

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal

CÁSSIA MICHELLE CABRAL

**USO DE ESPÉCIES FLORESTAIS PARA A FITORREMEDIAÇÃO DE
SOLOS CONTAMINADOS POR HERBICIDAS.**

DIAMANTINA - MG

2019

CÁSSIA MICHELLE CABRAL

**USO DE ESPÉCIES FLORESTAIS PARA A FITORREMEDIAÇÃO DE
SOLOS CONTAMINADOS POR HERBICIDAS.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal, da Universidade Federal dos Vales dos Jequitinhonha e Mucuri, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. José Barbosa dos Santos
Coorientador: Evander Alves Ferreira
Dayana Maria Teodoro Francino
Israel Marinho Pereira

DIAMANTINA - MG

2019

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

C117u

Cabral, Cássia Michelle

Uso de espécies florestais para a fitorremediação de solos contaminados por herbicidas / Cássia Michelle Cabral, 2019.
68 p. : il.

Orientador: José Barbosa dos Santos

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2019.

1. Biorremediação. 2. Espécies arbóreas. 3. Cromatografia líquida. 4. Fluorescência da clorofila "a". 5. Anatomia vegetal. I. Santos, José Barbosa dos. II. Título. III. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

CDD 632.95


CÁSSIA MICHELLE CABRAL

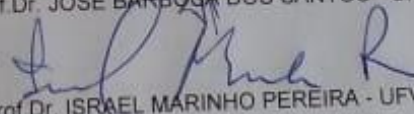
USO DE ESPÉCIES FLORESTAIS PARA A FITORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS POR HERBICIDAS.

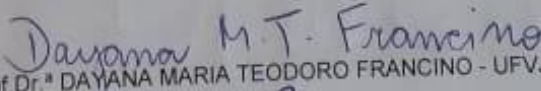
Tese apresentada ao DOUTORADO EM CIÊNCIA FLORESTAL, nível de DOUTORADO como parte dos requisitos para obtenção do título de DOUTORA EM CIÊNCIA FLORESTAL


Orientador (a): Prof. Dr. Jose Barbosa Dos Santos

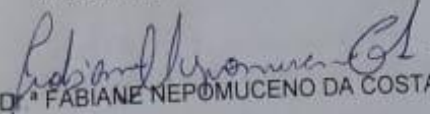
Data da aprovação : 14/03/2019


Prof. Dr. JOSE BARBOSA DOS SANTOS - UFVJM


Prof. Dr. ISRAEL MARINHO PEREIRA - UFVJM


Prof. Dr.ª DAYANA MARIA TEODORO FRANCINO - UFVJM


Prof. Dr. FÁBIO RIBEIRO PIRES - UFES


Prof. Dr.ª FABIANE NEPOMUCENO DA COSTA - UFVJM

DIAMANTINA

Ofereço

*Aos meus pais, aos meus irmãos,
ao querido Profº José Barbosa pela
oportunidade e confiança, ao Thyago, a minha mãe
pela paciência e horas distraindo Liz para
que eu pudesse desenvolver esse trabalho
e a todos os amigos que sempre me apoiaram.*

Dedico
A Deus...

AGRADECIMENTOS

A Deus... Não me canso de falar Deus lhe pague!!! Mais uma vez o que mais fiz foi endividá-lo..., pois sempre digo isso quando tenho a plena consciência de que aquela ajuda foi tão valorosa que eu nunca poderei retribuir a altura... E só ele na sua plenitude vai poder retribuir em dobro...

Aos meus pais, para quem sempre quis ser motivo de orgulho... e principalmente minha mãe, só ela com seu amor que só as vovós como ela têm, pra conseguir desviar a atenção de Liz e me possibilitar escrever esse documento.

A minha filhotinha Liz, que não me deixa ler um parágrafo de artigo inteiro sem perguntar: _ “Mamãe, deixa eu te ajudar ai, o que você está lendo? Lê pra mim mamãe...

Aos meus irmãos (Dani, Arthur, Paulinha e Túlio) e a minha sobrinha Ninica, por que só eles pra agüentar tanta chatura... E ainda me dar tanto carinho e incentivo.

Ao Thyago, pelo amor incondicional... Ehhhh meu querido não é fácil me agüentar não....

Ao Profº José Barbosa, por ter me aceitado, orientado, confiado e além de tudo isso se tornou meu amigo de conversas engraçadas, confidencias e conselhos. Ehhh meu amigo se não fosse você eu não estaria aqui...

Ao Dr. Evander Alves, que assim como Profº José Barbosa, me orientou, apoiou e se tornou um grande amigo de risadas, confidencias, apertos e por ter me feito gostar de correr (me fez uma pessoa mais saudável) ...

A Profª Dayana Francino... amiga, incentivadora, companheira, me proporcionou experiências no campo da anatomia que nunca achei que fosse ter acesso.... Além das boas conversas e rizadas no laboratório de Botânica.

A Profª Fabiane Nepomuceno, pelo incentivo incondicional, amizade, compreensão, conversas, conselhos e acima de tudo por me fazer vislumbrar o caminho da pesquisa.

Aos Professores Israel Marinho, Evandro Machado, Marcio Leles pelas aulas, esclarecimentos e por estarem sempre dispostos a ajudar.

A Darly, pelo apoio, conversas, risadas, desabafos.

A Brenda, a menina mais linda que eu já vi... companheira, amiga, engraçada, Finaaa.... (queria ter uma filha assim), meu braço direito e esquerdo... pra ela não tem tempo ruim não....

Ao meu amigo Samuel, pela amizade, conselhos, caronas e Helps...rsrsrsr....

A empresa Anglo American- Conceição do Mato Dentro e ao Departamento de Engenharia Florestal da UFVJM, pela concessão das mudas para a realização do experimento.

Aos meus —irmãozinhos do grupo INOVAHERB, pela amizade, companheirismo, risadas e limpezas na estufa... montagem e desmontagem de experimentos...Rsrrsr...enfim sou muito grata pela ajuda de cada um, pois tenho muito orgulho de fazer parte deste grupo. MUITÍSSIMO obrigada especial para: Luciana, Torresmo (Filipe), Josi, Naiane, Victor, Fernando, Pedro, Júlia, Pietra, Keila, Marcio, Priscila, Guillermo, José Adão, Antunes, Teodoro, Fábio (viveiro)....

Agradecimentos a CAPES, ao CNPq, a FAPEMIG pelo auxílio financeiro e IC e a UFVJM por me acolher e viabilizar a pesquisa.

Obrigado carinhoso àqueles que não me vem à mente neste momento, mas que contribuíram... mil desculpas.

Obrigada a todos!

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)- Código de Financiamento 001.

RESUMO GERAL

CABRAL, C.M. **Uso de Espécies Florestais para a Fitorremediação de Solos Contaminados por Herbicidas**. 68p. (Tese de Doutorado em Ciência Florestal) Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina -MG, 2019.

O ser humano opera diretamente nas alterações do ambiente. Para sua permanência no planeta foi imprescindível a procura por alternativas que viabilizem a eficiência na produção de alimentos, e o desenvolvimento de tecnologias capazes de tornar a vida mais confortável. No intuito de manter uma relação proporcional entre a produção agrícola e a demanda da população, foram necessárias transformações nas técnicas de plantio, com o fim, entre outros, de minimizar as perdas na produção. A utilização de moléculas herbicidas em mistura e até mesmo a aplicação sequencial de herbicidas em um único ciclo de culturas, para o máximo de controle das invasoras tornou-se prática habitual. Neste sentido, mesmo adotando-se todos os cuidados com a escolha do produto e adequada tecnologia de aplicação, o uso destes agroquímicos gera resíduos capazes de contaminar solo, água e ar. Dentre os herbicidas mais utilizados estão, 2,4-D, atrazine, diuron e hexazinona, todos com relatos de contaminação ambiental, notadamente pelo deslocamento via água. De acordo com a problemática apresentada objetivou-se com este trabalho verificar a tolerância a herbicidas, de cinco espécies florestais nativas: *Inga vera* Willd (Fabaceae), *Calophyllum brasiliense* Cambess (Calophyllaceae), *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae), *Senna macranthera* (DC. ex Collad.) H. S. Irwin Barneby (Fabaceae) e *Cybistax antisiphilitica* (Mart.) Mart (Bignoniaceae), por meio de avaliações de crescimento, intoxicação, análises anatômicas e fisiológicas, assim como verificar a capacidade remediadora. Foi utilizado o delineamento em blocos ao acaso com quatro repetições, sendo o experimento conduzido em campo durante três anos em unidades de contenção com capacidade para 210 dm³, cada. Foram realizadas 3 aplicações dos herbicidas 2,4-D, atrazine e a mistura hexazinone +diuron, por simulação da contaminação de lençol freático. Cada aplicação correspondeu a meia dose comercial do composto por hectare totalizando, para cada herbicida, 150% da dose média recomendada. Tais aplicações foram efetuadas a partir do vigésimo oitavo mês de desenvolvimento das plantas, iniciando-se pelo 2,4-D, após 60 dias, atrazine e após 60 dias, a mistura diuron + hexazinone.

Aos 59 dias após a primeira aplicação de cada herbicida foram avaliados a altura da planta, o diâmetro do caule e o número de folhas. Adicionalmente foi verificadas modificações anatômicas advindas da exposição aos herbicidas, além de análises fisiológicas: fluorescência da clorofila “a” e aferições em relação as trocas gasosas. Ao final de 40 meses avaliou-se a capacidade remediadora das espécies arbóreas por meio de análises cromatográficas do solo, material vegetal e água residual provenientes das unidades amostrais, para detecção do resíduo. *Inga vera* e *C. brasiliense* apresentaram sensibilidade a mistura 2,4-D + atrazine. *Tapirira guianensis* foi tolerante a mistura 2,4-D + atrazine, *S. macranthera* e *C. antisyphilitica* foram tolerantes à aplicação sequencial dos herbicidas. *Senna macranthera* se destaca como fitorremediadora dos herbicidas 2,4-D e atrazine, tolerando e reduzindo a quantidade de resíduo presente no solo, no entanto esta espécie é somente tolerante a mistura 2,4-D+atrazine+hexazinona +diuron. *Cybistax. antisyphilitica* tolerou e fitorremediou o solo com a mistura de herbicidas, reduzindo os resíduos, mesmo com sintomas de intoxicação.

Palavras-chave: Biorremediação; Espécies Arbóreas; Fluorescência da Clorofila “a”; Cromatografia; Anatomia vegetal

GENERAL ABSTRACT

CABRAL, C.M. **Use of Forest Species for Phytoremediation of Soils Contaminated by Herbicides**. 68p. (Thesis of Doctorate in Forest Science) Federal University of the Jequitinhonha and Mucuri Valleys, Diamantina- MG, 2019

Human beings operate directly on changes in the environment. In order to remain on the planet, it was essential to search for alternatives that enable efficiency in food production, and the development of technologies capable of making life more comfortable. In order to maintain a proportional relationship between agricultural production and population demand, changes in planting techniques were necessary, in order, inter alia, to minimize losses in production. The use of herbicidal molecules in blending and even the sequential application of herbicides in a single crop cycle, for maximum control of the invasives has become standard practice. In this sense, even taking care with the choice of product and appropriate application technology, the use of these agrochemicals generates residues capable of contaminating soil, water and air. Among the most used herbicides are 2,4-D, atrazine, diuron and hexazinone, all with reports of environmental contamination, notably by water displacement. According to the presented problem, this study aimed to verify the tolerance, through growth, intoxication, anatomical and physiological analyzes, as well as to verify the remedial capacity of five native forest species: *Inga vera* Willd (Fabaceae) *Calophyllum brasiliense* Cambess (Calophyllaceae), *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae), *Senna macranthera* (DC, ex Collad.) HS Irwin Barneby (Fabaceae) and *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart (Bignoniaceae). A randomized block design with four replications was used, the experiment being conducted in the field during three years in containment units with a capacity of 210 dm³, each. Three applications of the herbicides 2,4-D, atrazine and the hexazinone + diuron mixture were carried out by simulation of groundwater contamination. Each application corresponded to the commercial half dose of the compound per hectare totaling, for each herbicide, 150% of the recommended average dose. These applications were carried out from the twenty-eighth month of plant development, starting at 2,4-D, after 60 days, atrazine and after 60 days, the diuron + hexazinone mixture. At 59 days after the first application of each herbicide were evaluated plant height, stem diameter and number of leaves. In addition, it was verified anatomical changes from exposure to herbicides, as well as physiological analyzes: chlorophyll a fluorescence and gaseous exchange measurements. At the end of 40 months the remediation capacity of the tree species was evaluated by means of chromatographic analyzes of the soil, vegetal material and residual water

from the sample units, to detect the residue. *I. vera* and *C. brasiliense* showed sensitivity to the 2,4-D + atrazine mixture. *T. guianensis* was tolerant to the mixture 2,4-D + atrazine, *S. macrantherae* *C. antisyphilitica* were tolerant to the sequential application of the herbicides. *S. macranthera* stands out as a phytoremediate of the herbicides 2,4-D and atrazine, tolerating and reducing the amount of residue present in the soil, however this species is only tolerant to the mixture 2,4-D + atrazine + hexazinone + diuron. *C. antisyphilitica* tolerated and soil phytoremediation with herbicide blending, reducing residues, even with intoxication symptoms.

