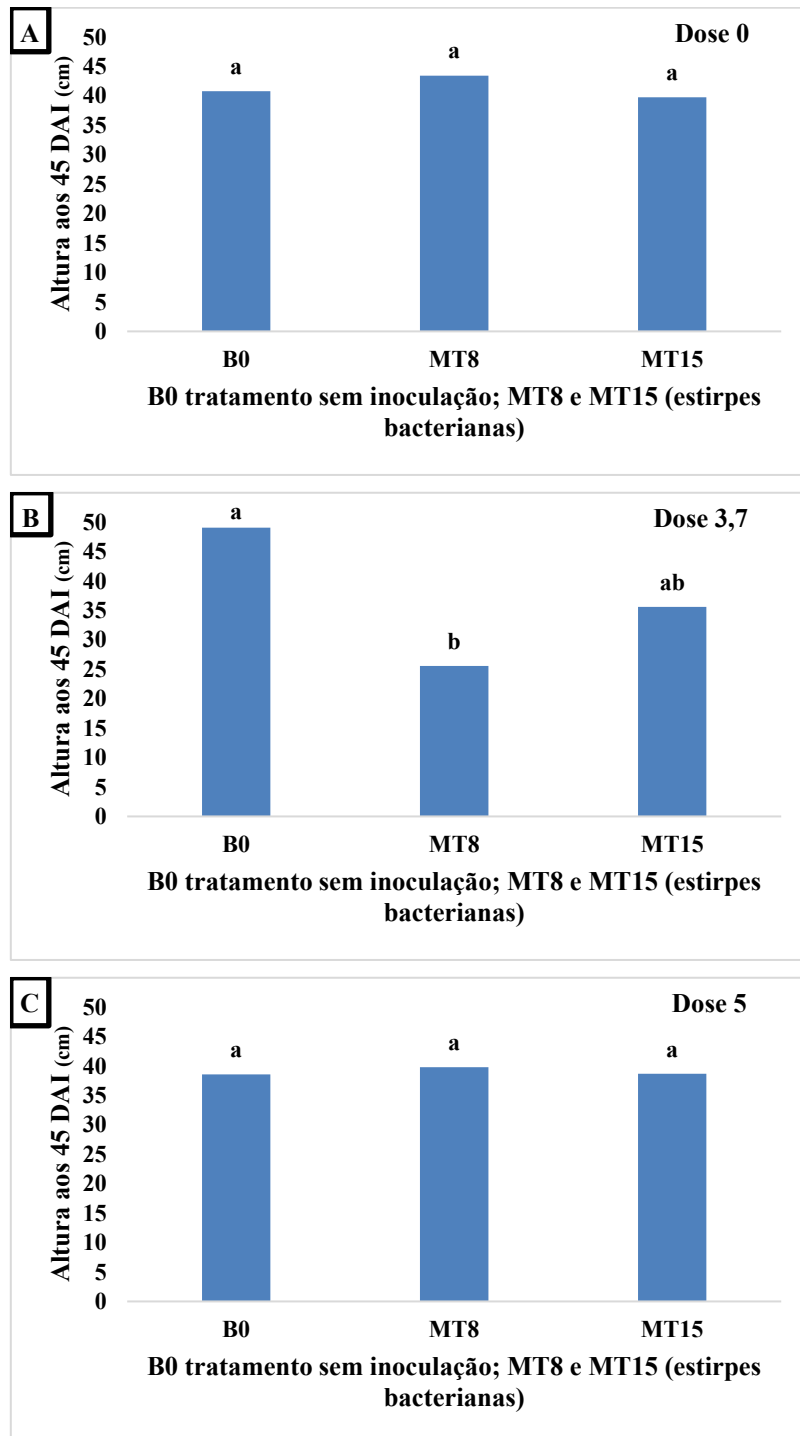
Tabela 3 - Resumo da análise de variância para avaliação da altura de plantas aos 15, 30 e 45 dias após a inoculação (DAI).

Fator de variação	Altura de plantas		
	15 DAI	30 DAI	45 DAI
Bactérias	0,6620 ^{ns}	0,6899 ^{ns}	0,9160 ^{ns}
Doses	0,1900 ^{ns}	0,7251 ^{ns}	0,7263 ^{ns}
Bactérias x Doses	0,4598 ^{ns}	0,0829 [*]	0,0440 [*]
CV (%)	14,67	26,22	24,21
Lambda (λ)	($\sqrt{x+0,5}$)	-	-

(*) significativo até 10% de probabilidade ($p \leq 0,10$); (ns) não significativo ($p > 0,10$); (CV) coeficiente de variação; (Lambda λ) fator de transformação utilizado para tratar os dados.

Ao analisar o desdobramento das bactérias dentro de cada nível, observou-se que para dose de 3,7, ocorreu as menores médias quando comparado com as outras doses, no entanto nota-se um reestabelecimento dessas médias com o aumento das doses, apesar de não apresentar diferença estatística, embora na dose de 6,2 a 0,10% de significância, apresentou diferença

estatística, tendo as maiores médias nos tratamentos que receberam inoculação com as estirpes MT8 e MT15, esse resultado pode estar atrelado pelo fato das bactérias serem promotoras de crescimento vegetal (Glick, 2012; Santos, 2010). Com exceção da dose 3,7 Figura 21 B, as médias foram uniformes, sugerindo que as doses não interferiram na altura das plantas.



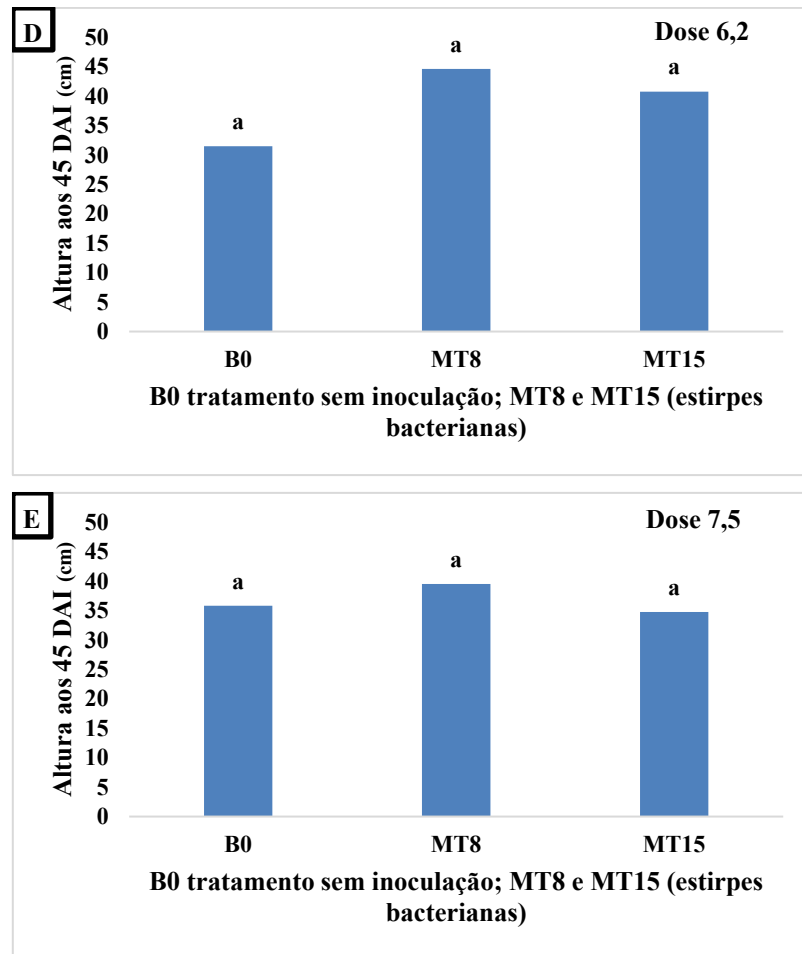


Figura 22 – Altura das plantas aos 45 DAI dos tratamentos B0 sem inoculação, MT8 e MT15 (estirpes bacterianas) em função das doses de herbicida 0 (A), 3,7 (B), 5 (C), 6,2 (D) e 7,5 (E).

As análises estatísticas revelaram uma variação significativa na altura das plantas em resposta às doses de herbicida, ao analisar o desdobramento das doses dentro de cada nível de bactérias foi constatado na Figura 21 (A), altura máxima na dose resposta de 2,34 g i.a. L⁻¹ ha⁻¹ resultado encontrado ao derivar a equação do modelo quadrático, em contraste, na Figura 21 (B) pode observar que a altura máxima foi encontrada na dose resposta de 3,56 g i.a. L⁻¹ ha⁻¹, Figura 21 (C) a altura máxima foi encontrada na dose 0.

O tratamento com a estirpe MT8 confere uma maior resistência ao herbicida não apresentando diminuição da altura a partir da dose mais baixa até a mais alta. Corroborando com o resultado encontrado no trabalho de D'Antonino et al., 2012, onde os achados foram que o herbicida picloram residual no solo reduz o crescimento de plantas de café recentemente transplantadas, com maior risco em pH mais alto do solo.

