UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal

Lílian de Almeida Brito

GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE ESPÉCIES FLORESTAIS SOB INFLUÊNCIA DE HERBICIDAS LIXIVIÁVEIS

Diamantina

2017

Lílian de Almeida Brito

GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE ESPÉCIES FLORESTAIS SOB INFLUÊNCIA DE HERBICIDAS LIXIVIÁVEIS

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Miranda Titon

Diamantina

2017

Ficha Catalográfica – Sistema de Bibliotecas/UFVJM
Bibliotecária: Jullyele Hubner Costa CRB-6/2972

B862g Brito, Lílian de Almeida.
Germinação e crescimento inicial de espécies florestais sob influência de herbicidas lixiviáveis / Lílian de Almeida Brito – Diamantina, 2017.
76 p. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Miranda Titon

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal) –Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

1. Senegalia polyphylla. 2. Senna macranthera. 3. Ametryn. 4. Atrazine. 5. Hexazinone, 2,4-D. I. Titon, Miranda. II. Título.

CDD 634.9

Elaborada com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

ATA DE DEFESA DE MESTRADO DE LILIAN DE ALMEIDA BRITO ELABORADA PELA COMISSÃO EXAMINADORA.

A Comissão Examinadora da Dissertação de MESTRADO da pós-graduanda LILIAN DE ALMEIDA BRITO do Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal - Stricto Sensu, nível de MESTRADO, área de concentração: Biotecnologia e melhoramento genético florestal, da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM, instalou-se no dia 02 de Agosto do ano de 2017, às 14:00, nas dependências da UFVJM, para abertura dos trabalhos e arguição da candidata. A Comissão Examinadora foi composta pelos Professores Prof.ª Dr.ª Miranda Titon - Orientadora (UFVJM), Prof. Dr. Jose Barbosa dos Santos (UFVJM), Prof. Dr. Evander Alves Ferreira (UFVJM) e Prof. Dr. Israel Marinho Pereira (UFVJM). Iniciou-se a sessão com a apresentação dos componentes da Comissão Examinadora e leitura dos artigos 55 a 60 do Capítulo XV do Regulamento Geral dos Cursos de Pós-Graduação Stricto Sensu/UFVJM e passou-se a palavra à candidata para apresentação de sua Dissertação intitulada **"GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE ESPÉCIES FLORESTAIS SOB INFLUÊNCIA DE HERBICIDAS LIXIVIÁVEIS"**. Após a apresentação oral, a candidata foi arguida pela referida Comissão, obtendo o seguinte resultado:

( ) Aprovada sem ressalvas
(X) Aprovada com ressalvas
( ) Reprovada

Em caso de aprovação, a candidata fará jus ao título de MAGISTER SCIENTIAE EM CIÊNCIA FLORESTAL, pela UFVJM, após a entrega da versão final da dissertação, com as devidas correções, à Secretaria dos Programas de Pós-Graduação e homologação pelo Conselho de Pesquisa e Pós-Graduação.

DIAMANTINA, 02 de Agosto do ano de 2017, às 14:00

Prof.ª Dr.ª Miranda Titon - UFVJM
Orientadora

Prof.Dr. Jose Barbosa dos Santos - UFVJM

Prof.Dr. Evander Alves Ferreira - UFVJM

Prof.Dr. Israel Marinho Pereira - UFVJM

AGRADECIMENTO

Não poderia começar de forma diferente, agradeço imensamente à Deus, por ser minha rocha, meu refúgio, meu pai, meu amigo, meu TUDO nesses dias de caminhada, dias leves e dias complicados, sempre esteve comigo a cada passo, me ajudando quando parecia que eu não daria conta.

Meus pais, Noé e Vilma e meus irmãos, Willian e Mírian, que sempre acreditaram em mim e que fazem o possível e o impossível para que eu realize meus sonhos. Pelo carinho, amor e paciência que me dedicam sou imensamente grata. Eu devo a vocês a pessoa que sou e saibam que são para mim o modelo de tudo que é bom, justo e digno.

Aos meus amigos, em especial Gleica, Nívia, Janaina, Vítor, Eulália, Mariana, Thaís, Dri e Sandra que compartilharam alegrias e tristezas comigo, se tornaram minha família e minha força em Diamantina, obrigada por fazerem meus dias mais felizes e por me tornarem uma pessoa melhor.

Ao Max, agradeço pelo companheirismo, pela ajuda, carinho e paciência e especialmente por ter aguentado a maior parte do meu stress e continuar a me apoiar e amar.

Aos professores da UFVJM que compartilharam comigo não apenas conhecimento, muito além disso, me deram exemplos de vida. Espero um dia poder retribuir tudo que fizeram por mim. Em especial à professora Miranda pela orientação, paciência e confiança, ao professor Barbosa e ao professor Israel, obrigada! Todos vocês são exemplos para mim.

Agradeço a oportunidade de aprender e compartilhar conhecimento nos grupos de estudos INOVAHERB e NEMF, onde tive a oportunidade de conhecer e trabalhar com pessoas maravilhosas de quem sempre me lembrarei.

Agradecimento especial ao Evander, Fábio, Jair, Múcio, Thiago e Teodoro que me socorreram inúmeras vezes no decorrer dos meus experimentos, sem a ajuda de vocês meus trabalhos estariam fadados ao fracasso.

Agradeço à UFVJM por tudo que me proporcionou, coisas que eu imaginava estar fora da minha realidade se tornaram possíveis graças a esta instituição e espero um dia poder corresponder à altura. À Companhia Energética de Minas Gerais S.A. - CEMIG e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG, agradeço pela bolsa que me possibilitou realizar esse mestrado.

A verdade é que eu não conseguia nada do que realizei neste trabalho se o fizesse sozinha. Cada uma das pessoas com quem tive o prazer de me relacionar exerceu papel

importantíssimo nessa conquista. Desde aqueles que comparam brigadeiro ou me ofereceram carona, até os que dedicaram seu tempo para me ajudar, quero que saibam que sou imensamente grata a todos.

RESUMO

Herbicidas com baixo poder de sorção podem deixar resíduos no ambiente passíveis de contaminação em cursos hídricos. A passagem dos resíduos para os cursos hídricos pode ser diminuída ou mesmo anulada por camadas vegetadas, notadamente, em matas ciliares. Contudo, pouca informação existe sob os efeitos de herbicidas em espécies florestais, principalmente na fase inicial de desenvolvimento. Com esse propósito avaliou-se a sensibilidade das espécies *Senegalia polyphylla* (DC.) Britton & Rose (monjoleiro) e *Senna macranthera* (DC. Ex collad.) H.S. Irwin & Barnaby (fedegoso) a resíduos dos herbicidas ametryn, atrazine, hexazinone e 2,4-D. Para o primeiro capítulo adotaram-se doses correspondentes a 0; 12,5; 25 e 50% daquela comercialmente recomendada de ametryn, atrazine e hexazinone em esquema fatorial 3 x 4 x 2 (herbicidas x doses x espécies) com quatro repetições, conduzidos em blocos ao acaso em casa de vegetação com temperatura controlada. Avaliou-se emergência, Índice de Velocidade de Emergência (IVE), taxa de mortalidade, massa fresca e seca, altura, diâmetro, número de folhas, além de variáveis fisiológicas obtidas com auxílio de um analisador a gases no infravermelho (IRGA). No segundo capítulo foram instalados dois experimentos paralelos (um por espécie) delineados inteiramente ao acaso em esquema fatorial 2 x 4, correspondentes a duas fontes de 2,4-D (produto comercial DMA® ou auxina Sigma-Aldrich® P.A.) e quatro concentrações (0; 0,1; 1 e 10 $mg.L^{-1}$ de 2,4-D), com quatro repetições e oito réplicas cada. As espécies foram avaliadas quanto à germinação, Índice de Velocidade de Germinação (IVG), contaminação, diâmetro, massa fresca e seca. Como resultado, de maneira geral o monjoleiro se mostrou mais sensível aos herbicidas, todavia, demonstrou potencial fitorremediador para atrazine. A comparação entre os tipos de 2,4-D revela que o herbicida não pode ser utilizado como regulador de crescimento em laboratório, potencialmente devido aos aditivos que apresenta. Por fim, os resultados apontam que o uso recorrente de herbicidas lixiviáveis próximos a fragmentos florestais podem afetar a perpetuação de espécies nativas por efeito deletério silencioso. Novas pesquisas precisam ser realizadas com outras espécies nativas a fim de conhecer os efeitos dessas e de outras moléculas ao ecossistema em geral.

Palavras chave: *Senegalia polyphylla*, *Senna macranthera*, ametryn, atrazine, hexazinone, 2,4-D

ABSTRACT

Herbicides with low sorption capacity can leave residues without an environment liable to contamination in water courses. Passage from the residues to the watercourses can be reduced or even negated by layers vegetated, notably in riparian forests. However, scarce information exists about the effects of herbicides on forest species, especially in the early stages of development. For this purpose the sensitivity of the species *Senegalia polyphylla* (DC.) Britton & Rose (monjoleiro) and *Senna macranthera* (DC. Ex collad.) H.S. Irwin & Barnaby (fedegoso) to residues of the herbicides ametryn, atrazine, hexazinone and 2,4-D were evaluated. For the first chapter doses corresponding to 0, 12.5, 25 and 50% of that commercially recommended for ametryn, atrazine and hexazinone were adopted in a 3 x 4 x 2 factorial arrangement (herbicides x doses x species) with four replicates, conducted in randomized blocks under controlled temperature greenhouse. It was evaluated the emergence, Emergency Speed Index (IVE), mortality rate, fresh and dry mass, height, diameter, number of leaves, and physiological variables obtained with the aid of an infrared gas analyzer (IRGA). In the second chapter were installed two parallel experiments (one per species) completely randomly delineated in a 2 x 4 factorial scheme, corresponding to two sources of 2,4-D (commercial product DMA® or auxin Sigma-Aldrich® P.A.) and four concentrations (0; 0,1; 1 e 10 $mg.L^{-1}$ of 2,4-D)**,** with four repletitons and eight replicates each. The species were evaluated for germination, Germination Speed Index (IVG), contamination, diameter, fresh and dry mass. As a result, in general the monjoleiro showed to be more sensitive to herbicides, however, it demonstrated a phytoremediation potential for atrazine. The comparison between the 2,4-D types reveals that herbicide cannot be used as a growth regulator in the laboratory, potentially due to the additives it presents. Finally, the results indicate that the recurrent use of leachable herbicides close to forest fragments can affect the perpetuation of native species by a silent deleterious effect. New research is done for other native species to know the effects of other molecules on the ecosystem in general.

Key words: *Senegalia polyphylla*, *Senna macranthera*, ametryn, atrazine, hexazinone, 2,4-D

INTRODUÇÃO GERAL

A contaminação de solos por agroquímicos é uma realidade preocupante que atinge o mundo inteiro. A expansão agrícola leva a níveis cada vez mais preocupantes de contaminação. Atenção especial deve ser dada a herbicidas de baixa sorção ao solo que atingem sítios não alvo e consequentemente os organismos que ali habitam.

Com intuito de conhecer o comportamento de espécies florestais nativas submetidas a subdoses de herbicidas de baixa sorção ao solo, foram instalados quatro experimentos com duas espécies pertencentes a família Fabaceae, *Senegalia polyphylla* (DC.) Britton & Rose (monjoleiro) e *Senna macranthera* (DC. Ex collad.) H.S. Irwin & Barnaby (fedegoso).

Plantas jovens são, geralmente, mais susceptíveis a herbicidas quando comparadas à planta adulta. Nesse sentido, este trabalho tem foco nos estágios iniciais de crescimento.

No experimento um, sementes de monjoleiro e fedegoso foram colocadas em areia lavada submetida previamente à subdoses dos herbicidas ametryn, atrazine e hexazinone. A areia, nesse caso, simulou um substrato inerte, no qual, os efeitos dos herbicidas aplicados foi máximo. O objetivo foi avaliar se a germinação e a velocidade com que ela ocorre seria afetada pela presença desses herbicidas e se as plântulas germinadas conseguiriam sobreviver.

Para o experimento dois, simulou-se a lixiviação de ametryn, atrazine e hexazinone em substrato composto por terra de subsolo, quando as mudas, previamente produzidas, de monjoleiro e fedegoso encontravam-se com 90 dias. O objetivo deste experimento foi verificar se mudas estabelecidas seriam afetadas pela chegada desses herbicidas por lixiviação e se essas espécies apresentam potencial fitorremediador.

Os experimentos três e quatro (um experimento por espécie) foram conduzidos em laboratório e utilizou-se como substrato meio de cultura. Os objetivos foram comuns aos experimentos e consistiram em comparar os efeitos causados por dois tipos de 2,4-D (herbicida ou auxina P. A.) na germinação e na velocidade de germinação, além de avaliar alterações morfológicas causadas pelo 2,4-D em plântulas de monjoleiro e fedegoso.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1: EFEITO DE HERBICIDAS LIXIVIÁVEIS NA GERMINAÇÃO, EMERGÊNCIA E CRESCIMENTO DE MUDAS DE S*enegalia polyphylla* (DC.) Britton & Rose E *Senna macranthera* (DC. Ex collad.) H.S. Irwin & Barnaby **15**
RESUMO **15**
ABSTRACT **16**
1 INTRODUÇÃO **17**
2 JUSTIFICATIVA **18**
3 OBJETIVO **19**
4 MATERIAL E MÉTODOS **19**
4.1 Experimento 1 ..... **19**
4.2 Experimento 2 ..... **22**
5 RESULTADOS **25**
5.1 Experimento 1 ..... **25**
5.1.1 Emergência e Índice de Velocidade de Emergência (IVE) ***25***
5.1.2 Mortalidade ***25***
5.1.3 Intoxicação ***26***
5.1.4 Massa ***28***
5.2 Experimento 2 ..... **30**
5.2.1 Diâmetro ***30***
5.2.2 Altura ***31***
5.2.3 Número de Folhas (NF) ***32***
5.2.4 Intoxicação ***33***
5.2.5 Massa Seca Total (MST) e Porcentagem de Água ***34***
5.2.6 Variáveis Fisiológicas ***35***
5.2.7 Curva de dose resposta ***37***
6 DISCUSSÃO **42**
6.1 Experimento 1 ..... **42**
6.2 Experimento 2 ..... **43**
7 CONCLUSÕES **46**
8 RECOMENDAÇÃO **46**
REFERÊNCIAS **47**

CAPÍTULO 2: INFLUÊNCIA DO 2,4-D NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO *IN VITRO* DE S*enegalia polyphylla* (DC.) Britton & Rose E *Senna macranthera* (DC. Ex collad.) H.S. Irwin & Barnaby **53**
RESUMO **53**
ABSTRACT **54**
1 INTRODUÇÃO **55**
2 JUSTIFICATIVA **56**
3 OBJETIVO **57**
4 MATERIAL E MÉTODOS **57**
5 RESULTADOS **59**
5.1 Monjoleiro **59**
5.2 Fedegoso **63**
6 DISCUSSÃO **69**
6.1 Monjoleiro **69**
6.2 Fedegoso **70**
7 CONCLUSÕES **71**
8 RECOMENDAÇÕES **72**
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS **72**
CONCLUSÕES GERAIS **755**

CAPÍTULO 1: EFEITO DE HERBICIDAS LIXIVIÁVEIS NA GERMINAÇÃO, EMERGÊNCIA E CRESCIMENTO DE MUDAS DE S*enegalia polyphylla* (DC.) Britton & Rose E *Senna macranthera* (DC. Ex collad.) H.S. Irwin & Barnaby

RESUMO

Resíduos de herbicidas lixiviáveis podem ser danosos ao desenvolvimento inicial de espécies arbóreas. Para testar essa hipótese foram utilizadas duas espécies florestais nativas da família Fabaceae: *Senegalia polyphylla* (DC.) Britton & Rose (monjoleiro) e *Senna macranthera* (DC. Ex collad.) H.S. Irwin & Barnaby (fedegoso). Foram instalados dois experimentos para avaliar os efeitos de ametryn, atrazine, hexazinone nessas espécies. Adotaram-se frações da dose comercial equivalentes a 0; 12,5; 25 e 50% para ametryn, atrazine e hexazinone. Os experimentos foram casualizados em blocos em arranjo fatorial 3 x 4 x 2 (herbicidas x doses x espécies) com quatro repetições, conduzidos em casa de vegetação com temperatura controlada. O primeiro experimento foi instalado em bandejas de 3, 5 e 7 L, que compunham os blocos. O segundo experimento foi conduzido em vasos de polietileno com capacidade para 2,5 L. Avaliou-se no primeiro experimento: emergência, IVE, mortalidade e massa fresca e seca e no segundo: altura, diâmetro, número de folhas, intoxicação, massa fresca e seca, além de variáveis fisiológicas obtidas com auxilio de um analisador a gases no infravermelho. Após o período de desenvolvimento das espécies, realizou-se estimativa de potencial fitorremediador por meio de bioensaio. Para isso, espécies sensíveis aos herbicidas, *Sorghum bicolor* L. (sorgo) para hexazinone e ametryn e *Cucumis sativus* L. (pepino) para atrazine foram semeadas no substrato anteriormente cultivado com as arbóreas. Como resultado, de maneira geral o monjoleiro se mostrou mais sensível aos herbicidas, todavia, demonstrou especial potencial fitorremediador para atrazine.

Palavras chave: Fedegoso, Monjoleiro, ametryn, atrazine, hexazinone, espécies nativas

ABSTRACT

Leachable herbicide residues may be harmful to the initial development of tree species. To test this hypothesis, two forest species native to the Fabaceae family were used: *Senegalia polyphylla* (DC.) Britton & Rose (monjoleiro) and *Senna macranthera* (DC. Ex collad.) H.S. Irwin & Barnaby (fedegoso). Two experiments were performed to evaluate the effects of ametryn, atrazine, hexazinone on these species. Fractions of the commercial dose equivalent to 0, 12.5, 25 and 50% for ametryn, atrazine and hexazinone were adopted. The experiments were randomized in blocks in factorial arrangement 3 x 4 x 2 (herbicides x doses x species) with four replications, conducted in a greenhouse with controlled temperature. The first experiment was installed in trays of 3, 5 and 7 L, which constituted the blocks. The second experiment was conducted in polyethylene pots with a capacity of 2.5 L. The first experiment was evaluated: emergence, IVE, mortality and fresh and dry mass, and in the second: height, diameter, number of leaves, intoxication, fresh and dry mass, besides physiological variables obtained with the aid of an infrared gas analyzer (IRGA). After the period of development of the species, an estimation of phytoremediation potential was realized by means of bioassay. For this, herbicide sensitive species, *Sorghum bicolor* L. (sorghum) for hexazinone and ametryn and with *Cucumis sativus* L. (cucumber) for atrazine were sown on the substrate previously cultivated with the trees. As a result, the monjoleiro was generally more sensitive to herbicides, however, it demonstrated a special phytoremediation potential for atrazine.

Key words: Fedegoso, Monjoleiro, ametryn, atrazine, hexazinone, native species

1 INTRODUÇÃO

Admitindo-se que quantia significativa de herbicidas é utilizada de maneira indiscriminada, com doses acima das recomendadas, o risco ambiental de contaminação de organismos não alvo ou de alimentos existe e deve ser combatido (RIBEIRO; PEREIRA, 2016). Mesmo quando a aplicação segue todas as recomendações dos fabricantes, parte dos produtos permanece no ambiente até que a persistência indicada para cada molécula seja atingida. Herbicidas com baixa sorção tais quais ametryn, atrazine e hexazinone, merecem atenção especial, uma vez que atingem sítios e organismos não alvo.

Os herbicidas baseados na molécula ametryn são registrados para controle de plantas daninhas nas culturas abacaxi, algodão, banana, café, cana-de-açúcar, citros, mandioca, milho e uva e incluem atualmente 19 formulações registradas no Brasil (MAPA, 2017).

O atrazine é registrado para uso em abacaxi, cana-de-açúcar, milho, pinus, seringueira, sisal e sorgo (MAPA, 2017). Esse princípio ativo ocupou a sétima posição no ranking nacional de utilização no Brasil em 2009 e é considerado muito tóxico para organismos aquáticos, altamente persistente e tóxico para avifauna e abelhas. Dos herbicidas que contêm essa molécula como princípio ativo, 3% estão na classe ambiental I (produto altamente perigoso), 56% na classe ambiental II (produtos muito perigosos) e 41% na classe ambiental III (produto perigoso) (IBAMA, 2010).

Pertencentes ao grupo das triazinas, o ametryn e o atrazine são inibidores do fotossistema II. Podem ser aplicados ao solo ou em pós-emergência e, uma vez absorvidos pelas raízes ou folhas, são translocados via xilema. Os sintomas apresentados pelas plantas são lentos, levam dias para aparecer, porém o processo pode ser acelerado quando as plantas estão submetidas à alta umidade e calor. Os primeiros sintomas envolvem clorose, que evoluem para necrose, semelhante a queimaduras nas folhas. O controle é efetivo para diversas dicotiledôneas e algumas monocotiledôneas. Espécies não afetadas como milho e sorgo, no caso do atrazine, apresentam metabolismo secundário diferenciado e o metabolizam em formas não tóxicas com o auxílio da enzima glutatione-S-transferase (EMBRAPA, 2008).

As triazinas são apontadas entre as mais problemáticas quando se trata de contaminação ambiental, devido à solubilidade em água e persistência no solo. O atrazine, em especial, apesar da baixa pressão de vapor, é suscetível à lixiviação e já foi encontrado em mananciais e, inclusive, em águas pluviais (SANTOS et al., 2013).

Apesar de também ser um inibidor do fotossistema II, o hexazinone pertence ao grupo químico das triazinonas, que se difere das triazinas por apresentar acréscimo de uma cetona, essa molécula é registrada para uso na cana-de-açúcar e inclui 29 formulações registradas e disponíveis para uso no Brasil (MAPA, 2017). O mecanismo de ação da molécula de hexazinone ainda não está completamente definido (FERREIRA et al., 2012), todavia, por se tratar do mesmo grupo químico, pode-se considerar que se assemelha ao diuron. Assim como os demais inibidores do fotossistema II, a molécula de hexazinone interfere no fluxo de elétrons na membrana dos tilacóides ligando-se à proteína D1 e impedindo a ligação da plastoquinona (VENTRELLA et al., 2010).

Considerando os "serviços ambientais" propiciados pelas florestas, tais quais, manutenção da biodiversidade, redução da erosão, manutenção da qualidade da água, contribuições à biodiversidade, regulação climática, entre muitos outros (MACEDO et al., 2016), faz-se necessária a recomposição de áreas degradadas pela atividade agrícola, para tal, é oportuno o estudo da composição das espécies vegetais e do potencial fitorremediador que apresentam. Nesse sentido, foram escolhidas duas espécies florestais nativas, pertencentes à família Fabaceae, *Senegalia polyphylla* (DC.) Britton & Rose (monjoleiro) e *Senna macranthera* (DC. Ex collad.) H.S. Irwin & Barnaby (fedegoso) com potencial de utilização em áreas degradadas (FERREIRA et al., 2007, NUNES et al., 2015) com o propósito de melhor compreender o comportamento que apresentam na presença de herbicidas lixiviáveis, sua sensibilidade e potencialidade, ou mesmo, se o uso desses produtos pode afetar a perpetuação dessas espécies.