Key words: Bioremediation; Arboreal Species; Fluorescence of Chlorophyll "a"; Chromatography; Plant anatomy

Lista de Figuras

Figura 1-Desenho esquemático das partes constituintes da unidade amostral utilizada no experimento evidenciando: a) Solução contendo fração da dose do herbicida conforme tratamento; b) tubo para injeção da solução simulando lençol freático contaminado com herbicida; c) Válvula de contenção fechada somente ao final do período de avaliação para coleta do lixiviado; d) zona saturada (brita e areia) simulando lençol freático; e) porção de solo evidenciando zona de aeração para o desenvolvimento do sistema de raízes.....27

Figura 2-Secção transversal de folhas de espécies florestais: *Inga vera* A-D, *Calophyllum brasiliense* E-H, *Tapirira guianensis* I-L, *Senna macranthera* M-P, *Cybistax antisyphilitica* Q-T. Hipoderme (HIP), Epiderme com células anômolos (EpM), Campo de pontoação primária (CPP). Observa-se na coluna, respectivamente da esquerda para a direita: secção transversal de folhas de espécies florestais sem aplicação de herbicida, secção transversal de folha correspondente à primeira, segunda e terceira aplicação de 2,4-D.....33

Figura 3-Secção transversal de folhas de espécies florestais: *Inga vera* A-D, *Calophyllum brasiliense* E-H, *Tapirira guianensis* I-L, *Senna macranthera* M-P, *Cybistax antisyphilitica* Q-T. Observa-se na coluna respectivamente da esquerda para a direita: secção transversal de folhas de espécies florestais sem aplicação de herbicida, secção transversal de folhas submetidas a primeira, segunda e terceira doses do herbicida atrazine para composição do Mix 2 (2,4-D+atrazine).....34

CAPITULO 2

Figura 1- Desenho esquemático das partes constituintes da unidade de contenção utilizada no experimento evidenciando: a) Solução contendo fração da dose do herbicida conforme tratamento; b) tubo para injeção da solução simulando lençol freático contaminado com h herbicida; c) Válvula de contenção fechada somente ao final do período de avaliação para coleta do lixiviado; d) zona saturada (brita e areia) simulando lençol freático; e) porção de solo evidenciando zona de aeração para o desenvolvimento do sistema de raízes.....54

Figura 2- Sintomas de toxicidade encarquilhamento de folhas (A e B) e cloroses provenientes da aplicação em sequência dos herbicidas 2,4-D. atrazine e hexazinona+diuron em espécies florestais. A e B- *Tapirira guianensis*, C, E, F e G- *Cybistax antisyphilitica*.....61

Lista de Tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela 1-Composição físico-química de um Latossolo- Vermelho na camada de 0-20 cm utilizado no experimento..... | 28 |
| Tabela 2- Relação dos herbicidas, épocas de aplicação e dose aplicada para estimar a capacidade remediadora, por espécies florestais, de resíduos de herbicidas em águas subterrâneas, simulando contaminação pelo lençol freático..... | 30 |
| Tabela 3-Altura de Planta (Alt %), diâmetro do Caule (DC %), número de folhas (NF %), de plantas submetidas a aplicação em sequência dos herbicidas 2,4-D (Mix1), 2,4-D+Atrazine (Mix2) e 2,4-D+ Atrazine + hexazinona +diuron (Mix3) comparadas à sua respectiva testemunha (100%). Os números apresentados retratam a porcentagem em relação a testemunha..... | 33 |
| Tabela 4-Espessura da epiderme adaxial (EAD%), do parênquima paliçádico(PP%), do parênquima lacunoso (PL%), da epiderme abaxial (EAB%) e da lâmina foliar (LF%) de folhas de <i>Inga vera</i> , <i>Calophyllum brasiliense</i> , <i>Tapirira guianensis</i> , <i>Senna macranthera</i> , <i>Cybistax antisiphilitica</i> tratadas com herbicida 2,4-D e comparadas à sua respectiva testemunha (100%) Os números apresentados retratam a porcentagem em relação a testemunha..... | 35 |
| Tabela 5-Espessura da epiderme adaxial (EAD%), do parênquima paliçádico(PP%), parênquima lacunoso (PL%) epiderme abaxial (EAB%) e lamina foliar (LF%) de folhas de espécies arbóreas tratadas com herbicida 2,4-D+atrazine e comparadas à sua respectiva testemunha (100%) Os números apresentados retratam a porcentagem em relação a testemunha..... | 36 |
| Tabela 6-Fluorescência inicial (F0), fluorescência máxima (FM), relação fluorescência variável e fluorescência máxima (Fv/Fm) e taxa de transporte de elétrons (ETR), em espécies arbóreas em função da aplicação em sequência de herbicidas. Testemunha (Test), 2,4-D (Mix1) 2,4-e atrazine (Mix2) e 2,4-D +atrazine + hexazinone + diuron (Mix3)..... | 41 |
| Tabela 7-Taxa fotossintética (FOT), concentração interna de carbono (Ci), consumo de CO2 (DC), condutância estomática (Gs), transpiração (TR) e eficiência no uso da água (EUA) de <i>Inga vera</i> , <i>Calophyllum brasiliense</i> , <i>Tapirira guianensis</i> , <i>Senna macranthera</i> , <i>Cybistax antisiphilitica</i> submetidas a aplicações em sequência dos herbicidas 2,4-D, atrazine, diuron + hexazinona. Testemunha (Test), 2,4-D e atrazine (Mix2) e 2,4-D, atrazine e diuron+ hexazinona (Mix3)..... | 44 |
| CAPÍTULO 2 | |
| Tabela 1-Composição físico-química de um latossolo- vermelho amarelo na camada de 0-20 cm utilizado no experimento..... | 54 |

Tabela 1– Relação dos herbicidas, épocas de aplicação e dose aplicada para estimar a capacidade remediadora, por espécies florestais, de resíduos de herbicidas em águas subterrâneas, simulando contaminação pelo lençol freático.....57

Tabela 2- Gradiente de eluição empregado para determinação de agrotóxico por UHPLC-MS/MS. A- água e B- metanol.....60

Lista de Gráficos

CAPÍTULO 2

Gráfico 1-Porcentagem de intoxicação pelos herbicidas 2,4- D, atrazine, diuron e hezaxinona aplicados em sequência em espécies florestais avaliadas dos 7 – 160 dias após a aplicação. As aplicações entre herbicida ocorreram com intervalos de 60 dias. DAA.....62

Gráfico 2-Concentração dos herbicidas atrazine (ATR), diuron (DIU) e hexazinona (HEX) em água residual proveniente das unidades amostrais onde foram cultivadas *Senna macrantera* e *Cybistax antisyphilitica* além de vaso sem cultivo de planta utilizado como testemunha de solo. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si segundo critério de Tukey a 5% de probabilidade. Valores entre parênteses correspondem ao desvio padrão.....64

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| RESUMO GERAL | 6 |
| GENERAL ABSTRACT | 8 |
| INTRODUÇÃO GERAL | 15 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 19 |
| CAPÍTULO 1- SENSIBILIDADE DE ESPÉCIES FLORESTAIS CULTIVADAS EM SOLO CONTAMINADO POR HERBICIDAS APLICADOS SEQUENCIALMENTE. | 23 |
| RESUMO..... | 23 |
| ABSTRACT | 24 |
| INTRODUÇÃO | 25 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 27 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 32 |
| CONCLUSÃO | 45 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 46 |
| CAPÍTULO 2- FITORREMEDIAÇÃO DE HERBICIDAS APLICADOS EM SEQUÊNCIA POR ESPÉCIES ARBÓREAS NATIVAS..... | 50 |
| RESUMO..... | 50 |
| ABSTRACT | 51 |
| INTRODUÇÃO | 52 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 53 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 60 |
| CONCLUSÃO | 66 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 67 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS | 70 |

INTRODUÇÃO GERAL

Diante dos avanços tecnológicos e econômicos, surge a incógnita em relação aos recursos naturais, esses são usados indiscriminadamente, em horizonte temporal e em prol do êxito das atividades agroeconômicas. Este desenvolvimento populacional e industrial ocorre próximo a ambientes aquáticos e regiões costeiras, fato esse que ocasiona problemas de contaminação ambiental (RODRIGUES; ORLANDELLI, 2018). Dentre os métodos tecnológicos de controle de plantas daninhas e que causam contaminação ambiental, o químico se estabeleceu como prática indispensável para a agricultura em larga escala, uma vez que demanda menor dependência de mão de obra, é eficiente e rápido no manejo das plantas daninhas (SANTOS et al., 2015a).

Dentre os agrotóxicos, a classe dos herbicidas é a mais utilizada na agricultura mundial, e no Brasil corresponde a cerca de 50% do volume total de produtos comercializados (SINDIVEG, 2019) sendo o método de preferência dos produtores pela relação custo/benefício. O uso de herbicidas corresponde à forma de controle químico de plantas daninhas nas culturas de larga escala principalmente, e podem ser aplicados em pré-emergência ou pós-emergência.

O emprego de misturas de moléculas e aplicação sequencial de herbicidas em um único ciclo de culturas, visando alcançar o máximo de controle das invasoras e com efeitos sinérgicos, além de se evitar ou minimizar injúrias às culturas, requer acuidade quanto aos cuidados para evitar contaminação do solo e água, além de informações a respeito das interações entre os produtos (GIROTTO et al., 2012). Porém, esses insumos são empregados geralmente, em horizonte temporal e em quantidades superiores às recomendadas ocasionando danos imensuráveis ao meio ambiente (CANUTO et al., 2010).

Uma cultura, ao ser implantada em um agroecossistema, estará sujeita à interferência, no solo, de certa quantidade de propágulos que vão emergir espontaneamente durante o ciclo de vida da planta cultivada (PITELLI, 1987). Neste período, plantas daninhas podem reduzir a produtividade e comprometer a qualidade dos produtos agrícolas (GAZZIERO, 2015). É comum a ocorrência concomitante de várias espécies no campo, e mesmo biótipos com diferentes graus de resistência, ao mesmo tempo e na mesma área, contudo, os princípios ativos herbicidas aplicados isoladamente não têm espectro de ação capaz de controlar o conjunto de problemas, tornando-se necessário aplicações sequenciais e uso de misturas de herbicidas (GAZZIERO, 2015).

O herbicida 2,4-D (ácido 2,4-Diclorofenilacético), auxina sintética para controle de plantas daninhas, é sistêmico, seletivo e aplicado em pós-emergência (SILVA et al., 2018), no controle das dicotiledôneas em pastagens e na dessecação das invasoras no sistema de plantio direto. Pode ser aplicado em mistura com o herbicida glifosate (TAKANO et al., 2013) sendo um tratamento comum nos cultivos no Brasil (GODINHO JÚNIOR et al., 2017). Esta auxina age provocando crescimento irregular dos tecidos, obstrução do floema, morte do sistema radicular, epinastia das folhas, podendo levar plantas sensíveis à morte em caso de deriva, além de interferir no crescimento e no desenvolvimento de plantas nativas (TAVARES et al., 2017).

Outro herbicida amplamente utilizado no setor agrícola é o atrazine (2-cloro-4-(etilamino) -6-(isopropilamino) -s-triazina), herbicida sistêmico, translocado via xilema, aplicado em pré e emergência de plantas daninhas. Este composto desperta atenção em decorrência do seu alto potencial de contaminação, por apresentar baixa reatividade e solubilidade, que viabiliza seu acúmulo em solos e recursos d'água (MORAES et al., 2015). Aplicado no controle de invasoras em plantações de milho, cana-de-açúcar e sorgo, é o agroquímico da classe das triazinas mais utilizado no mundo, atingindo 80 toneladas em consumo anual nos USA e 100 toneladas no Brasil (SANTOS et al., 2015b), chegando a 7 kg há⁻¹ no Irã (PARADA et al., 2019). Por ter alta persistência no solo, hidrólise lenta, adsorção moderada à matéria orgânica e argila, constitui um potencial contaminante de recursos hídricos, cujo uso vem sendo questionado e já proibido em países europeus (MARTINS et al., 2014). Suas características o evidenciam como poluente de grande interesse ambiental, sendo os limites máximos permitidos em águas para consumo de 3 µg L⁻¹ nos Estados Unidos e 0,5 µg L⁻¹ na Europa (ÁVILA et al., 2009) não havendo regulamentação no Brasil.

Usado no controle em pré e pós-emergência de monocotiledôneas e dicotiledôneas em culturas de cana-de-açúcar (SOUSA et al., 2018), o diuron (N-(3,4-diclorofenil) -N,N-dimetilureia) é sistêmico e seletivo, tem sido usado frequentemente em mistura com outros herbicidas (hexazinona, MSMA e paraquat) (PROCÓPIO et al., 2014). Também é comum em aplicações não agrícolas no controle da vegetação ao longo de linhas de transmissão, ferrovias, estradas, indústrias e edifícios, além de biocida de reforço orgânico em algumas formulações de tinta anti-incrustante (SAPOZHNIKOVA et al., 2013). Herbicidas provenientes desse grupo químico exibem elevada persistência no ambiente, superior a 260 dias no solo pós aplicação (ROCHA et al., 2013), e meia-vida variando 40 a 91 dias (ROCHA et al., 2013). O Instituto Nacional Holandês de Saúde Pública e Meio Ambiente sugeriu uma concentração máxima admissível para o diuron de 430 ng L⁻¹, enquanto estudos mostraram que há uma contaminação

generalizada de baixo nível (5-27 ng L⁻¹) por este herbicida em marinas da Califórnia (SAPOZHNIKOVA et al., 2013).

No Brasil, para o controle de plantas daninhas em culturas de cana-de-açúcar, há cerca de 40 moléculas herbicidas registradas. Dentre esses produtos, é possível destacar a mistura comercial de diuron + hexazinona, cuja aplicação visa um espectro mais amplo de controle de espécies de plantas daninhas (SOUSA et al., 2018). Hexazinona (3-ciclo-hexil-6-dimetilamino-1-metil-1,3,5-triazino-2,4 (1H, 3H)-diona) pertence ao grupo químico triazinona, é sistêmico, seletivo e aplicado em pré e pós emergência das invasoras. Esta molécula é derivada de uma base fraca e está incluída no grupo C1 dos inibidores do fotossistema II (SOUSA et al., 2018). Trata-se de herbicida suscetível à fotodegradação, sendo pouco volátil e degradado por hidroxilação e desmetilação do anel ciclohexil ou mesmo por via microbiológica (GUIMARÃES et al., 2018).