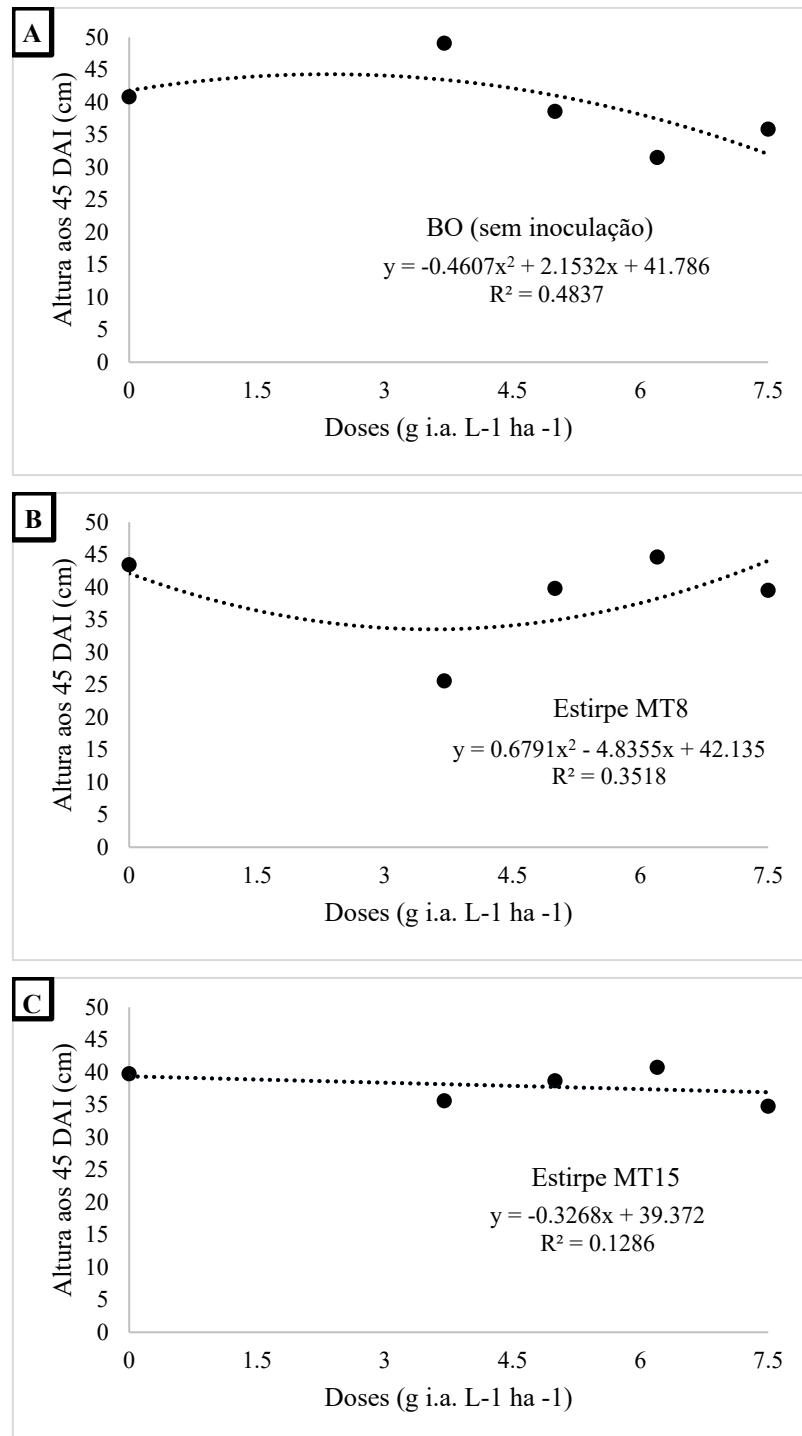


Figura 23 – Altura das plantas aos 45 DAI das doses de herbicida em função dos tratamentos B0 sem inoculação (A), MT8 (B) e MT15 (C).

4.1.3 Diâmetro do colmo

A variável diâmetro do colmo apresentou, na análise de variância, diferença estatística para interação entre os fatores de bactérias e doses de herbicida pelo teste F a 5% de significância, conforme mostra na (Tabela 4).

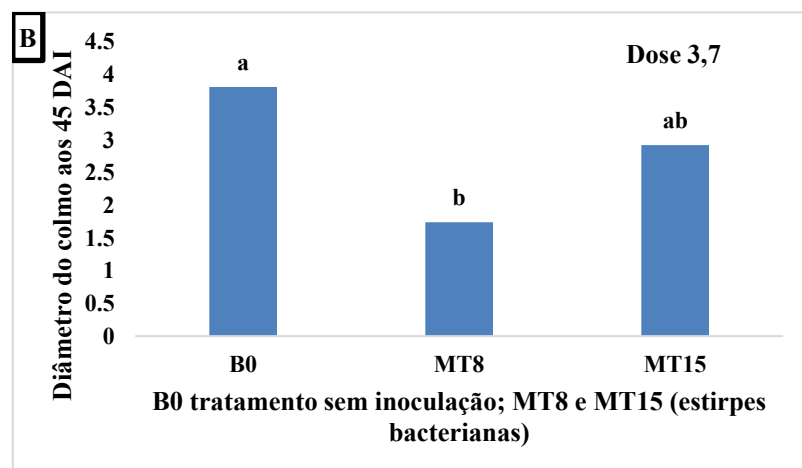
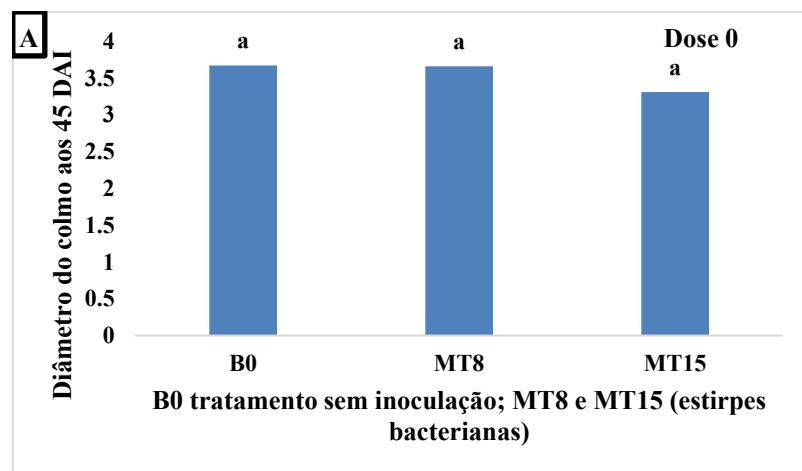
Tabela 4 - Resumo da análise de variância para avaliação do diâmetro do colmo aos 15, 30 e

45 dias após a inoculação (DAI).

Fator de variação	Diâmetro do colmo		
	15 DAI	30 DAI	45 DAI
Bactérias	0,6698 ^{ns}	0,8499 ^{ns}	0,2480 ^{ns}
Doses	0,1853 ^{ns}	0,2981 ^{ns}	0,8763 ^{ns}
Bactérias x Doses	0,1271 ^{ns}	0,3435 ^{ns}	0,0254 [*]
CV (%)	12,54	12,71	25,50
Lambda (λ)	$(\sqrt{x+0,5})$	$(\sqrt{x+0,5})$	-

(*) significativo até 10% de probabilidade ($p \leq 0,10$); (ns) não significativo ($p > 0,10$); (CV) coeficiente de variação; (Lambda λ) fator de transformação utilizado para tratar os dados.

Ao analisar o desdobramento das bactérias dentro de cada nível de doses foi utilizado o teste de médias Tukey até 0,10% de significância, para a dose de 3,7 para os tratamentos com as estirpes bacterianas constou médias reduzidas em relação ao tratamento sem inoculação, no entanto na dose de 6,2 os tratamentos com as estirpes bacterianas possibilitou as maiores média de diâmetro do colmo quando comparado com o tratamento sem inoculação.