2 JUSTIFICATIVA

Diante da crescente utilização de herbicidas nas áreas cultiváveis, em busca de controle da competição com plantas daninhas e aumento da produtividade agrícola, faz-se necessária avaliação dos efeitos desses compostos no ambiente e nas áreas adjacentes, principalmente se tratando de composto lixiviáveis, que podem atingir e afetar sítios não alvo.

Além disso, há demanda por recuperação de áreas degradadas pela atividade agrícola que pode ser realizada por meio de sistemas agroflorestais, nesse caso, é permitido o uso de herbicidas e podem ser utilizados os herbicidas aqui estudados, como estes apresentam baixa sorção ao solo, podem acarretar em problemas de contaminação de mananciais no futuro.

Uma vez explicitada a grande importância ecológica das florestas nativas e os serviços florestais que realizam, faz-se necessário conhecer o comportamento de espécies

nativas, tais quais *Senegalia polyphylla* (DC.) Britton & Rose (monjoleiro) e *Senna macranthera* (DC. Ex collad.) H.S. Irwin & Barnaby (fedegoso), quando expostas a presença de herbicidas lixiviáveis, e verificar se tais compostos podem, de alguma forma, afetar sua ocorrência natural e se estas espécies podem ser implantadas em áreas nas quais se utilizaram esses herbicidas para realização de capina química.

3 OBJETIVO

O objetivo do trabalho foi avaliar a influência exercida pelos herbicidas ametryn, atrazine e hexazinone (inibidores do fotossistema II) na emergência e crescimento das espécies florestais nativas *Senegalia polyphylla* (DC.) Britton & Rose (monjoleiro) e *Senna macranthera* (DC. Ex collad.) H.S. Irwin & Barnaby (fedegoso).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Experimento 1

O experimento foi conduzido em casa de vegetação com temperatura controlada, programada com temperatura mínima de 18°C e máxima de 32°C, que é coordenada pelo Grupo de Pesquisa em Manejo Sustentável de Plantas Daninhas (INOVAHERB) no Departamento de Agronomia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM, no município de Diamantina – MG. As sementes utilizadas pertencem às espécies florestais nativas *Senegalia polyphylla* (DC.) Britton & Rose (monjoleiro) e *Senna macranthera* (DC. Ex collad.) H.S. Irwin & Barnaby (fedegoso) e foram coletadas de julho a outubro de 2015, na Reserva Particular do Patrimônio Natural, Fazenda Fartura, localizada no município de Capelinha, Minas Gerais. As sementes foram armazenadas em câmara fria, a 4ºC e umidade relativa do ar de 40% até a implantação do experimento em 18 de maio de 2016.

As duas espécies possuem exsicatas armazenadas no Herbário Dendrológico Jeanine Felfili (FDJF) localizado no Centro Integrado de Propagação de Espécies Florestais (CIPEF) sob responsabilidade do Departamento de Engenharia Florestal da UFVJM. O número de registro da *Senegalia polyphylla* é HDJF4703 e o da *Senna macranthera* é HDJF2843.

O delineamento experimental utilizado foi casualizado em blocos (DBC) em esquema fatorial triplo 3 x 4 x 2, sendo o primeiro fator composto pelos herbicidas (ametryn, atrazine e hexazinone), o segundo pelas doses 0%, 12,5%, 25% e 50% da dose comercial

média recomendada (MAPA, 2017), representados na Tabela 1, e o terceiro fator composto pelas espécies, em 4 blocos.

Tabela 1 – Herbicidas utilizados experimento, dose recomendada e aquela aplicada em cada um dos tratamentos (MAPA, 2017)

Herbicida	Produto comercial®	Dose recomendada média* (L ha^{-1})	Dose 1 (L ha^{-1})	Dose 2 (L ha^{-1})	Dose 3 (L ha^{-1})	Dose 4 (L ha^{-1})
Ametryn	Metrimex 500 SC	5	0	0,625	1,25	2,5
Atrazine	Primóleo	5	0	0,625	1,25	2,5
Hexaxinone	Hexazinona Nortox	0,75	0	0,0937	0,1875	0,375

Conduziu-se o experimento em bandejas plásticas de três dimensões: 3, 5 e 7 L, que constituíram os quatro blocos, sendo dois blocos constituídos pelas bandejas de 5 L, o terceiro bloco pelas bandejas de 3 L e o quarto pelas bandejas de 7 L. O número de sementes por repetição foi diferenciado em função do tamanho da bandeja, 12, 20 ou 24 sementes, respectivamente, para as bandejas de 3, 5 e 7 L, conferindo uma área de aproximadamente 46 cm^2 por semente.

Como substrato utilizou-se areia lavada. A metodologia utilizada para lavagem da areia consistiu em: lavagem em água corrente até que esta estivesse visivelmente limpa, seguida pela colocação da areia em solução de ácido muriático (1 L de ácido para cada 50 L de areia) por 48 horas, por fim, lavagem em água corrente até que fosse atingido o pH neutro, como não foi atingido, a correção do pH foi feita com hidróxido de sódio (NaOH).

Após a secagem, a areia foi distribuída nas bandejas e procedeu-se a aplicação dos herbicidas, nas doses indicadas na Tabela 1, utilizando pulverizador elétrico Yamaho costal Ft5® e velocidade de caminhamento de 1 m s^{-1}. Dois dias após a aplicação dos herbicidas, realizou-se a semeadura nas bandejas.

Antes da semeadura, foram realizados procedimentos de desinfestação e quebra de dormência das sementes. Esses procedimentos foram realizados em câmara de fluxo laminar para as duas espécies. As sementes de fedegoso foram imersas em ácido sulfúrico concentrado por 20 minutos e enxaguadas com água deionizada e autoclavada por três vezes, segundo adaptação da metodologia de Santarém e Aquila (1995).

Para desinfestação do monjoleiro, as sementes foram imersas em uma solução de fungicida Orthocide® 1g L^{-1} durante 15 minutos e lavadas com água deionizada e autoclavada três vezes. Em seguida, as sementes foram submersas em solução de etanol 70% (v/v) por trinta segundos. Por fim, as sementes foram imersas em hipoclorito de sódio 5% (v/v), (com 4

gotas de detergente comercial Tween 20® para cada 100 ml de solução) durante 5 minutos e enxaguadas com água deionizada e autoclavada por mais três vezes.

A irrigação foi realizada diariamente, nas bandejas em que se observava a areia com umidade abaixo da desejada. As bandejas de 3 L recebiam 250 mL de água, as de 5 L, 420 mL e aquelas de 7 L, 500 mL de água.

Uma vez implantado o experimento, foram contadas por 20 dias, as plântulas emergidas e, a partir desses dados, calculou-se o índice de velocidade de emergência (IVE) proposto por Maguire (1962):

$$IVE = \frac{E_1}{N_1} + \frac{E_2}{N_2} + \frac{E_3}{N_3} + \cdots + \frac{E_N}{N_N}$$

em que:

IVE = índice de velocidade de emergência;

E_1, E_2, E_3, E_N = número de plântulas emergidas em cada contagem;

N_1, N_2, N_3, N_N = número de dias da semeadura até cada contagem.

Além da emergência, contabilizou-se a mortalidade final após 34 dias da implantação do experimento. Aos 25 da instalação do experimento, foi aplicada solução nutritiva, 20 ml por semente, de acordo com as especificações da Tabela 2 (HOAGLAND; ARNON, 1950).

Tabela 02 – Quantidades de reagentes para preparo de um litro de solução nutritiva (HOAGLAND; ARNON, 1950)

Macronutrientes	Quantidade (g L^{-1})	Micronutrientes	Quantidade (mg L^{-1})
$MgSO_4$	0,062	H_3BO_3	0,712
$Ca(NO_3)_2$	0,206	$CuSO_4$	0,05
KH_2PO_4	0,068	$MnCl_4$	0,376
KNO_3	0,224	$(NH_4)_6Mo_7O_{24}$	0,154
		$ZnSO_4$	0,288
		$FeCl_3$	6,054
		Na_2EDTA	8,338

Foram feitas duas avaliações visuais de intoxicação com atribuição de notas de injúrias na escala de zero a 100%, em que zero significa nenhum sintoma e 100, morte das plantas (SBCPD, 1995). As avaliações de intoxicação foram realizadas aos 22 e 43 dias após a implantação do experimento, ou seja, uma avaliação prévia e outra posterior a aplicação da solução nutritiva.

Ao final do experimento, as plântulas dos tratamentos que apresentaram intoxicação inferior a 100% foram coletadas e separadas em parte aérea e raízes. Após a separação, procedeu-se a pesagem em balança de precisão para obtenção da Massa Fresca da parte aérea (MFPA), das raízes (MFR) e total (MFT) obtida a partir da soma da MFR e

MSFA. As amostras foram colocadas em sacos de papel e acondicionadas em estufa de circulação forçada de ar, a 60°C, até atingir massa constante para pesagem em balança de precisão e obtenção de Massa Seca de raízes (MSR), parte aérea (MSPA) e total (MST) obtida a partir da soma da MSR e MSPA.

Para as análises estatísticas, utilizou-se o pacote ExpDes.pt (FERREIRA et al., 2013) do software R (R CORE TEAM, 2017). Os dados foram testados quanto à normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade (Bartlett), em seguida, procedeu-se a realização da Análise de variância (ANOVA). Procedeu-se comparação usando o teste de Tukey a 5% de significância para germinação, IVE, mortalidade, intoxicação. Para mortalidade e intoxicação foram ajustadas regressões quadráticas em função das doses de cada um dos herbicidas aplicados.

4.2 Experimento 2

Este experimento foi conduzido em casa de vegetação com temperatura controlada, programada com temperatura mínima de 15°C e máxima de 25°C, coordenada pelo Grupo de Pesquisa INOVAHERB no Departamento de Agronomia da UFVJM, no município de Diamantina – MG. As mudas foram produzidas a partir de sementes das mesmas espécies, coletadas na mesma época e local do experimento anterior. A semeadura ocorreu no dia 1º de dezembro de 2016. Foram utilizados vasos de polietileno com capacidade para 2,5 L. Os vasos foram preenchidos com 2,3 kg de substrato e foram colocadas 2 sementes em cada. Após a germinação, realizou-se a retirada de uma das plântulas mantendo a mais vigorosa. O substrato utilizado foi terra de subsolo, cujas características encontram-se na Tabela 3. A Tabela completa com os dados da análise de solo encontra-se no apêndice I. A desinfestação e quebra de dormência das sementes foi feita seguindo a mesma metodologia do experimento 1.

O delineamento experimental utilizado foi casualizado em blocos (DBC) em esquema fatorial triplo 3 x 4 x 2, sendo o primeiro fator composto pelos herbicidas (Ametryn, Atrazine e Hexazinone), o segundo pelas doses: 0%, 12,5%, 25% e 50% da dose comercial média recomendada (MAPA, 2017), representados na Tabela 1, e o terceiro fator composto pelas espécies, em 4 blocos com uma planta por repetição.

A irrigação foi realizada diariamente, nos pratos de contenção dos vasos, em que se observava o solo com umidade abaixo da capacidade de campo e adicionando-se 100 mL por prato de contenção.

Tabela 03 - Dados analíticos do substrato utilizado no experimento para cultivo de duas espécies florestais *Senegalia polyphylla* e *Senna macranthera*, em ambiente com resíduo dos herbicidas ametryn, atrazine e hexazinone.

Amostra	pH água	P	K	Fe	Zn	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Al^{3+}	SB	T	m	V	MO
1		----------mg dm^{-3}----------				$cmol_c$ dm^{-3}			cmolc/dm^{-3}		----%----		dag kg^{-1}
	5,5	0,4	18	81,6	1,1	0,1	1,0	0,1	1,15	3,79	8	30	2,18

pH em água, KCl e CaCl - Relação 1:2,5; P - K - Fe - Zn - Extrator Mehlich 1; Ca - Mg - Al - Extrator: KCl - 1 mol/L; SB = Soma de Bases Trocáveis; T - Capacidade de Troca Catiônica a pH 7,0; V = Índice de Saturação de Bases; m = Índice de Saturação de Alumínio; Mat. Org. (MO) - Oxidação: N2a C 2r O7 4 N + H 2 S O 4 10N.

Decorridos 60 dias após a semeadura, foi detectada deficiência nutricional nas plântulas. Nesse sentido, procederam-se três aplicações de solução nutritiva de nitrogênio, fósforo e potássio, uma a cada 7 dias (61, 68 e 75 dias após a semeadura), totalizando metade da recomendação de Malavolta (1981).

Os herbicidas foram aplicados no dia 8 de março de 2017, quando as mudas estavam com 98 dias de idade. A aplicação foi realizada com auxílio de pipeta graduada, nos pratos de contenção dos vasos, simulando a chegada destes compostos por lixiviação.

Aos 40 dias, a contar do dia de aplicação dos herbicidas, foram mensurados o diâmetro, a altura e contou-se o número de folhas e a partir desses dados foram obtidas curvas de regressão para cada uma das variáveis.

A intoxicação visual com atribuição de notas de injúrias na escala de zero a 100%, em que zero significa nenhum sintoma e 100% morte das plantas (SBCPD, 1995), foi avaliada aos 14, 20, 28 e 40 dias após a aplicação dos herbicidas.

Foram elaborados gráficos em linha (contendo os respectivos desvios padrão) para fotossíntese, CO_2 consumido, carbono interno e transpiração do fedegoso, utilizando dados obtidos com auxílio de aparelho Analisador de Gases no Infra Vermelho (IRGA) modelo LCpro-SD®, coletados 15 dias após a aplicação dos herbicidas. Não foi possível realizar as medições no monjoleiro devido ao tamanho reduzido de seus folíolos.

Após 48 dias da aplicação dos herbicidas, as mudas foram retiradas, pesadas e acondicionadas em sacos de papel. Em seguida, foram colocadas em estufa de circulação forçada de ar, a 65°C até atingirem peso constante e, por fim, foram novamente pesadas para obtenção da Massa Seca Total (MS). A diferença entre o peso verde e seco foi utilizada para obtenção da porcentagem de água.

Com o intuito de verificar o potencial de descontaminação do solo pelas espécies arbóreas avaliadas neste estudo, realizou-se testes que consistem na montagem de bioensaios com plantas bioindicadoras (sensíveis aos herbicidas utilizados) com o mesmo solo utilizado no experimento.

Após a retirada das mudas, foi realizado o bioensaio com sementes de *Sorghum bicolor* L. (sorgo) para hexazinone e ametryn e com *Cucumis sativus* L. (pepino) para o atrazine. Após 15 dias da semeadura, realizou-se uma avaliação visual de intoxicação com atribuição de notas de injúrias na escala de zero a 100%, em que zero significa nenhum sintoma e 100, morte total das plantas (SBCPD, 1995). Ao mesmo tempo, confeccionou-se curva de dose resposta em amostras de substrato utilizada no experimento, contudo, sem aplicação prévia de qualquer herbicida. Essas amostras foram usadas para preencher recipientes de polietileno de 0,2 dm^3, sendo estabelecidas nove doses para cada um dos herbicidas, (0%; 10%; 12,5%; 16,6%; 25%; 50%; 100%; 150% e 200%) da dose comercialmente recomendada (Tabela 1), com quatro repetições por dose.

A partir dos dados obtidos na curva de dose resposta realizou-se a análise de variância utilizando-se o software SigmaPlot 10.0® (2008) estabelecendo-se, para cada herbicida regressão log-logística, método de regressão não-linear, utilizando a equação de Seefeldt et al. (1995):

$$Y = C + \frac{D}{1 + (\frac{x}{C_{50}})^b}$$

na qual: *C*= limite inferior da curva; *D*= diferença entre o limite superior e inferior da curva; *b*= declividade da curva; C_{50}= ponto de inflexão da curva.

O limite superior da curva *D* corresponde à resposta média da testemunha e o limite inferior da curva, *C* é a resposta média com doses altas de herbicida. O parâmetro *b* descreve a declividade da curva em torno do C_{50}.

A partir das equações, as respostas obtidas para as plantas de sorgo e pepino crescidas em substrato previamente cultivado pelas espécies arbóreas, foram comparadas para fins de estimativa da capacidade remediadora.

Para as análises estatísticas, utilizou-se o pacote ExpDes.pt (FERREIRA et al., 2013) do software R (R CORE TEAM, 2017). Os dados foram testados quanto a normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade (Bartlett), em seguida, procedeu-se a realização da Análise de variância (ANOVA) e comparação pelo teste de Tukey a 5% de significância para diâmetro, altura, número de folhas, intoxicação aos 40 dias, MF e MS. Para fotossíntese, CO_2 consumido, carbono interno e transpiração do fedegoso, realizou-se por análise descritiva. A análise descritiva também foi adotada para análise das curvas de dose resposta dos herbicidas para as espécies.

5 RESULTADOS

5.1 Experimento 1

5.1.1 Emergência e Índice de Velocidade de Emergência (IVE)

Quanto à porcentagem de emergência aos vinte dias de implantação do experimento, não houve interação significativa entre os fatores analisados, todavia, as espécies apresentaram médias distintas estatisticamente. O fedegoso apresentou porcentagem de emergência superior (87,10%), enquanto a média de emergência do monjoleiro foi 63,76%. Já para o índice de velocidade de emergência (IVE) não foi observada interação significativa entre os fatores, sendo para o monjoleiro 24,09, enquanto o fedegoso apresentou média 21,01 (Figura 1), evidenciando que o monjoleiro emergiu mais rápido, todavia ao final a maior porcentagem de sementes germinadas foi de fedegoso.

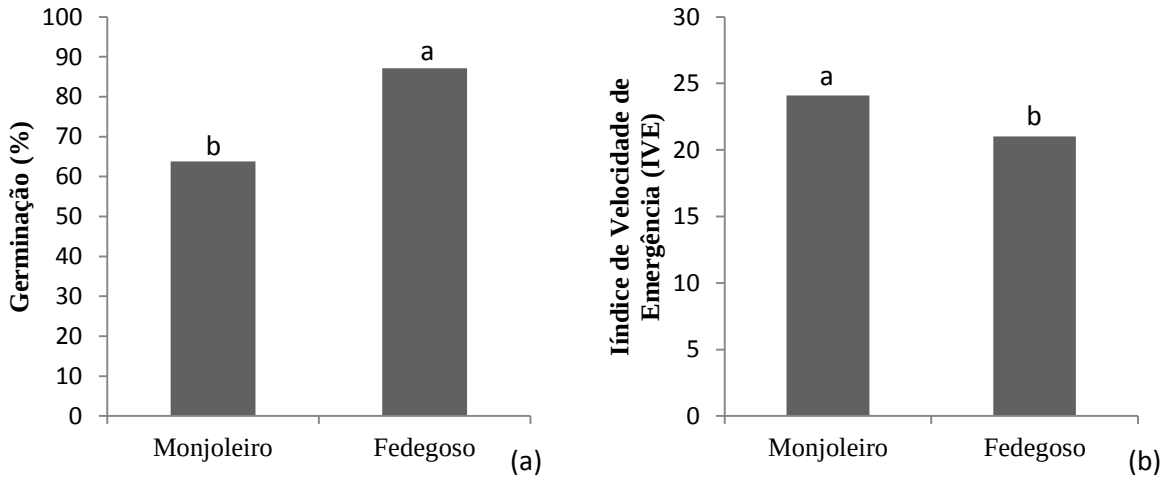

Figura 1 – Percentual de germinação (a) e Índice de velocidade de emergência (b) do monjoleiro e do fedegoso, 20 dias após a implantação do experimento. Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste F a 5% de significância.

5.1.2 Mortalidade

Para a mortalidade, observou-se interação significativa entre herbicida e espécie. Como pode ser observado na Tabela 4, a média de mortalidade para o monjoleiro foi indiferente ao herbicida utilizado. O fedegoso, por sua vez, apresentou mortalidade distinta para cada um dos herbicidas, sendo o ametryn responsável pela maior porcentagem de plântulas mortas (58,12%,) enquanto hexazinone provocou menor mortalidade (11,48%).

Ao comparar as espécies em cada um dos herbicidas, observa-se que a porcentagem de plântulas mortas foi semelhante quando submetidas ao hexazinone, o monjoleiro foi mais resistente ao ametryn enquanto que o fedegoso foi ao atrazine. Quanto às

doses aplicadas, apenas o efeito simples foi significativo. O ajuste da regressão quadrática para as doses se mostrou significativo (Figura 2).

Tabela 04 - Percentual de mortalidade das espécies monjoleiro e fedegoso, submetidos à ametryn, atrazine e hezaxinone

Herbicida	Mortalidade (%)	
	Monjoleiro	Fedegoso
Ametryn	36,40 aB	58,12 aA
Atrazine	40,23 aA	11,48 cB
Hexazinone	31,97 aA	36,56 bA

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. Espécies seguidas de mesma letra maiúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de F a 5% de significância.

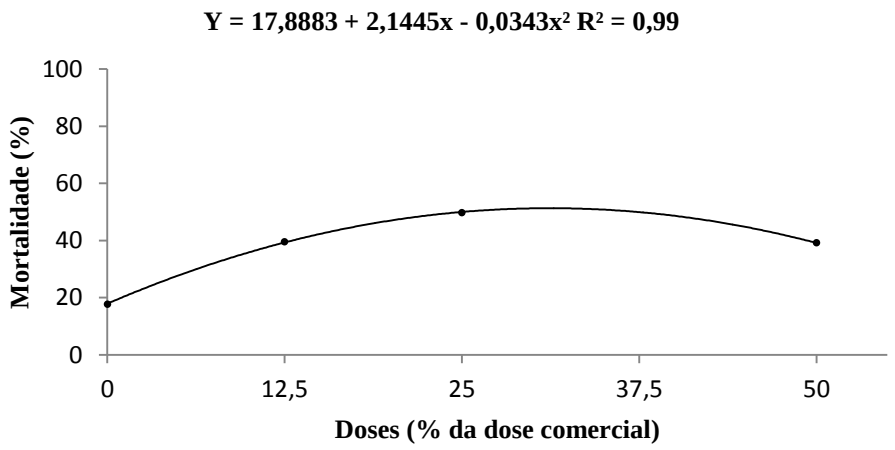

Figura 2 – Ajuste de regressão quadrática da mortalidade (%) em função das doses de herbicida aplicadas.

5.1.3 Intoxicação

Ao testar a normalidade dos resíduos, referentes à intoxicação no vigésimo segundo dia, constatou-se resíduos não normais, logo, procedeu-se a transformação utilizando-se o seno do valor da intoxicação. Após a transformação a normalidade foi atendida, porém, não houve diferença significativa quanto à espécie, dose ou herbicida. Ainda, quanto à intoxicação, a avaliação do quadragésimo terceiro dia revelou interação tripla significativa entre espécie, herbicida e dose.

Na Tabela 5 tem-se a comparação entre as espécies e os herbicidas em cada uma das doses aplicadas. Para a dose correspondente a 12,5% da recomendação comercial, observa-se que o ametryn foi o herbicida altamente tóxico a ambas espécies, o hexazinone mostrou-se menos tóxico ao monjoleiro e dentre os herbicidas estudados nessa dose o atrazine foi menos tóxico ao fedegoso. A dose de 25% de ametryn e atrazine foi extremamente tóxica para o monjoleiro e o ametryn mostrou-se o mais tóxico ao fedegoso. Ao comparar as

espécies verifica-se que o fedegoso foi menos afetado pelo atrazine. Por fim, para a dose de 50% a intoxicação foi semelhante à observada para 25%, porém o hexazinone causou intoxicação máxima ao monjoleiro nessa dose.