As águas superficiais, subterrâneas e o solo são alvos recorrentes da contaminação, intensificando-se quando a ocupação e uso do solo pela agricultura e pecuária estendem-se até áreas marginais e ecologicamente sensíveis, como zonas ripárias e úmidas (CAPOANE; TIECHER; SANTOS, 2016). Neste sentido, áreas de nascentes de água e as matas ciliares têm sofrido um processo sucessivo de devastação, com implicações ecológicas e ambientais. Diante disso a sociedade tem-se mobilizado com intuito de preservar as áreas remanescentes e recompor com espécies nativas os locais degradados (PEREIRA et al., 2014)

Dentre os métodos de regeneração artificial empregados para recuperação de áreas degradadas, destaca-se o plantio de mudas de espécies nativas, que proporciona proteção do solo contra erosão além de rápida reabilitação visual (PEREIRA et al., 2014).

Espécies vegetais tem sido empregadas como despoluidoras do solo, por tolerar, absorver, metabolizar ou até mesmo promover a degradação rizosférica de moléculas orgânicas (AGUIAR et al., 2018; DOS SANTOS et al., 2018; FERRAÇO et al., 2017; GALON et al., 2017). Neste sentido, a utilização de espécies arbóreas é uma alternativa interessante pois estas plantas, de forma geral, têm sistema radicular extenso, produzem alta biomassa e são espécimes com ampla variabilidade genética (PULFORD; WHATSON, C., 2003). Estas características favorecem a imobilização e ou formação de ambiente adequado à degradação das moléculas presentes no solo, diminuindo os impactos ambientais destes compostos (SINGH; SINGH, 2016; CAMARGO; BISPO; SENE, 2015; PULFORD WHATSON, C. 2003). A influência da rizosfera constitui importante processo a ser mencionado quando se fala em fitorremediação de

herbicidas. É na rizosfera que ocorre o aumento da biomassa microbiana, pois as raízes ocupam fisicamente o solo, aumentando a aeração e instituindo condições mais favoráveis aos microorganismos. Esses são estimulados por meio da liberação de exsudados radiculares (aminoácidos, carboidratos, ácidos orgânicos) e pela decomposição do material vegetal (ANDRADE et al., 2007; BICALHO, 2007). Esse start fornecido á microbiota associada às raízes das plantas é conhecido como fitoestimulação, principal mecanismo atuante na remediação de herbicidas e outros compostos orgânicos (PIRES et al., 2005). Os microorganismos beneficiados por este processo viabilizam a decomposição dos contaminantes orgânicos, degradando suas moléculas e reduzindo a toxicidade (JONER & LEYVAL, 2003).

A fitorremediação versa sobre a capacidade que algumas espécies vegetais possuem de retirar compostos tóxicos do ambiente (solo e água), promovendo sua descontaminação (PIRES et al., 2003). Em relação ao Brasil, estudos se valendo de espécies arbóreas para a biorremediação de solos com herbicidas vem tomando destaque desde 2012 (CABRAL, 2012). Determinadas espécies sobrevivem em solo contaminado, ainda que apresentando sintomas moderados de intoxicação, como crescimento reduzido e alterações estruturais (AGUIAR et al., 2018; CORRÊA et al., 2018; CABRAL et al., 2017a, 2017b;), e mesmo nestas condições favorecem a degradação de vários herbicidas. Considerando o supracitado, é importante a ciência sobre a tolerância/sensibilidade de espécies arbóreas a herbicidas lixiviáveis aplicados em sequência, para a condução de medidas mitigadoras ou mesmo de prevenção para garantir a sustentabilidade de regiões a jusante de áreas agrícolas importantes.

Os herbicidas afetam, direta ou indiretamente, o metabolismo das plantas não alvo, mesmo nas doses recomendadas. Estudos da fisiologia das plantas tratadas, principalmente associados às trocas gasosas e à eficiência na utilização radiação luminosa, processos estes considerados básicos na produção de biomassa, podem diagnosticar os danos provocados pelos herbicidas (REIS et al., 2014). O mesmo acontece com a verificação das modificações anatômicas advindas do contato das plantas com moléculas xenobióticas: podem indicar as estratégias traçadas pelas plantas para driblar estes efeitos ou não (CABRAL et al., 2017a; GOMES et al., 2019).

Diante do exposto, objetivou-se neste trabalho verificar a tolerância por meio de análises de crescimento, fisiológicas e estruturais, e o potencial fitorremediador de cinco espécies arbóreas a saber: *Inga vera* Willd (Fabaceae), *Calophyllum brasiliense* Cambess (Calophyllaceae), *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae), *Senna macranthera* (DC. ex

Collad.) H. S. Irwin Barneby (Fabaceae) e *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart (Bignoniaceae), submetidas a aplicações em sequência dos herbicidas 2,4-D, atrazine, diuron e hexazinona. A hipótese testada é a de que é possível, por meio de plantas fitorremediadoras, construir barreiras rizosféricas em matas ripárias para mitigar a chegada deste poluente às águas superficiais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, L. M. et al. Physiological Characteristics of Trees Recommended for the Phytoremediation of Soils Contaminated with Herbicides. **Planta Daninha**, v. 36, n. 0, 29 out. 2018.

ÁVILA, L. G. DE et al. Formulações de atrazina em xerogéis: síntese e caracterização. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1727–1733, 2009.

CABRAL, C. M. Fitorremediação por espécies arbóreas de solo contaminado com herbicida clomazone: efeito na morfologia, anatomia e rizosfera. 2012

CABRAL, C. M. et al. Structural Evaluation of damage caused by Herbicide Clomazone in Leaves of Arborescent Species Native to Brazil. **Planta Daninha**, v. 35, 2017a.

CABRAL, C. M. et al. Tolerance to the herbicide clomazone and potential for changes of forest species = Uso de espécies florestais para diminuição do resíduo de clomazone no ambiente. **Bioscience Journal**, v. 33, n. 4, 25 jul. 2017b.

CAMARGO, D.; BISPO, K. L.; SENE, L. Associação de Rhizobium sp. a duas leguminosas na tolerância à atrazina. **Ceres**, v. 58, n. 4, 30 abr. 2015.

CANUTO, T. G. et al. Estimativa do Risco Potencial de Contaminação por Pesticidas de Águas Superficiais e Subterrâneas do Município de Tianguá-Ce, com Aplicação do Método de Goss e Índice de Gus. **Águas Subterrâneas**, v. 0, n. 0, 6 set. 2010.

CAPOANE, V.; TIECHER, T.; SANTOS, D. R. DOS. Uso da terra e a sua relação com qualidade da água: influência das zonas ripárias e úmidas. **Geografia Ensino & Pesquisa**, v. 20, n. 2, p. 163, 14 set. 2016.

CORRÊA, J. M. et al. Fluorescência de la clorofila *a* en plantas de piña sometidas a aplicación de herbicidas. **Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas**, v. 12, n. 1, p. 50–58, 1 jan. 2018.

DOS SANTOS, N. M. C. et al. Phytoremediation of Brazilian tree species in soils contaminated by herbicides. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 27, p. 27561–27568, 1 set. 2018

FERRAÇO, M. et al. Effect of population density of *Canavalia ensiformis* on the phytoremediation of soil contaminated with sulfentrazone. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, 2017.

GALON, L. et al. Fitorremediação de solo contaminado com herbicidas inibidores de FSII e de ALS. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 16, n. 4, p. 307–324, 10 dez. 2017.

GAZZIERO, D. L. P. Misturas de agrotóxicos em tanque nas propriedades agrícolas do Brasil. **Planta Daninha**, v. 33, n. 1, p. 83–92, mar. 2015.

GIROTTI, M. et al. Efeito do hexazinone isolado e em mistura na eficiência fotossintética de *Panicum maximum*. **Planta Daninha**, v. 30, n. 2, p. 341–347, jun. 2012.

GODINHO JÚNIOR, J. D. et al. Deriva do herbicida 2,4-d aplicado com pontas hidráulicas de jato plano tipo leque. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, v. 12, n. 4, p. 550–554, 30 dez. 2017.

GOMES, M. P. et al. Effects of Ciprofloxacin and Roundup on seed germination and root development of maize. **Science of The Total Environment**, v. 651, p. 2671–2678, 15 fev. 2019.

GUIMARÃES, A. C. D. et al. Role of soil physicochemical properties in quantifying the fate of diuron, hexazinone, and metribuzin. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 13, p. 12419–12433, 1 maio 2018.

MARTINS, C. X. et al. Análise de atrazina em amostras de água e solo por cromatografia gasosa (GC-ECD). **Bioenergia em Revista: Diálogos** (ISSN: 2236-9171), v. 4, n. 1, p. 128–138, 1 out. 2014.

MORAES, A. DE S. et al. Evidências de Detecção do Herbicida Atrazina por Espectroscopia de Força Atômica: Uma Ferramenta Promissora para Sensoriamento Ambiental. v. 24, p. 12, 2015.

PARADA, J. et al. Combined pollution of copper nanoparticles and atrazine in soil: Effects on dissipation of the pesticide and on microbiological community profiles. **Journal of Hazardous Materials**, v. 361, p. 228–236, jan. 2019.

PEREIRA, M. R. R. et al. Subdoses de glyphosate no desenvolvimento de espécies arbóreas nativas = Glyphosate reduced rates on the development of native tree species. **Bioscience Journal**, v. 31, n. 2, 12 nov. 2014.

PIRES, F. R. et al. Rhizospheric activity of potentially phytochrome-diative species for tebuthiuron-contaminated soil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, n. 4, p. 627–634, jul. 2005.

PIRES, F. R. et al. Rhizospheric activity of potentially phytochrome-diative species for tebuthiuron-contaminated soil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, n. 4, p. 627–634, jul. 2005.

PITELLI, R. A. Competição e Controle das Plantas Daninhas em Áreas Agrícolas. Série Técnica. v. 4, p. 15, 1987.

PROCÓPIO, S. D. O. et al. Toxicidade de herbicidas utilizados na cultura da cana-de-açúcar à bactéria diazotrófica *Herbaspirillum seropedicae*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 5, p. 2383, 5 nov. 2014.

PULFORD, I.; WHATSON, C. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees—a review. **Environment International**, v. 29, n. 4, p. 529–540, jul. 2003.

REIS, R. M. et al. Tolerância do girassol a herbicidas aplicados em pós-emergência. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 13, n. 1, p. 15–22, 10 abr. 2014.

ROCHA, P. R. R. et al. Meia-vida do diuron em solos com diferentes atributos físicos e químicos. **Ciência Rural**, v. 43, n. 11, p. 1961–1966, nov. 2013.

RODRIGUES, P. T. A.; ORLANDELLI, R. C. Plantas como Ferramentas para a Remediação Ambiental: uma Revisão da Literatura. **UNICIÊNCIAS**, v. 22, n. 1, p. 38, 6 set. 2018.

SANTOS, D. P. D. et al. Determinação de espécies bioindicadoras de resíduos de herbicidas auxínicos. **Ceres**, v. 60, n. 3, 6 maio 2015a.

SANTOS, E. A. DOS et al. Atrazine levels in the Jaboticabal water stream (São Paulo State, Brazil) and its toxicological effects on the pacu fish *Piaractus mesopotamicus* / Razine atrazina u vodotoku Jaboticabal (São Paulo, Brazil) i njihovi toksikološki učinci na ribu *Piaractus mesopotamicus*. **Archives of Industrial Hygiene and Toxicology**, v. 66, n. 1, p. 73–82, 1 mar. 2015b.

SAPOZHNIKOVA, Y. et al. Antifouling biocides in water and sediments from California marinas. **Marine Pollution Bulletin**, v. 69, n. 1–2, p. 189–194, abr. 2013.

SILVA, L. A. DA et al. Aspectos biológicos de *Tetranychus ludeni* Zacher, 1913 (Acari: Tetranychidae) alimentados com folhas de batata-doce pulverizadas com o 2,4-D. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 84, n. 0, 22 jan. 2018.

SINGH, B.; SINGH, K. Microbial degradation of herbicides. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 42, n. 2, p. 245–261, 3 mar. 2016.

SOUSA, G. V. et al. Sorption and Desorption of Diuron, Hexazinone and Mix (Diuron + Hexazinone) in Soils With Different Attributes. **Planta Daninha**, v. 36, n. 0, 11 out. 2018.

TAKANO, H. K. et al. Efeito da adição do 2,4-D ao glyphosate para o controle de espécies de plantas daninhas de difícil controle. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 12, n. 1, p. 1–13, 10 abr. 2013.

TAVARES, C. J. et al. Crescimento inicial de plantas de pequi após aplicação de 2,4-D. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 37, n. 89, p. 81, 31 mar. 2017.

CAPÍTULO 1- SENSIBILIDADE DE ESPÉCIES FLORESTAIS CULTIVADAS EM SOLO CONTAMINADO POR HERBICIDAS APLICADOS SEQUENCIALMENTE.