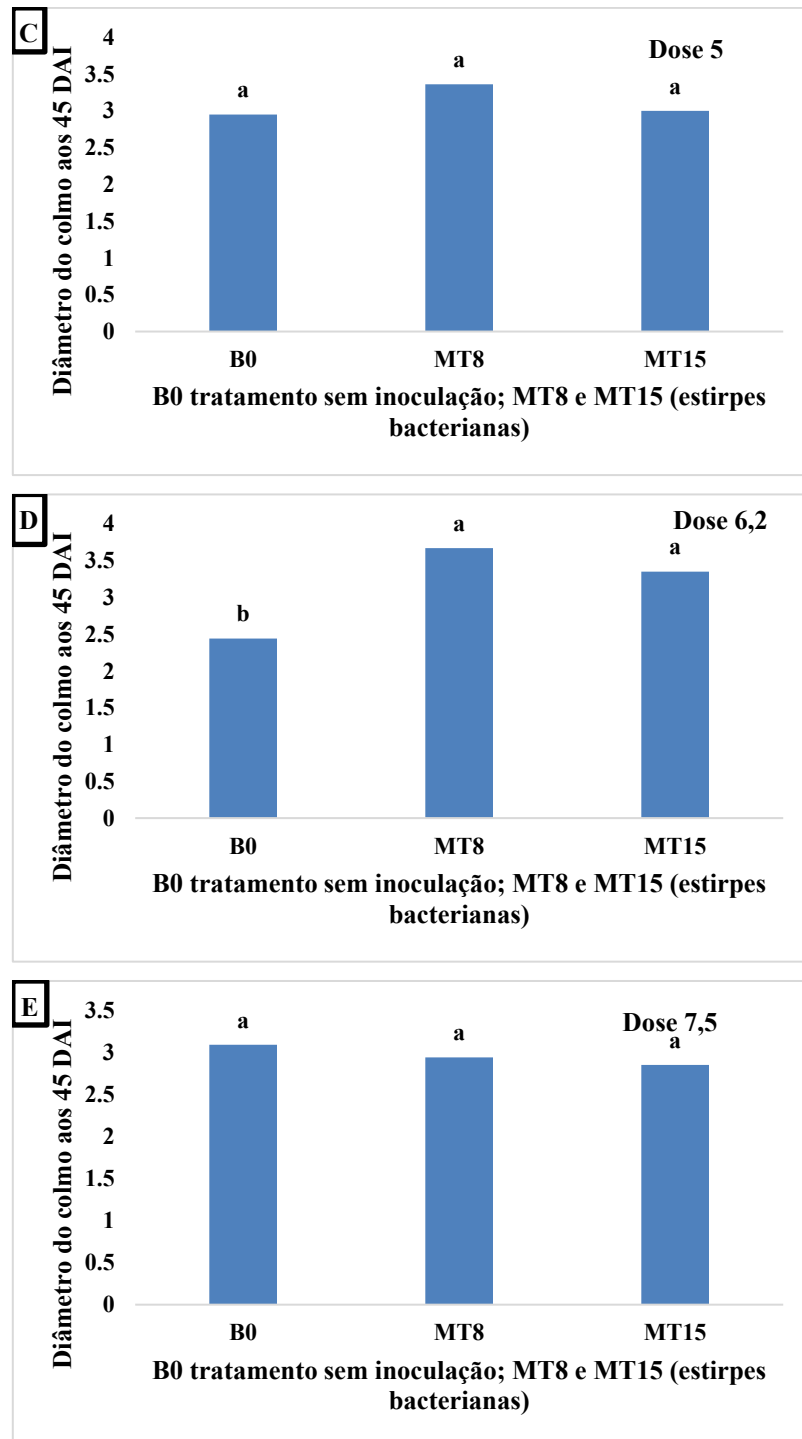


Figura 24 – Diâmetro do colmo aos 45 DAI dos tratamentos B0 sem inoculação, MT8 e MT15 (estirpes bacterianas) em função das doses de herbicida 0 (A), 3,7 (B), 5 (C), 6,2 (D) e 7,5 (E).

Ao analisar o desdobramento das doses dentro de cada nível de bactérias utilizou-se regressão com os modelos matemáticos linear e quadrático, assumindo o que melhor ajustava-se aos dados, foi encontrado ao derivar as equações a dose resposta para cada gráfico, sendo de 5 g i.a. L⁻¹ ha⁻¹ correspondente ao tratamento sem inoculação, atingindo o diâmetro máximo de 3,5cm, como consta na Figura 24 (A), Figura 24 (B) e (C) a dose resposta encontrada foi de

3,82 e 6,88 g i.a. L⁻¹ ha⁻¹ respectivamente.

Resultado que infere que a inoculação com a estirpe MT15 conferiu uma maior resistência ao herbicida, permitindo que o diâmetro do colmo só decresse a partir da dosagem máxima de aplicação do herbicida utilizada no experimento.

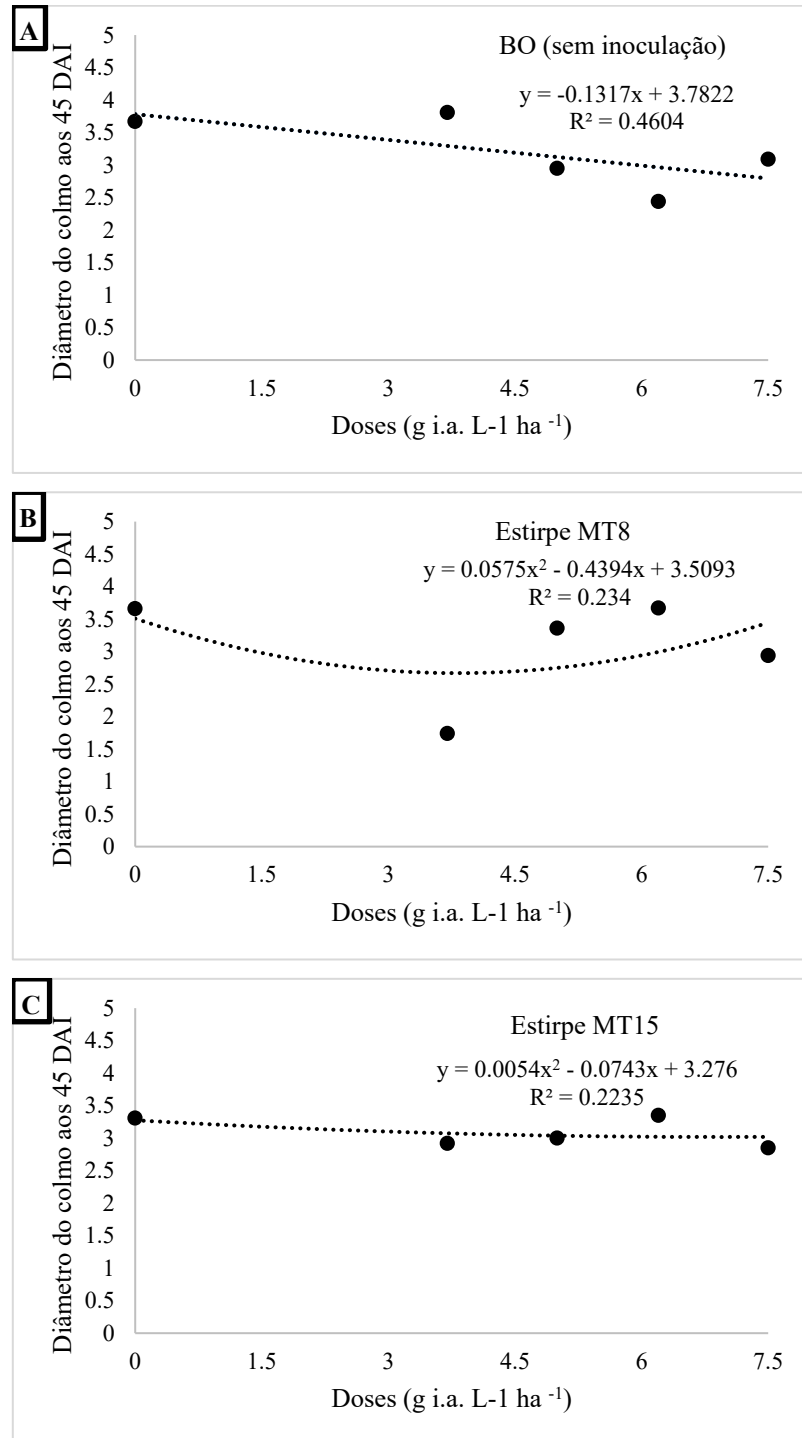


Figura 25 – Diâmetro do colmo aos 45 DAI das doses de herbicida em função dos tratamentos B0 sem inoculação (A), MT8 (B) e MT15 (C).

4.1.4 Índice de clorofila SPAD

A variável índice de clorofila SPAD não apresentou, na análise de variância, diferença estatística para interação entre os fatores de bactérias e doses de herbicida pelo teste F até 10% de significância, conforme mostra na (Tabela 5).

Tabela 5 - Resumo da análise de variância para avaliação do índice de clorofila SPAD aos 15, 30 e 45 dias após a inoculação (DAI).

Fator de variação	Índice SPAD		
	15 DAI	30 DAI	45 DAI
Bactérias	0,3938 ^{ns}	0,8475 ^{ns}	0,1084 ^{ns}
Doses	0,3976 ^{ns}	0,8238 ^{ns}	0,9566 ^{ns}
Bactérias x Doses	0,2098 ^{ns}	0,4912 ^{ns}	0,9628 ^{ns}
CV (%)	19,47	14,27	21,97
Lambda (λ)	-	-	-

(*) significativo até 10% de probabilidade ($p \leq 0,10$); (ns) não significativo ($p > 0,10$); (CV) coeficiente de variação; (Lambda λ) fator de transformação utilizado para tratar os dados.

4.1.5 Número de folhas

A variável número de folhas apresentou diferença estatística para interação entre os fatores de bactérias e doses de herbicida pelo teste F até 10%, na análise de variância, sendo nas avaliações aos 45 DAI, significativo a 0,05% de significância como pode ser observado na (Tabela 6), sendo que houve significância para o fator doses de herbicida isoladamente a 10% de significância.

Tabela 6 - Resumo da análise de variância para avaliação número de folhas aos 15, 30 e 45 dias após a inoculação (DAI).