Tabela 05 – Valores de intoxicação para diferentes doses dos herbicidas ametryn, atrazine e hexazinone para as espécies monjoleiro e fedegoso

Dose	Espécie	Ametryn	Atrazine	Hexazinone
0	Monjoleiro	0 aA	0 aA	0 aA
	Fedegoso	0 aA	0 aA	0 aA
12,5	Monjoleiro	75 aA	100 aA	45 aB
	Fedegoso	90 aA	17,5 bB	67,5 aA
25	Monjoleiro	100 aA	100 aA	80 aB
	Fedegoso	100 aA	26,6 bB	55 aB
50	Monjoleiro	100 aA	100 aA	100 aA
	Fedegoso	100 aA	20 bB	67,5 bB

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, em cada uma das doses, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Não foi possível encontrar ajuste de regressão linear para o ametryn e atrazine com os dados de intoxicação do monjoleiro e tampouco para o ametryn com os dados de intoxicação do fedegoso. Para hexazinone em ambas as espécies e atrazine para o fedegoso, o ajuste quadrático mostrou-se satisfatório e pode ser observado na Figura 3.

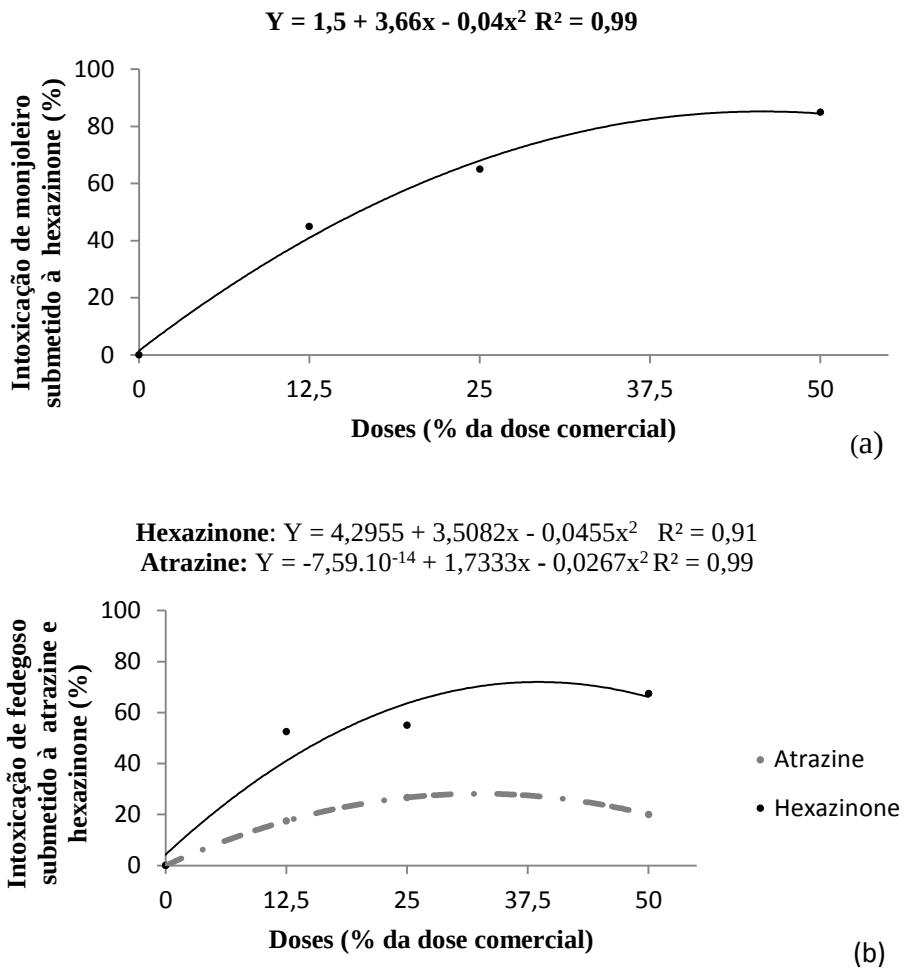

Figura 3 – Regressões quadráticas de intoxicação do monjoleiro (a) e do fedegoso (b) aos 43 dias após a aplicação dos herbicidas atrazine e hexazinone.

5.1.4 Massa

A Massa Fresca de Raízes (MFR) foi menos afetada pelo hexazinone no monjoleiro e pelo atrazine no fedegoso na menor dose aplicada, para as demais doses, não foi observada diferença significativa, como pode ser observado na Tabela 6.

A MFR do fedegoso foi reduzida de maneira semelhante quando submetido à aplicação de qualquer dose ou herbicida estudados. O monjoleiro reagiu da mesma maneira para o ametryn e atrazine. No entanto, quando submetido à hexazinone, a MFR à 12,5% e 25% da dose comercial foi igual ao controle, havendo redução apenas quando submetido à 50% da dose comercial. O comportamento das espécies se diferiu: aos 12,5% de atrazine, sendo a MFR do monjoleiro mais afetada, na mesma dose de hexazinone, em que a MFR do fedegoso foi mais afetada e, por fim, na maior dose (50%) de hexazinone na qual o monjoleiro foi mais afetado (Tabela 6). Cabe salientar que os valores zero correspondem à morte total das plântulas, logo não houve massa para avaliar.

Tabela 06 – Comparação entre espécies e doses para cada um dos herbicidas em relação à Massa Fresca de Raízes (MFR), da Parte Aérea (MFPA) e total (MFT)

Herbicida	Dose (%)	MFR (g)		MFPA (g)		MFT (g)	
		Monjoleiro	Fedegoso	Monjoleiro	Fedegoso	Angico	Fedegoso
Ametryne	0	0,108 aA	0,048 aB	0,147 aA	0,155 aA	0,255 aA	0,203 aA
	12,5	0,007 bA	0,003 bA	0,021 bA	0,013 bA	0,029 bA	0,017 bA
	25	0 bA	0 bA	0 bA	0 bA	0 bA	0 bA
	50	0 bA	0 bA	0 bA	0 bA	0 bA	0 bA
Atrazine	0	0,052 aA	0,056 aA	0,099 aA	0,138 aA	0,152 aA	0,198 aA
	12,5	0 bB	0,053 aA	0 bB	0,141 aA	0 bB	0,192 aA
	25	0 bA	0,032 aA	0 bB	0,133 aA	0 bB	0,166 aA
	50	0 bA	0,024 aA	0 bB	0,115 aA	0 bB	0,140 aA
Hexazinone	0	0,086 aA	0,053 aA	0,101 aB	0,154 aA	0,169 aA	0,207 aA
	12,5	0,068 abA	0,012 aB	0,072 abA	0,091 abA	0,159 aA	0,119 abB
	25	0,030 bcA	0,028 aA	0,032 bcB	0,078 bA	0,063 bA	0,114 bA
	50	0 cB	0,036 aA	0 cB	0,033 bA	0 bB	0,045 bA

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna, para cada herbicida, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. Espécies seguidas de mesma letra maiúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de F a 5% de significância.

Verifica-se na Tabela 7, que a Massa Seca de Raízes (MSR) apresentou respostas semelhantes às observadas na MFR quando as espécies foram submetidas à 12,5% da dose comercial, todavia, para a dose de 25%, MSR do fedegoso foi mais afetada pelo ametryn, enquanto o monjoleiro pelo ametryn e atrazine, na maior dose (50%) o fedegoso foi mais afetado pelo ametryn. Outra distinção observada da MSR em relação a MFR são as respostas das espécies às doses de 25 e 50% de atrazine, enquanto que para a MFR as espécies se comportaram de maneira semelhante, para a MSR o monjoleiro foi mais afetado.

É possível observar que as respostas para a Massa Fresca da Parte Aérea (MFPA), verificadas na Tabela 6, foram semelhantes às encontradas na análise da MFR, distinguindo-se apenas quando o fedegoso foi submetido às doses de 25% e 50%, em que as menores MFPA foram obtidas na presença de ametryn.

A MFPA também se comportou de forma diferente em relação à MFR na presença de hexazinone, em que as doses de 12,5 e 50% resultaram em menores MFPA. O monjoleiro foi mais sensível à aplicação de 25 e 50% de atrazine, as espécies responderam de forma semelhante à aplicação de 12,5% de hexazinone e aos 25% desse mesmo herbicida, o monjoleiro foi mais afetado, obtendo médias inferiores (Tabela 6).

Para a Massa Seca da Parte Aérea (MSPA) das espécies, observa-se comportamento semelhante ao obtido para MFPA, exceto quando o monjoleiro foi submetido à 25% da dose comercial, enquanto a MFPA foi semelhante para todos os herbicidas, a MSPA foi menor na presença de ametryn e atrazine. Ainda quanto às distinções em relação a MFPA, a MSPA quando o fedegoso foi submetido a hexazinone, para esse último, apenas o controle se diferiu da aplicação de qualquer dose. Por fim, observando o hexazinone, é possível

observar que a dose de 12,5% foi mais tóxica ao fedegoso enquanto para a aplicação de 25%, não houve diferença na MSPA para as duas espécies estudadas (Tabela 7).

Tabela 07 – Comparação entre espécies e doses para cada um dos herbicidas em relação à Massa Seca de Raízes (MSR), da Parte Aérea (MSPA) e total (MST)

Herbicida	Dose	MSR (g)		MSPA (g)		MST (g)	
		Monjoleiro	Fedegoso	Monjoleiro	Fedegoso	Monjoleiro	Fedegoso
Ametryne	0	0,0143 aA	0,0080 aA	0,0677 aA	0,0505 aB	0,0821 aA	0,0586 aB
	12,5	0,0016 bA	0,0009 bA	0,0092 bA	0,0050 bA	0,0108 bA	0,0059 bA
	25	0 bA	0 bA	0 bA	0 bA	0 bA	0 bA
	50	0 bA	0 bA	0 bA	0 bA	0 bA	0 bA
Atrazine	0	0,0095 aA	0,0066 aA	0,0421 aA	0,0438 aA	0,0516 aA	0,0504 aA
	12,5	0 bB	0,0077 aA	0 bB	0,0460 aA	0 bB	0,0538 aA
	25	0 bB	0,0065 aA	0 bB	0,0416 aA	0 bB	0,0481 aA
	50	0 bB	0,0085 aA	0 bB	0,0413 aA	0 bB	0,0498 aA
Hexazinone	0	0,0123 aA	0,0094 aA	0,0440 aA	0,0526 aA	0,0563 aA	0,0621 aA
	12,5	0,0106 aA	0,0065 aB	0,0402 abA	0,0311 bB	0,0508 a A	0,0376 bB
	25	0,0049 bA	0,0053 abA	0,0209 bA	0,0275 bA	0,0258 bA	0,0328 bA
	50	0 cB	0,0021 bA	0 cB	0,0146 bA	0 cB	0,0167 bA

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna, para cada herbicida, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. Espécies seguidas de mesma letra maiúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de F a 5% de significância.

As respostas obtidas para a Massa Fresca Total (MFT) foram intermediárias, ora se comportando como a MFPA, ora como MFR, destacando-se como diferente de ambos apenas quando as espécies foram submetidas à 50% da dose comercial de hexazinone, em que ambas apresentaram médias semelhantes. Para a Massa Seca Total (MST), diferentemente da MFT, em que as médias para esse tratamento foram iguais, observou-se que a dose de 25% de ametryn e atrazine aplicadas ao monjoleiro, resultou em menores médias de MST.

Ainda em relação às diferenças em relação a MFT, apresentada na Tabela 6, observa-se que as maiores doses aplicadas (25 e 50%) de hexazinone formaram grupos distintos, ambos afetaram mais que o controle e a dose de 12,5%, para o fedegoso, enquanto a MFT provocou menores médias nas doses de 12,5 e 50%, para a MST houve diferenciação apenas entre o controle e as demais doses. Quanto as comparação entre espécies, a MFT mostrou-se igual para a MFT, todavia, para a MST o monjoleiro obteve menor média.

5.2 Experimento 2

5.2.1 Diâmetro

A análise do diâmetro das mudas de monjoleiro e fedegoso mostrou interação significativa entre os herbicidas e as espécies. Não foi observada diferença nas espécies quanto às doses. Ao comparar o comportamento do diâmetro das espécies em cada um dos herbicidas, destaca-se que quando submetidas à hexazinone não houve diferença significativa,

por outro lado, quando submetidos à ametryn e atrazine o monjoleiro resultou em menores médias para esta variável (Figura 4).

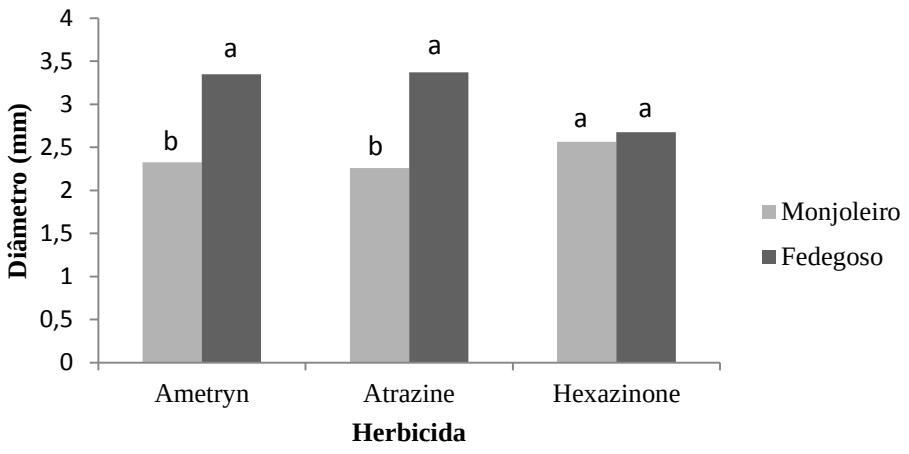

Figura 4 – Diâmetros de mudas (mm) das espécies monjoleiro e fedegoso em função dos herbicidas. Espécies seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste F a 5% de significância.

5.2.2 Altura

Para a altura não foi observada diferença significativa para as interações entre os fatores avaliados, bem como para os fatores doses e herbicidas isoladamente. A única diferença quanto à altura se deu entre as espécies na qual o fedegoso apresentou médias de altura superiores (Figura 5).

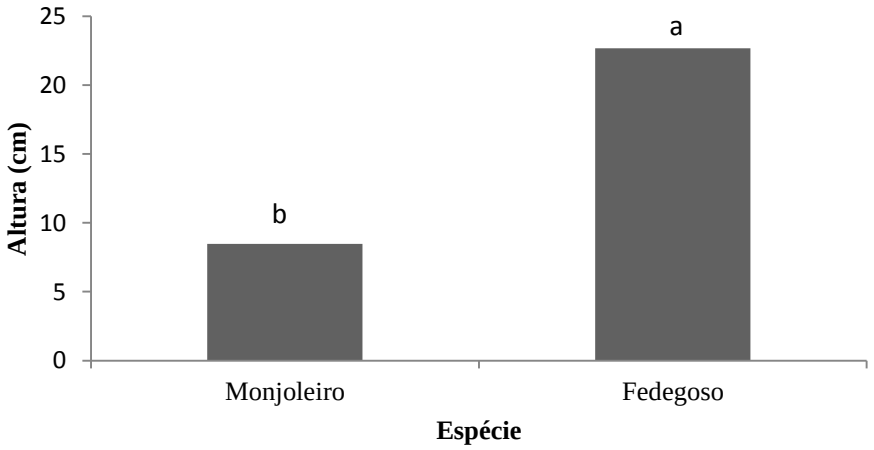

Figura 5 – Altura de mudas (cm) das espécies monjoleiro e fedegoso aos 40 dias após a aplicação dos herbicidas. Espécies seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste F a 5% de significância.

5.2.3 Número de Folhas (NF)

O número de folhas das espécies foi afetado de forma semelhante pelos herbicidas, não foi constatada diferença significativa. Verifica-se na Tabela 8, que independente da dose utilizada, o fedegoso apresentou maior número de folhas quando comparado ao monjoleiro. Quanto às doses, a regressão linear quadrática ajustada para o monjoleiro demonstra queda no NF dessa espécie (Figura 6), todavia o fedegoso não sofreu alteração nessa variável, logo não houve ajuste de regressão significativo.

Tabela 8 – Número de Folhas (NF) das espécies estudadas em função das doses de herbicidas

	Espécie	
Doses (% da dose comercial)	Monjoleiro	Fedegoso
0	4,66 b	10,58 a
12,5	3 b	11,91 a
25	2 b	12,54 a
50	0,25 b	11,75 a

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de F a 5% de significância.

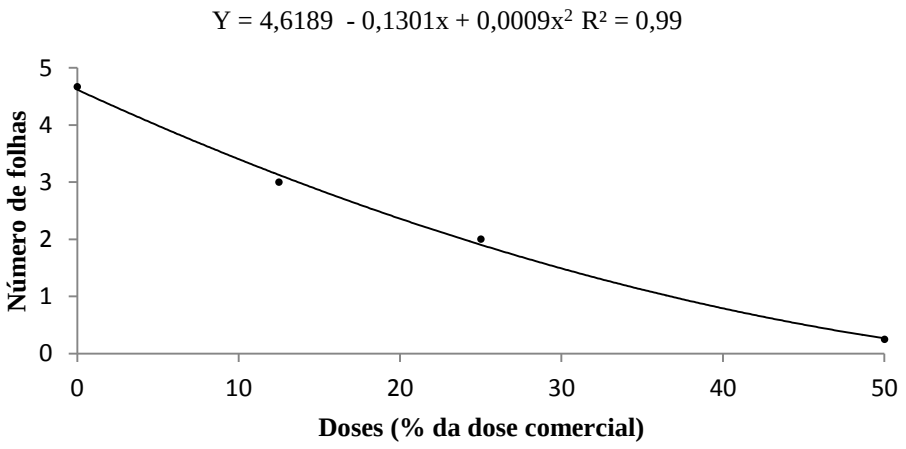

Figura 6 – Curva de regressão linear quadrática para o Número de Folhas (NF) de mudas do monjoleiro em função das doses de herbicidas.

Características morfológicas, tais quais, diâmetro, altura e número de folhas são intrínsecas a cada espécie e alterações dentro das espécies em relação aos herbicidas são mais relevantes, todavia, para as características altura e número de folhas, não foram detectadas diferenças significativas dessas características quanto aos tipos de herbicidas aplicados. Apenas observou-se diminuição do número de folhas para as plântulas de monjoleiro com o aumento da dose de herbicidas, independente de qual deles.

5.2.4 Intoxicação

A intoxicação das mudas de monjoleiro foi semelhante em todos os herbicidas (Figura 7a). Enquanto as mudas de fedegoso foram mais sensíveis a hexazinone (Figura 7b).

Quanto às doses, em qualquer aplicação o monjoleiro mostrou-se mais sensível que o fedegoso, independente do herbicida aplicado (Tabela 9).

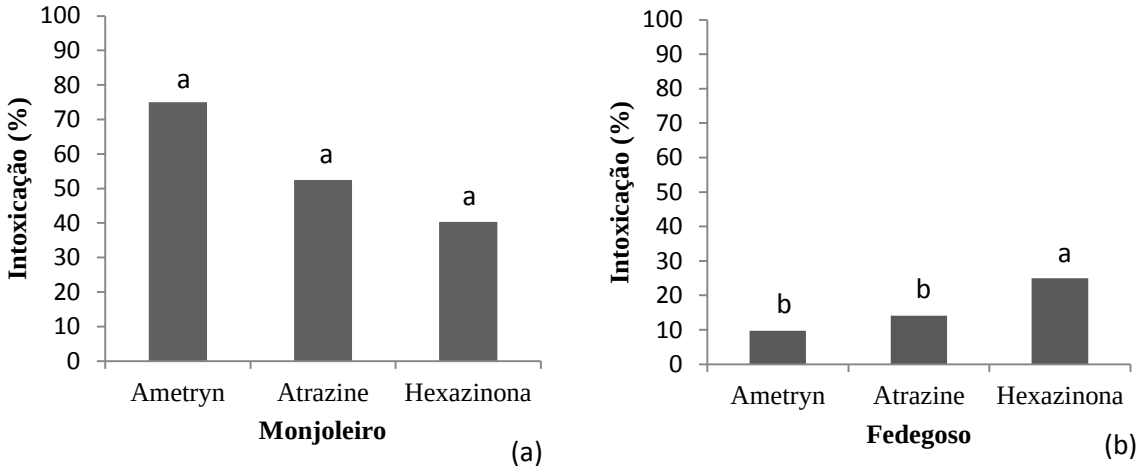

Figura 7 – Comparação da intoxicação de monjoleiro (a) e fedegoso (b) em relação a cada um dos herbicidas. Herbicidas seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de significância.

Tabela 09 – Intoxicação do monjoleiro e do fedegoso submetidos a diferentes doses de herbicidas.

	Intoxicação (%)	
Doses (% das doses comerciais)	Monjoleiro	Fedegoso
0	0 a	0 a
12,5	54,16 a	12,5 b
25	74,16 a	25 b
50	95,33 a	25,41 b

Médias seguidas de mesma na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

A observação das doses revelou que, independente da espécie a aplicação de qualquer das doses analisadas diferiu-se do controle. A Figura 8 apresenta os ajustes de regressão para as doses em ambas as espécies. Em ambas, se observa comportamento quadrático, ou seja, as doses intermediárias causaram maiores intoxicações médias. Apesar do baixo coeficiente de correlação o ajuste gerado para o fedegoso foi significativo a 5% de significância do erro, todavia, por se tratar de propagação seminal, os genótipos apresentaram comportamento diferenciado em relação à intoxicação provocando erros mais altos nas estimativas de ambas as espécies, nesse caso, o fedegoso foi afetado mais intensamente.

O fato de a intoxicação diminuir com aumento das doses, gerando ajuste quadrático, pode ser explicado por mecanismos de defesa da planta, em doses menores a planta não consegue detectar a presença das moléculas e a intoxicação é maior. Com o aumento da dose a planta detecta e tenta combater a presença dos herbicidas.

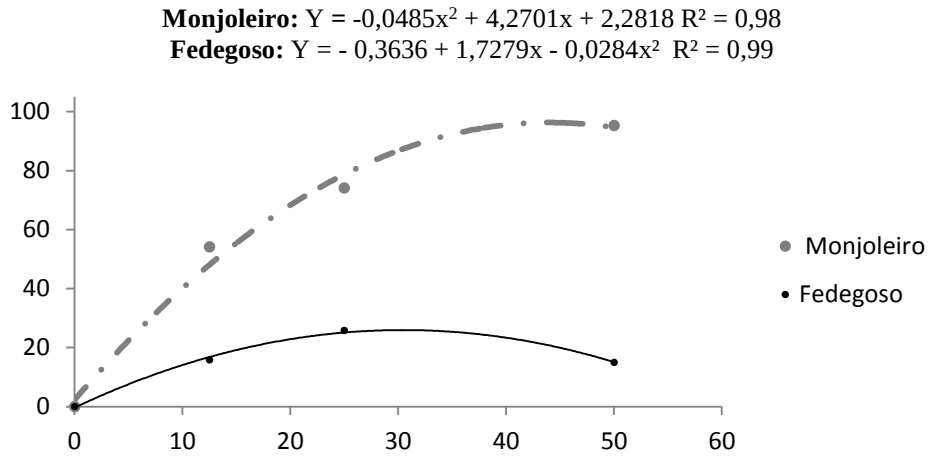

Figura 8 – Curvas de regressão linear quadráticas ajustadas para a intoxicação das mudas de monjoleiro e de fedegoso em relação às doses de herbicida aplicadas

5.2.5 Massa Seca Total (MST) e Porcentagem de Água

As variáveis MST e porcentagem de água não apresentaram interação significativa dos fatores, tampouco diferença entre herbicidas e espécie, a MST foi diferente apenas quanto à espécie, sendo maiores as médias de MST e porcentagem de água para fedegoso, o mesmo comportamento observado para a porcentagem de água (Figura 9). Cabe ressaltar que a diferença morfológica se deve a especificidade de cada espécie e não a presença de herbicidas.