RESUMO

O grande potencial que alguns herbicidas possuem de sofrer lixiviação pode ocasionar contaminação de mananciais de água subterrânea e cursos d'água, com possível degradação de matas ciliares. Objetivou-se identificar espécies arbóreas tolerantes aos herbicidas 2,4-D, atrazine e diuron +hexazinona aplicados sequencialmente, visando utilizá-las em programas de biorremediação. Foram avaliadas cinco espécies florestais: *Inga vera* Willd (Fabaceae), *Calophyllum brasiliense* Cambess (Calophyllaceae), *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae), *Senna macranthera* (DC. ex Collad.) H. S. Irwin Barneby (Fabaceae Caesalpinioideae) e *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart (Bignoniaceae). Para isso foi utilizado o delineamento em blocos ao acaso com quatro repetições, sendo o experimento conduzido em campo. Foram realizadas três aplicações dos herbicidas 2,4-D, atrazine e a mistura hexazinone + diuron. Cada aplicação correspondeu à meia dose comercial do composto por hectare totalizando para cada agroquímico individualmente uma dose comercial e meia. Tais aplicações foram efetuadas em tempos diferentes para cada herbicida, com intervalos de 60 dias entre herbicidas, estabelecendo três etapas de aplicação. Foram avaliados a altura da planta, o diâmetro do caule o número de folhas. Por meio de técnicas histológicas foram verificadas modificações anatômicas advindas da exposição aos poluentes, além de análises fisiológicas: fluorescência da clorofila "a" e aferições em relação às trocas gasosas. *Inga vera* e *Calophyllum brasiliense* apresentaram sensibilidade a mistura 2,4-D + atrazine. *Tapirira guianense* foi tolerante à mistura 2,4-D + atrazine. *Senna macranthera* e *Cybistax antisyphilitica* foram consideradas tolerantes aos herbicidas 2,4-D, atrazine e diuron +hexazinona por manterem a integridade de funcionamento vital próxima à das testemunhas.

Palavras chave: fitotoxicidade, restauração florestal, xenobióticos, tolerância

ABSTRACT

The great potential that some herbicides have to undergo leaching can cause contamination of groundwater sources and water courses, with possible degradation of riparian forests. This work aimed to identify tree species tolerant to herbicides 2,4-D, atrazine and diuron + hexazinone applied sequentially, in order to use them in bioremediation programs. Five forest species were evaluated: *Inga vera* Willd (Fabaceae), *Calophyllum brasiliense* Cambess (Calophyllaceae), *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae), *Senna macranthera* (DC, ex Collad.) H. S. Irwin Barneby (Fabaceae Caesalpinioideae) and *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart (Bignoniaceae). A randomized block design with four replications was used, and the experiment was conducted in the field. Three applications of 2,4-D herbicides, atrazine and hexazinone + diuron were used. Each application corresponded to the commercial half dose of the compound per hectare, totalizing for each agrochemical individually a commercial dose and a half. These applications were carried out at different times for each herbicide, with intervals of 60 days between herbicides, establishing three application stages. The height of the plant, the diameter of the stem, and the number of leaves were evaluated. Through histological techniques, anatomical modifications were verified from exposure to pollutants, as well as physiological analyzes: chlorophyll a fluorescence and gaseous changes. *Inga vera*, *Calophyllum. brasiliense* presented sensitivity to the 2,4-D + atrazine mixture. *Tapirira guianense* was tolerant to the 2,4-D + atrazine blend. *Senna macranthera* and *Cybistax antisyphilitica* were considered to be tolerant to the herbicides 2,4-D, atrazine and diuron + hexazinone because they maintained the vital functioning integrity close to those of the controls.

Key words: phytotoxicity, forest restoration, xenobiotics

INTRODUÇÃO

Múltiplos herbicidas com diferentes formulações e distintos mecanismos de ação têm seu registro para uso no Brasil no controle de plantas daninhas. Estes, em mistura podem proporcionar aumento da eficácia no controle das invasoras e são utilizados com a finalidade de prolongar o espectro de controle das plantas daninhas, assim como reduzir as doses de herbicida a serem aplicadas, diminuindo os custos da produção (GIROTTI et al., 2012).

DMA[®] (2,4-D), Primóleo[®] (Atrazine) e Velpar-K[®] (diuron + hexazinona) são herbicidas comumente usados no controle de invasoras em pastagens e/ou culturas, como milho e cana de açúcar (PARADA et al., 2019; SANTOS et al., 2015; SILVA et al., 2018; SOUSA et al., 2018). Individualmente, todos possuem composição química e modo de ação para o controle de daninhas já descritos e bem conhecidos (PROCÓPIO et al., 2014; SOUSA et al., 2018; TAKANO et al., 2013), quer seja no desenvolvimento das espécies invasoras ou em alterações estruturais de culturas e vegetação adjacente afetadas (CABRAL et al., 2017a; POLINI; MENDOÇA; TEODORO, 2018).

A aplicação de herbicidas e posterior ensaio sobre fitorremediação tem sido realizada (AGUIAR et al., 2018; CABRAL et al., 2017b, 2017b; DOS SANTOS et al., 2018). Contudo, a avaliação da tolerância de espécies arbóreas em mais de um herbicida aplicados em sequência, não é conhecido. As misturas potencializam e modificam efeitos tóxicos da molécula pura (RUIZ DE ARCAUTE; SOLONESKI; LARRAMENDY, 2014), logo, podem causar alterações complexas, que divergem dos efeitos conhecidos quando aplicados individualmente (VARONA-URIBE et al., 2016).

O deslocamento de resíduos desses herbicidas das áreas agrícolas para regiões não alvo, seja por escoamento superficial ou por lixiviação (INOUE et al., 2015), tem por consequência a presença de moléculas tóxicas no banco de sementes, plântulas e indivíduos adultos de espécies florestais, a jusante de áreas de aplicação. Neste sentido, o efeito cumulativo pode, ao longo do tempo, amortecer a biodiversidade pela ação dos resíduos sobre desenvolvimento inicial das espécies vegetais (MACHADO et al., 2013). A contaminação do solo por herbicidas não é contestada, notadamente para produtos com maior persistência. No entanto, a diminuição de resíduos pode ser conseguida, conhecendo-se o comportamento das moléculas no ambiente, bem como as rotas de degradação e/ou remediação.

O uso de espécies vegetais para fitorremediação de solos contaminados com herbicidas tornou-se uma alternativa viável e que vem ganhando destaque para mitigação dos efeitos da persistência de agrotóxicos no ambiente (DOS SANTOS et al., 2018; PIAIA et al., 2017; RAMBORGER et al., 2017; TREVISAN et al., 2016). No entanto, para tal é necessário verificar a sensibilidade/tolerância da espécie a ser empregada na recuperação de áreas com resíduos de tais moléculas (RODRIGUES; ORLANDELLI, 2018).

A resistência a determinado agente nocivo é definida como a aptidão herdada de uma planta em crescer e se desenvolver mesmo depois da exposição a uma dose de herbicida normalmente letal (ADEGAS et al., 2017). Cabral et al. (2017), trabalhando para verificar a tolerância/sensibilidade de espécies florestais a herbicidas, constataram a tolerância das espécies *Inga marginata*, *Caesalpinia ferrea*, *Schinopsis brasiliensis* ao herbicida clomazone. Em outro estudo, o potencial de fitorremediação de espécies florestais foi pesquisado para solos contaminados contendo ametryn e hexazinone, e foi constatado o potencial fitorremediador de *Calophyllum brasiliense* para solos contaminados por estes compostos (DOS SANTOS et al., 2018). Tais trabalhos já indicam espécies arbóreas como tolerantes ou mesmo fitorremediadoras de resíduos de herbicidas, no entanto, os estudos são conduzidos em condições controladas (DOS SANTOS et al., 2018; FERRAÇO et al., 2017a; SANTOS; NOVAK, 2013; PULFORD; WHATSON, C., 2003;) e avaliando um único produto no substrato, assim subestimando as condições reais das áreas de intensa agricultura, com aplicação de vários herbicidas ao longo das safras agrícolas, a campo.

Diante do exposto objetivou-se avaliar a tolerância de cinco espécies florestais aos herbicidas 2,4-D, atrazine, hexazinona e diuron aplicados em sequência, por meio de parâmetros fisiológicos e estruturais, com vistas à fitorremediação visando utilizá-las em programas de recuperação de áreas contaminadas por tais herbicidas.

MATERIAL E MÉTODOS

Um experimento a campo foi realizado em área pertencente ao Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Campus JK, em Diamantina-MG, localizado nas coordenadas geográficas: 18°12'16,8" S, 43°34'07,4" W e altitude de 1.384 m. No local foram construídas unidades de contenção (Figura 1) consistindo as parcelas experimentais, onde se desenvolveu cada planta. O substrato utilizado foi composto por amostra de um Latossolo Vermelho, coletado na camada de 0-20 cm, em área não cultivada e, portanto, sem histórico de aplicação de herbicida, cuja caracterização encontra-se na tabela 1.

Figura 1-Desenho esquemático das partes constituintes da unidade amostral utilizada no experimento evidenciando: a) Solução contendo fração da dose do herbicida conforme tratamento; b) tubo para injeção da solução simulando lençol freático contaminado com herbicida; c) Válvula de contenção fechada somente ao final do período de avaliação para coleta do lixiviado; d) zona saturada (brita e areia) simulando lençol freático; e) porção de solo evidenciando zona de aeração para o desenvolvimento do sistema de raízes.

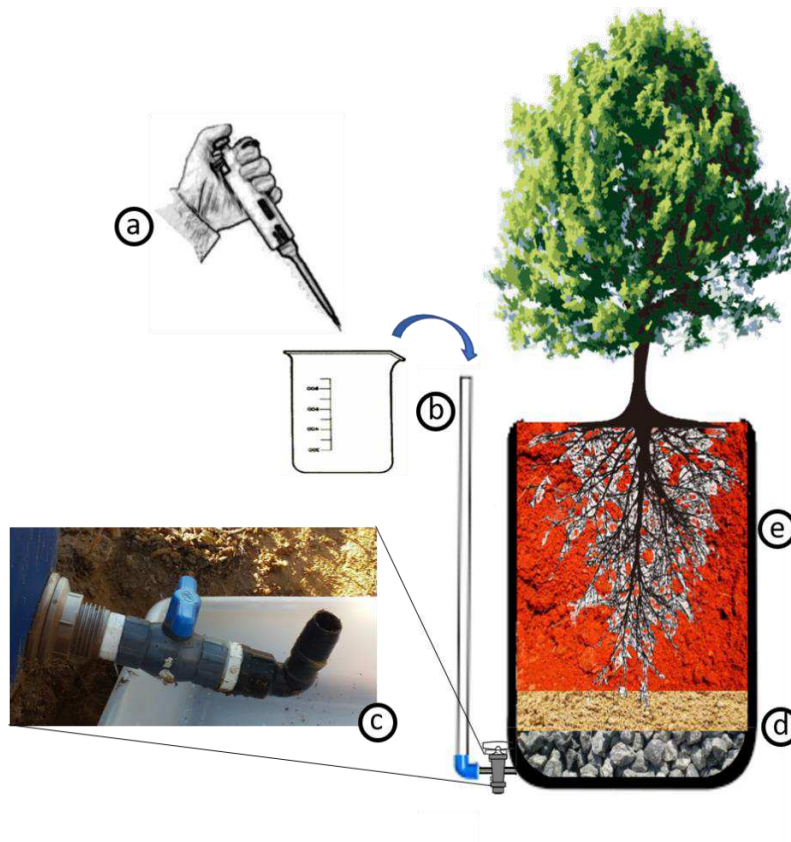


Tabela 1-Composição físico-química de um latossolo- vermelho na camada de 0-20 cm utilizado no experimento

| Análise Granulométrica (dag kg ⁻¹) | | | | | | | | | | | | |
|--|--------------------|------|-----------------------|------|-----|------|--------|------|------|----|--------|------|
| Areia | | | Silte | | | | Argila | | | | | |
| 42 | | | 22 | | | | 36 | | | | | |
| Análise Química | | | | | | | | | | | | |
| pH | P | k | Ca | Mg | Al | H+Al | SB | t | T | m | V | M.O. |
| H ₂ O | mg/dm ² | | cmolc/dm ³ | | | | | | % | | dag/kg | |
| 6.0 | 0.2 | 8,46 | 0,24 | 0,16 | 0,1 | 5,8 | 0,42 | 0,25 | 6,22 | 19 | 7 | 1,2 |

Análises realizadas no Laboratório de Fertilidade do Solo do Departamento de Agronomia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri- UFVJM.

As espécies selecionadas foram: *Inga vera* Willd (Fabaceae), *Calophyllum brasiliense* Cambess (Calophyllaceae), *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae), *Senna macranthera* (DC. exCollad.) H. S. Irwin Barneby (Fabaceae) e *Cybistax antisiphilitica* (Mart.) Mart (Bignoniaceae). As mudas utilizadas foram procedentes de sementes coletadas em matrizes selecionadas na região de Conceição do Mato Dentro -MG. Posteriormente ao beneficiamento das sementes, estas foram colocadas para germinar em tubetes preenchidos com 55 cm³ de substrato composto por mistura de três partes, sendo um terço de solo esterilizado, um terço de casca de arroz carbonizada e um terço de areia. Foram acondicionadas em viveiro sob condições de irrigação por microaspersão. Aos oito meses de idade as mudas que continham três pares de folhas e aproximadamente sete cm de altura foram selecionadas e retiradas dos tubetes, com posterior destorramento do substrato, lavagem das raízes em água deionizada e transplântio de uma muda para vaso de polietileno contendo 5 kg de substrato. Estas foram acondicionadas em estufa para recuperação.

Após período de oito meses, quando as mudas já estavam com em média 30 cm de altura e oito folhas para *I. vera*; 70 cm e 20 folhas para *C. brasiliense*, 45 cm e 12 folhas para *T. guianensis*, 45 cm e oito folhas para *S. macranthera* e 23 cm e 16 folhas para *C. antisiphilitica* (todos os valores são médias dos dados aferidos no dia do plantio), foram transferidas para as unidades de contenção no campo. As plantas permaneceram recebendo os cuidados silviculturais para pegamento e vigor por 12 meses até a primeira aplicação de herbicidas, quando estavam com 28 meses.