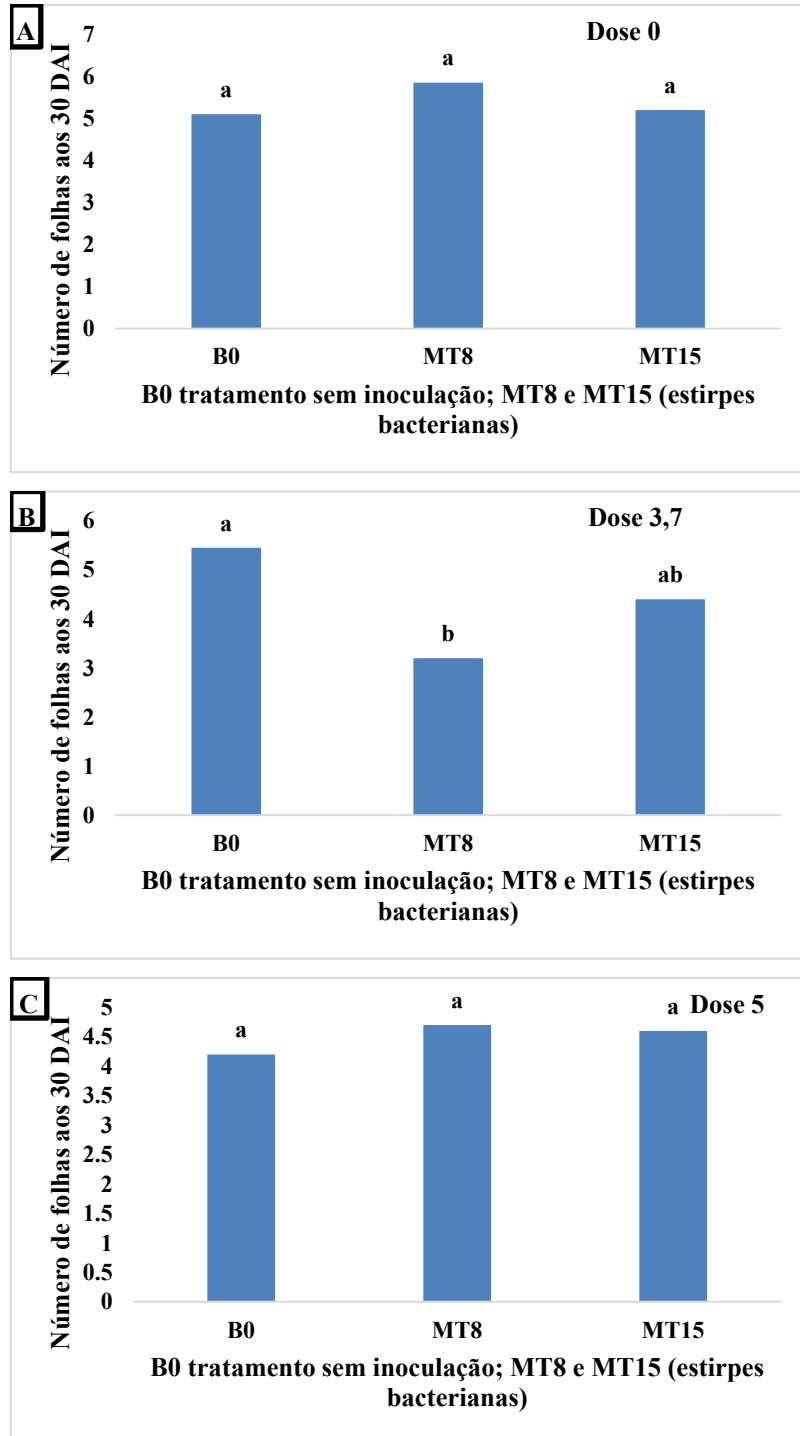
Fator de variação	Número de folhas		
	15 DAI	30 DAI	45 DAI
Bactérias	0,7136 ^{ns}	0,7645 ^{ns}	0,1445 ^{ns}
Doses	0,1513 ^{ns}	0,0999 [*]	0,0262 [*]
Bactérias x Doses	0,2285 ^{ns}	0,0782 [*]	0,3933 ^{ns}
CV (%)	19,52	23,55	17,06
Lambda (λ)	-	-	-

(*) significativo até 10% de probabilidade ($p \leq 0,10$); (ns) não significativo ($p > 0,10$); (CV) coeficiente de variação; (Lambda λ) fator de transformação utilizado para tratar os dados.

Ao analisar o desdobramento das bactérias dentro de cada nível de doses de herbicida, foi utilizado o teste de médias Tukey até 0,10% de significância, na dose de 3,7 foi o tratamento que possibilitou número de folhas inferior ao tratamento controle, enquanto na dose de 6,2 o

tratamento controle e o tratamento com a estirpe MT15 resultou em número de folhas menor quando comparado com o tratamento com a estirpe MT8.

No trabalho de Brennecke et al., 2016 constatou que a inoculação com estirpe bacteriana resulta em beneficiamentos as plantas, como por exemplo alongamento do caule bem como aumento no número de folhas.



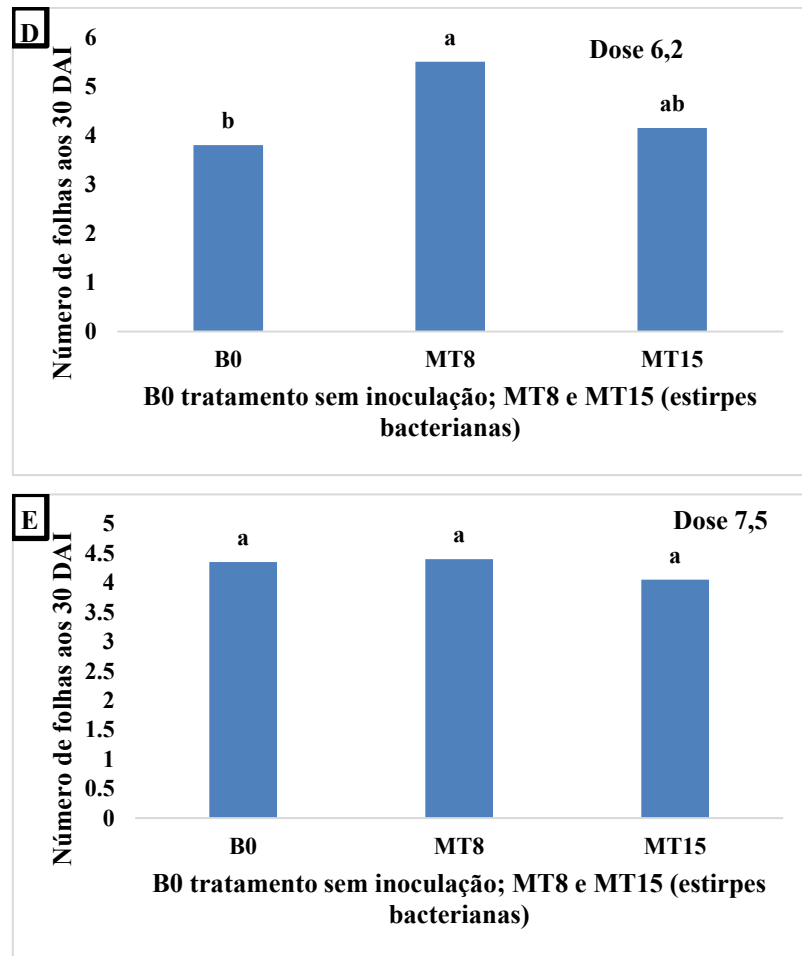


Figura 26 – Número de folhas aos 30 DAI dos tratamentos B0 sem inoculação, MT8 e MT15 (estirpes bacterianas) em função das doses de herbicida 0 (A), 3,7 (B), 5 (C), 6,2 (D) e 7,5 (E).

Ao analisar o desdobramento das doses dentro de cada nível de bactéria, assumindo modelo matemático linear ou quadrático o que melhor ajustar aos dados, para o tratamento sem inoculação bacteriana aos 30 DAI a dosagem resposta ao derivar a equação é de $1,61 \text{ g i.a. L}^{-1} \text{ ha}^{-1}$ (Figura 27 A), enquanto para estirpe MT8 foi de $4,78 \text{ g i.a. L}^{-1} \text{ ha}^{-1}$ (Figura 27 B), já o tratamento com a estirpe MT15 o decréscimo no número de folhas é a partir da dose 0, assumindo uma linha linear a medida que aumenta a dose diminui o número de folhas (Figura 27 C).

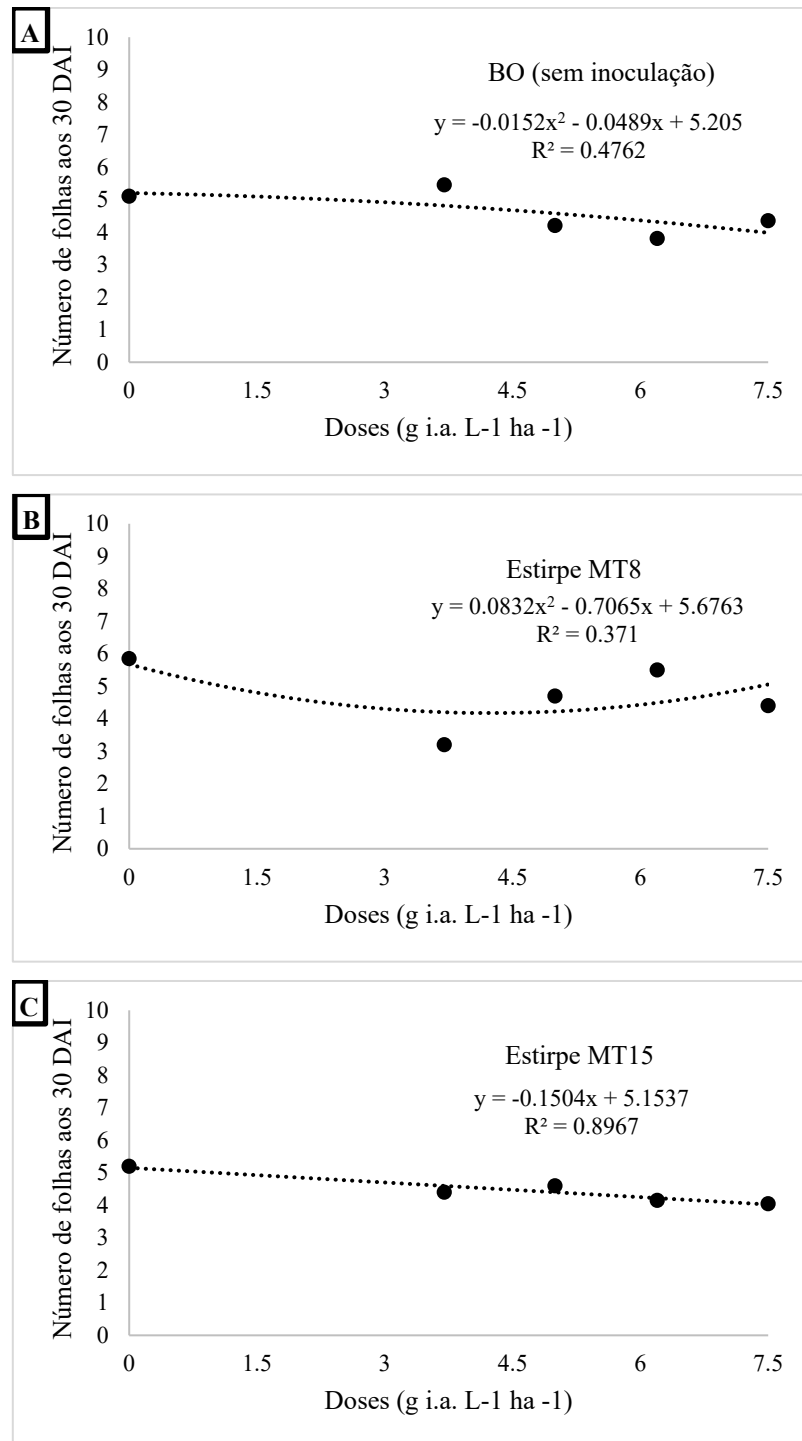
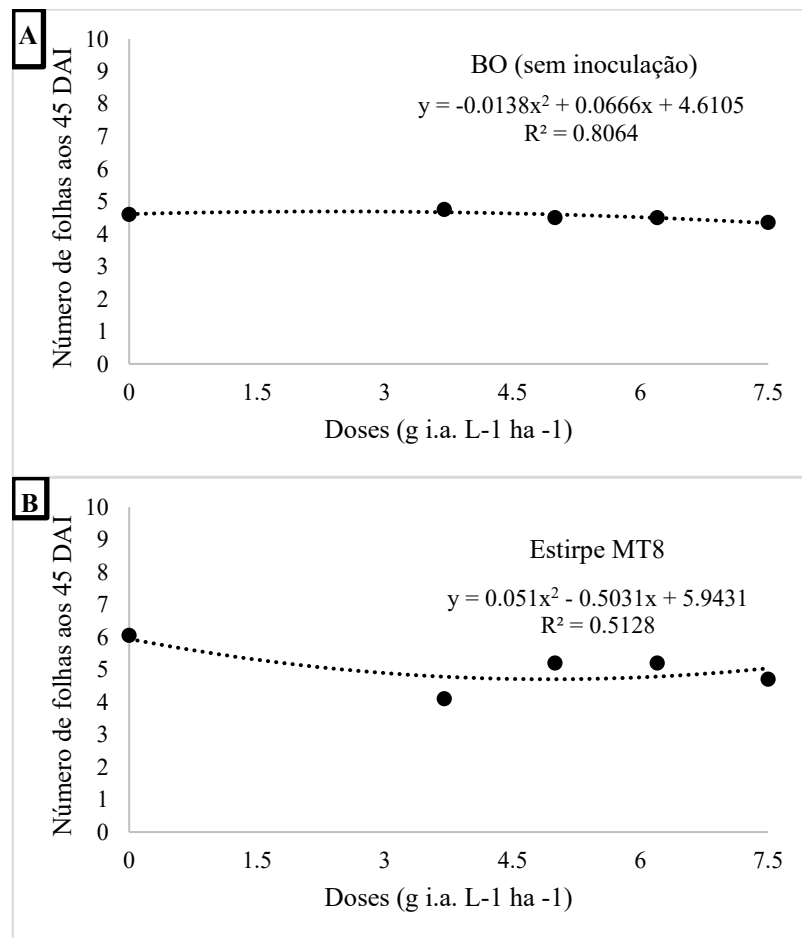