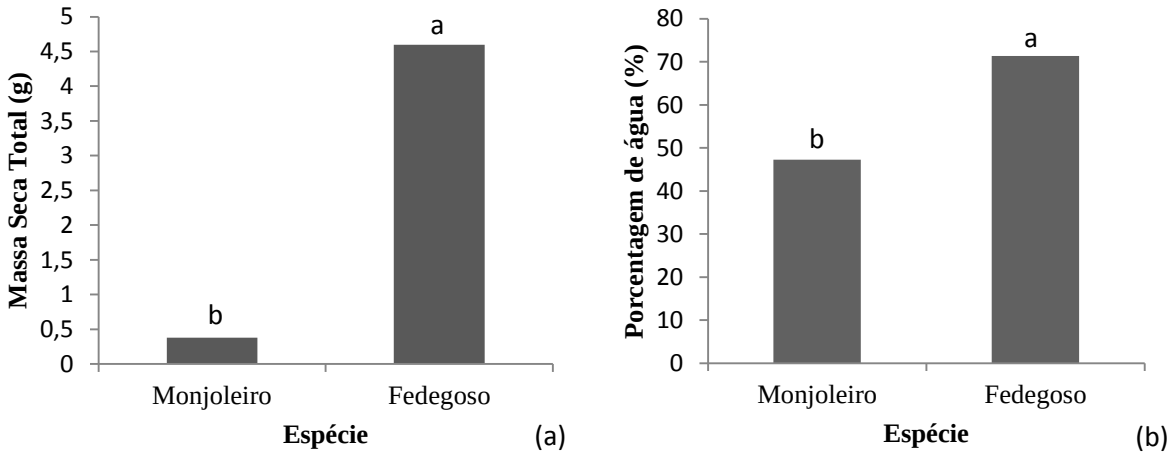

Figura 9 – Comparação entre monjoleiro e fedegoso quanto à Massa Seca Total (a) e Percentagem de água (b). Espécies seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de significância.

5.2.6 Variáveis Fisiológicas

Observa-se na Figura 10 alterações fotossintéticas e de CO_2 consumido, sofridas pelo fedegoso quando submetido a cada um dos herbicidas estudados. Independente do herbicida a que o fedegoso foi submetido (Figura 10 (a) e (b)). Para a dose de 12,5% o atrazine provocou maior diminuição nas variáveis analisadas. A dose corresponde a 25% foi mais crítica para o fedegoso quando submetido a ametryn, seguido do atrazine e por último do hexazinone, a dose de 50% provocou uma queda drástica na fotossíntese e na assimilação de CO_2 independente do herbicida analisado.

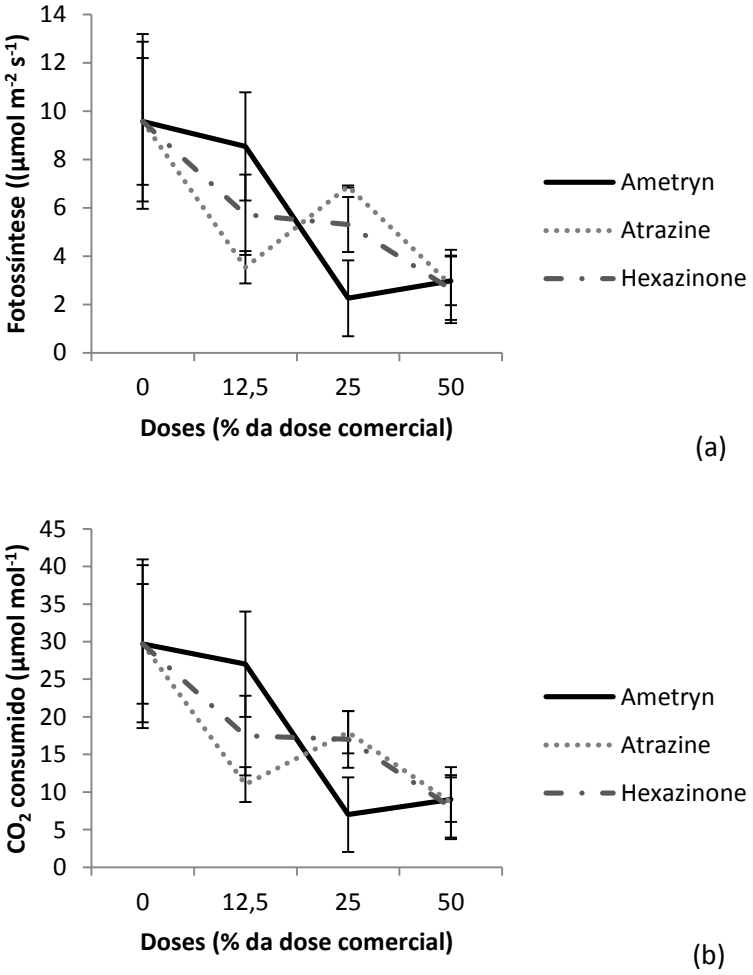

Figura 10 – Taxa fotossintética (a) e CO_2 consumido (b) em mudas de fedegoso submetidas a doses crescentes de ametryn, atrazine e hexazinone.

O carbono interno não variou de forma abrupta, todavia, observa-se diferença, em resposta ao estresse causado pelos herbicidas, o fedegoso respondeu com aumento do carbono interno. Pode-se considerar que o comportamento dessa variável foi exatamente contrário à fotossíntese e CO_2 consumido, houve queda nesses últimos, observou-se aumento do carbono

interno (Figura 11). O ametryn na dose de 12,5% provocou maior queda no carbono interno, se comparado aos demais herbicidas estudados.

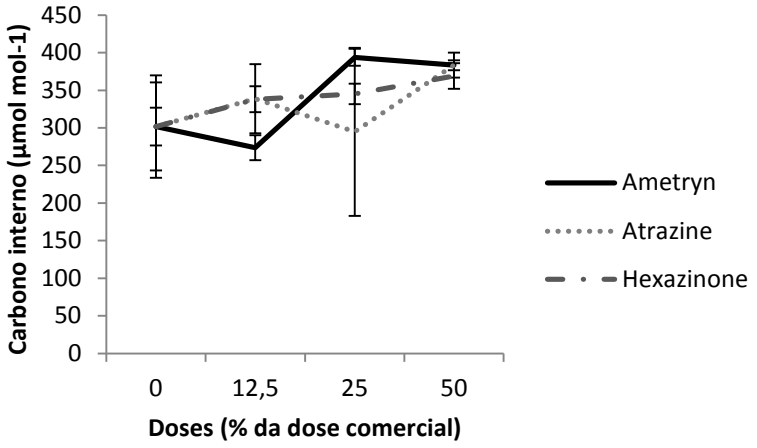

Figura 11 – Carbono interno de mudas de fedegoso submetidas a doses crescentes de ametryn, atrazine e hexazinone.

A transpiração do fedegoso foi pouco afetada pelos herbicidas, não havendo diferença significativa entre as doses quando observados os desvios padrões, apesar de leve declínio dessa variável, principalmente quando o fedegoso foi submetido à hexazinone (Figura 12). No entanto, cabe ressaltar que no dia da aferição, o ambiente encontrava-se com umidade relativa elevada, o que pode explicar a variação sutil de transpiração entre os tratamentos.

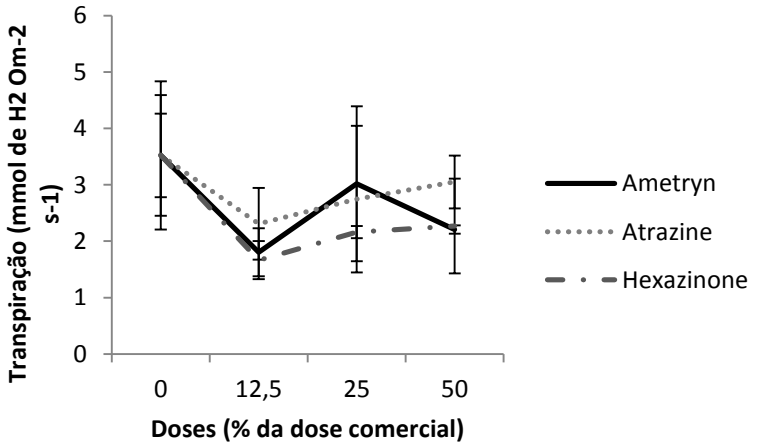

Figura 12 – Transpiração de mudas de fedegoso submetidas a doses crescentes de ametryn, atrazine e hexazinone.

5.2.7 Curva de dose resposta

Verifica-se nas Figuras de 13 a 15 mostram o comportamento das curvas de dose resposta das espécies sensíveis submetidas a herbicidas lixiviáveis e suas respectivas equações e coeficientes de determinação.

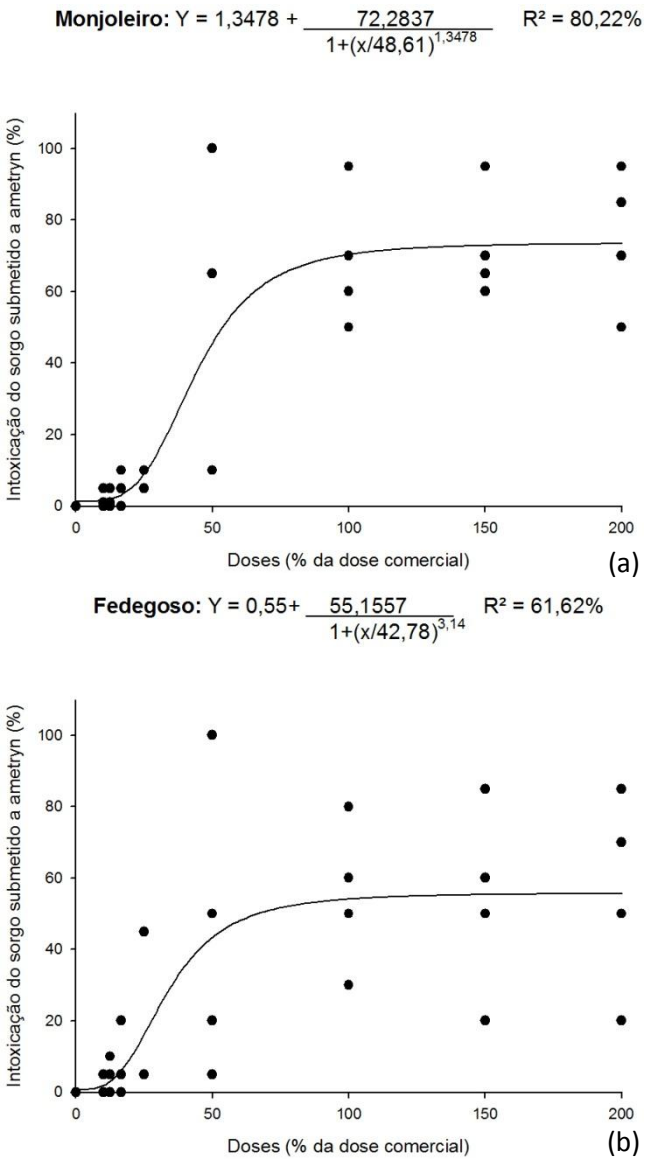

Figura 13 – Curvas (calibração) de dose resposta do sorgo submetido à ametryn, semeado no em solo previamente cultivado com testemunhas de monjoleiro (a) e fedegoso (b)

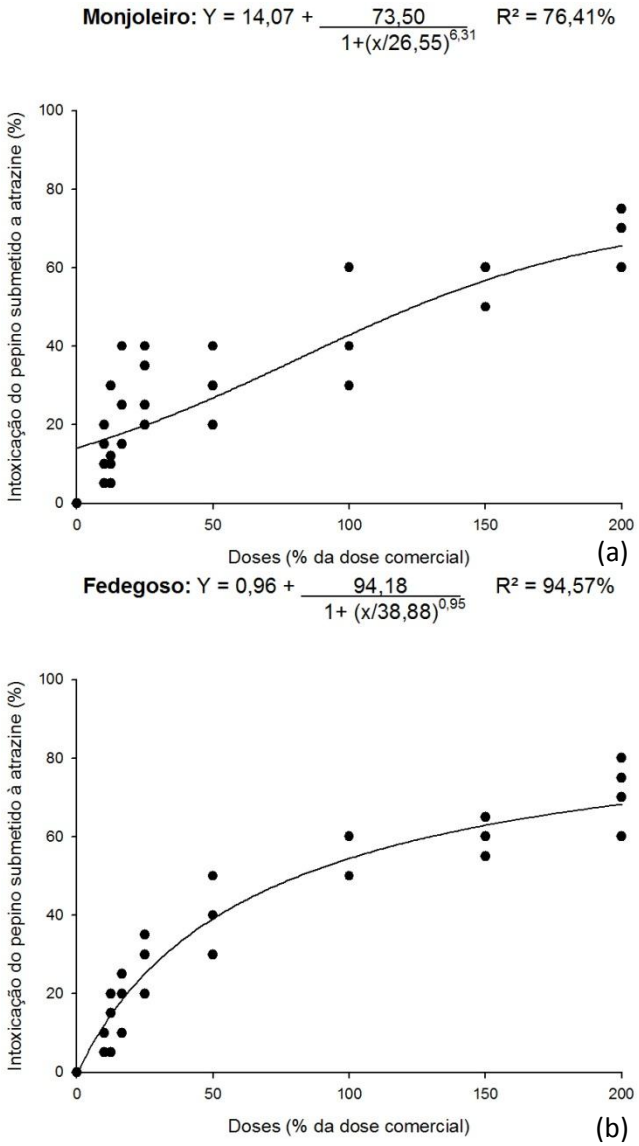

Figura 14 – Curvas (calibração) de dose resposta do pepino submetido à atrazine, semeado no em solo previamente cultivado com testemunhas de monjoleiro (a) e fedegoso(b)

Independente de qual espécie foi proveniente o solo utilizado para a obtenção das curvas, a observação visual mostra comportamento semelhante das espécies sensíveis (sorgo e pepino), aumento de intoxicação em doses crescentes, até atingir estabilização. A análise das equações das curvas mostra que o C_{50}, ou seja, dose que provoca 50% de intoxicação apresenta médias mais próximas para ametryn, seguido de hexazinone e por fim, com médias mais discrepantes entre as espécies, o atrazine. Nos solos submetidos ao hexazinone o C_{50} estimado, respectivamente para monjoleiro e fedegoso foram 70,68% e 63,59% da dose comercial, para atrazine 26,55% e 38,88% e para ametryn 48,61% e 42,78%.

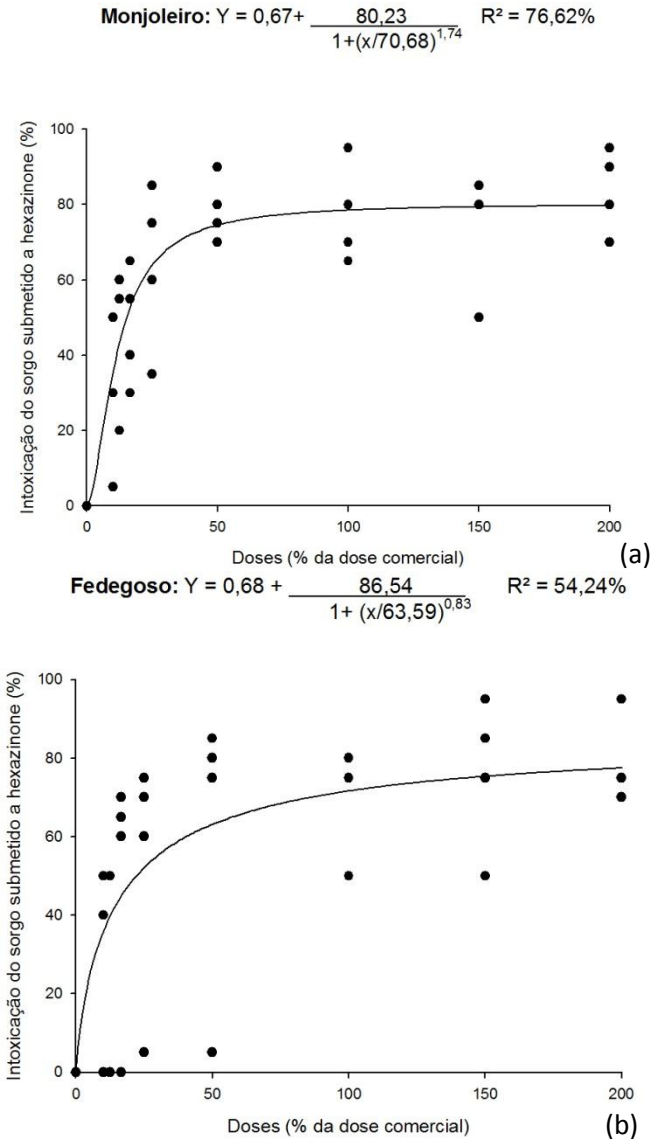

Figura 15 – Curvas (calibração) de dose resposta do sorgo submetido a hexaxinone, semeado no em solo previamente cultivado com testemunhas de monjoleiro (a) e fedegoso(b)

A normalidade e homogeneidade dos dados de intoxicação não foram atingidas mesmo após diversas transformações logo, optou-se pela análise descritiva para comparar as respostas de fitorremediação.

A observação das Figuras 16 e 17 mostra que a intoxicação foi reduzida drasticamente onde houve o plantio prévio das duas espécies, indicando possível potencial fitorremediador de ambas. Com destaque para atrazine, em que as plântulas cultivadas onde havia angico e fedegoso não demonstraram sintoma nenhum de intoxicação. Para solo em que foi aplicado ametryn com cultivo prévio de fedegoso, o pepino apresentou intoxicação, e de forma sutil, na maior dose aplicada (50% da dose comercial) o mesmo comportamento foi observado para solo em que estava o monjoleiro submetido à hexazinone. Todavia, como já havia passado 64 dias da aplicação dos herbicidas, pode ser que estes tenham se degradados

no solo, logo, recomenda-se a realização de mais estudos para confirmar o potencial remediador dessas espécies.

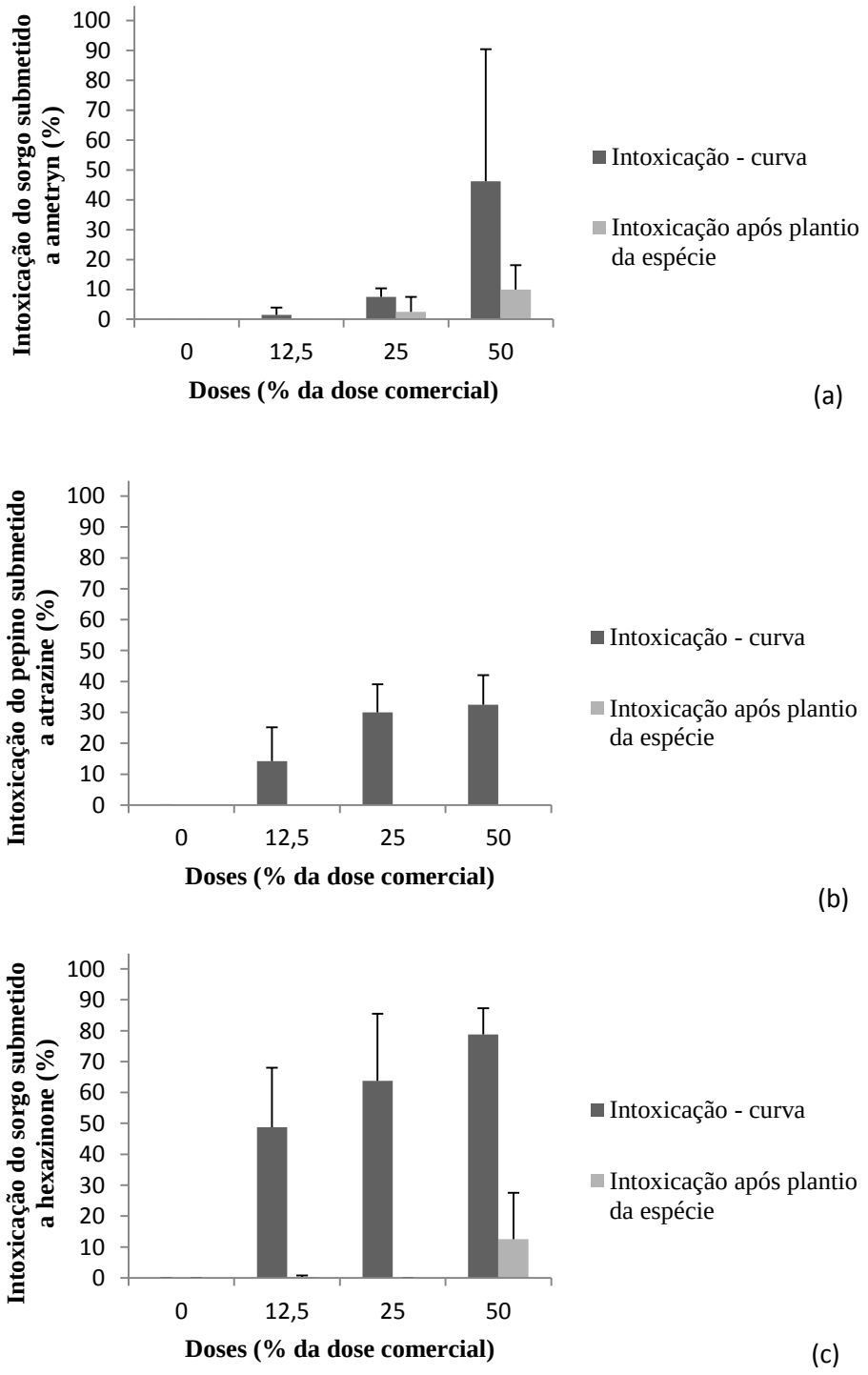

Figura 16 - Comparações entre as intoxicações causadas por ametryn (a), atrazine (b) e hexazinone (c), antes e depois da implantação do monjoleiro, tendo como bioindicador o pepino para atrazine e sorgo para ametryn e hexazinone