Em campo foram demarcados quatro blocos, com aproximadamente 9 x 6 m (54 m²) cada, onde foram dispostas as unidades de contenção (Figura 1). A unidade de contenção possuía diâmetro médio de 60 cm, com 110 cm de profundidade, resultando em capacidade volumétrica de 283 L. Na base da unidade foi instalado flange e registro para fornecimento da solução de irrigação bem como os herbicidas (Figura 1c). A necessidade hídrica e, posteriormente, a adição dos herbicidas às plantas, foi atendida por esse acesso (Figura 1a e b). A umidade do solo foi padronizada entre 60 e 70% da capacidade de campo (GOULART et al., 2017), aferida a partir de um medidor de umidade portátil HidroFarm HFM2010/HFM2030. A unidade foi construída com uma camada de 5 cm de brita (diâmetro médio de 2 cm); logo acima uma camada de 5 cm de areia e uma malha de escoamento (filtro, malha 2 mm), permitindo o fluxo hídrico em ambos sentidos (Figura 1d). Posteriormente foi adicionada a amostra de solo até limite do recipiente (aproximadamente 250 dm³), onde foi cultivada uma única planta de cada espécie (Figura 1e).

Os tratamentos foram constituídos por um fatorial 5 x 2, representados pelas cinco espécies florestais e a presença ou ausência do mix de herbicidas em solução. A distância entre cada unidade amostral dentro do bloco foi de 3 m e de 20 m entre blocos, para evitar a interferência de uma planta sobre as demais.

Aos 360 dias após plantio (DAP) no campo iniciou-se a aplicação dos herbicidas, simulando a contaminação pelo lençol freático (Figura 1a e b). Entre os 361 e 375 DAP, foi aplicado o 2,4-D (mix 01); entre 422 e 436 DAP foi adicionado o atrazine (mix 02) e, entre 482 e 496 DAP, adicionou-se a mistura hexazinone + diuron (mix 3). Em cada período, o respectivo herbicida teve sua dose total estimada e fracionada em três aplicações, uma vez que no processo de lixiviação e mesmo em carrioover os herbicidas não chegam em sua totalidade às áreas não alvo. Neste sentido procuramos simular a chegada do poluente via lençol freático e em quantidades aquém das recomendadas comercialmente. As informações sobre os produtos comerciais e as doses utilizadas estão listadas na tabela 2. Assim, as avaliações realizadas consideraram os efeitos conjuntos dos produtos nas plantas.

Tabela 2– Relação dos herbicidas, épocas de aplicação e dose aplicada para estimar a capacidade remediadora, por espécies florestais, de resíduos de herbicidas em águas subterrâneas, simulando contaminação pelo lençol freático.

| Herbicida | Produto comercial (P.C.) | Dose total estimada: 150% da recomendação* | Dose total do P.C. na Unidade Experimental (U.E.) | Quantidade total do princípio ativo na U.E. | Épocas das aplicações das doses fracionadas (1/3 a cada sete dias) (DAP**) |
|---------------------------|--------------------------|--|---|---|--|
| 2,4-D | DMA 806BR [®] | 6 l/ ha | 0,192 ml | 0,154g | 1 ^a aplic 361DAP 2 ^a aplic 368 DAP 3 ^a aplic 375 DAP |
| Atrazine | Primóleo [®] | 9 l/ ha | 0,288 ml | 0,115g | 1 ^a aplic 422 DAP 2 ^a aplic 429DAP 3 ^a aplic 436 DAP |
| Hexazinone +Diuron | Velpar-K [®] | 4,5 kg/ ha | 0,144 g | 0,02g +0,067g | 1 ^a aplic 482 DAP 2 ^a aplic 489 DAP 3 ^a aplic 496 DAP |

*/MAPA/Agrofit (2019): Disponível em <http://www.agricultura.gov.br/mapadosite>

**/DAP: dias após plantio.

Para preparo da solução estoque dos herbicidas, os produtos comerciais foram pesados em balança de precisão (0,0001 g) e diluídos em pré-solução diretamente em Becker de vidro de 1 L, acondicionados em frasco âmbar (01 L) e ministrados com micropipeta (precisão de 10 µL) (Figura 01-a). Nas épocas pré-determinadas, os herbicidas foram aplicados, sendo a solução vertida no tubo simulando a chegada dos resíduos do herbicida pelo lençol freático contaminado (Figura 1-b). Considerou-se mix 01, solução contendo o 2,4-D, fracionada nas três épocas; mix 02, o mix 01 somado às frações do atrazine, aplicadas 60 dias depois e mix 3, o mix 02 somado às frações da mistura diuron + hexazinone, aplicadas 60 dias após. Contabilizou-se o volume de água aplicado durante o período, sempre fornecida pelo tubo ao fundo da unidade de contenção (Figura 1-b).

Aos 421, 481 e 541 dias após plantio (DAP) foram avaliados o diâmetro do caule (DC), medido com o auxílio de um paquímetro a dois centímetros do nível do solo e altura da planta

(AP), medida com o auxílio de uma fita métrica, desde o colo da planta até a inserção da última folha. Estas coletas coincidiram com 59º dia após a primeira aplicação de cada herbicida (Tabela 2).

Aos 7, 14 e 21 dias após a aplicação de cada herbicida (Tabela 2), amostras das folhas foram coletadas e fixadas em FAA para anatomia foliar. Foram selecionadas folhas totalmente expandidas (3º nó a contar do ápice caulinar), por apresentarem alta atividade metabólica e estrutura anatômica definida (FAHL, 1989). A coleta de folhas foi definida com o intuito de anteceder o aparecimento dos primeiros sintomas. Este material foi fixado em FAA 70 (5% de formaldeído a 40%; 5% de ácido acético glacial e 90% de álcool etílico a 70%) e posteriormente transferidas para etanol 70 GL (Gay Lussac). Foram retiradas 2 folhas de cada repetição, das quais foram extraídos fragmentos de 0.5 cm² da região mediana da folha aparentemente sadia, desidratados em série alcoólica-etílica e incluídos em glicol metacrilato (Historesin, Leica Instruments, Heidelberg, Alemanha); cada bloco de resina confeccionado continha dois fragmentos de folhas distintas. As secções anatômicas foram obtidas em micrótomo rotativo de avanço manual (modelo 620 serial 71811). De cada amostra foram confeccionadas duas lâminas histológicas contendo 21 cortes (com 2 amostras) em cada lâmina, totalizando 82 amostras por repetição. Estas foram coradas em azul de Toluidina/pH=4,0 (O'BRIEN & MCCULLY, 1981) e montadas em Permount. Sete cortes de cada lâmina foram fotomicrografados e analisados com o auxílio de software de processamento de imagem e medição avançada IMAGE PRO-PLUS versão 4.1 para Windows[®]. Foi mensurada a espessura das variáveis a saber: lâmina foliar, parênquima paliçádico e parênquima lacunoso, epiderme adaxial e abaxial.

Foi avaliado o metabolismo primário das espécies arbóreas submetidas ao mix de herbicidas no 28º dia após a aplicação de cada herbicida. As medições da fluorescência da clorofila foram realizadas após 30 minutos de adaptação ao escuro, sendo as avaliações realizadas no período noturno, com emissão de pulsos de luz saturante de 0,3 s, sob frequência de 0,6 KHz, permitindo a determinação da fluorescência inicial da clorofila a (F_0 – elétrons quantum⁻¹), fluorescência máxima (F_m – elétrons quantum⁻¹), a razão entre a fluorescência variável e fluorescência máxima da clorofila a (F_v/F_m) e a taxa de transporte de elétrons (ETR – $\mu\text{mols elétrons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). As mensurações foram realizadas com o auxílio do aparelho JUNIOR-PAM, colocado na região mediana da folha, no lado adaxial do limbo foliar, evitando a nervura central da planta (FERREIRA et al., 2015a)

Para avaliação das trocas gasosas das plantas foi utilizado um analisador de gases no infravermelho (IRGA), marca ADC, modelo LCA 4 (Analytical Development Co. Ltd, Hoddesdon, UK), permitindo livre circulação do ar. As avaliações foram realizadas entre 8 e 10 horas da manhã, de forma que fossem mantidas as condições ambientais homogêneas. As variáveis avaliadas foram: a taxa fotossintética (FOT - $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), a temperatura foliar (TF -C), a condutância estomática de vapores de água (G_s - $\text{mol m}^{-1}\text{s}^{-1}$), a pressão de vapor na câmara subestomática e a taxa de transpiração (TR - $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$), sendo calculada ainda a eficiência do uso da água (EUA - $\text{mol CO}_2 \text{ mol H}_2\text{O}^{-1}$) pela relação entre quantidade de CO_2 fixado pela fotossíntese e quantidade de água transpirada, além da relação carbono interno (Ci).

Os dados obtidos para os parâmetros de crescimento e análises estruturais foram transformados em porcentagem relativa à testemunha, uma vez que apresentaram dados com considerável amplitude de valores médios por se tratar de espécies diferentes. Para as análises de metabolismo primário e trocas gasosas foram mantidos valores aferidos e sem transformação. Posteriormente, foram submetidos à análise de variância e as médias, quando significativas, foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para os tratamentos e entre espécies foram agrupadas segundo o critério Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de crescimento das cinco espécies submetidas ao mix de herbicidas revelou diferenças significativas ($p < 0,05$) nas variáveis: altura de plantas (AP), diâmetro do caule (DC) e número de folhas (NF) das espécies tratadas (Tabela 3) conforme a adição dos herbicidas.

Na primeira etapa, após aplicação do mix 01 (frações do 2,4-D), de forma geral, houve incremento nas medidas das variáveis AP e DC, sendo o NF afetado negativamente (Tabela 3). Após aplicação do mix 2 (mix 1 + frações do atrazine), observou-se efeito negativo sobre NF. Os efeitos negativos se intensificaram após a ação do mix 03 (mix 02 + frações da mistura hexazinone+ diuron).

Em relação à altura, *Senna macranthera* se destacou por apresentar crescimento cerca de 32% maior em relação à testemunha (Tabela 3) ao final da ação do mix 01. No entanto, *Calophyllum brasiliense* foi afetada negativamente, com crescimento em média 31% aquém dos valores mensurados. O mesmo comportamento foi mantido pelas plantas pós aplicação do

mix 02, sendo que *S. macranthera* apresentou incremento 50%, enquanto as demais espécies mantiveram média de crescimento semelhante à testemunha. A exceção foi *C. brasiliense* que teve o crescimento em altura atenuado pelo efeito em sequência do 2,4-D e atrazine (Tabela 3).

Após a adição de hexazinona + diuron verificou-se redução nos valores referentes à altura, com destaque para *Tapirira guianensis* que apresentou valores de decréscimo 26,18% quando comparada à testemunha. Contudo verificou-se que *C. brasiliense* nesta etapa apresentou incremento de 190% em relação à testemunha.

Tabela 3-Altura de Planta (Alt %), diâmetro do Caule (DC %), número de folhas (NF %), de plantas submetidas a aplicação em sequência dos herbicidas 2,4-D (Mix1), 2,4-D+Atrazine (Mix2) e 2,4-D+ Atrazine + hexazinona +diuron (Mix3) comparadas à sua respectiva testemunha (100%). Os números apresentados retratam a porcentagem em relação a testemunha.

| Espécies | Alt%2,4D | | Alt%Atr | | Alt% Vel | |
|---------------------------------|-----------------|-----|----------------|-----|-----------------|------|
| <i>Inga vera</i> | 104,66 | A a | 110,77 | A a | 113,21 | A a |
| <i>Calophyllum brasiliense</i> | 68,71 | B a | 72,13 | B a | 298,14 | A a |
| <i>Tapirira guianense</i> | 106,87 | A a | 121,79 | A a | 73,82 | A a |
| <i>Senna macranthera</i> | 132,61 | A a | 150,00 | A a | 139,19 | A a |
| <i>Cybistax antisyphilitica</i> | 119,27 | A a | 122,49 | A a | 163,03 | A a |
| <i>CV</i> | 95,39 | | | | | |
| Espécies | DC%2,4D | | DC%Atr | | DC% Vel | |
| <i>Inga vera</i> | 107,81 | A a | 30,62 | B c | 97,75 | A b |
| <i>Calophyllum brasiliense</i> | 103,33 | A a | 95,83 | A b | 90,80 | A b |
| <i>Tapirira guianense</i> | 101,77 | A a | 104,80 | A b | 102,16 | A b |
| <i>Senna macranthera</i> | 127,81 | B a | 207,68 | A a | 160,79 | AB a |
| <i>Cybistax antisyphilitica</i> | 109,66 | A a | 101,66 | A b | 108,47 | A b |
| <i>CV</i> | 29,00 | | | | | |
| Esp | NF%2,4D | | NF%Atr | | NF% Vel | |
| <i>Inga vera</i> | 69,92 | B a | 123,38 | A b | 7,36 | C c |
| <i>Calophyllum brasiliense</i> | 61,63 | A a | 59,15 | A c | 21,38 | A b |
| <i>Tapirira guianense</i> | 9,65 | C b | 135,77 | A b | 51,13 | B b |
| <i>Senna macranthera</i> | 5,03 | C b | 293,02 | A a | 107,58 | B b |
| <i>Cybistax antisyphilitica</i> | 60,71 | B a | 100,00 | B b | 254,00 | A a |
| <i>CV</i> | 91,98 | | | | | |

* Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si segundo teste de Tukey a 5% de probabilidade do erro. Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si segundo critério de agrupamento Scott knott a 5% de probabilidade.

Em relação à altura, *Senna macranthera* se destacou por apresentar crescimento cerca de 32% maior em relação à testemunha (Tabela 3) ao final da ação do mix 01. No entanto, *Calophyllum brasiliense*, foi afetada negativamente, com crescimento em média 31% aquém

dos valores mensurados. O mesmo comportamento foi mantido pelas plantas pós aplicação do mix 02, sendo que *S. macranthera* apresentou incremento 50%, enquanto as demais espécies mantiveram média de crescimento semelhante à testemunha. A exceção foi *C. brasiliense* que teve o crescimento em altura atenuado pelo efeito em sequência do 2,4-D e atrazine (Tabela 3). Após a adição de hexazinona + diuron verificou-se redução nos valores referentes à altura, com destaque para *Tapirira guianensis* que apresentou valores de decréscimo 26,18% quando comparada à testemunha. Contudo verificou-se que *C. brasiliense* nesta etapa apresentou incremento de 190% em relação à testemunha.