Figura 27 – Número de folhas aos 30 DAI das doses de herbicida em função dos tratamentos B0 sem inoculação (A), MT8 (B) e MT15 (C).

Aos 45 DAI (Figura 28 A) para o tratamento sem inoculação bacteriana a dosagem resposta ao derivar a equação é de 2,41 g i.a. L⁻¹ ha⁻¹, enquanto para estirpe MT8 foi de 4,93 g i.a. L⁻¹ ha⁻¹ (Figura 27 B), já o tratamento com a estirpe MT15 o decréscimo no número de folhas é a partir da dose 0, assumindo uma linha linear a medida que aumenta a dose diminui o número de folhas (Figura 27 C).

Fato atribuído ao efeito tóxico do herbicida picloram que interfere diretamente no bem desenvolver da planta, por se tratar de um composto que causa desordem celular, o resultado de número de folhas reduzidos está atrelado a resposta fisiológica da planta indicando condições desfavoráveis para seu desenvolvimento. No trabalho de Timossi et al., 2020 e Silva & Paulino, 2024 ambos obtiveram resultados negativos em relação ao efeito residual do herbicida picloram, como por exemplo impedimento da emergência e crescimento, redução da germinação e comprimento de raiz.



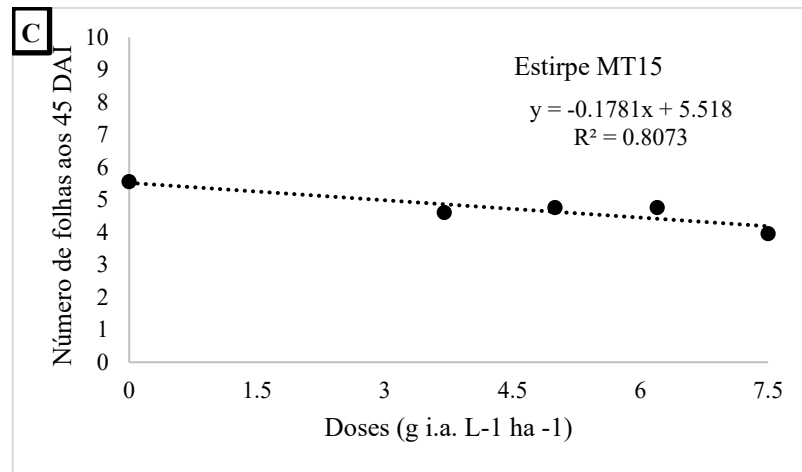


Figura 28 – Número de folhas aos 45 DAI das doses de herbicida em função dos tratamentos B0 sem inoculação (A), MT8 (B) e MT15 (C).

4.1.6 Massa fresca da parte aérea e raiz

As variáveis massa fresca da parte aérea e raiz, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p < 0.10$), conforme consta na tabela 7, resumo da análise de variância.

Tabela 7 - Resumo das análises de variância para as variáveis massa fresca da parte aérea e raiz (MFPA e MFPR respectivamente).

Fator de variação	MFPA	MFPR
Bactérias	0,5071 ^{ns}	0,3052 ^{ns}
Doses	0,4731 ^{ns}	0,7437 ^{ns}
Bactérias x Doses	0,1442 ^{ns}	0,2167 ^{ns}
CV (%)	23,11	24,52
Lambda (λ)	($\sqrt{x+0,5}$)	($\sqrt{x+0,5}$)

(*) significativo até 10% de probabilidade ($p \leq 0,10$); (ns) não significativo ($p > 0,10$); (CV) coeficiente de variação; (Lambda λ) fator de transformação utilizado para tratar os dados.

4.1.7 Massa seca da parte aérea e raiz

Ao analisar as variáveis supracitadas constou diferença estatística para a interação entre os fatores bactérias e doses de herbicida pelo teste F até 10% de probabilidade, como consta na tabela de análise de variância (Tabela 8), para a variável massa seca da parte aérea.

Tabela 8 - Resumo das análises de variância para as variáveis massa seca da parte aérea e raiz (MSPA e MSPR respectivamente).

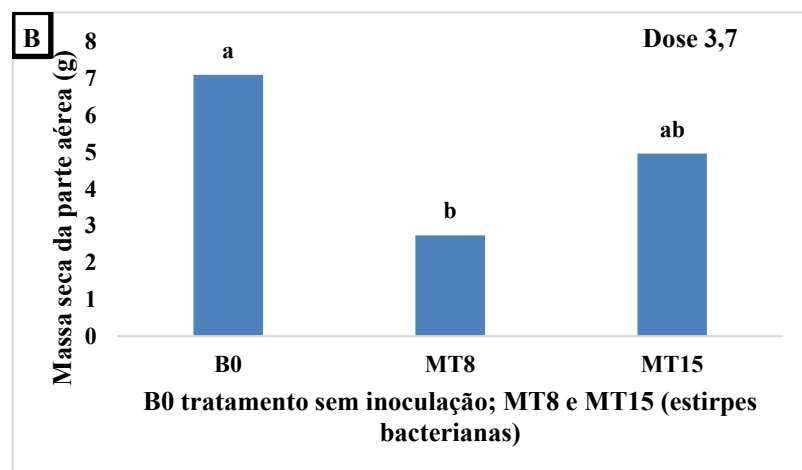
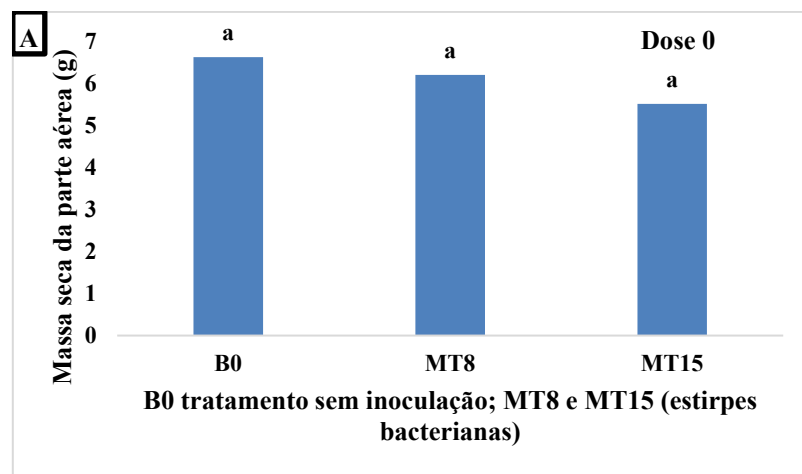
Fator de variação	MSPA	MSPR
Bactérias	0,5735 ^{ns}	0,6609 ^{ns}

Doses	0,7428 ^{ns}	0,6817 ^{ns}
Bactérias x Doses	0,0665 [*]	0,3040 ^{ns}
CV (%)	21,05	21,10
Lambda (λ)	$(\sqrt{x+0,5})$	$(\sqrt{x+0,5})$

(*) significativo até 10% de probabilidade ($p \leq 0,10$); (ns) não significativo ($p > 0,10$); (CV) coeficiente de variação; (Lambda λ) fator de transformação utilizado para tratar os dados.