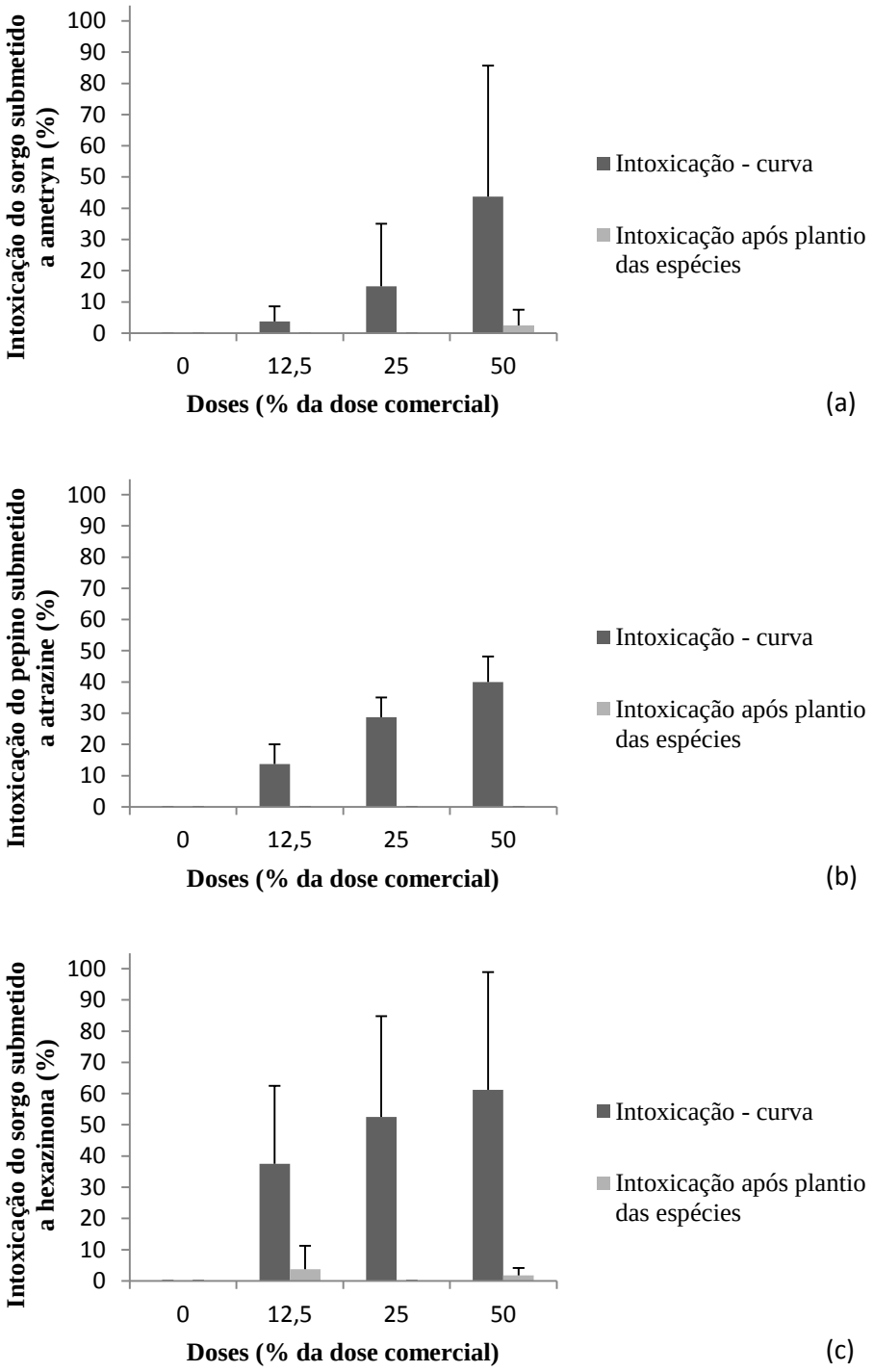

Figura 17 - Comparações entre as intoxicações causadas por ametryn (a), atrazine (b) e hexazinone (c), antes e depois da implantação do fedegoso, tendo como bioindicador o pepino para atrazine e sorgo para ametryn e hexazinone

6 DISCUSSÃO

6.1 Experimento 1

O fato dos herbicidas não terem afetado a emergência das sementes ou a velocidade com que ela ocorreu nas espécies estudadas pode ser explicado pelo fato de os herbicidas ametryn, atrazine e hexazinone serem inibidores do fotossistema II (EMBRAPA, 2008, VENTRELLA et al., 2010), isso pode explicar porque não afetaram a emergência das sementes. Esse tipo de herbicida afeta a planta quando esta começa a fotossintetizar, como na emergência as sementes em questão utilizam as reservas da semente, o efeito dos herbicidas não foi demonstrado.

A diferença observada entre as espécies pode ser explicada pela estratégia ecológica adotada, embora ambas sejam espécies pioneiras (LORENZI, 2002). O monjoleiro não apresenta dormência, logo não necessita de tratamento para germinar (LIMA et al., 2013), enquanto o fedegoso apresenta dormência tegumentar (SANTARÉM; AQUILA, 1995) isso pode justificar a germinação mais rápida do monjoleiro e a porcentagem de germinação final superior do fedegoso.

Souza (2009), trabalhando com *Emilia coccínea* (dicotiledônea) e *Digitalia horizontalis* (monocotiledônea) submetidas à atrazine e clomazone (herbicidas lixiviáveis), observou para a *Digitalia* porcentagem de plantas mortas semelhante à observada para o fedegoso, considerando que ambas são dicotinedôneas, é compreensível que a sensibilidade a herbicidas lixiviáveis seja semelhante. Gravena et al. (2004), estudando o comportamento de diversas plantas daninhas em cobertura de palhada de cana-de-açúcar e/ou presença de ametryn e trifloxysulfuron sodium, observaram que a *Senna obtusifolia*, mesmo gênero do fedegoso, foi muito sensível aos herbicidas, assim como o fedegoso ao ametryn.

Monquero et al. (2011) avaliaram o efeito de herbicidas em quatro espécies florestais utilizadas em recuperação de áreas degradadas, dentre elas, a *Senegalia polyphylla* que se mostrou sensível a todos os herbicidas avaliados (glyphosate, imazapyr, sulfentrazone e metribuzin), sendo que para o metribuzin, em que a espécie apresentou menor intoxicação, a média para essa variável foi de 40%, comportamento semelhante foi observado no presente trabalho para o ametryn, atrazine e hexazinone, herbicidas para os quais a espécie demonstrou grande sensibilidade e que nas maiores doses (correspondentes à metade das doses comerciais) a intoxicação final foi de 100%. Isso indica que esta espécie é especialmente sensível a herbicidas e que pode ser prejudicada em áreas sujeitas a esses compostos acarretando em perda de biodiversidade local.

Devido à alta intoxicação sofrida pelas espécies, principalmente o monjoleiro que não sobreviveu à aplicação das maiores doses de nenhum herbicida, é possível que a lixiviação destes herbicidas a áreas nativas afete a sobrevivência e perpetuação das espécies em longo prazo, já que a germinação ocorre, todavia as plantas morrem antes mesmo de chegarem à fase de muda.

Ainda segundo Monquero et al. (2011), há diminuição acentuada no acúmulo de biomassa do monjoleiro quando submetido a herbicidas, corroborando com os resultados aqui encontrados para a espécie.

Ferreira et al. (2005) em trabalho semelhante a este estudo observaram os efeitos de herbicidas (dentre eles o atrazine) em espécies florestais (dentre elas o fedegoso) de ocorrência em matas ciliares. Os resultados de emergência e sobrevivência encontrados pelos autores para o fedegoso se assemelham aos obtidos neste trabalho, demonstrando a sensibilidade da espécie à presença de herbicidas no solo no momento da emergência e nos estágios iniciais de desenvolvimento. Os resultados dos autores supracitados para a massa seca da parte aérea também se assemelham aos do presente trabalho, a presença de atrazine não afetou significativamente essa variável, quando comparada ao controle.

6.2 Experimento 2

Corroborando aos resultados aqui observados para o fedegoso na presença dos herbicidas estudados, Ferreira et al. (2005) observaram que o diâmetro do fedegoso não foi afetado pela presença de herbicidas. Fiore et al. (2016) estudando os efeitos de atrazine e 2,4-D em doze espécies florestais nativas (das quais quatro Fabaceaes) observaram que as espécies, de modo geral, não sofreram alterações diamétricas após a aplicação dos herbicidas, todavia, a maioria das espécies apresentou diminuição no diâmetro quando submetidas à atrazine.

O ingá (*Inga marginata*) pertencente à mesma subfamília que o monjoleiro apresentou redução diamétrica quando submetido à atrazine, assim como ocorreu com a espécie aqui estudada. Já para as espécies pertencentes à subfamília Caesalpinoideae estudadas por Fiores et al. (2016) (*Caesalpinia pluviosa*, *Caesalpinia ferrea* e *Schizolobium parahyba*) aumento em diâmetro na presença de atrazine foi observado. O fato de o fedegoso pertencer a essa mesma subfamília pode justificar a indiferença do diâmetro na presença de ametryn, atrazine e hexazinone, considerando que todos são inibidores de fotossistema II.

A diferença em altura e número de folhas, quando comparamos as espécies, deve-se à especificidade de cada espécie e suas adaptações ecológicas, além disso, o fato de serem

de subfamílias distintas atribui às espécies diferenças morfológicas que podem ser explicadas pela presença de ancestrais distintos no processo evolutivo.

O número de folhas do monjoleiro diminuiu com o aumento das doses de herbicida, independente de qual fosse, assim como observado por Fiore et al. (2016) e por Cabral (2012) estudando efeito de clomazone em espécies florestais dentre elas as fabáceaes: *Inga marginata*, *Caesalpinia ferrea*, *Caesalpinia pluviosa*, *Schizolobium parahyba* que pertencem às mesmas subfamílias do monjoleiro.

Semelhante ao ocorrido no experimento 1, porém nesse caso tratando da fase de muda, o monjoleiro mostrou-se sensível a todos os herbicidas, mais uma vez demonstrando que a presença de resíduos dessa categoria de agrotóxicos representa ameaça à espécie. Monquero et al. (2009) também observaram que apesar de não haver redução no diâmetro e altura do monjoleiro, a espécie foi altamente sensível aos herbicidas clomazone e atrazine e diuron e hexazinone, na presença dos quais apresentou intoxicação, respectivamente, de 90-100 e acima de 70%.

A alta intoxicação causada no fedegoso pelo hexazinone pode ser justificada com registro de uso para controle de *Senna obtusifolia* na cultura de cana-de-açúcar (TAKANO et al., 2015). Por se tratar do mesmo gênero, é compreensível que ambas espécies demonstrem sensibilidade. Os autores apontam ainda que o controle é mais efetivo na época seca, isso pode ser explicado pelo fato de se tratar de um herbicida lixiviável e que, na época úmida pode ser carreado a outras aéreas, reduzindo o controle.

A diferença observada entre a porcentagem de água e a massa seca da espécie pode ser explica pelas diferenças ecológicas e adaptativas das espécies, uma vez que se tratam de espécies com ancestrais diferentes (subfamílias distintas) (LORENZI, 2002).

A abertura e fechamento estomático estão fortemente relacionados aos processos fotossintéticos que segundo Galon et al. (2009), são afetados por herbicidas inibidores do FSII. Ainda segundo os autores, o consumo de dióxido de carbono está estritamente ligado à taxa fotossintética, uma vez que o aumento no consumo de CO_2 indica aumento no metabolismo, Sendo assim, herbicidas que apresentam esse mecanismo de ação provoção a diminuição do consumo de CO_2 e, consequentemente, da fotossíntese, o que explica a diminuição nessas variáveis para o fedegoso.

Todos os inibidores de FSII aqui estudados competem com o elétron pelo sitio de ligação na proteína D1 na membrana dos tilacóides, diminuindo assim o consumo de dióxido de carbono que se acumula no mesófilo foliar (GALON et al., 2009; VENTRELLA et al.,

2010). Isso explica o aumento nos níveis de CO_2 ocorridos no fedegoso submetido à ametryn, atrazine e hexazinone.

A transpiração do fedegoso variou de forma sutil tanto entre as doses quanto entre os herbicidas, como já citado, a umidade relativa do ambiente encontrava-se alta no momento da medição o que pode explicar resultados pouco expressivos nessa variável, Segundo Galon et al. (2009) medições fisiológicas pontuais como as realizadas pelo analisador a gases no infravermelho são fortemente dependentes das condições ambientais no momento das medições.

Quanto às curvas de dose resposta, os valores encontrados como resposta de intoxicação de 50% para o monjoleiro correspondem, respectivamente, a 2,43 L ha^{-1}, 1,32 L ha^{-1} e 0,53 L ha^{-1} para ametryn, atrazine e hexazinone e, 2,13 L ha^{-1}, 1,94 L ha^{-1} e 0,47 L ha^{-1} para o fedegoso. Vivian et al. (2007) em trabalho desenvolvido com ametryn combinado com trifloxysulfuron-sodium encontraram C_{50} igual a 5,08 kg ha^{-1} em solo no bioensaio que realizaram com pepino, média muito superior à encontrada nesse trabalho para o ametryn, isso pode ser explicado porque no presente trabalho utilizou-se como bioindicador o sorgo.

Resultado interessante foi apresentado no solo onde cultivou-se o monjoleiro. Na aplicação de atrazine posterior à retirada da espécie, a dose que provocou 50% de intoxicação corresponde a 1,32 L ha^{-1}, significativamente superior à dose encontrada para as mesmas condições, porém com cultivo prévio de fedegoso (1,94 L ha^{-1}). Isso pode indicar que a espécie reduziu a toxicidade desse herbicida para o cultivo da bioindicadora, mesmo que o herbicida tenha sido aplicado após a retirada da plântula. Em bioensaio realizado após implantação de cobertura morta, utilizando o pepino como bioindicador para o atrazine, Fornarolli et al. (1998) encontraram C_{50} de 1,25 kg ha^{-1}, valor menor ao encontrado para o fedegoso no presente estudo.

Quanto ao hexazinone, Silva et al.(2015) encontraram para a espécie *Merremia aegyptia* um C_{50} muito inferior ao deste trabalho, enquanto as médias aqui expressam 70,68% (monjoleiro) e 63,59% (fedegoso) da dose comercial, os autores encontraram média 34,30%.

A resposta das plantas de pepino e sorgo foi satisfatória, apesar da necessidade de estudos mais aprofundados, as espécies apresentaram potencial fitorremediador para os herbicidas avaliados, reduzindo significativamente a intoxicação causada nas indicadoras. Quanto à hexazinone e atrazine, o bioensaio pode ser considerado satisfatório uma vez que segundo Armas et al. (2005) essas moléculas apresentam meia-vida de respectivamente, 222 e 146 dias, como a intoxicação foi avaliada aos 78 dias após a aplicação (64 dias inicio + 14 para crescimento da espécie bioindicador), a meia vida ainda não havia sido atingida, todavia,

segundo o mesmo autor, o ametryn apresenta meia-vida de 53 dias, o que impossibilita afirmar que as espécies biorremediaram o solo submetido a essa molécula.

7 CONCLUSÕES

- A germinação, o IVE e a altura das plantas não foram afetados pelos herbicidas em nenhuma das espécies.
- O diâmetro das plântulas do monjoleiro foi mais afetado pelo ametryn e atrazine quando comparado ao fedegoso
- O número de folhas do monjoleiro diminuiu quando submetido às doses de herbicida, o número de folhas do fedegoso por outro lado, não foi afetado.
- A mortalidade foi semelhante para o monjoleiro e maior sob efeito de ametryn, seguido de hexazinone e atrazine para o fedegoso.
- Entre as espécies, monjoleiro foi mais sensível a atrazine e o fedegoso a ametryn.
- Na fase de muda a massa e a porcentagem de água das espécies não variaram com sob ação dos herbicidas, todavia, na fase de desenvolvimento inicial ambas espécies foram afetadas com a evolução das doses.
- Na fase inicial de desenvolvimento, o ametryn foi tóxico a ambas espécies, o atrazine ao monjoleiro e hexazinone, na maior dose, ao fedegoso.
- Para o monjoleiro na fase de muda, a intoxicação foi elevada sob efeito de cada herbicida. Para o fedegoso nesse estádio de desenvolvimento, apenas sob efeito do hexazinone.

8 RECOMENDAÇÃO

De maneira geral, observa-se que o monjoleiro foi bastante sensível a todos os herbicidas estudados, não afetando a germinação, mas sim os processos posteriores o que pode impedir a perpetuação da espécie em longo prazo. O fedegoso por outro lado, mostrou-se mais sensível a hexazinone podendo ter o mesmo futuro citado para o monjoleiro em áreas onde as aplicações desse herbicida são constantes.

Recomenda-se a realização de mais estudos dessa natureza com as mesmas e com outras espécies e herbicidas para melhor conhecimento dos impactos dessas moléculas no ambiente. Atenção especial deve ser dada a herbicidas móveis que podem causar a extinção silenciosa de diversas espécies. Por meio das conclusões obtidas com o bioensaio, recomenda-se procedimentos analíticos como cromatografia líquida de alta eficiência para determinação mais precisa dos resíduos tanto nas amostras de solos como em tecidos das plantas.

REFERÊNCIAS

ARMAS, E, D., MONTEIRO, R. T. R., AMÂNCIO, A. V., CORREA, R. M. L., GUERCIO, M. A. Uso de agrotóxicos em cana-de-açúcar na bacia do rio Corumbataí e o risco de poluição hídrica. **Quim. Nova**, Vol. 28, No. 6, 975-982, 2005.

CABRAL, C. M. **Fitorremediação por espécies arbóreas de solo contaminado com herbicida clomazone: efeito na morfologia, anatomia e rizosfera.** 2012, 75f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina. 2012.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Herbicidas: mecanismos de ação e uso.** Embrapa Cerrados. Planaltina-DF, Documentos 227. ISSN 1517-5111, out. 2008.

FERREIRA, E. A., SILVA, A. F., SILVA, A. A., SILVA, D. V. GALON, L. L., SANTOS, J. B. Toxidade de herbicidas a genótipos de cana-de-açúcar. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas.** vol. 6, n.1, p. 84, 2012.

FERREIRA, E. B., CAVALCANTI, P. P., NOGUEIRA, D. A. ExpDes.pt: Experimental Designs pacakge (Portuguese). **R package version 1.1.2**. 2013.

FERREIRA, R. A., DAVIDE, A. C., ALCÂNTARA, E. N., MOTTA, M. S. Efeito de herbicidas de pré-emergência sobre o desenvolvimento inicial de espécies arbóreas. **Revista Brasileira de Herbicidas.** V.4, n.1, 2005.

FERREIRA, W. C., BOTELHO, S. A., DAVIDE, A. C., FARIA, J. M. R., Avaliação do crescimento do estrato arbóreo de área degradada revegetada à margem do Rio Grande, na usina hidrelétrica de Camargos, MG. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.31, n.1, p.177-185, 2007.

FIORE, R. A., SANTOS, J. B., FERREIRA, E. A., CABRAL, C. M., PEREIRA, I. M. Growth and nutritional analysis of tree species in contaminated substrate by leachable herbicides. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.40, n.4, p.585-594, 2016.

FORNAROLLI, D. A., RODRIGUES, B. N., LIMA, J., VALÉRIO, M. A. Influência da cobertura morta no comportamento do herbicida atrazine. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 16, n. 2, 1998.

GALON, L., FERREIRA, F.A., SILVA, A.A., CONCENÇO, G., FERREIRA, E.A., BARBOSA, M.H.P., SILVA, A.F., ASPIAZÚ, I., FRANÇA, A.C., TIRONI, S.P. Influência de herbicidas na atividade fotossintética de genótipos de cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 27, n. 3, p. 591-597, 2009.

GRAVENA, R., RODRIGUES, J.P.R.G., SPINDOLA, W., PITELLI, R.A., ALVES, P.L.C.A. Controle de plantas daninhas através da palha de cana-deaçúcar associada à mistura dos herbicidas trifloxysulfuron sodium + ametrina. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 22, n. 3, p. 419-427, 2004.

HOAGLAND, D. R. ARNON, D. I. The water culture method of growing plants without soil. University of California. Berkeley. **California Agriculture Experimental Station Circular**. 1950.

INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS - IBAMA. **Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 2009 no Brasil: uma abordagem ambiental.** Brasília, Brasil, 2010.

LIMA, R. A. F., PINHEIRO, I. G., AQUIRRE, A. G., CALIARI, C. P. **Guia de árvores para restauração do oeste da Bahia.** Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura (IICA). 2013.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Vol. 2, 4ª edição. Nova Odessa, SP: Editora Plantarum, 2002.

MACEDO, R. C., ALMEIDA, C. M., SANTOS, J. R. Valoração ambiental e geotecnologias: integração entre ciências sociais e geociências. **Revista Brasileira de Cartografia**, Rio de Janeiro, n. 68/2, p. 253-262, fev. 2016.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p.176-77, 1962.

MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola: Adubos e adubação.** 3. ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres. 1981. 596p.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA. E ABASTECIMENTO (MAPA). Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT). 2017. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/ agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 1 maio 2017.

MONQUERO, P.A., PENHA, A.S., ORZARI, I., HIRATA, A.C.S. Seletividade de herbicidas em mudas das espécies nativas *Acacia polyphylla*, *Enterolobium contortisiliquum* (FABACEAE), *Ceiba speciosa* e *Luehea divaricata* (MALVACEAE). **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 29, n. 1, p. 159-168, 2011.

MONQUERO, P. A., TABLAS, D., ORZARI, I., SILVA, P. V., ORTIZ, G. F., REIS, F. C., OLIVEIRA, T. **Selectivity of herbicides on seedlings of four seasonal forest tree species.** XII Congresso da Sociedad Española de Malherbologia (SEMh), XIX Congresso da Asociacion Latinoamericana de Malezas (ALAM), II Congresso Iberico de Ciencias de las

Malezas (IBCM), Herbologia e Biodiversidade numa Agricultura Sustentável, Lisboa, Portugal, 10 a 13 de novembro de 2009, v.1 e v.2. p. 839-842 ref.5. 2009.

NUNES, Y. R. F., FAGUNDES, N. C. A., VELOSO, M. D. M., GONZAGA, A. P. D., DOMINGUES, E. B. S., ALMEIDA, H. S., CASTRO, G. C., SANTOS, R. M. Sobrevivência e crescimento de sete espécies arbóreas nativas em uma área degradada de floresta estacional decidual, Norte de Minas Gerais. **Revista Árvore**, v.39 n.5 Viçosa set./out. 2015.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: https://www.R-project.org/. 2017.

RIBEIRO, D. S., PEREIRA, T. S. O agrotóxico nosso de cada dia. **Vittalle – Revista de Ciências da Saúde**, v. 28, p. 14 - 26. 2016.

SANTARÉM, E. R., AQUILA, M. E. A. Influência de métodos de superação de dormência e do armazenamento na germinação de sementes de *Senna macranthera* (Colladon) Irwin & Barneby (Leguminosae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.17, n.2, p.205-209, 1995.

SANTOS, E. A., CORREIA, N. M., BOTELHO, R. G. Resíduos de herbicidas em corpos hídricos - Uma revisão. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.12, n.2, p.188-201, mai./ago. 2013.

SEEFELDT, S. S., JENSEN, J. E. e FUERST, E. P. Loglogistic analysis of herbicide dose-response relationships. **Weed Technology**, v. 9, n. 2, p. 218-227, 1995.

SIGMA PLOT, For windows, version 10.0 Systat Software. 2008.

SILVA, M. V. P. P., DE SOUZA, R. C., SOUZA, F. C., REIS, L. S., PEREIRA, J. C. Aplicação de herbicidas em pré-emergência sobre palha de cana-de-açúcar para o controle de espécies da família Convolvulaceae. **Revista Agro@ mbiente On-line**, 9(2), 184-193. 2015.