O diâmetro do caule (DC) para *Inga vera* não foi afetado em plantas tratadas com 2,4-D (Tabela 3). Após a adição de atrazine houve decréscimo pra essa variável, chegando a 69,4%, demonstrando que esse inibidor do fotossistema II interferiu na dinâmica de crescimento do *I. vera*. Como o crescimento em altura não foi acompanhado do crescimento em diâmetro, é possível o comprometimento da sustentação da parte aérea a médio prazo (SETTE JR et al., 2010). *C. brasiliense*, em contrapartida, apresentou incremento do diâmetro, no entanto, não acompanhado do aumento em altura (Tabela 3). Esse fato pode afetar a capacidade de competição por luz em campo (FRANCO; DILLENBURG, 2007), mas foi revertido após a adição da mistura hexazinona + diuron, havendo nesta 3ª etapa um incremento exacerbado em AP (198%) acompanhado de tendência a decréscimo em DC. Enquanto *T. guianensis* e *C. antisiphylitica* mantiveram incremento próximo ao da testemunha, destacando-se *S. macranthera* com 100% de incremento para essa variável. Um maior DC sugere maior disponibilidade de fotoassimilados mobilizados pela parte aérea (SCALON et. al., 2001), denotando potencial da muda quanto à sobrevivência, crescimento e maior adaptabilidade, pela capacidade de formação e crescimento de novas raízes (SCALON et. al., 2002)

O número de folhas (NF) das espécies foi significativamente afetado pela aplicação em sequência dos herbicidas, sendo a espécie *C. brasiliense* a mais afetada negativamente com redução 52,6% no NF. A injúria foi progressiva e exponencial ao longo das etapas do experimento (Tabela 3). *I. vera*, *T. guianensis* e *S. macranthera* apresentaram comportamento similar durante as etapas de exposição aos herbicidas. Observou-se queda de folhas acentuada na 1ª etapa (mix1), posteriormente verificou-se acréscimo de, em média, 84% (Tabela 3) sob os efeitos do mix 2. Esse quadro foi revertido negativamente para as espécies *I. vera* e *T. guianensis* após aplicação de hexazinone + diuron, com decréscimo no número de folhas de 71%. *S. macranthera*, no entanto, apesar do decréscimo em relação à etapa anterior manteve o número de folhas próximo a média da testemunha (Tabela 3). O aumento exacerbado de folhas

denota uma medida drástica em resposta ao estresse provocado pelos herbicidas. Percebe-se que a presença dos poluentes não inibiu a emissão de novas folhas (Tabela 3). *C. antisiphilitica* apresentou sensibilidade em relação a esta variável sob efeito do 2,4-D, com redução de 39,5% no NF, contudo houve recuperação da espécie com aumento progressivo do NF nas etapas seguintes do experimento chegando a triplicar o NF em avaliação referente à 3ª etapa (mix 3). O aumento no número de folhas pode ser devido a alterações no metabolismo da planta (CABRAL et al., 2017b).

A análise anatômica da secção transversal do limbo das espécies florestais revelou predominância de lâmina foliar dorsiventral (Figura 2 e 3), com exceção de *T. guianensis* que apresentou organização do tipo isobilateral, contrariando a descrição feita por Boeger; Alves; Negrelle, (1998). Em geral são constituídas por epiderme unisseriada, uma a três camadas de células no parênquima paliçádico que variam de ligeiramente alongadas a muito longas e quatro a nove camadas de parênquima lacunoso, com variação da amplitude dos espaços intercelulares, sendo que, a maioria das espécies apresenta amplos espaços intercelulares (Figura 2 e 3 - A, E, I, M, P) . Hipoderme unisseriada voltada para a face adaxial foi observada em *C. brasiliense* (Figura 2 E).

Plantas tratadas com o herbicida 2,4-D apresentaram redução na proporção dos tecidos do mesofilo para a maioria das espécies testadas (Figura 2 e Tabela 4). Dentre as variáveis analisadas a espessura da epiderme abaxial (EAB) apresentou o maior percentual de redução, com média variando 7-45% para 1ª e 2ª aplicações respectivamente (Tabela 4), seguida de parênquima paliçádico (PP), epiderme adaxial (EAD) e conseqüentemente lâmina foliar (LF) (Tabela 4).

A EAD apresentou redução pela aplicação de 2,4-D em amostras provenientes de todas as aplicações para a maioria das espécies avaliadas, com exceção de *T. guianensis* e *C. antisiphilitica* que mantiveram valores próximos ao da testemunha, não apresentando significância estatística entre as aplicações de herbicidas (Figura 2 e Tabela 4). *S. macrantera* teve a EAD afetada na 2ª dose do poluente, contudo apresentou tendência à recuperação da injúria uma vez que entre as aplicações houve incremento na espessura de EAD. Pós adição do herbicida atrazine para composição do mix 2 as medições revelaram que a redução desta variável foi mais severa, com reduções da espessura de EAD de até 54% em *I. vera*, seguida *C. brasiliense*, *S. macrantera*, *C. antisiphilitica* que apresentaram o mesmo comportamento frente a contaminação do solo (Figura 3 Tabela 4). A exceção foi observada para *T. guianensis*, esta

demonstrou certa tolerância à mistura de moléculas, no entanto, após a 3ª aplicação teve a EAD diminuída. Foram verificadas modificações anatômicas na epiderme adaxial de *S. macranthera*: a epiderme apresenta divisões celulares frequentes, evidenciadas por um conjunto de células menores, resultando em uma epiderme mais volumosa, porém de aspecto desorganizado quando comparado as plantas testemunha (Figura 2 N). Por ser um produto hormonal, e estimular a proliferação celular por aumento da produção e atividade de auxinas (AMÉRICO et al., 2016), acredita-se que sub-doses do produto tenham interferido na formação da epiderme.

Figura 2-Secção transversal de folhas de espécies florestais: *Inga vera* A-D, *Calophyllum brasiliense* E-H, *Tapirira guianensis* I-L, *Senna macranthera* M-P, *Cybistax antisyphilitica* Q-T. Hipoderme (HIP), Epiderme com células anômalas (EpM), Campo de pontoação primária (CPP). Observa-se na coluna, respectivamente da esquerda para a direita: secção transversal de folhas de espécies florestais sem aplicação de herbicida, secção transversal de folha correspondente à primeira, segunda e terceira aplicação de 2,4-D.

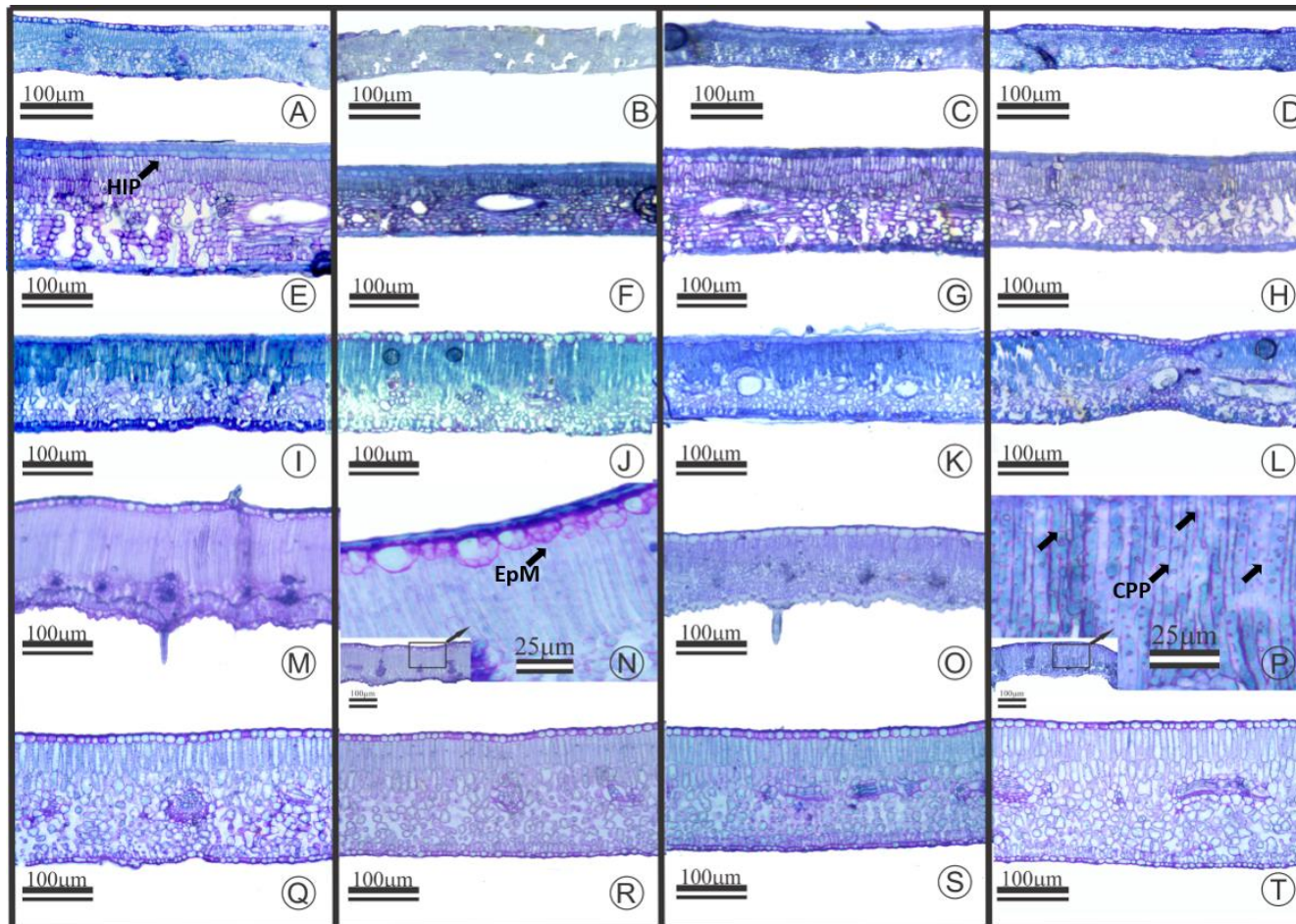


Figura 3-Secção transversal de folhas de espécies florestais: *Inga vera* A-D, *Calophyllum brasiliense* E-H, *Tapirira guianensis* I-L, *Senna macranthera* M-P, *Cybistax antisyphilitica* Q-T. Observa-se na coluna respectivamente da esquerda para a direita: secção transversal de folhas de espécies florestais sem aplicação de herbicida, secção transversal de folhas submetidas a primeira, segunda e terceira doses do herbicida atrazine para composição do Mix 2 (2,4-D+atrazine).

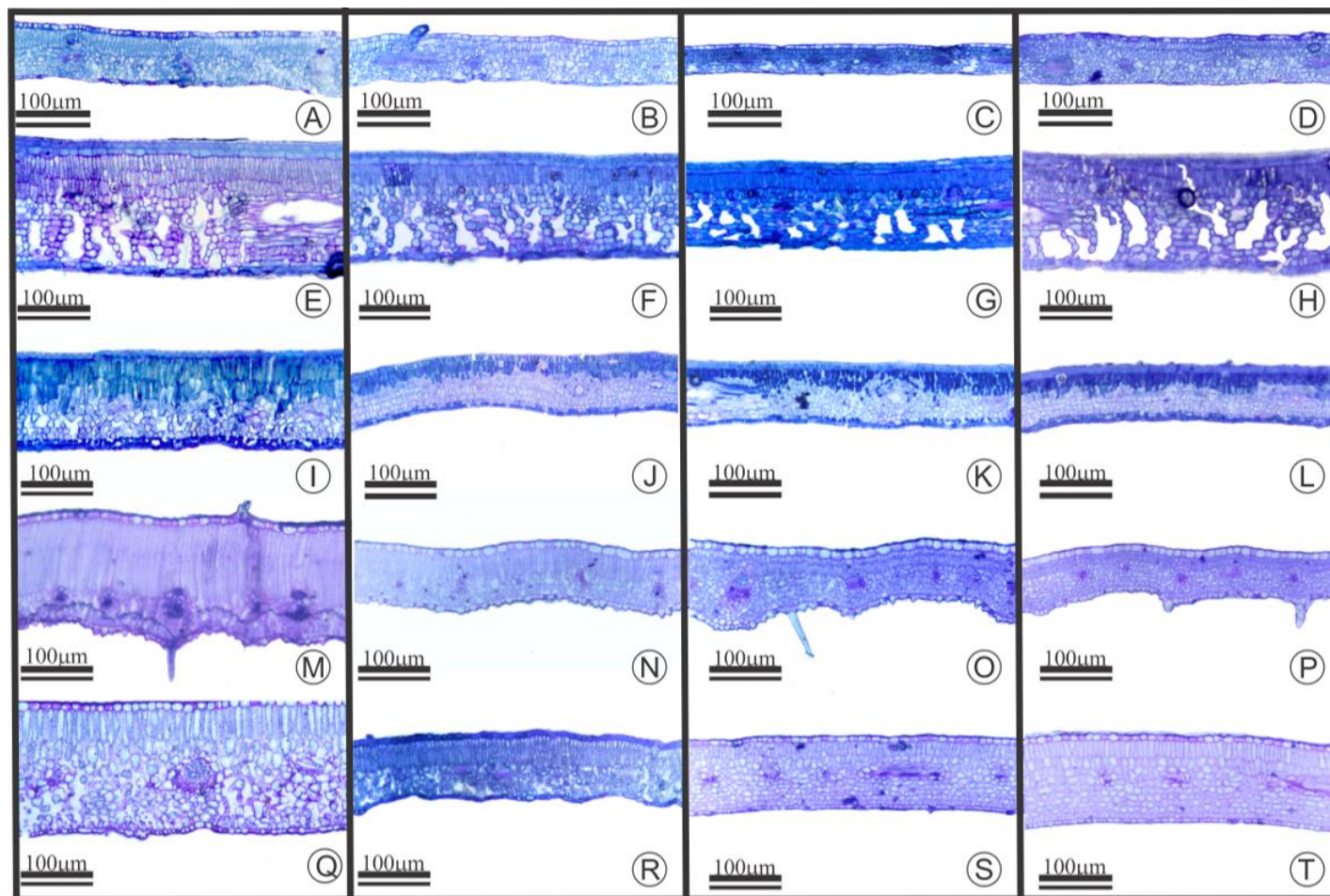


Tabela 4-Espessura da epiderme adaxial (EAD%), do parênquima paliçádico(PP%), do parênquima lacunoso (PL%), da epiderme abaxial (EAB%) e da lâmina foliar (LF%) de folhas de *Inga vera*, *Calophyllum brasiliense*, *Tapirira guianensis*, *Senna macranthera*, *Cybistax antisyphilitica* tratadas com herbicida 2,4-D e comparadas à sua respectiva testemunha (100%) Os números apresentados retratam a porcentagem em relação a testemunha.