Ao analisar o desdobramento das bactérias dentro de cada nível de doses de herbicida, foi utilizado o teste de médias Tukey até 0,10% de significância, na análise mostra que a inoculação com a estirpe MT15 tende a resultar em uma maior massa seca da parte aérea das em todas as doses, apesar de não apresentar diferença estatística em relação ao tratamento sem inoculação, com exceção da dose 6,2 onde a MT15 se sobressaiu significativamente.

Por se tratar de bactérias que realizam fixação de nitrogênio, conseqüentemente promovem o crescimento vegetal, logo promove maior massa seca em relação ao tratamento sem inoculação (Marques et al., 2013).



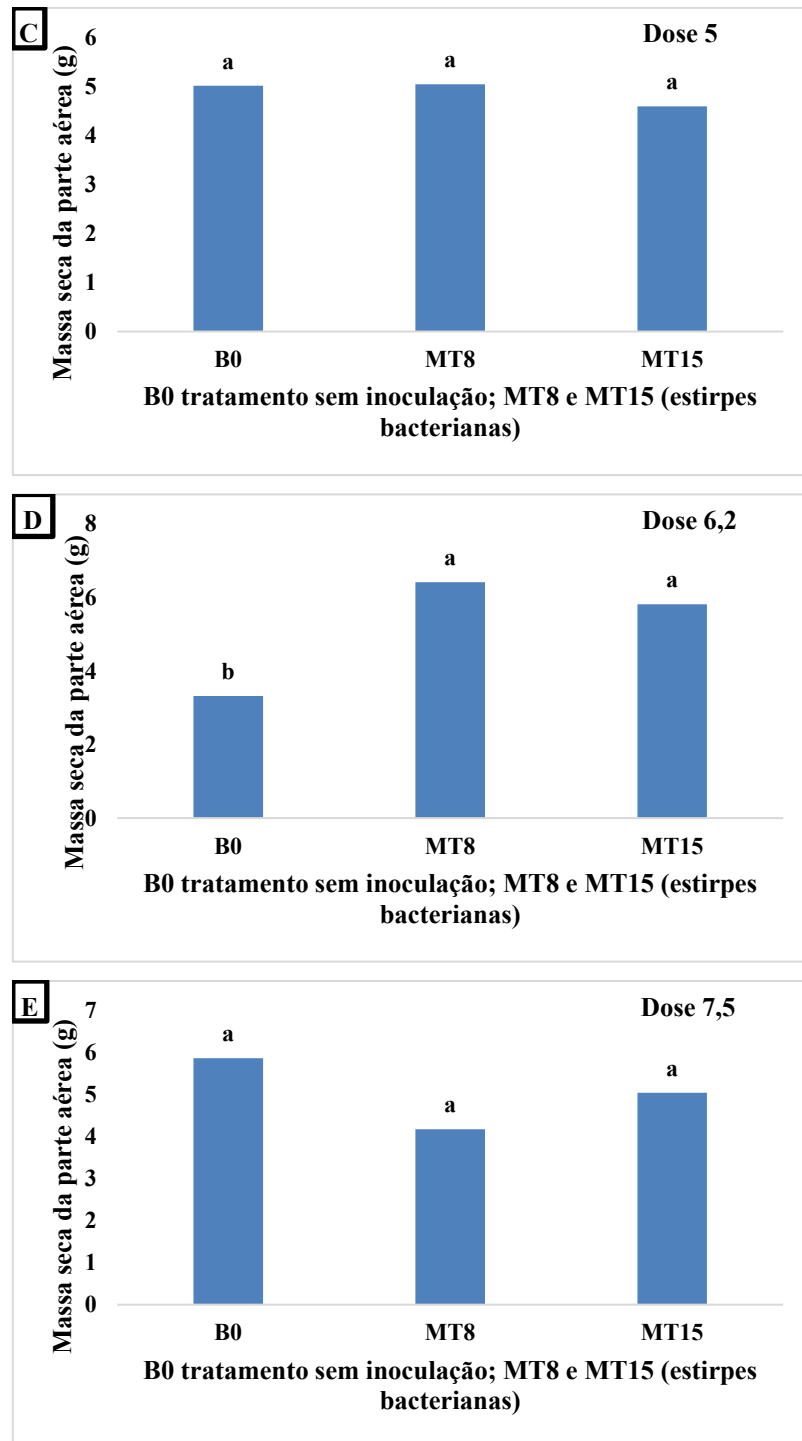


Figura 29 – Massa seca da parte aérea dos tratamentos B0 sem inoculação, MT8 e MT15 (estirpes bacterianas) em função das doses de herbicida 0 (A), 3,7 (B), 5 (C), 6,2 (D) e 7,5 (E).

Ao analisar o desdobramento das doses dentro de cada nível de bactéria, assumindo modelo matemático linear ou quadrático, analisando a correlação dos resultados com as doses de herbicida, implica dizer que o tratamento sem inoculação e a inoculação com a estirpe MT15 possuem moderada influência na resposta ao herbicida, enquanto que os tratamentos com a estirpe MT8 possui uma correlação fraca. Neste sentido, a diferença da massa seca máxima

obtida na presença da MT15 é de um 1,73 gramas superior ao tratamento sem inoculação.

Resultado atrelado a complexidade das interações entre as plantas e microrganismos em condições de estresse químico, pesquisas mostram que a inoculação bacteriana pode aumentar o crescimento das plantas em várias condições, incluindo solos contaminados por herbicidas. A inoculação de *Bacillus subtilis* aumentou a produção de matéria seca nas partes aéreas do milho e melhorou o teor de fósforo e nitrogênio no tecido foliar (de Araújo, 2008).

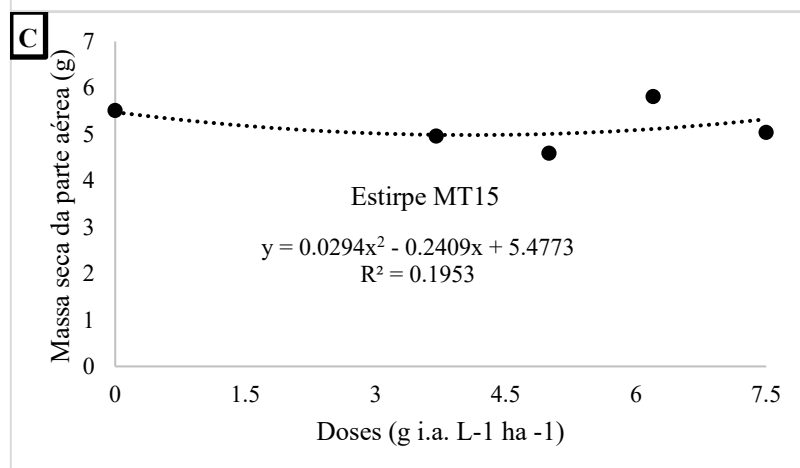
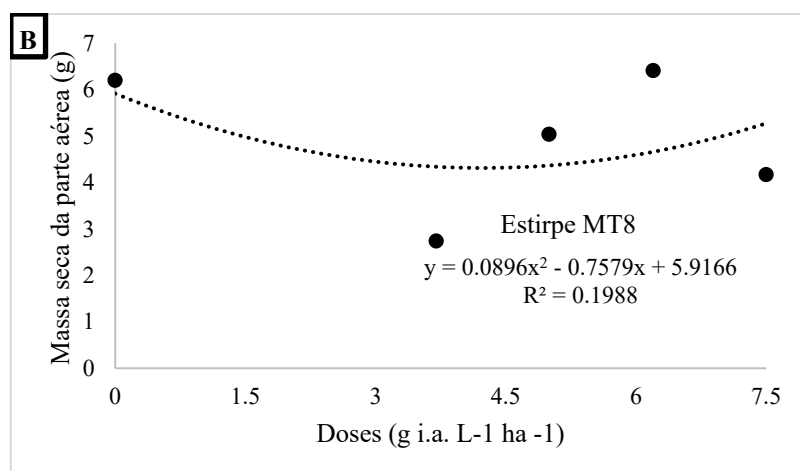
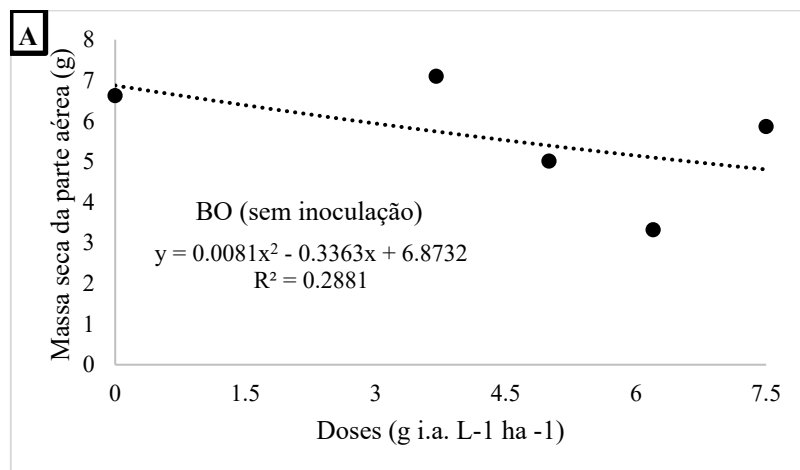


Figura 30 – Massa seca da parte aérea das doses de herbicida em função dos tratamentos B0 sem inoculação (A), MT8 (B) e MT15 (C).

4.1.8 Massa seca total

Ao analisar a variável massa seca total, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p < 0.10$), conforme consta na tabela 9, resumo da análise de variância.