SOUZA, R. C. **Aspectos fisiológicos e bioquímicos de *Emilia coccinea* (Sims) F. Don e Digitalia Horizontalis Willd. submetidas à mistura de clomazone+ametrina.** 2009, 61f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Produção Vegetal) – Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2009.

SOCIEDADE BRASILEIRA DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS - SBCPD. **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas.** Londrina: 1995. 42 p.

TAKANO, H. K., CONSTANTIN, J., BRAZ, G. B. P., LIMA, M. S., PADOVESE FILHO, J. C., GONÇALVES, V. D. B., COLEVATE, A. F. K. Época seca e textura do solo afetam o

controle químico de Senna obtusifolia em cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.14, n.3, p.181-193, jul./set. 2015.

VENTRELLA, A., CATUCCI, L., AGOSTIANO, A. Herbicides affect fluorescence and electron transfer activity of spinach chloroplasts, thylakoid membranes and isolated photosystem II. **Bioelectrochemistry**, v.79, p.43-49, 2010.

VIVIAN, R., QUEIROZ, M.E.L.R., JAKELAITIS, A., GUIMARÃES, A.A., REIS, M.R., CARNEIRO, P.M., SILVA, A.A. Persistência e lixiviação de ametryn e trifloxysulfuron-sodium em solo cultivado com cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 25, n. 1, p. 111-124, 2007.

APÊNDICE I

Dados analíticos completos do substrato utilizado no experimento 2

Amostra	pH	P	K	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Al^{3+}	H+Al	SB	CTC(t)	CTC(T)	V	m	MO	P-rem	Zn	Fe	Mn	Cu	B
1	H_2O	mg dm^{-3}		$Cmol_c$ dm^{-3}				$cmol_c$ dm^{-3}			%		dag kg^{-1}	Mg L^{-1}	mg dm^{-3}				
	5,5	0,4	18	1	0,1	0,1	2,64	1,15	1,25	3,79	30	8	2,18	16,3	1,1	81,6	5	0,2	0,2

pH em água, KCl e CaCl - Relação 1:2,5

P - K - Fe - Zn - Mn - Cu - Extrator Mehlich 1

Ca - Mg - Al - Extrator: KCl - 1 mol L^{-1}

H + Al - Extrator Acetato de Cálcio 0,5 mol L^{-1} - pH 7,0

B - Extrator água quente

SB = Soma de Bases Trocáveis

CTC (t) - Capacidade de Troca Catiônica Efetiva

CTC (T) - Capacidade de Troca Catiônica a pH 7,0

V = Índice de Saturacão de Bases

m = Índice de Saturação de Aluminio

Mat. Org. (MO) - Oxidação: $Na_2Cr_2O_4$ 4N + H_2SO_4 10N

P-rem = Fósforo Remanescente

CAPÍTULO 2: INFLUÊNCIA DO 2,4-D NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO *IN VITRO* DE S*enegalia polyphylla* (DC.) Britton & Rose E *Senna macranthera* (DC. Ex collad.) H.S. Irwin & Barnaby

RESUMO

Com a intensa mecanização da agricultura e emprego do controle químico para fitossanidade, resíduos de agrotóxicos em sítios não alvo são cada vez mais frequentes. Em se tratando de herbicidas, classe com maior volume de aplicação no ambiente, especial atenção deve ser dada a produtos com menor poder de sorção. Espécies vegetais com potencial de tolerar e reter os resíduos desses produtos são interessantes em programas de descontaminação ambiental. Para isso, contudo, é necessário conhecer as espécies que toleram os resíduos. Nesse sentido, foram utilizadas duas espécies florestais nativas da família Fabaceae: *Senegalia polyphylla* (DC.) Britton & Rose (monjoleiro) e *Senna macranthera* (DC. Ex collad.) H.S. Irwin & Barnaby (fedegoso) para avaliar os efeitos do herbicida 2,4-D e compará-lo com o regulador de crescimento utilizado em cultura de tecidos. Em ambiente laboratorial, foram instalados dois experimentos paralelos (um por espécie) em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) no arranjo fatorial 2 x 4, composto de duas formulações de 2,4-D (herbicida DMA® e reagente Sigma-Aldrich® P.A. para cultura de tecidos) e quatro concentrações (0; 0,1; 1 e 10 $mg.L^{-1}$) com quatro repetições e oito réplicas. As espécies foram avaliadas quanto a germinação, IVG, contaminação, diâmetro, massa fresca e seca. Conclui-se que as plântulas de monjoleiro e de fedegoso sofreram alterações morfológicas na presença do herbicida e do regulador de crescimento laboratorial. O monjoleiro demonstra maior sensibilidade ao herbicida quando observados os efeitos no diâmetro e massa, enquanto o fedegoso demonstra maior sensibilidade ao herbicida quanto à massa e ao regulador quanto à velocidade de germinação. Efeitos relatados em plantas sob influência do regulador de crescimento 2,4-D na área de cultura de tecidos não podem ser estimados como consequência do uso do 2,4-D em campo, mesmo em concentração equivalente, potencialmente devido aos aditivos que apresenta.

Palavras chave: Fedegoso, Monjoleiro, 2,4-D

ABSTRACT

With intensive mechanization of agriculture and use of chemical control for plant health, residues of pesticides in non-target sites are becoming more frequent. In terms of herbicides, class with higher application volume in the environment, special attention should be given to products with lower sorption power. Plant species with the potential to tolerate and retain product residues are interesting in environmental decontamination programs. In this sense, there are two forest species native to the Fabaceae family: *Senegalia polyphylla* (DC.) Britton & Rose (monjoleiro) and *Senna macranthera* (DC. Ex collad.) H.S. Irwin & Barnaby (fedegoso) To evaluate the effects of the 2,4-D herbicide and compare it with the growth regulator used in tissue culture. In the laboratory environment, two parallel experiments were installed in a completely randomized design (DIC) in the 2 x 4 factorial arrangement 2 x 4, composed of two 2,4-D formulations (DMA® herbicide and Sigma-Aldrich® P.A. tissue culture reagent) and four concentrations (0; 0,1; 1 and 10 $mg.L^{-1}$) with four replicates and eight replicates. The species were evaluated for germination, IVG, contamination, diameter, fresh and dry mass. It was concluded that the monjoleiro and fedegoso seedlings underwent morphological changes in the presence of the herbicide and the laboratory growth regulator. The monjoleiro shows greater sensitivity to the herbicide when observed the effects on the diameter and mass, while the fedegoso shows greater sensitivity to the herbicide as the mass and the control at a speed of germination. Effects reported on plants under effect of 2,4-D growth regulator in the tissue culture area cannot be estimated as a consequence of the use of 2,4-D in the field, even in something equivalent, potentially due to the additives it presents.

Key words: Fedegoso, Monjoleiro, 2,4-D

1 INTRODUÇÃO

Para produzir de forma sustentável e reverter o processo de mudanças climáticas, faz-se necessária a intervenção humana por meio da recuperação de áreas degradadas, tornando essas áreas produtivas, seja o objetivo desejado produção agrícola, água de qualidade, sequestro de carbono atmosférico ou qualquer outro destino não degradado.

Ainda assim, o consumo de herbicidas no Brasil e no mundo aumenta continuamente, para atender às demandas da população crescente (RIBEIRO; PEREIRA, 2016). Os principais métodos de produção atuais em larga escala têm predomínio de monocultivos e intensa mecanização, isso implica na utilização de herbicidas, visto que técnicas como controle biológico, difundida em outras áreas, não é eficiente devido ao amplo espectro de plantas daninhas a serem controladas. Para Caetano (2009), a utilização do controle químico se justifica pela combinação dos fatores rapidez, praticidade e eficácia.

A contaminação de solos cultivados tem se tornado cada vez mais frequente, principalmente quando se trata de herbicidas lixiviáveis, nos quais, a contaminação ganha dimensões um pouco maiores, uma vez que esses produtos atingem áreas adjacentes, o lençol freático, leitos de rios e organismos não alvos (FIORE et al., 2016).

Herbicidas auxínicos, como o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), alteram o metabolismo de ácidos nucléicos e proteínas, interferindo na ação da enzima RNA-polimerase (THILL, 2003). Segundo Silva et al. (2007), estes herbicidas intensificam a divisão celular em tecidos, causando epinastia de folhas e caule. Além de interromper o fluxo normal de fotoassimilados das folhas para o sistema radicular, devido e interrupção do feixe vascular. Em altas concentrações, esses herbicidas promovem crescimento desorganizado da planta, além de retorcimento do caule e formação de calos e engrossamento das gemas terminais (DEUBER, 1992; ZIMDAHL, 1999).

Pertencente ao grupo químico ácido ariloxialcanóico, esse herbicida pode ser aplicado em pré ou pós-emergência e possui registro para utilização no controle de plantas daninhas em arroz, aveia, café, cana-de-açúcar, centeio, cevada, milho, pastagens, soja, sorgo e trigo e totaliza 26 formulações que podem ser comercializadas no Brasil (MAPA, 2017). Quanto a classe de periculosidade ao ambiente, 26% são considerados muito perigosos (Classe II) e 74% considerados produtos perigosos (Classe III). A molécula é considerada muito persistente e tóxica aos organismos aquáticos, além de altamente lixiviável. Todavia, é pouco tóxica para abelhas, a avifauna e para organismos do solo. Em 2009, este era o sexto princípio ativo mais utilizado no Brasil (IBAMA, 2010).

Por outro lado, o 2,4-D é um dos reguladores de crescimento mais utilizados na indução de calos e regeneração de gemas (NOGUEIRA et al, 2007) que envolve balanço de citocininas e auxinas (GEORGE; SHERRINGTON, 1984). A proliferação de calos é uma técnica utilizada na cultura de tecidos para a propagação vegetativa, uma vez que essas estruturas podem se diferenciar em tecidos, embriões e plantas completamente formadas (TORRES; CALDAS, 1990). O tecido vegetal pode expressar calos em resposta à injúria física ou química, quando o tecido é exposto a combinações hormonais específicas (MANTELL et al., 1994). A indução desses calos é geralmente precedida da adição de doses exógenas de reguladores de crescimento (VIEITEZ; SAN-JOSÉ, 1996).

A cultura de embriões é empregada em melhoramento genético, segundo Carvalho e Araújo (2008), para facilitar a germinação de embriões imaturos, de híbridos incompatíveis e quebra de dormência (química ou fisiológica). A adição de reguladores de crescimento ao meio de propagação confere às sementes e/ou embriões condições favoráveis ao desenvolvimento, solucionando fatores que inibem a germinação.

O 2,4-D, por ser um mimetizador de auxina, pode alterar o processo de germinação de sementes, pensando nisso, faz-se necessário o conhecimento acerca dos efeitos dessa molécula em espécies nativas para verificar se o uso contínuo dessas moléculas pode afetar de forma silenciosa e gradual a dinâmica ambiental e causar extinções de espécies de grande importância ecológica.

2 JUSTIFICATIVA

Considerando os possíveis efeitos crônicos da aplicação continua de herbicidas em áreas adjacentes a fragmentos de matas nativas, justifica-se o estudo do impacto desses resíduos em organismos não alvo.

Além disso, a molécula de 2,4-D é normalmente empregada em cultura de tecidos para indução de calogênese, por se tratar de um mimetizador de auxina que induz a proliferação de células. No intuito de verificar se o herbicida e o regulador normalmente utilizado em laboratório apresentam propriedades semelhantes em ambiente laboratorial, faz se necessária comparação destes, uma vez que o herbicida é mais acessível e de rápida obtenção. Soma-se a isso o fato de que o ambiente laboratorial controlado facilita a interpretação dos resultados e análise dos efeitos realmente provocados pelo 2,4-D.

3 OBJETIVO

O objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos causados pela molécula de 2,4-D (regulador de crescimento laboratorial P.A. e herbicida em formulação comercial) na germinação e desenvolvimento de plântulas *in vitro* das espécies *Senegalia polyphylla* (DC.) Britton & Rose (monjoleiro) e *Senna macranthera* (DC. Ex collad.) H.S. Irwin & Barnaby (fedegoso).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos dois experimentos simultâneos, sendo um para cada espécie. A germinação foi realizada no Laboratório de Melhoramento Florestal, localizado no Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM). Sementes das espécies utilizadas, *Senegalia polyphylla* (DC.) Britton & Rose (mojoleiro) e *Senna macranthera* (DC. Ex collad.) H.S. Irwin & Barnaby (fedegoso), foram coletadas de julho a outubro de 2015, na Reserva Particular do Patrimônio Natural, Fazenda Fartura, localizada no município de Capelinha, Minas Gerais. As sementes foram beneficiadas e armazenadas em câmara fria, com temperatura média de 4 °C e umidade relativa do ar de 40%, até o momento da implantação do experimento em 18 de janeiro de 2017.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 2 x 4, em que o primeiro fator foi o tipo de 2,4-D empregado (regulador de crescimento laboratorial P.A. ou herbicida comercial DMA®) e o segundo fator foram as concentrações, (0; 0,1; 1,0 e 10,0 mg/l) do regulador utilizado em laboratório de cultura de tecidos e as mesmas concentrações do herbicida na composição comercial DMA 806 BR®, que apresenta 67% de equivalente ácido (2,4-D), como pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 01 – Concentrações do regulador de crescimento 2,4-D laboratorial e equivalente do herbicida comercial (DMA 806BR®)

Fator	Dose 1 (mg L^{-1})	Dose 2 (mg L^{-1})	Dose 3 (mg L^{-1})	Dose 4 (mg L^{-1})
2,4-D Sigma – Aldrich®	0	0,1	1,0	10,0
DMA 806BR®	0	0,1492	1,492	14,92

As sementes utilizadas foram previamente desinfestadas. A quebra de dormência e desinfestação das sementes de fedegoso foram realizadas em câmara de fluxo laminar, onde foram imersas em ácido sulfúrico concentrado por 20 minutos e enxaguadas com água deionizada e autoclavada por três vezes, segundo adaptação da metodologia de Santarém e Aquila (1995).

Para desinfestação do monjoleiro, as sementes foram previamente lavadas em água deionizada e autoclavada, logo após, emergidas em uma solução de fungicida Orthocide® 1g L^{-1} durante 15 minutos e lavadas com água deionizada e autoclavada três vezes dentro da câmara de fluxo laminar. Em seguida, as sementes foram submersas em solução de etanol 70% (v/v) por trinta segundos. Por fim, as sementes foram imersas em hipoclorito de sódio 5% (v/v), com 4 gotas de detergente comercial Tween 20® para cada 100 ml de solução, durante 5 minutos e enxaguadas com água deionizada e autoclavada por mais três vezes.

Utilizou-se o meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) com a metade da concentração de sais e vitaminas, acrescido de 15 $g.L^{-1}$ de sacarose; 0,1 $g.L^{-1}$ de mio-inositol e 0,8 $g.L^{-1}$ de polivinilpirrolidona (PVP). O pH foi ajustado para 5,7 (±0,2) antes da adição de 7 g L^{-1} de ágar Merck® e o meio foi esterilizado por autoclavagem de vapor úmido com 121 °C de temperatura e 1 atm de pressão. A adição das concentrações de 2,4-D foi realizada em meio previamente autoclavado quando este se encontrava ainda líquido, contudo com temperatura próxima aos 50°C.

Prepararam-se soluções de 2,4-D de ambos os tipos na concentração de 1mg/ml para posterior retirada das alíquotas necessárias para cada tratamento. Essas soluções foram filtradas com auxílio de seringa hipodérmica estéril de 10 ml (esterilizada por gás tóxico de etileno - bico Luer Slip) e filtros para seringa da marca TPP® fabricado em membrana de PES de 0,22 μM. Após a filtragem, as soluções foram acondicionadas em tubos tipo Falcon estéreis e levadas à geladeira até o momento da utilização. Após o acréscimo dos tratamentos de 2,4-D ao meio de cultura, este foi vertido nos tubos de ensaio previamente autoclavados, sendo 10 ml por tubo.

Após o resfriamento do meio de cultura, realizou-se a inoculação das sementes desinfestadas em câmara de fluxo laminar. Após inoculação em meio de cultura, o experimento foi conduzido em sala de cultura com temperatura de 25 ± 2ºC, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 40 μmol de fótons m^{-2} s^{-1} (MIRANDA, 2015).

Uma vez implantado o experimento, foi avaliada diariamente a germinação por meio de contagem, sendo consideradas germinadas as sementes que apresentaram emissão de radícula. Após 26 dias da implantação do experimento, calculou-se o índice de velocidade de germinação (IVG) proposto por Maguire (1962):

$$IVG = \frac{G_1}{N_1} + \frac{G_2}{N_2} + \frac{G_3}{N_3} + \cdots + \frac{G_N}{N_N}$$

em que: IVG = índice de velocidade de germinação, G_1, G_2, G_3, G_N = número de plântulas emergidas em cada contagem, N_N = número de dias da semeadura até cada contagem.

A contaminação também foi contabilizada diariamente e os indivíduos contaminados eram eliminados. Aos 28 dias, mensurou-se o diâmetro das plântulas com auxílio do paquímetro, e as mesmas foram divididas em raiz e parte aérea e pesadas para obtenção do peso fresco (MF). As amostras foram acondicionadas em estufa de circulação forçada de ar, a 60 °C, até atingir massa constante para pesagem e obtenção de massa seca (MS) de raízes, parte aérea e total.

Para as análises estatísticas, utilizou-se o pacote ExpDes.pt (FERREIRA et al., 2013) do software R (R CORE TEAM , 2017). Os dados foram testados quanto à normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade (Bartlett), em seguida, procedeu-se a realização da Análise de variância (ANOVA) e comparação pelo teste de Tukey a 5% de significância. Quando as concentrações de 2,4-D foram significativas, realizou-se regressão linear para explicar o comportamento dos dados.

5 RESULTADOS

5.1 Monjoleiro

Os percentuais de germinação e de contaminação do monjoleiro, aos 26 dias não diferiram estatisticamente em relação à concentração e ao tipo de 2,4-D utilizados como pode ser observado na Figura 1.

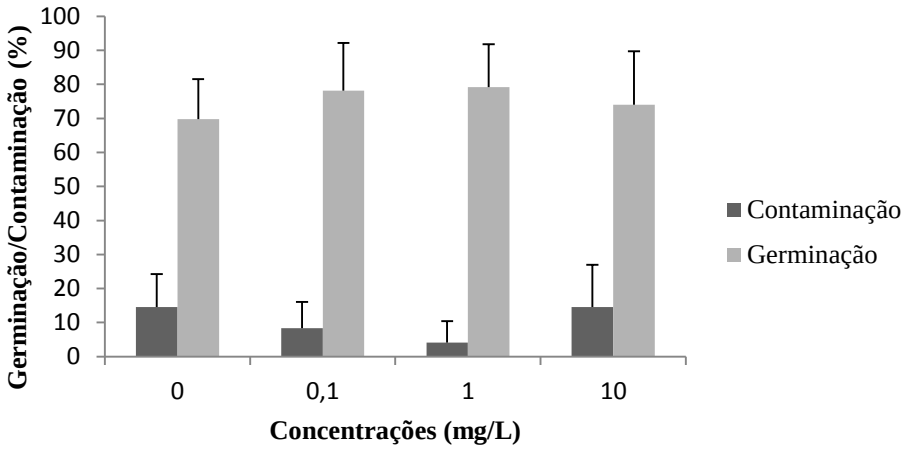

Figura 1 – Percentual de germinação e contaminação de sementes de monjoleiro, aos 26 dias, em função das concentrações de 2,4-D, com respectivos desvios padrões

O Índice de velocidade de emergência do monjoleiro foi indiferente ao tipo de 2,4-D aplicado e às doses, e foram iguais, inclusive, ao controle (Figura 2).

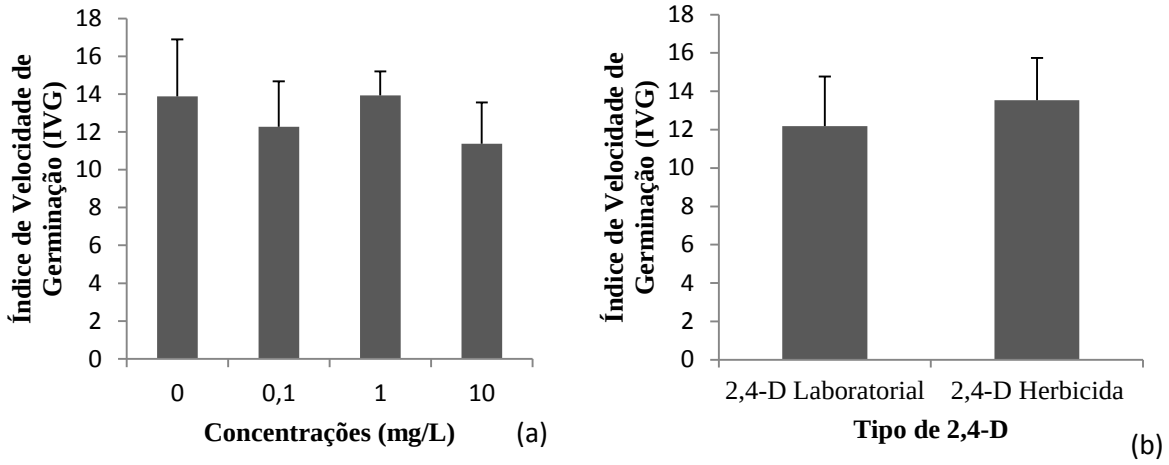

Figura 2 – Índice de Velocidade de Germinação (IVG) para o monjoleiro em função das concentrações (a) e do tipo de 2,4-D (b) de 2,4-D

O diâmetro das plântulas, por sua vez, apresentou interação significativa entre o tipo de 2,4-D aplicado e a concentração no meio de cultura. Observou-se que na concentração de 0,1 mg.L^{-1} de 2,4-D o herbicida provocou dilatação do diâmetro superior ao valor observado sob efeito do regulador de crescimento utilizado em laboratório (Tabela 2). Por meio dos ajustes de regressões verifica-se que ambos os tipos de 2,4-D causaram aumento dos diâmetros do monjoleiro sendo a inclinação da reta do regulador de crescimento levemente maior, indicando que este, pode causar maior aumento em diâmetro se comparado ao herbicida (Figura 3).

Tabela 02 – Diâmetro (mm) de plântulas de monjoleiro em função do tipo e concentração de auxina acrescido ao meio de cultura

	Diâmetro (mm)	
Concentração (mg L^{-1})	Regulador	Herbicida
0	1,17 a	0,98 a
0,1	0,89 b	1,16 a
1	1,44 a	1,89 a
10	5,09 a	4,85 a

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste F a 5% de significância.