| Espécie | EAD% | | | PP% | | | PL% | | |
|---------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | 1ªapli | 2ª aplic | 3ª aplic | 1ªapli | 2ª aplic | 3ª aplic | 1ªapli | 2ª aplic | 3ª aplic |
| <i>Inga vera</i> | 63,61 A b | 67,02 A a | 63,59 A a | 66,39 A a | 73,37 A a | 71,17 A a | 59,55 A b | 70,79 A b | 70,34 A b |
| <i>Calophyllum brasiliense</i> | 63,01 A b | 93,91 A a | 90,81 A a | 64,89 A a | 116,60 A a | 86,26 A a | 67,21 A b | 82,92 A b | 71,25 A b |
| <i>Tapirira guianense</i> | 110,81 A a | 100,52 A a | 103,19 A a | 118,13 A a | 95,87 A a | 89,69 A a | 85,48 A a | 73,58 A b | 93,18 A a |
| <i>Senna macranthera</i> | 80,02 A b | 66,45 A a | 74,85 A a | 73,06 A a | 80,49 A a | 73,17 A a | 101,93 A a | 114,70 A a | 117,77 A a |
| <i>Cybistax antisyphilitica</i> | 92,65 A b | 82,35 A a | 81,79 A a | 91,25 A a | 128,83 A a | 113,06 A a | 109,16 A a | 114,78 A a | 110,97 A a |
| CV | 28,05 | | | 36,24 | | | 26,43 | | |
| Espécie | EAB% | | | LF% | | | | | |
| | 1ªapli | 2ª aplic | 3ª aplic | 1ªapli | 2ª aplic | 3ª aplic | | | |
| <i>Inga vera</i> | 68,14 A b | 71,39 A a | 72,02 A a | 63,01 A b | 71,42 A a | 70,08 A a | | | |
| <i>Calophyllum brasiliense</i> | 54,75 B b | 75,18 AB a | 101,35 A a | 65,38 A b | 91,57 A a | 79,35 A a | | | |
| <i>Tapirira guianense</i> | 99,01 A a | 91,80 A a | 74,19 A a | 101,32 A a | 84,93 A a | 89,96 A a | | | |
| <i>Senna macranthera</i> | 95,53 A a | 91,35 A a | 87,31 A a | 82,50 A b | 88,97 A a | 86,31 A a | | | |
| <i>Cybistax antisyphilitica</i> | 91,64 A a | 92,37 A a | 90,18 A a | 102,65 A a | 114,96 A a | 108,55 A a | | | |
| CV | 23,02 | | | 26,05 | | | | | |

* Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si segundo critério de Tukey a 5% de probabilidade do erro. Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si segundo critério de agrupamento de Scott knott a 5% de probabilidade.

Tabela 5-Espessura da epiderme adaxial (EAD%), do parênquima paliçádico(PP%), parênquima lacunoso (PL%) epiderme abaxial (EAB%) e lamina foliar (LF%) de folhas de espécies arbóreas tratadas com herbicida 2,4-D+atrazine e comparadas à sua respectiva testemunha (100%) Os números apresentados retratam a porcentagem em relação a testemunha.

| Espécie | EAD% | | | | | | PP% | | | | | | PL% | | | | | |
|---------------------------------|--------|-----|----------|-----|----------|-----|--------|-----|----------|-----|----------|-----|--------|-----|----------|-----|----------|-----|
| | 1ªapli | | 2ª aplic | | 3ª aplic | | 1ªapli | | 2ª aplic | | 3ª aplic | | 1ªapli | | 2ª aplic | | 3ª aplic | |
| <i>Inga vera</i> | 59,12 | A b | 46,49 | A b | 58,89 | A a | 78,18 | A a | 51,97 | A a | 79,59 | A a | 71,96 | A a | 51,15 | A b | 75,67 | A a |
| <i>Calophyllum brasiliense</i> | 69,17 | A b | 63,37 | A b | 84,32 | A a | 73,02 | A a | 50,34 | A a | 77,31 | A a | 70,55 | A a | 68,26 | A b | 89,61 | A a |
| <i>Tapirira guianense</i> | 93,29 | A a | 103,65 | A a | 78,34 | A a | 38,57 | A b | 36,88 | A a | 34,84 | A b | 47,25 | A a | 60,07 | A b | 57,52 | A a |
| <i>Senna macranthera</i> | 62,84 | B b | 93,29 | A a | 59,87 | B a | 27,75 | A b | 33,61 | A a | 21,51 | A b | 71,90 | A a | 97,01 | A a | 65,60 | A a |
| <i>Cyristax antisiphilitica</i> | 64,06 | A b | 63,01 | A b | 71,64 | A a | 54,07 | A b | 39,42 | A a | 51,44 | A b | 59,86 | A a | 60,31 | A b | 66,06 | A a |
| CV | 24,48 | | | | | | 39,21 | | | | | | 31,93 | | | | | |
| Espécie | EAB% | | | | | | LF% | | | | | | | | | | | |
| | 1ªapli | | 2ª aplic | | 3ª aplic | | 1ªapli | | 2ª aplic | | 3ª aplic | | | | | | | |
| <i>Inga vera</i> | 70,75 | A a | 66,24 | A a | 63,10 | A a | 72,96 | A a | 51,93 | A a | 74,67 | A a | | | | | | |
| <i>Calophyllum brasiliense</i> | 73,28 | A a | 76,37 | A a | 87,06 | A a | 71,28 | A a | 63,60 | A a | 81,77 | A a | | | | | | |
| <i>Tapirira guianense</i> | 90,16 | A a | 85,58 | A a | 73,68 | A a | 48,17 | A a | 53,69 | A a | 49,42 | A b | | | | | | |
| <i>Senna macranthera</i> | 74,06 | A a | 101,83 | A a | 74,21 | A a | 44,67 | A a | 58,90 | A a | 39,20 | A b | | | | | | |
| <i>Cyristax antisiphilitica</i> | 75,43 | A a | 72,08 | A a | 86,27 | A a | 59,72 | A a | 55,47 | A a | 62,96 | A a | | | | | | |
| CV | 24,04 | | | | | | 29,58 | | | | | | | | | | | |

* Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si segundo critério de Tukey a 5% de probabilidade do erro. Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si segundo critério de agrupamento de Scott knott a 5% de probabilidade.

A diminuição de EAD, nas espécies supracitadas, pode interferir na proteção e prevenção da perda de água pelos tecidos (BUKOVAC *et. al.*, 1990). Todavia, seu aumento detectado em *T. guianensis* determina prevenção contra transpiração, sendo um importante fator para atenuar a penetração da radiação no interior da folha, protegendo as camadas do mesofilo fotossinteticamente ativo (CEN e BORNMAN, 1993). Redução da epiderme adaxial foi constatada em *J. puberula*, *C. fissilis*, *P. myrsinoides* e *C. ferrea*, submetidas ao herbicida Clomazone (CABRAL *et al.*, 2017a).

Para a variável parênquima paliádico (PP), não houve interação significativa entre as aplicações de 2,4-D para a maioria das espécies. No entanto *C. brasiliense* apresentou redução de 36%, seguida de *I. vera* com 34% de redução para esta variável, na 1ª aplicação de 2,4D (Tabela 4). Observa-se que ao longo das aplicações *C. brasiliense* demonstra recuperação de integridade do tecido. Para as demais espécies os valores obtidos foram próximos ao da testemunha. O mesmo não foi observado quando da composição de MIX 1 (Figura 3 e Tabela 4), nesta etapa *T. guianense*, *S. macranthera* e *C. antisyphilitica* tiveram déficit de incremento no PP que variaram de 46-79%, as demais espécies também foram afetadas negativamente, no entanto com menor severidade (Tabela 4).

S. macranthera apresentou campos primários de pontoação evidentes, que não foram observados na testemunha (Figura 2 P). Campo primário de pontoação facilita a comunicação celular do tecido vegetal. Tais regiões são atravessadas por filamentos citoplasmáticos chamados plasmodesmos que viabilizam uma condução entre o protoplasma de células adjacentes (MACHADO; RODRIGUES, 2004). Este fato pode explicar como as auxinas produzidas por estímulo do 2,4-D chegaram tão rápido a EAD provocando a proliferação exacerbada do tecido (Figura 2 N).

O PP está vinculado à proteção foliar contra alta intensidade luminosa (TUFFI SANTOS *et al.*, 2008), além dos processos de fotossíntese. Esta variável foi afetada negativamente sobretudo após a adição do herbicida atrazine para a composição de mix 2 (Figura 3 e Tabela 5). Essa redução pode ser decorrente de alterações na taxa de crescimento das plantas, uma vez que o atrazine afeta diretamente o aparato fotossintético, inviabilizando na disponibilidade de metabólitos e, conseqüentemente, o crescimento da planta (LEAL *et al.*, 2019)

Contíguo ao PP apresenta-se o parênquima lacunoso (PL), voltado para a face abaxial foliar. Nessa porção do tecido foram observados os maiores índices de incremento em espessura em 1ª etapa. *S. macranthera* e *C. antisyphilitica* obtiveram de 9-17% em acréscimo da espessura

do PL (Figura 2 N-P e R-T). As demais espécies apresentaram decréscimo do PL que variaram de 7-40%, com comportamento similar entre elas. No entanto, tais espécies expostas ao mix 2, que correspondeu a 2ª etapa desta pesquisa, apresentaram de forma geral decréscimo de 11-53% na espessura de PL, destacando-se *T. guianensis*, *S. macranthera* e *C. antisiphilitica*, que na etapa anterior (2,4-D) haviam demonstrado incremento na espessura do PL. A alteração morfológica comumente observada foi a diminuição dos espaços intercelulares, com adensamento das células do parênquima evidenciando compactação do tecido (Figura 3 J-L, N-P e R-T). Resultado semelhante foi encontrado por Cabral et al. (2017a) estudando toxicidade de herbicida em arbóreas nativas de zonas ripárias para comparação da sensibilidade entre espécies em resposta à poluição.

A redução do PL diminui a absorção de luz pela folha em decorrência de sua menor dispersão interna (VOGELMAN; NISHIO; SMITH, 1996) em folhas dorsiventrals, a arquitetura irregular do PL e seu amplo espaço intercelular, aumenta a distância que a luz alcança dentro da folha por meio da reflexão nas interfaces gás/líquido (LAMBERS *et. al.*, 1998). Nesse sentido, espécies afetadas por herbicidas em sucessão, podem, em campo, diminuir a capacidade competitiva por subutilizarem a luz disponível. Injúrias neste tecido dificultaria o estabelecimento das espécies em áreas abertas, uma vez que o PL é mais exigido quando em pleno sol.

A avaliação da espessura da epiderme da face abaxial (EAB) das espécies testadas revelou que a maioria das espécies foi afetada negativamente quanto a espessura deste tecido (Figuras 2 e 3, Tabelas 4 e 5), com exceção de *C. brasiliense*, que apresentou incremento em amostras provenientes da 3ª aplicação de 2,4-D em comparação às provenientes de aplicações anteriores. Avaliações em amostras coletadas pós composição de mix 2, detectaram redução da espessura da EAB em todas as espécies, com exceção de *S. macranthera* que apresentou tendência a recuperação, porém com queda verificada na 3ª aplicação de atrazine.

A redução na espessura dos tecidos foliares, assim como as modificações teciduais ocorridas podem ser atribuídas à aplicação dos herbicidas 2,4-D e posterior adição de atrazine. Observa-se que a despeito da não significância ($p < 0,05$) observada entre as aplicações de herbicidas, a redução da espessura dos tecidos se mantém nas amostras analisadas, não sendo constatada recuperação da integridade na arquitetura do mesófilo foliar a nível de testemunha. Atrazine, herbicida inibidor do fotossistema II, interfere diretamente na fotossíntese (LEAL et

al., 2019), ocasionando menor produção de massa seca pelas plantas, contribuindo para severidade de redução observada pós adição no sistema experimental da molécula.

Não foi possível a análise de folhas correspondentes ao Mix 3, uma vez que o intuito das avaliações micromorfométricas é verificar modificações na estrutura interna da folha antes mesmo que as injúrias visíveis sejam constatadas. No entanto já em segunda aplicação da fração hexazinone +diuron para composição do mix 3 as folhas já apresentavam injúrias provenientes do contato da planta com o herbicida, tornando obsoleta esta verificação.