Tabela 9 - Resumo da análise de variância para a variável somatório da massa seca total da parte aérea e raiz (MST).

Fator de variação	MST
Bactérias	0,6174 ^{ns}
Doses	0,7315 ^{ns}
Bactérias x Doses	0,1206 ^{ns}
CV (%)	22,35
Lambda (λ)	($\sqrt{x+0,5}$)

(*) significativo até 10% de probabilidade ($p \leq 0,10$); (ns) não significativo ($p > 0,10$); (CV) coeficiente de variação; (Lambda λ) fator de transformação utilizado para tratar os dados.

4.1.9 Carbono da biomassa microbiana

A variável carbono da biomassa microbiana, não apresentou em sua análise de variância (Tabela 10) diferença estatística para a interação entre os fatores de bactérias e doses de herbicida e nem analisando isoladamente pelo teste F, até 10% de probabilidade, aos 50 (DAI).

Tabela 10 - Resumo da análise de variância para a variável carbono da biomassa microbiana (CBM).

Fator de variação	CBM
Bactérias	0,9713 ^{ns}
Doses	0,2987 ^{ns}
Bactérias x Doses	0,6114 ^{ns}
CV (%)	26,00
Lambda (λ)	($\sqrt{x+0,5}$)

(*) significativo até 10% de probabilidade ($p \leq 0,10$); (ns) não significativo ($p > 0,10$); (CV) coeficiente de variação; (Lambda λ) fator de transformação utilizado para tratar os dados.

Todavia, analisando as médias observadas, conforme gráfico da (Figura 30) é possível identificar um decréscimo do carbono da biomassa microbiana a partir da dose 0, corroborando

com o resultado encontrado no trabalho de Wendel et al., 2017 que não encontrou diferença estatística para o carbono da biomassa microbiana em solo contaminado com picloram.

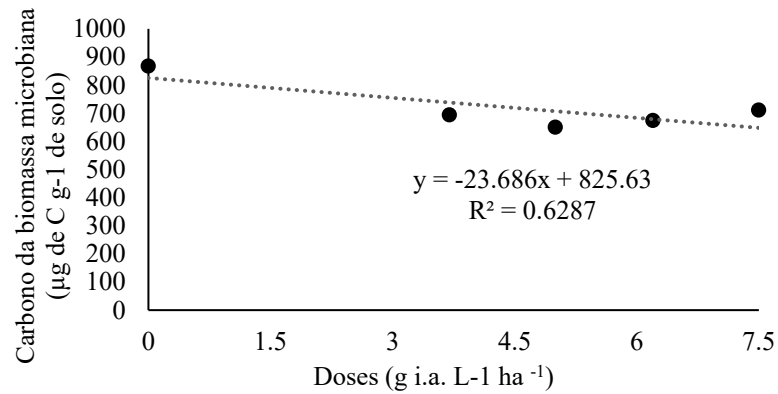


Figura 31 - Carbono da biomassa microbiana em função das doses de herbicida

4.1.10 Bactérias diazotróficas

A variável bactérias diazotróficas, ao analisar não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos até ($p < 0.10$), conforme consta na tabela 11, resumo da análise de variância.

Tabela 11 - Resumo da análise de variância para a variável bactérias diazotróficas em meio de cultura NFb.

Fator de variação	Bactérias diazotróficas
	NFb
Bactérias	0,7375 ^{ns}
Doses	0,7138 ^{ns}
Bactérias x Doses	0,1239 ^{ns}
CV (%)	37,02
Lambda (λ)	($\sqrt{x+1}$)

(*) significativo até 10% de probabilidade ($p \leq 0,10$); (ns) não significativo ($p > 0,10$); (CV) coeficiente de variação; (Lambda λ) fator de transformação utilizado para tratar os dados.

5. CONCLUSÃO

A presença das estirpes MT8 e MT15, com destaque para estirpe MT8, sugere uma adaptação microbiana ao estresse químico, provocado pelo picloram, contribuindo para a sustentabilidade do solo a longo prazo;

Os tratamentos com inoculação podem representar uma estratégia viável para mitigar os efeitos residuais do picloram, reduzindo seu impacto negativo na microbiota do solo e favorecendo o crescimento do *Pennisetum glaucum*.

REFERÊNCIAS

- AL-BALDAWI, Israa Abdulwahab et al. Application of phytotechnology in alleviating pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in wastewater: Source, impacts, treatment, mechanisms, fate, and SWOT analysis. **Journal of Cleaner Production**, v. 319, p. 128584, 2021.
- AI-JAWHARI, Ihsan Flayyih Hasan. Heavy metals, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), radioactive materials, xenobiotic, pesticides, hazardous chemicals and dyes bioremediation. **Phytobiont and Ecosystem Restitution**, p. 215-229, 2018.
- ALEHASHM, M. et al. Herbicides and pesticides synergistically interact at low concentrations in complex mixtures. **Chemosphere**, v. 353, p. 141431, 2024.
- DE ALMEIDA, Mirna Clarissa Rodrigues et al. Produção de milho e leguminosas em sistemas consorciados para regiões semiáridas. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 3, p. e5712340407-e5712340407, 2023.
- ALVEAR, Marysol et al. Efecto de la aplicación de herbicidas en condiciones de campo sobre algunas actividades biológicas. **Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal**, v. 6, n. 1, p. 64-76, 2006.
- ARMAS, E. D.; MONTEIRO, R. T. R. Uso de agrotóxicos em cana-de-açúcar na bacia do Rio Corumbá e o risco de poluição hídrica. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 6, p. 975-982, 2005.
- BERNETH, L. et al. Biotechnologies for remediation and pollution control in the mining industry. **Mining, Metallurgy & Exploration**, v. 17, n. 2, p. 105-111, 2000.
- BONFIM-SILVA, Edna Maria; SILVA, Tonny José Araújo; CABRAL, Eduardo Avelino; KROTH, Bruna Elusa; REZENDE, Diego; **Desenvolvimento Inicial de Gramíneas submetidas ao Estresse Hídrico**. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.24, n.2, p 180-186, abr.-jun., 2011.
- BRENNECKE, Käthery et al. Inoculação da bactéria *Pseudomonas fluorescens* no índice de crescimento da *Brachiaria decumbens* spp. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 14, p. 217-224, 2016.
- CAO, B., et al. Insight Into the Variation of Bacterial Structure in Atrazine-Contaminated Soil Regulating by Potential Phytoremediator: *Pennisetum americanum* (L.) K. Schum. **Frontiers in Microbiology**, Harbin, 2018. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00864>.
- CARMO, M. L. et al. Seleção de plantas para fitorremediação de solos contaminados com picloram. **Planta Daninha**, v. 26, p. 301-313, 2008.
- CARPIM, Lília Karla et al. Liberação de nutrientes pela palhada de milho em diferentes

estádios fenológicos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 2813-2819, 2008.

CORRÊA, Natalia Buttini et al. Atividade microbiana de um solo cultivado com soja sob a aplicação de herbicidas pré-emergentes. **OBSERVATÓRIO DE LA ECONOMÍA LATINOAMERICANA**, v. 23, n. 1, p. e8717-e8717, 2025.

CRUZ, José Carlos et al. Manejo da cultura do milho. 2006.

CRUZ-HERNÁNDEZ, María Antonia et al. Azospirillum spp. from plant growth-promoting bacteria to their use in bioremediation. **Microorganisms**, v. 10, n. 5, p. 1057, 2022.

D'ANTONINO, L. et al. Crescimento de plantas de café em solos com resíduos de picloram. **Planta Daninha**, v. 30, p. 193-200, 2012.

DAN, HUGO DE ALMEIDA et al. Seletividade de herbicidas aplicados na pós-emergência da cultura do milheto (*Pennisetum glaucum*). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 8, n. 03, 2009.

DA SILVA, Ducilene do Carmo; PAULINO, Marcelo Gustavo. Efeitos da toxicidade na germinação e crescimento de *Capsicum annuum*. **Revista Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente**, v. 1, n. 1, p. 86-86, 2020.

Da Silva, V.M. Soja como bioindicadora para o estudo do potencial de lixiviação do 2,4-D em latossolo vermelho com chuva simulada. 2017.

DE ARAUJO, Fabio Fernando. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão Seed inoculation with *Bacillus subtilis*, formulated with oyster meal and growth of corn, soybean and cotton. 2008.

De Souza Moreira, Fatima Maria et al. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2, p. 74-74, 2010.

DE SOUZA, Wendel Magno et al. Atividade rizosférica de espécies fitorremediadoras em solo contaminado com picloram. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, p. 127-133, 2017.

DÖBEREINER, Johanna; BALDANI, Vera Lúcia Divan; BALDANI, José Ivo. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI; Itaguaí: EMBRAPA-CNPAB, 1995.

DUKE, Stephen O.; DAYAN, Franck E. Discovery of new herbicide modes of action with natural phytotoxins. In: **Discovery and synthesis of crop protection products**. American Chemical Society, 2015. p. 79-92.

Duque, Tayna Sousa et al. Uso de bioindicadoras vegetais para identificação de resíduos de herbicidas no solo. Research, **Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e999998123-e999998123, 2020.

EWRC (European Weed Research Council), **Report of the 3rd and 4th meetings of EWRC-Committee of methods in Weed Research**. Weed Res., Oxford, v.4, n. 1, p.88, 1964.

FAIRCHILD, J. F. et al. An ecological risk assessment of the acute and chronic toxicity of the herbicide picloram to the threatened bull trout (*Salvelinus confluentus*) and the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 56, p. 761-769, 2009.

FAUSTINO, Laís Araújo. Desenvolvimento de técnica para biorremediação de solos contaminados com indaziflam. 2019.