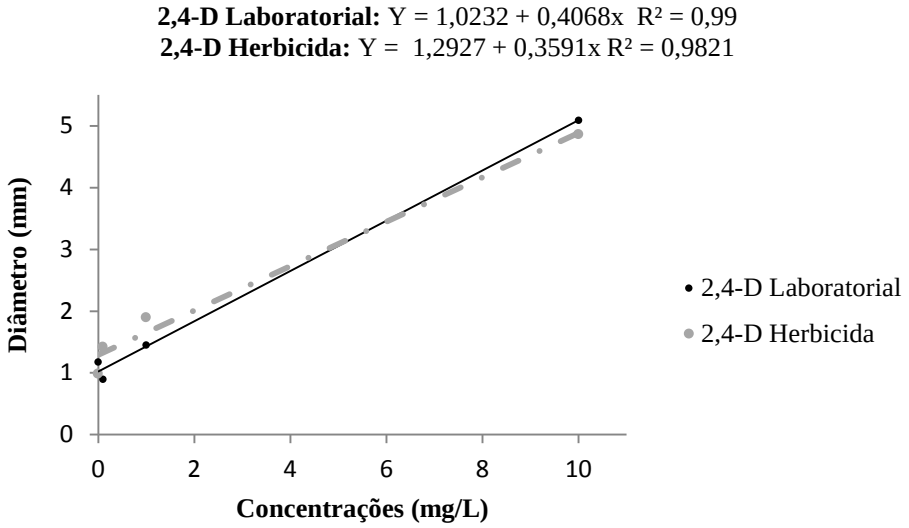

Figura 3: Ajustes de regressão linear para os diâmetros, suas equações e coeficientes de determinação.

Observa-se na Figura 4, que o aumento em diâmetro foi proporcional à concentração do 2,4-D. Contudo, as plântulas se tornavam atrofiadas e reduzidas em tamanho, apresentando clorose, encarquilhamento e epinastia, principalmente na maior concentração (10 mg.L^{-1}), independente do tipo de 2,4-D.

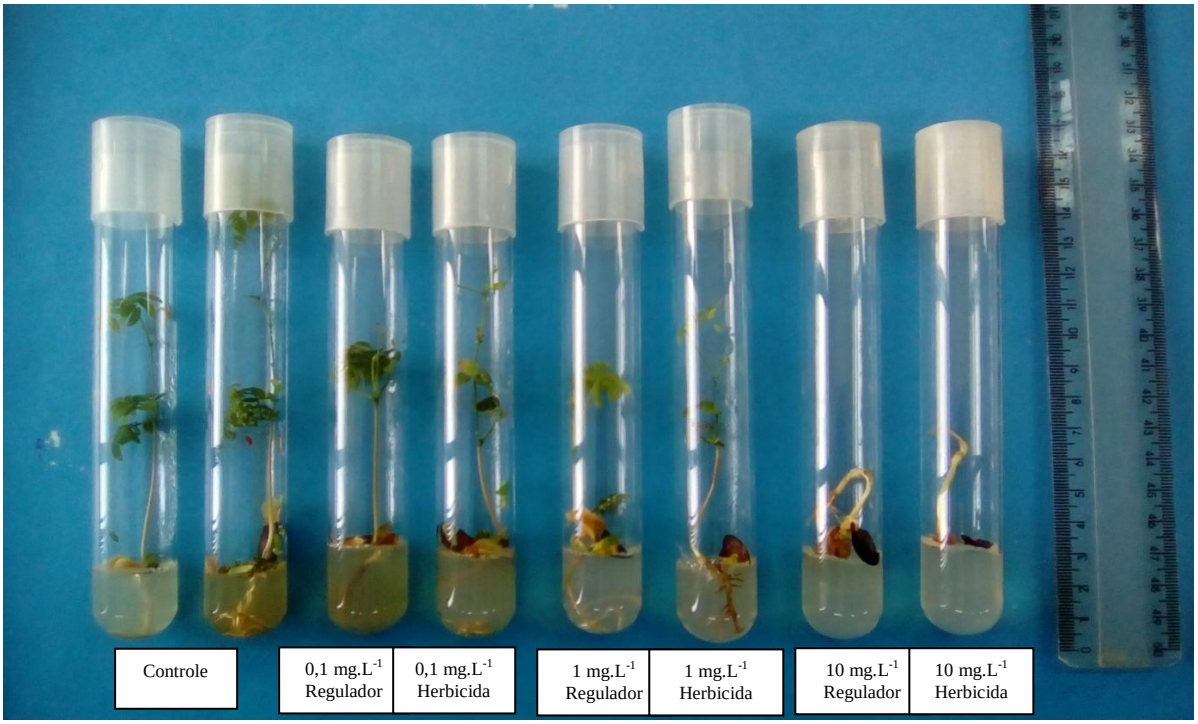

Figura 4 – Plântulas de monjoleiro ordenadas pelo tipo e concentrações de 2,4-D acrescidos ao meio de cultura

Para a Massa Fresca de Raízes (MFR), Massa Fresca Total (MFT), Massa Seca da Parte Aérea (MSPA), Massa seca Total (MST) o monjoleiro respondeu de forma diferente

quanto ao tipo de 2,4-D utilizado (Figura 5), independente da concentração utilizada. Em todos os casos, observaram-se maiores massas com a utilização do herbicida DMA 806 BR®.

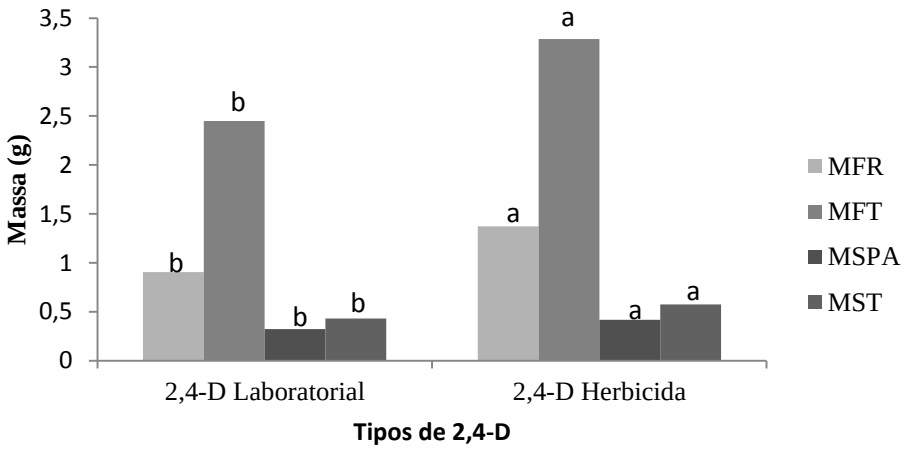

Figura 5 – Comparação entre os tipos de 2,4-D para massas fresca de raízes (MFR), fresca total (MFT), seca da parte aérea (MSPA) e seca total (MST) de plântulas de monjoleiro quando submetido à 2,4-D laboratorial e herbicida. Médias seguidas de mesma letra, para cada variável, não diferem entre si pelo teste F a 5% de significância.

A Massa Fresca da Parte Aérea (MFPA) foi afetada de forma semelhante pelos tipos e concentrações de 2,4-D, ou seja, não houve interação significativa (Figura 6).

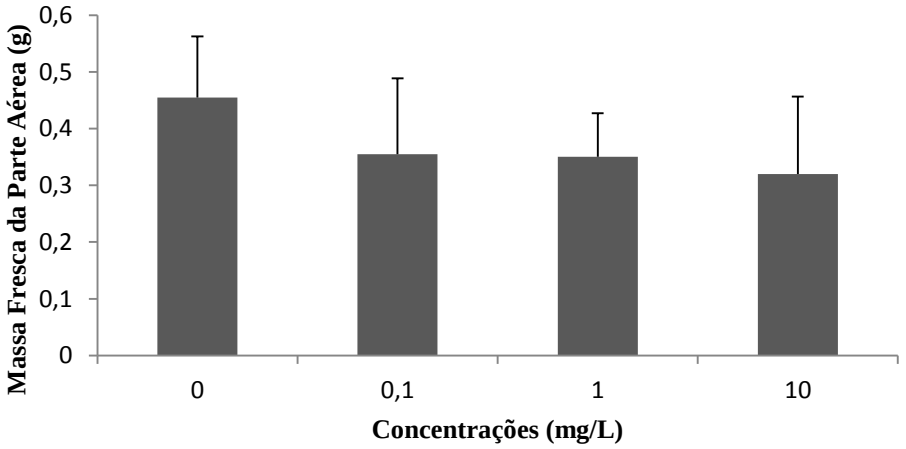

Figura 6 – Massa Fresca da Parte Aérea de plântulas de monjoleiro em função das doses de 2,4-D aplicadas.

Ao analisar a Massa Seca de Raízes (MSR), não foi observada interação entre as concentrações e tipos de 2,4-D, porém, os fatores isolados foram diferentes estatisticamente (Figura 7). Assim como para as demais variáveis, a MFR foi maior quando o monjoleiro foi submetido ao herbicida o que pode ser observado no ajuste de regressão apresentado na Figura 8.

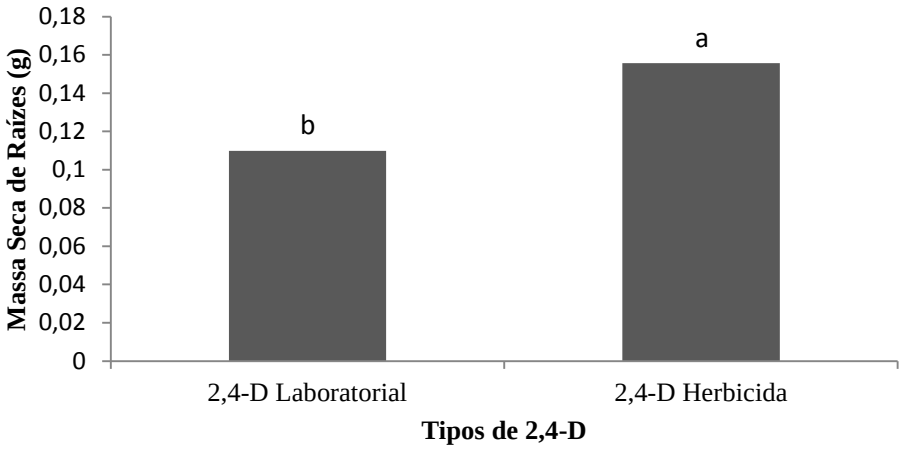

Figura 7 – Massa Seca das raízes (MSR) de plântulas de monjoleiro comparadas quanto ao tipo 2,4-D acrescidas ao meio de cultura. Médias seguidas de mesma letra não diferente estatisticamente entre si pelo teste F a 5% de significância

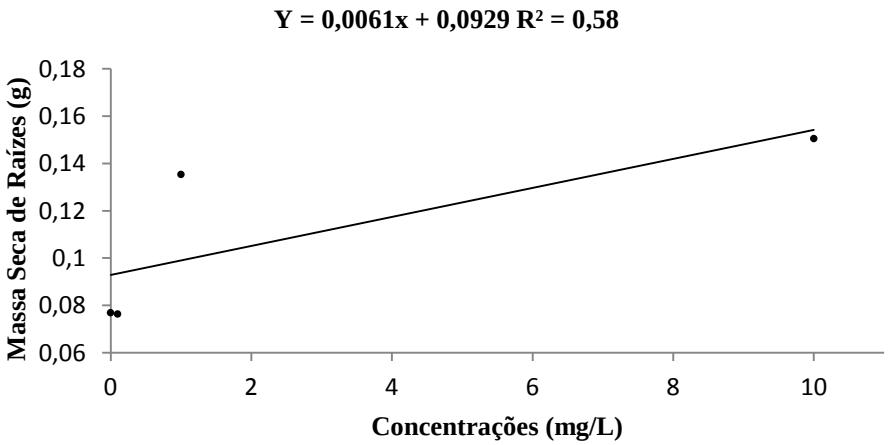

Figura 8 – Regressão linear para a massa seca das raízes de plântulas de monjoleiro com respectiva equação e coeficiente de determinação

5.2 Fedegoso

As percentagens de germinação e a contaminação do fedegoso não foram influenciadas significativamente pelo tipo ou pelas concentrações de 2,4-D adicionados ao meio de cultura (Figura 9).

O Índice de Velocidade de Germinação (IVG) do fedegoso (Tabela 3) diminuiu quando as sementes foram expostas à concentração de 10 $mg.L^{-1}$ do regulador de crescimento, já para aquelas submetidas ao herbicida, a velocidade de germinação não foi afetada. Quando comparados os tipos de 2,4-D, é possível observar que para a concentração de 0,1 $mg.L^{-1}$ o regulador gerou maior IVG, sendo iguais as médias dos dois tipos de 2,4-D nas demais concentrações.

As regressões, linear simples e quadrática, não foram significativas para o IVG em relação às concentrações de herbicida acrescidos ao meio de cultura, todavia, como pode ser observada a Figura 10, a adição de regulador de crescimento ao meio de cultura ocasionou redução na velocidade de emergência do fedegoso.

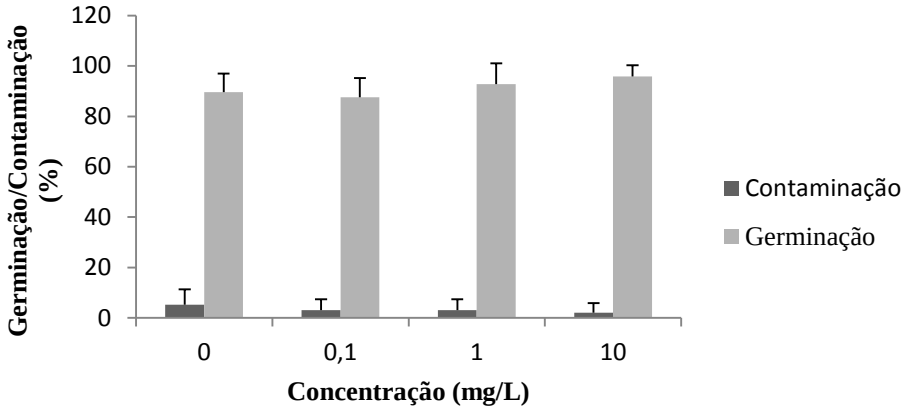

Figura 9 – Percentual de contaminação e germinação de sementes de fedegoso em função das concentrações de 2,4-D acrescidas ao meio de cultura.

Tabela 03 - Índice de Velocidade de Germinação (IVG) do fedegoso em função do tipo de auxina acrescido ao meio de cultura

	Índice de Velocidade de Germinação (IVG)	
Concentração (mg L^{-1})	Regulador	Herbicida
0	15,8843 a	14,1424 a
0,1	14,1879 a	10,7606 b
1	13,4669 a	12,7949 a
10	9,1082 a	11,6925 a

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste F a 5% de significância.

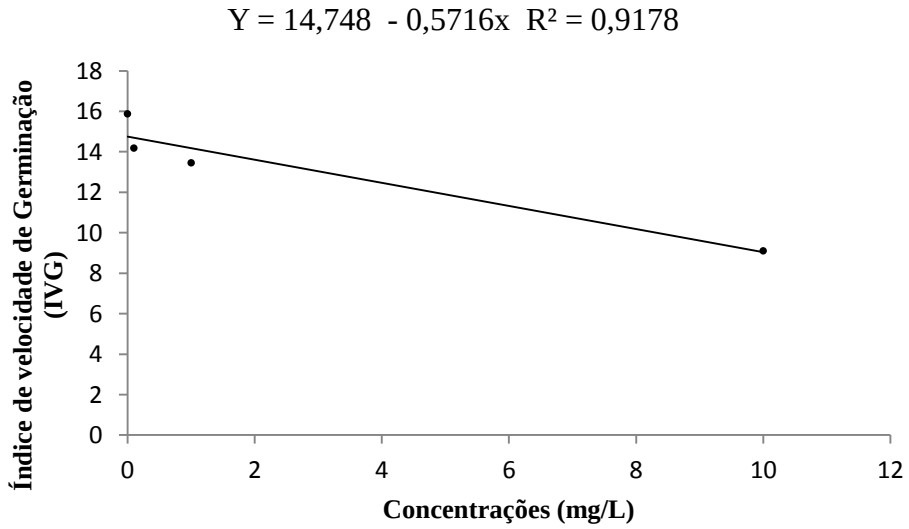

Figura 10 - Índice de Velocidade de Germinação (IVG) do fedegoso quando submetido ao regulador de crescimento acrescido ao meio de cultura

O diâmetro de plântulas de fedegoso apresentou interação significativa entre as concentrações e tipos de 2,4-D utilizado. Ao comparar os tipos de 2,4-D, verificou-se que a concentração 0,1 mg L^{-1} de herbicida provocou maior crescimento em diâmetro se comparado ao regulador de crescimento laboratorial, enquanto para as demais doses não houve diferença significativa (Tabela 4).

Tabela 04 - Diâmetro (mm) de plântulas de fedegoso em função do tipo de auxina acrescido ao meio de cultura

	Diâmetro (mm)	
Concentração (mg L^{-1})	Regulador	Herbicida
0	1,9349 a	1,6941 a
0,1	1,7791 b	7,0588 a
1	2,7664 a	2,7698 a
10	3,5963 a	4,2535 a

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de significância.

As regressões lineares simples geradas para os diâmetros do fedegoso quando submetido às diferentes concentrações e tipos de 2,4-D são apresentadas na Figura 11. É possível observar que o efeito do regulador de crescimento P. A. foi mais acentuado quando comparado ao herbicida, porém, ambos afetaram o diâmetro do fedegoso, provocando aumento.

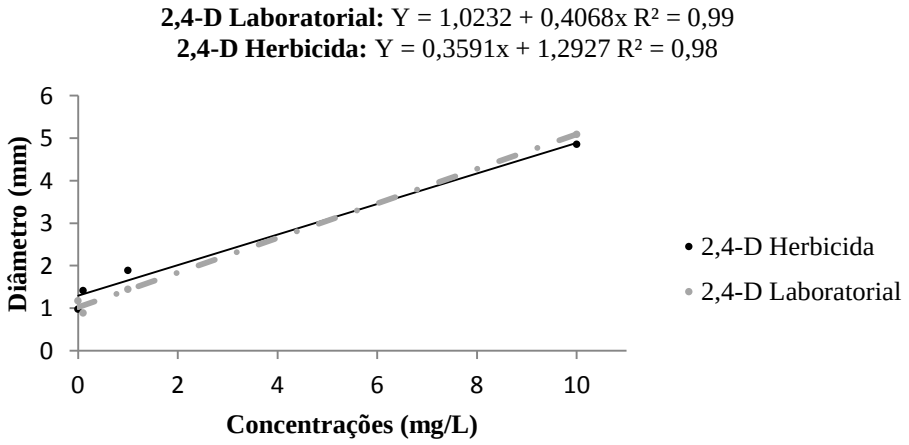

Figura 11 – Curvas de regressões para o diâmetro do fedegoso em função do tipo de auxina acrescido ao meio de cultura

Na Figura 12, é notável a diferença entre os diâmetros e a morfologia das plântulas, sendo que quanto maior a concentração, mais atrofiada e anormal se tornaram as plântulas.

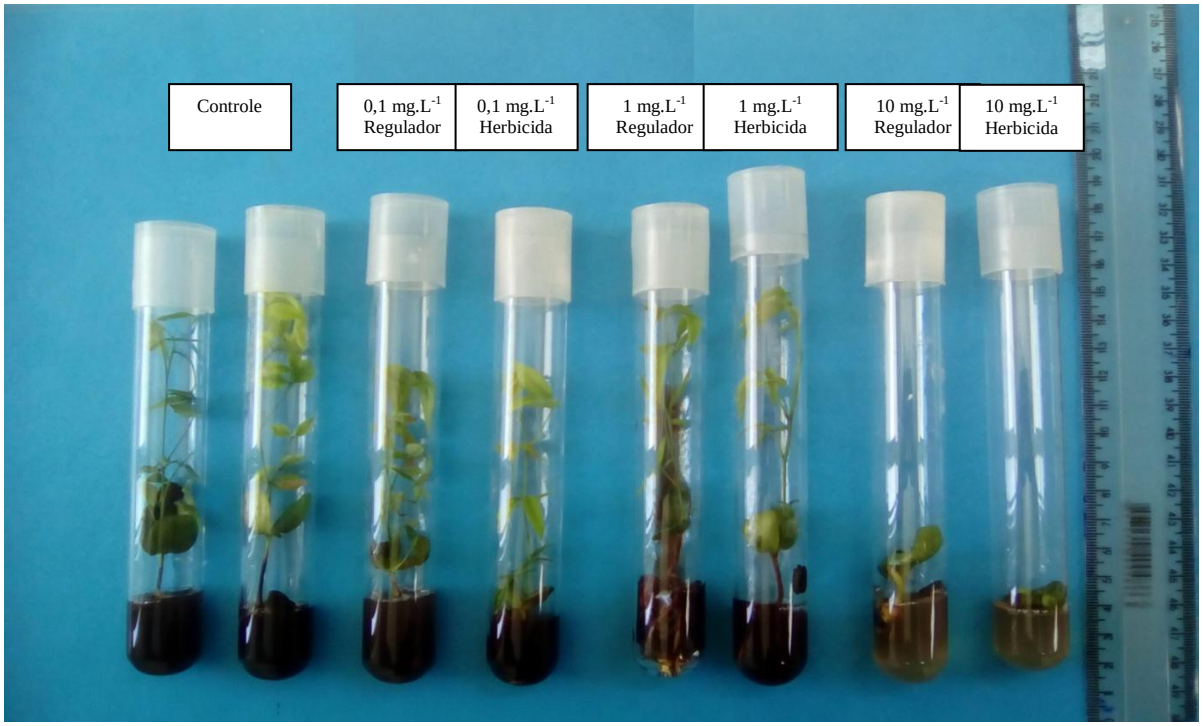

Figura 12 – Plântulas de fedegoso ordenadas pelo tipo e concentrações de 2,4-D acrescidos ao meio de cultura

Analisando as concentrações de cada tipo de 2,4-D adicionado ao meio, é possível observar que 1 mg L^{-1} de regulador de crescimento proporcionou aumento da biomassa fresca de raízes (MFR) quando comparado ao herbicida, mesmo comportamento observado para a MFT (Tabela 5).

Tabela 05 – Massa Fresca de Raízes(g) e Total (g) do monjoleiro em função do tipo de auxina acrescido ao meio de cultura

	Massa Fresca de Raízes (g)		Massa Fresca Total (g)	
Concentração (mg L^{-1})	Regulador	Herbicida	Regulador	Herbicida
0	3,12 a	2,99 a	6,85 a	6,63 a
0,1	3,31 a	4,41 a	7,15 a	7,93 a
1	8,26 a	4,24 b	12,77 a	7,85 b
10	1,34 a	2,07 a	4,83 a	4,56 a

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste F a 5% de significância.

Verifica-se na Figura 13, o efeito causado pelo regulador de crescimento na massa fresca de raízes (MFR) e total (MFT) foi superior ao efeito do herbicida, embora ambos tenham gerado regressão linear quadráticas com todos os parâmetros significativos. Isso indica que há um pico que crescimento da massa de raízes e que com o aumento da dose além desse ponto acarreta em redução da massa.

A Massa Fresca da Parte Aérea (MFPA) e a Massa Seca de Raízes (MSR) do fedegoso não apresentaram interação significativa entre as concentrações e tipos de auxinas,

no entanto, houve diferença desses fatores isoladamente. Como pode ser observado na Figura 14, o regulador de crescimento proporcionou maior acúmulo de MFPA se comparado ao herbicida.