FERREIRA, Daniel Furtado. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. In: **Revista symposium**. 2008. p. 36-41.

FILGUEIRAS, Luanna Maria Beserra; MENESES, Carlos Henrique Salvino Gadelha. Efeito das bactérias promotoras de crescimento de plantas na proteção contra o estresse hídrico. **BIOFARM-Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 11, n. 1, p. 21-30, 2015.

GALON, Leandro et al. Efeito de herbicidas na atividade microbiana do solo cultivado com diferentes genótipos de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 13, n. 1, p. 47-57, 2014.

GLICK, B. R. Bactérias promotoras de crescimento de plantas: mecanismos e aplicações. *Scientifica*, v. 2012, e963401, 2012 [em linha].

INOUE, Mirian Hiroko et al. Critérios para avaliação do potencial de lixiviação dos herbicidas comercializados no Estado do Paraná. **Planta daninha**, v. 21, pág. 313-323, 2003.

JAISWAL, Durgesh Kumar; VERMA, Jay Prakash; YADAV, Janardan. Microbe induced degradation of pesticides in agricultural soils. **Microbe-induced degradation of pesticides**, p. 167-189, 2017.

KEENEY, D. R.; NELSON, D. W. Nitrogen-Inorganic Forms. In: *Methods of Soil Analysis*. 2. ed. Madison, Wisconsin USA: American Society of Agronomy, 1982. p. 643–698.

KEPLER, Ryan M. et al. Soil microbial communities in diverse agroecosystems exposed to the herbicide glyphosate. **Applied and environmental microbiology**, v. 86, n. 5, p. e01744-19, 2020.

KLINK, Carlos A.; MACHADO, Ricardo B. Conservation of the Brazilian cerrado. **Conservation biology**, v. 19, n. 3, p. 707-713, 2005.

LIU, Yehao et al. Glyphosate application increased catabolic activity of gram-negative bacteria but impaired soil fungal community. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 14762-14772, 2018.

LUCENA, L. R. R.; SIMÕES, J. V. L. P.; LEITE, M. L. M. V. Superfície de resposta de medidas morfométricas de *Pennisetum glaucum* submetidos ao estresse salino. **Archivos de zootecnia**, v. 68, n. 264, p. 540-545, 2019.

MACHADO, Jéssica Maciel et al. Bioprospecção de micro-organismos nativos com potencial biorremediador de solos contaminados por herbicidas. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 14, n. Supl. 2, p. 1-17, 2021.

MARCHETTI, Marithsa Maiara; BARP, Elisete Ana. Efeito rizosfera: a importância de bactérias fixadoras de nitrogênio para o solo/planta–revisão. **IGNIS Periódico Científico de Arquitetura e Urbanismo Engenharias e Tecnologia de Informação**, p. 61-71, 2015.

MARQUES, Eder; UESUGI, Carlos Hidemi. Avaliação de bactérias extremófilas facultativas na produção de fitomassa do híbrido "urograndis" de eucalipto, a partir de sementes. **Revista Árvore**, v. 37, p. 41-47, 2013.

MARITANO, Silvia et al. Maternal pesticides exposure in pregnancy and the risk of wheezing in infancy: a prospective cohort study. **Environment international**, v. 163, p. 107229, 2022.

MASOTTI, Fiorella et al. Bioremediation of the herbicide glyphosate in polluted soils by plant-associated microbes. **Current Opinion in Microbiology**, v. 73, p. 102290, 2023.

MELO, C.A., et al. Isolation and characteristics of sulfentrazone-degrading bacteria. *Journal of Environmental Science and Health*, [s.l], v. 52, p. 115–121, 2017.
<https://doi.org/10.1080/03601234.2016.1248136>.

MENDES, Kassio Ferreira et al. Evolution of weed resistance to herbicides. In: **Applied weed and herbicide science**. Cham: Springer International Publishing, 2022. p. 207-253.

MENDES, Kassio Ferreira et al. Compreendendo o comportamento ambiental de herbicidas: uma revisão sistemática de insights práticos. **Pesticidas - Aplicação Agronômica e Impacto Ambiental**, 2023.

MERCANTE, Fábio Martins et al. Biomassa microbiana, em um Argissolo Vermelho, em diferentes coberturas vegetais, em área cultivada com mandioca. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, p. 479-485, 2008.

Morais, Jade Pereira de et al. Bactérias diazotróficas produtoras de biofilme isoladas da filosfera de plantas infestantes em ambientes de Cerrado. 2024.

OGINO, Cristiane Mitie; BACHA, Carlos José Caetano. Usos de agrotóxicos nas agropecuárias do Brasil, Estados Unidos e União Europeia. **Organizações Rurais & Agroindustriais**, v. 23, p. e1687-e1687, 2021.

OLIVEIRA, Mayane et al. Avaliação da importância do uso de microrganismos na biodegradação de agrotóxico aplicados na agricultura—uma revisão. **Conjecturas**, v. 24, n. 1, p. 368-379, 2024.

ONU BR – NAÇÕES UNIDAS NO BRASIL – ONU BR. A Agenda 2030. 2015. Disponível em: <<https://brasil.un.org/sites/default/files/2020-09/agenda2030-pt-br.pdf>>. Acesso em: 16 de fevereiro de 2025.

PASSOS, Ana Beatriz RJ et al. Persistence of picloram in soil with different vegetation managements. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 23986-23991, 2018.

PAULO, C. ã. et al. EFEITO RESIDUAL DE HERBICIDAS AUXÃ NICOS EM SOJA. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 19, n. 3, p. 699-1-7), 2020.

PERTILE, Mariane. RESPOSTAS DA COMUNIDADE MICROBIANA A APLICAÇÃO DOS HERBICIDAS IMAZETHAPYR E FLUMIOXAZIN. 2022.

PESSOA-DE-SOUZA, Marco Aurélio et al. ANÁLISE SISTEMÁTICA DAS RESPOSTAS METABÓLICAS DA MICROBIOTA SOB APLICAÇÃO DE HERBICIDAS PRE-EMERGENTES EM SOLOS TROPICAIS. **Revista Científica Rural**, v. 23, n. 1, p. 01-30, 2021.

PILEGGI, Marcos; PILEGGI, Sônia AV; SADOWSKY, Michael J. Herbicide bioremediation: from strains to bacterial communities. **Heliyon**, v. 6, n. 12, 2020.

PROCÓPIO, S. O. et al. Características fisiológicas das culturas de soja e feijão e de três espécies de plantas daninhas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 22, n. 2, p. 211-216, 2004.

Procópio, Sergio de Oliveira et al. Fitorremediação de solo contaminado com picloram por capim-pé-de-galinha-gigante (*Eleusine coracana*). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 2517-2524, 2008.

RIBEIRO, Vitória Palhares et al. Co-inoculation with tropical strains of *Azospirillum* and *Bacillus* is more efficient than single inoculation for improving plant growth and nutrient uptake in maize. **Archives of Microbiology**, v. 204, n. 2, p. 143, 2022.

RICHARDSON, Susan D.; KIMURA, Susana Y. Water analysis: emerging contaminants and

current issues. **Analytical chemistry**, v. 88, n. 1, p. 546-582, 2016.

RUUSKANEN, Suvi et al. Ecosystem consequences of herbicides: the role of microbiome. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 38, n. 1, p. 35-43, 2023.

SANTOS, M.V. et al. Eficácia e persistência no solo de herbicidas utilizados em pastagem. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 24, n. 2, p. 391-398, 2006.

SANTOS, Carlos Leandro Rodrigues dos et al. Efeito da inoculação de bactérias diazotróficas em sorgo granífero, forrageiro e sacarino. 2010.

SANTOS, Leonardo David Tuffi et al. PLANTAS DANINHAS: BIOLOGIA E MANEJO SUSTENTÁVEL, 2025.

Siede, Jaqueline. Avaliação de resíduos de agrotóxicos em águas de açudes no município de Ajuricaba/RS. 2019.

SINGH, M. K.; SINGH, N. K.; SINGH, S. P. Impact of herbicide use on soil microorganisms. **Plant responses to soil pollution**, p. 179-194, 2020.

SILVA, Caroline Rosa et al. Bacterial adaptation to rhizosphere soil is independent of the selective pressure exerted by the herbicide saflufenacil, through the modulation of catalase and glutathione S-transferase. **Plos one**, v. 18, n. 11, p. e0292967, 2023.

Silva, Wilton Lessa et al. Herbicidas residuais no controle de Eleusine indica e na seletividade da cultura da soja. 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS. Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas. Londrina - PR : S.B.C.P.D., 1995. 42p

SOUZA, Adailson P. de et al. Respiração microbiana do solo sob doses de glyphosate e de imazapyr. **Planta Daninha**, v. 17, p. 387-398, 1999.

Souza, PD et al. Biosolids in Leaching of Herbicides Mimicking Auxin in Tropical Soils. **Planta Daninha**, v. 36, 2018.

ŠTEFANAC, Tea; GRGAS, Dijana; LANDEKA DRAGIČEVIĆ, Tibela. Xenobiotics—division and methods of detection: a review. **Journal of xenobiotics**, v. 11, n. 4, p. 130-141, 2021.

TEIXEIRA, Michelle Barbosa et al. Decomposição e liberação de nutrientes da parte aérea de plantas de milho e sorgo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p. 867-876, 2011.

TÉTARD-JONES, Catherine; EDWARDS, Robert. Potential roles for microbial endophytes in herbicide tolerance in plants. **Pest Management Science**, v. 72, n. 2, p. 203-209, 2016.

TIRONI, Siumar Pedro et al. Efeito de herbicidas na atividade microbiana do solo. **Planta Daninha**, v. 27, p. 995-1004, 2009.

WANG, Hongzhe et al. Long-term herbicide residues affect soil multifunctionality and the soil microbial community. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 283, p. 116783, 2024.