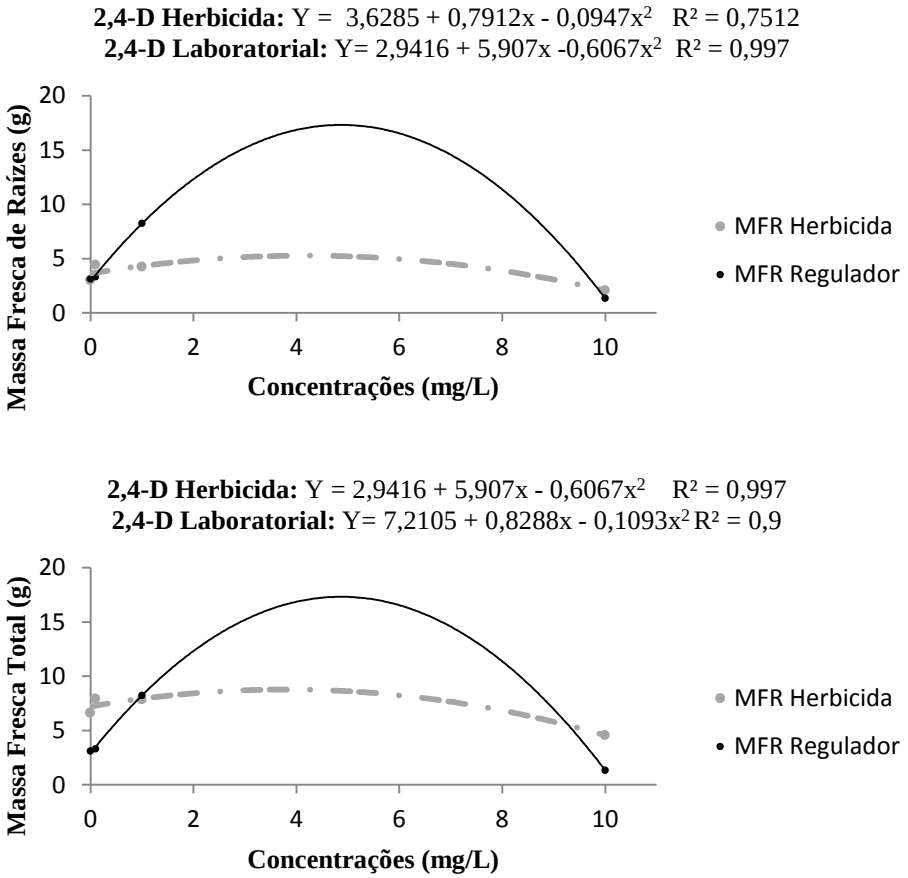

Figura 13: Curvas de regressão para a Massa Fresca de Raízes (MFR) (a) e Massa Fresca Total (MFT) (b) em função das concentrações e dos tipos de 2,4-D acrescidos ao meio de cultura

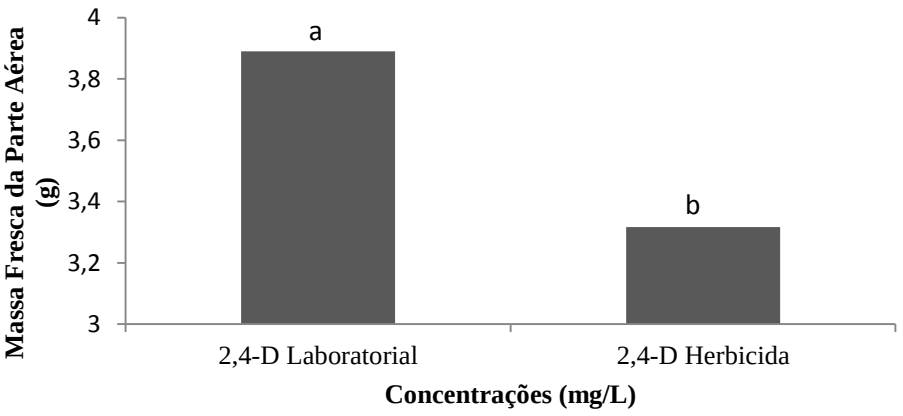

Figura 14 – Massa Fresca da Parte Aérea (g) do fedegoso comparados quanto aos tipos de 2,4-D acrescidos ao meio de cultura. Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste F a 5% de significância.

A regressão linear simples para a Massa Seca de Raízes (MSR) mostrou resultado satisfatório de ajuste, como pode ser observado (Figura 15) onde é possível observar que o aumento da concentração de 2,4-D causa aumento na MSR do fedegoso.

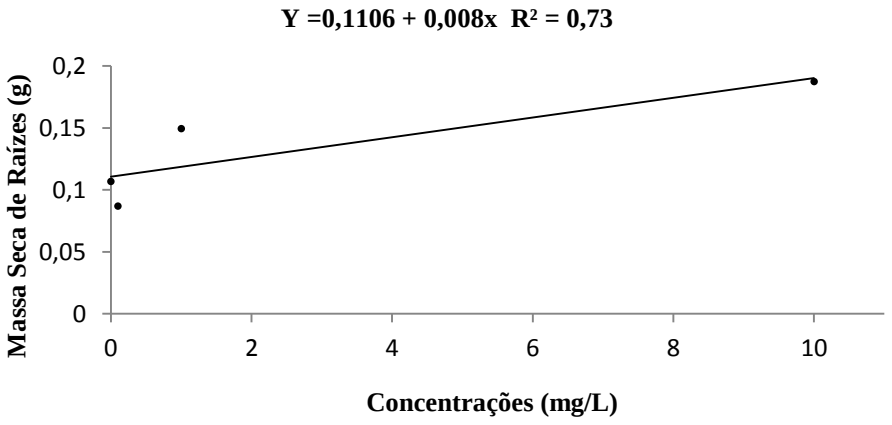

Figura 15 – Curvas de regressão para a Massa Seca de Raízes (MSR) em função das doses de 2,4-D acrescidos ao meio de cultura

Na Figura 16, observa-se que para a Massa Seca da Parte Aérea (MSPA) (a) e a MST (b) das plântulas de fedegoso foram maiores na presença do regulador de crescimento laboratorial do que do herbicida.

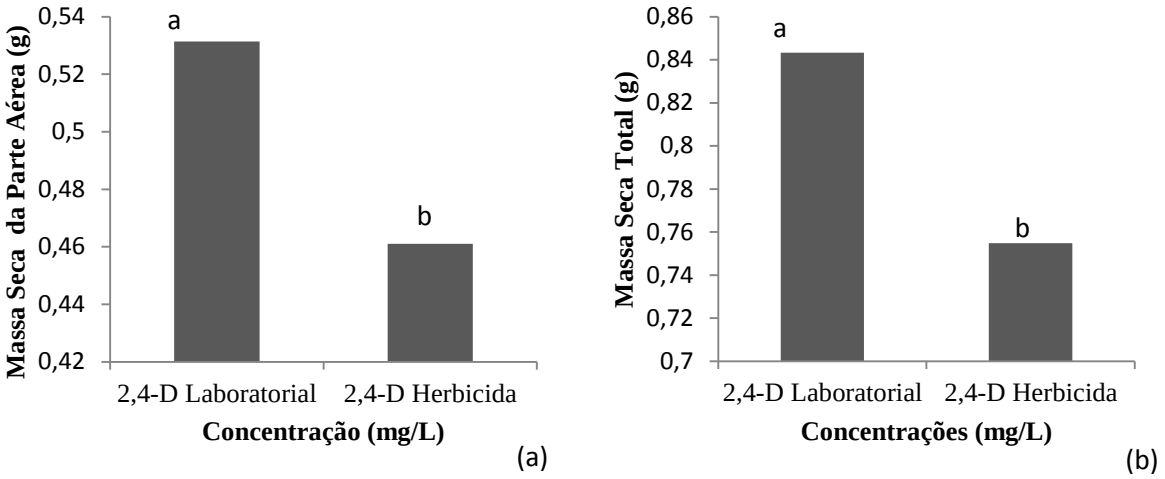

Figura 16 – Massa Seca da Parte Aérea (a) e Massa Seca Total (b) de plântulas de fedegoso comparados quanto aos tipos de 2,4-D acrescidos ao meio de cultura. Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste F a 5% de significância.

6 DISCUSSÃO

6.1 Monjoleiro

Os valores obtidos para a germinação do monjoleiro no presente estudo (7 0 a 79%) estão próximos aos obtidos Silva et al. (2007), ao estudarem a germinação do monjoleiro em diferentes temperaturas, umidades de substrato e qualidades de luz, obtiveram médias de germinação final que variaram entre 77 e 84%. Por outro lado, ao comparar as médias de germinação obtidas por Araújo Neto et al. (2003) para o monjoleiro, observam-se porcentagens inferiores de germinação para a mesma temperatura aqui utilizada (25°C), onde os autores obtiveram média de 51% de germinação o que pode ser explicado pela metodologia de assepsia adotada pelos autores, ao submeter as sementes à álcool 70 % (v/v), pode ser que estas tenham sofrido injúrias e diminuído o vigor germinativo. Esse mesmo fato pode explicar o baixo índice de velocidade de germinação conseguido pelos autores (2,9) para temperatura de 25°C.

Apesar das médias de germinação finais ligeiramente superiores encontradas por Silva et al. (2007), o IVG (média de 9,9) foi ligeiramente inferior se comparadas ao presente trabalho (média 12,86). Isso pode ser explicado pelo tratamento de desinfestação executado antes da introdução dos tratamentos. Muitas vezes o tratamento de desinfestação facilita a germinação, por causar injúrias no tegumento e facilitar a entrada de água. O monjoleiro não apresenta dormência, todavia, o contato com hipoclorito por dez minutos aumentou a permeabilidade do tegumento, facilitando a absorção de água pela semente.

As dilatações de diâmetro observadas na presença dos dois tipos de 2,4-D podem ser explicadas pelo encarquilhamento e proliferação desordenada de células que essa auxina tem capacidade de provocar (GEORGE, 1996; EMBRAPA, 2008), o monjoleiro teve seu diâmetro mais afetado pelo herbicida que pelo regulador de crescimento laboratorial, plantas com alterações tão acentuadas como observadas nas maiores concentrações de 2,4-D da Figura 4, dificilmente sobreviverão.

A média das concentrações de 2,4-D acrescentadas ao meio de cultura podem ser comparadas à dose comercial recomendada para o DMA 806 BR®, com base na área aplicada. Considerando as alterações supracitadas na morfologia das plântulas e que estas dificilmente chegarão à idade adulta, a utilização recorrente desse mimetizador de auxina em áreas agrícolas pode causar, de forma gradual e silenciosa, a extinção de espécies nativas importantes ao ecossistema. Ainda, quanto aos aspectos ecológicos, diversos autores (FARIAS et al., 2003; MACHADO et al., 2007) apontam o 2,4-D como inibidor de

germinação e fungitóxico o que pode afetar os fungos micorrízicos e muitos outros com funções de grande importância à manutenção da biodiversidade, além da germinação diversas espécies.

Voltolini et al. (2015) ao trabalhar com mudas de café (*Coffea arabica* L.) observaram efeitos semelhantes aos aqui descritos para a morfologia das mudas, tais quais, encarquilhamento das folhas e epinastia, porém o diâmetro do cafeeiro não sofreu alterações significativas em nenhuma das doses aplicadas, enquanto o monjoleiro teve seu diâmetro afetado em todas as concentrações do herbicida.

A massa seca do cafeeiro avaliada pelos mesmos autores apresentou comportamento semelhante à MFR, MFT, MSPA e MST avaliadas para o monjoleiro, na qual as doses iniciais reduziram as médias, porém as maiores concentrações aumentaram a massa.

6.2 Fedegoso

A média geral para porcentagem de germinação final observada para o fedegoso foi de 91,40%. Santarém e Aquila (1995) obtiveram resultados semelhantes (92% de germinação) ao submeterem as sementes a ácido sulfúrico por 15 minutos. Uma vez que os tratamentos não afetaram significativamente a germinação final, é compreensível que as médias encontradas sejam próximas.

O IVG encontrado para o fedegoso no presente trabalho foi superior em qualquer dos tratamentos (média geral = 12,76) se comparados aos observados por Borges et al. (1997). As médias de germinação final também foram ligeiramente inferiores (média geral = 82,66%). Isso pode ser explicado pelo tempo de avaliação, enquanto os autores supracitados avaliaram o experimento por um período de 7 dias, para este trabalho o período de avaliação foi de 26 dias. Ainda sobre o IVG, diferentemente do monjoleiro em que o tipo e as concentrações de 2,4-D geraram IVG semelhantes, o fedegoso foi mais sensível à presença do regulador no meio de cultura, tendo a velocidade de germinação afetada pela maior dose de regulador, isso pode ser explicado pela ação inibidora de germinação já atribuída ao 2,4-D por diversos autores (FARIAS et al., 2003; MACHADO et al., 2007).

Enquanto o regulador utilizado em laboratório mostrou maior efeito sobre a velocidade de germinação, o herbicida provocou efeito significativamente maior sobre o diâmetro do fedegoso. Isso demostra que apesar de se tratar da mesma molécula (2,4-D) os aditivos acrescentados ao herbicida promoveram maior efeito no diâmetro do fedegoso que em sua velocidade de germinação. As diferenças mostradas entre os tipos de 2,4-D podem ser

devidas aos aditivos presentes na formulação comercial do herbicida e isso impossibilita o uso deste como regulador de crescimento laboratorial para as espécies estudadas.

Assim como o monjoleiro, o fedegoso demonstrou efeitos típicos da presença de 2,4-D (Figura 10), onde o aumento das doses de 2,4-D pode afetar a perpetuação da espécie, considerando que foram acrescentadas as mesmas doses e os efeitos foram semelhantes às duas espécies, cabe aqui a mesma linha de pensamento quanto ao desaparecimento silencioso da espécie em áreas sujeitas a esse herbicida. O que leva a reflexão sobre o efeito deste herbicida em outras espécies, mais preocupante ainda em espécies endêmicas de áreas sujeitas à deriva de 2,4-D. Esses efeitos devem ser estudados e melhor compreendidos para evitar a perda silenciosa de biodiversidade.

Desenvolvendo trabalho semelhante ao deste estudo, Almeida et al. (2017), submeteram sementes de algodoeiro a doses de 2,4-D variando de 0 a 1000 $mg.L^{-1}$ de ingrediente ativo e, diferentemente do fedegoso, o algodão não sofreu alterações no desenvolvimento radicular o que pode ser atribuído aos esforços agronômicos de seleção de cultivares resistentes, o que não acontece para espécies florestais nativas. Todavia, os autores observaram alterações na emergência e em características morfológicas como a massa específica foliar e razão de massa foliar o que pode ser explicado pela dose 100 vezes superior à maior dose adotada no presente trabalho.

7 CONCLUSÕES

- A germinação das espécies não foi alterada pelo tipo de 2,4-D empregado ou pelas concentrações.
- Foi possível observar alterações morfológicas em ambas as espécies.
- O monjoleiro não teve a velocidade de emergência alterada e o herbicida causou aumento no diâmetro, e nas massas fresca e seca de forma mais drástica que o regulador de crescimento.
- A velocidade de emergência do fedegoso foi menor quando submetido ao regulador de crescimento e o diâmetro aumentou de forma mais acentuada na presença de regulador P.A.
- Para o fedegoso a MFR, MFPA, MSPA e MST foram maiores na presença de regulador de crescimento. MSR e MST foram maiores na presença de herbicida.

8 RECOMENDAÇÕES

A fim de comprovar ou rechaçar os possíveis efeitos silenciosos da molécula de herbicida 2,4-D, recomenda-se a continuação desse estudo para estágios mais avançados das plantas, assim como a realização de estudos nesse sentido para outras espécies, principalmente aquelas que correm maior risco, endêmicas e em áreas adjacentes à aplicação desse herbicida, sujeitas à deriva.

A utilização de cultura de tecidos para avaliar a sensibilidade de espécies a herbicidas é de grande valia, por se tratar de um ambiente controlado o que facilita a avaliação dos tratamentos de forma mais precisa. Recomenda-se então, que novos estudos sejam feitos com espécies nativas e herbicidas distintos ao do presente trabalho para gerar conhecimento acerca dos efeitos dessas moléculas em espécies nativas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, R. L., GOMES, P. A. M., ZOZ. T., BARBOSA, W. F. S., CHAGAS, P. H. M., ZOZ, A. Influência da aplicação de subdoses de 2, 4-d no crescimento e desenvolvimento do sistema radicular do algodoeiro. **ANAIS DO ENIC**. 2017.

ARAÚJO NETO, J. C., AGUIAR, I. B., FERREIRA, V. M. Efeito da temperatura e da luz na germinação de sementes de *Acacia polyphylla* DC. **Revista Brasilileira de Botânica**, V.26, n.2, p.249-256, jun. 2003.

BORGES, E.E. L., BORGES, R. C. G., PAULA, N. F. Efeito da temperatura e do estresse hídrico na germinação de sementes de fedegoso (*Senna macranthera* (Collad.) Irwin et Barn. e de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, n.2, p.155-158, 1997.

CAETANO, M. S. **Análise das estruturas nativa e mutante GLI96ALA da 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase via ancoramento molecular *in silico* com inibidores e estudo mecanístico.** 2009, 116f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2009.

CARVALHO, J. M. F. C., PIMENTEL, N. W., AIRES, P. S. R., PIMENTEL, L. W. Considerações Gerais Sobre Organogênese. **Embrapa Algodão.** Documento 150, p.26, Campina Grande: 2006.

CARVALHO, J. M. F. C., ARAÚJO, S. S. Técnicas de cultivo *in vitro* aplicadas na mamoneira. **Embrapa Algodão**. Documentos, 194. 23p. Campina Grande, 2008.

DEUBER, R. 1992. **Ciência das plantas daninhas:** fundamentos. FUNEP, Jaboticabal.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Herbicidas: mecanismos de ação e uso.** Embrapa Cerrados. Planaltina-DF, Documentos 227. ISSN 1517-5111, out. 2008.

FARIAS, C. R. J., DEL PONTE, E. M., DAL MAGRO, T., PIEROBOM, C. R. Inibição de germinação de sementes de trigo e milho em testes de sanidade em substrato de papel. **Revista Brasileira de Agrociência.** v.9, n.2, p. 141 – 144, abr - jun, 2003.

FERREIRA, E. B., CAVALCANTI, P. P., NOGUEIRA, D. A. ExpDes.pt: Experimental Designs pacakge (Portuguese). **R package version 1.1.2**. 2013.

FIORE, R. A., SANTOS, J. B., FERREIRA, E. A., CABRAL, C. M., PEREIRA, I. M. Growth and nutritional analysis of tree species in contaminated substrate by leachable herbicides. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.40, n.4, p.585-594, 2016.

GEORGE, E. F., SHERRINGTON, P. D. Plant propagation by tissue culture. **Exegetics Ltd.**, 1984.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture:** part 1: the technology. Edington: Exegetics, 1996. 574 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS - IBAMA. **Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 2009 no Brasil: uma abordagem ambiental.** Brasília, Brasil, 2010.

MACHADO, A. Q., MACHADO, J. C., VIEIRA, M. D. G. G. C., CASSETARI NETO, D., SOUZA, M. V. Potencial do uso da restrição hídrica em testes de sanidade de sementes de algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**. 32:408-414. 2007.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p.176-77, 1962.

MANTELL, S.H., MATTHEWS, J.A., McKEE, R.A. **Princípios de biotecnologia em plantas:** uma introdução à engenharia genética em plantas. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1994. 344 p.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA. E ABASTECIMENTO (MAPA). Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT). 2017. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 1 maio 2017.

MIRANDA, N. A. **Micropropagação de candeia (*Eremanthus incanus* (Less.) Less).** 2015, 67f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Departamento de Engenharia Florestal, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina. 2015.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473- 497, 1962.

NOGUEIRA, R. C., PAIVA, R., OLIVEIRA, L. M., SOARES, G. A., SOARES, F. P., CASTRO, A. H. F., OLIVEIRA PAIVA, P. D. Indução de calos em explantes foliares de murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* a. Juss.). **Ciência agrotecnica**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 366-370, mar./abr., 2007.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/. 2017.

RIBEIRO, D. S., PEREIRA, T. S. O agrotóxico nosso de cada dia. **Vittalle – Revista de Ciências da Saúde**, v. 28, p. 14 - 26. 2016.

SANTARÉM, E. R., AQUILA, M. E. A. Influência de métodos de superação de dormência e do armazenamento na germinação de sementes de *Senna macranthera* (Colladon) Irwin & Barneby (Leguminosae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.17, n.2, p.205-209, 1995.

SILVA, A., FIGLIOLIA, M. B., AGUIAR, I. B. Germinação de sementes de *Acacia polyphylla* dc. (monjoleiro) e de *Aspidosperma ramiflorum* müll. arg. (guatambu). **Floresta**, Curitiba, PR, v. 37, n. 3, set./dez. 2007.

THILL, D. Growth regulator herbicides. In: WELLER, S. C. et al. (Eds.) **Herbicide action course.** West Lafayette: Purdue University, p. 267-291. 2003.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas. Brasília: **EMBRAPA**, 1990.

VIEITEZ, A. M.; SAN-JOSÉ, M. C. Adventitious shoot regeneration from Fagus sylvatica leaf explants in vitro. In vitro Cellular & Developmental Biology, **Columbia**, v. 32, n. 3, p. 140-147, 1996.

VOLTOLINI, G. B., CASTANHEIRA, D. T., GONÇALVES, A. H., SILVA, L. G., NASCIMENTO, T. L. C., NETTO, P M. Ação do herbicida 2,4 d sobre o crescimento de mudas de cafeeiro. **IX Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil 24 a 26 de junho de 2015**, Curitiba – PR, 2015.

ZIMDAHL, R. L. **Fundamentals of Weed Science.** Fort Collins: Academic Press, 556 p. 1999.

CONCLUSÕES GERAIS

Nenhum dos herbicidas causou alterações na germinação, IVE e altura das espécies. Por outro lado, o diâmetro das plântulas de monjoleiro foi mais afetado pelo ametryn e atrazine quando comparado ao fedegoso. O número de folhas do monjoleiro diminuiu quando submetido às doses de herbicida, enquanto fedegoso não essa característica afetada. Quanto a mortalidade, o monjoleiro não foi afetado, enquanto para o fedegoso, maior mortalidade foi observada na presença de ametryn, seguido de hexazinone e atrazine. Quando comparadas as espécies, monjoleiro foi mais sensível a atrazine e o fedegoso a ametryn.

Na fase de muda a massa e a porcentagem de água das espécies não variaram com sob ação dos herbicidas, todavia, na fase de desenvolvimento inicial ambas espécies foram afetadas com a evolução das doses. Na fase inicial de desenvolvimento, o ametryn foi tóxico a ambas espécies, o atrazine ao monjoleiro e hexazinone, na maior dose, ao fedegoso. Para as mudas de monjoleiro, a intoxicação foi elevada sob efeito de cada herbicida. Para o fedegoso nesse estádio de desenvolvimento, apenas sob efeito de hexazinone.

A germinação das espécies não foi alterada pelo tipo de 2,4-D empregado ou pelas concentrações. Quando observada a morfologia, foi possível observar alterações em ambas as espécies. O monjoleiro não teve a velocidade de emergência alterada e o herbicida causou aumento no diâmetro, e nas massas fresca e seca de forma mais drástica que o regulador de crescimento. A velocidade de emergência do fedegoso foi menor quando submetido ao regulador de crescimento e o diâmetro aumentou mais acentuadamente na presença de regulador P.A. Para o fedegoso a MFR, MFPA, MSPA e MST foram maiores na presença de regulador de crescimento. MSR e MST foram maiores na presença de herbicida.