Ao avaliar a fluorescência inicial da clorofila (F0), constata-se que *I. vera* e *C. antisiphilitica* obtiveram alterações para essa variável, no entanto em épocas distintas. *Cybistax antisiphilitica* apresentou comprometimento no transporte de energia de excitação dos complexos antena para o centro de reação quando exposta ao mix 2, e posteriormente teve sua atividade normalizada, como constatada na aferição referente a exposição ao mix 3 (Tabela 6). *Inga vera* apresentou alto valor de F0 somente pós exposição ao mix 3. Para as demais espécies não foi observada alteração nestas condições quando comparados à média das testemunhas. A fluorescência inicial pode sofrer limitação por estresses do ambiente contaminado por herbicidas que danifique a estrutura nos pigmentos fotossintéticos do PSII, levando ao incremento dos valores de F0, assim como constatado por Ferreira et al. (2015b), trabalhando com herbicidas de diferentes mecanismos de ação, na intoxicação da cultura de mandioca.

Quanto à fluorescência máxima (Fm), não houve diferença significativa entre a maioria das espécies testadas nos períodos avaliados, com exceção de *I. vera* com valor de Fm aquém das médias obtidas para as testemunhas, quando submetida ao mix 2 de herbicidas (Tabela 6). Outra exceção foi para *S. macranthera* que apresentou média de fluorescência máxima 39% maior em relação aos valores medidos em plantas submetida ao mix 2. Fm representa a intensidade máxima da fluorescência, quando a quinona é reduzida e os centros de reação atingem sua capacidade máxima de reações fotoquímicas (SILVA et al., 2015).

Ao se analisar os valores da relação fluorescência variável e fluorescência máxima (Fv/Fm), foi constatado que todas as espécies foram afetadas em menor ou maior grau pela progressiva adição de herbicidas no solo onde estavam alocadas (Tabela 6). Considerando que plantas em perfeito estado fisiológico, na ausência de estresses, apresentam a relação Fv/Fm variando de 0,75 a 0,85 (FERREIRA et al., 2015b), pode-se afirmar que o mix de herbicida imposto às plantas promoveu algum tipo de estresse nos espécimes testados (Tabela 6). Dentre as espécies *T. guianense* e *S. macranthera* não diferiram da testemunha nas duas primeiras

etapas (mix1 e mix2), demonstrando uma certa tolerância a mistura de herbicidas imposta a tais unidades experimentais, no entanto pós aplicação de hexazinona +diuron, para composição do Mix 3, tais plantas apresentaram queda na relação fluorescência variável/fluorescência máxima, indicando estresse na eficiência quântica máxima do fotossistema II (Tabela 6). *C. antisiphilitica* evidenciou alteração para esta variável nas leituras referentes a 2ª etapa (mix 2), com evidente recuperação da integridade do potencial fotossintético nas aferições provenientes da 3ª etapa (mix 3), manifestando resiliência após exposição aos poluentes. Este fato pode estar ligado ao surgimento de novas folhas com ausência de sintomas de intoxicação.

Tabela 6-Fluorescência inicial (F0), fluorescência máxima (FM), relação fluorescência variável e fluorescência máxima (Fv/Fm) e taxa de transporte de elétrons (ETR), em espécies arbóreas em função da aplicação em sequência de herbicidas. Testemunha (Test), 2,4-D (Mix1) 2,4-e atrazine (Mix2) e 2,4-D +atrazine + hexazinone + diuron (Mix3).

| Espécies | F0 | | | | FM | | | |
|---------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | Test | 2,4-D | Mix 1 | Mix 2 | Test | 2,4-D | Mix 1 | Mix 2 |
| <i>Inga vera</i> | 527 B a | 561 AB a | 639 AB b | 911 A a | 2233 A a | 1780 AB b | 1295 B b | 1545 AB b |
| <i>Calophyllum brasiliense</i> | 455 A a | 323 A a | 458 A b | 514 A b | 1510 A b | 844 A c | 1646 A b | 1192 A b |
| <i>Tapirira guianense</i> | 459 A a | 432 A a | 479 A b | 669 A b | 2101 A a | 1862 A b | 2362 A a | 1747 A b |
| <i>Senna macranthera</i> | 509 A a | 548 A a | 499 A b | 822 A a | 2149 B a | 1623 B b | 3008 A a | 1946 B b |
| <i>Cybistax antisyphilitica</i> | 618 AB a | 590 B a | 982 A a | 551 B b | 2623 A a | 3050 A a | 2470 A a | 3313 A a |
| <i>CV</i> | 34,59 | | | | 22,49 | | | |
| Espécies | Fv/Fm | | | | ETR | | | |
| | Test | 2,4-D | Mix 1 | Mix 2 | Test | 2,4-D | Mix 1 | Mix 2 |
| <i>Inga vera</i> | 0,735 A a | 0,676 A a | 0,509 B b | 0,350 B b | 20,42 A a | 20,60 A b | 8,13 B b | 9,30 B b |
| <i>Calophyllum brasiliense</i> | 0,570 A a | 0,638 A a | 0,673 A a | 0,550 A b | 18,77 A a | 10,90 B b | 15,20 A b | 16,93 A b |
| <i>Tapirira guianense</i> | 0,782 A a | 0,764 A a | 0,791 A a | 0,583 A b | 35,85 A a | 41,45 A a | 30,98 A a | 31,05 A a |
| <i>Senna macranthera</i> | 0,748 A a | 0,721 A a | 0,833 A a | 0,527 B b | 27,94 A a | 25,30 A b | 27,43 A a | 14,33 A b |
| <i>Cybistax antisyphilitica</i> | 0,763 A a | 0,780 A a | 0,558 B b | 0,834 A a | 23,09 A a | 29,58 A a | 16,65 A b | 33,40 A a |
| <i>CV</i> | 21,52 | | | | 39,23 | | | |

* Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si segundo critério de Tukey a 5% de probabilidade do erro. Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si segundo critério de agrupamento de Scott knott a 5% de probabilidade.

Para a taxa de transporte de elétrons (ETR) verificou-se que o comportamento das plantas tratadas foi semelhante ao descrito para Fv/Fm. *I. vera* apresentou redução de 50% da ETR pós composição dos mix 2 e mix 3, o efeito da interação do mix de herbicidas com o sítio de ação no tecido clorofiliano demonstra suscetibilidade à mistura de moléculas, com redução de massa seca (TROPALDI et al., 2017) (Tabela 5). *C. antisiphilitica* apresentou queda no valor de ETR pós composição do mix 2 assim como verificado para a variável Fv/Fm com posterior recuperação. *S. macranthera* manteve valores para ETP próximos da testemunha na 1ª (mix 1) e 2ª (mix 2) etapas. Contudo, teve o transporte de elétrons prejudicado quando submetida ao mix 3. A redução nos valores de Fv/Fm refletiu na redução da eficiência de captura de energia de excitação pelos centros de reações abertos do FSII, corroborando com as observações dos menores valores de ETR encontrados por SILVA et al. (2016) trabalhando com *Caryocar brasiliensis* submetido a doses de glyphosate.

Técnicas fisiológicas de aferição da fluorescência da clorofila “a”, têm sido utilizadas para verificar a integridade do aparato fotossintético de plantas submetidas a estresse resultante de contato com herbicidas (CORRÊA et al., 2018; DE ALMEIDA SILVA; PINCELLI; DE MORAES BARBOSA, 2018). São escassos trabalhos que relacionam o impacto dos herbicidas na biodiversidade vegetal do entorno das áreas agrícolas, especialmente quando estes são carregados pós aplicação (SILVA et al., 2016). As variações apuradas demonstram a vulnerabilidade das plantas estudadas ao mix de herbicidas.

Em relação às medidas de trocas gasosas, não foi possível as aferições referentes a aplicação do herbicida 2,4-D (mix1), em decorrência de instabilidade do tempo/clima nos dias marcados para as mensurações. Para as aplicações seguintes foi evidenciado o quadro que já havia se mostrado anteriormente para as leituras relacionadas a fluorescência da clorofila “a”. Todas as espécies foram afetadas em menor ou maior grau pela adição de herbicidas no solo onde estavam alocadas, com redução dos valores destas variáveis cerca de 19-80% (Tabela 7).

A taxa fotossintética (FOT) foi comprometida com grau mais severo para as espécies *I. vera*, *C. brasiliense* e *T. guianensis* nas duas etapas avaliadas (mix 2 e mix 3), comprovando que a mistura de moléculas impostas às plantas teve efeito negativo no aparato fotossintético das mesmas. Atrazine, hexazinona e diuron agem no fotossistema II, dificultando a integridade de funcionamento, provocando assim a redução de FOT e a dinâmica de crescimento das plantas, corroborando o estudo de sensibilidade de espécies florestais à atrazine realizado por Aguiar et al. (2018). *C. antisiphilitica* ainda que apresentando tendência à redução dos valores

de FOT, foi a espécie que manteve valores próximos ao das testemunhas para as etapas avaliadas (Tabela 7).

O comportamento averiguado para as espécies em relação a FOT foi confirmado pela variável consumo de CO₂ (DC). Estas, quando comparadas às plantas sem aplicação de herbicidas, obtiveram valores muito aquém do encontrado, destacando-se negativamente *I. vera* e *T. guianensis* para ambos mixts testados (Tabela 7). *S. macranthera* e *C. antisiphilitica* obtiveram valores próximos ao das testemunhas. O carbono interno (Ci) em contrapartida ao DC, mas em acordo com parâmetros fisiológicos, teve seus valores acrescidos de 23-34% em média para todas as espécies testadas (Tabela 7). A quantidade de carbono (Ci) é inversamente proporcional ao consumo de CO₂ e a taxa fotossintética; assim quando se observa aumento da concentração de Ci na cavidade estomática das plantas, ocorre a redução concomitante da FOT (AGUIAR et al., 2018; GALON et al., 2010).

A condutância estomática (Gs) foi levemente afetada pela presença dos agroquímicos no solo, não obtendo significância estatística ($p < 0,05$), sendo as espécies afetadas negativamente *C. brasiliense* e *T. guianensis* em 2ª etapa com redução de 33 e 44% respectivamente, apesar disso com recuperação constatada por leitura posterior. *C. antisiphilitica* em 3ª etapa apresentou redução no valor para essa variável de 27% sem significância estatística (Tabela 7).

Tabela 7-Taxa fotossintética (FOT), concentração interna de carbono (Ci), consumo de CO₂ (DC), condutância estomática (Gs), transpiração (TR) e eficiência no uso da água (EUA) das espécies florestais submetidas a aplicações em sequência dos herbicidas 2,4-D, atrazine, hexazinona + diuron. Testemunha (Test), 2,4-D e atrazine (Mix2) e 2,4-D, atrazine e hexazinona + diuron (Mix3).

| Espécies | FOT | | | | | | Ci | | | | | | DC | | | | | |
|---------------------------------|-------|-----|-------|-----|-------|------|--------|-----|--------|-----|--------|------|-------|-----|-------|-----|-------|------|
| | Test | | MIX 2 | | MIX 3 | | Test | | MIX 2 | | MIX 3 | | Test | | MIX 2 | | MIX 3 | |
| <i>Inga vera</i> | 7,19 | A a | 1,54 | B b | 2,70 | B b | 295,56 | B a | 363,08 | A a | 305,25 | AB a | 22,64 | A a | 5,22 | C b | 13,13 | B b |
| <i>Calophyllum brasiliense</i> | 5,52 | A a | 3,26 | B b | 4,64 | AB a | 280,50 | A a | 277,67 | A a | 320,02 | A a | 16,67 | A a | 11,48 | A b | 14,50 | A b |
| <i>Tapirira guianense</i> | 6,11 | A a | 2,72 | B b | 4,18 | AB a | 268,46 | A a | 318,50 | A a | 290,5 | A a | 20,61 | A a | 9,81 | B b | 13,00 | B b |
| <i>Senna macranthera</i> | 6,30 | A a | 4,85 | A a | 4,85 | A a | 289,17 | A a | 299,75 | A a | 299,75 | A a | 20,73 | A a | 15,08 | A a | 15,08 | A b |
| <i>Cybistax antisyphilitica</i> | 7,20 | A a | 5,07 | A a | 5,83 | A a | 241,21 | B a | 313,46 | A a | 323,78 | AB a | 25,85 | A a | 15,92 | B a | 21,17 | AB a |
| <i>CV</i> | 26,73 | | | | | | 11,63 | | | | | | 25,93 | | | | | |
| | Gs | | | | | | TR | | | | | | EUA | | | | | |
| Espécies | Test | | MIX 2 | | MIX 3 | | Test | | MIX 2 | | MIX 3 | | Test | | MIX 2 | | MIX 3 | |
| <i>Inga vera</i> | 0,15 | A a | 0,11 | A a | 0,10 | A a | 1,18 | A a | 1,07 | A a | 0,91 | A a | 5,62 | A a | 1,56 | B b | 6,79 | A b |
| <i>Calophyllum brasiliense</i> | 0,09 | A a | 0,06 | A b | 0,11 | A a | 1,02 | A a | 0,61 | B b | 1,00 | A a | 5,26 | A a | 6,61 | A a | 3,76 | A b |
| <i>Tapirira guianense</i> | 0,09 | A a | 0,05 | A b | 0,06 | A a | 1,03 | A a | 0,53 | B b | 0,74 | AB b | 5,83 | A a | 4,41 | A a | 5,04 | A b |
| <i>Senna macranthera</i> | 0,11 | A a | 0,11 | A a | 0,11 | A a | 1,09 | A a | 1,06 | A a | 1,06 | A a | 5,03 | A a | 4,48 | A a | 4,48 | A b |
| <i>Cybistax antisyphilitica</i> | 0,11 | A a | 0,12 | A a | 0,08 | A a | 1,12 | A a | 1,08 | A a | 0,74 | B b | 8,14 | A a | 3,62 | B a | 10,87 | A a |
| <i>CV</i> | 28,83 | | | | | | 20,36 | | | | | | 34,61 | | | | | |
| | TF | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Espécies | Test | | MIX 1 | | MIX 3 | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Inga vera</i> | 23,27 | A a | 23,69 | A a | 23,45 | A a | | | | | | | | | | | | |
| <i>Calophyllum brasiliense</i> | 23,09 | A a | 23,21 | A a | 23,00 | A a | | | | | | | | | | | | |
| <i>Tapirira guianense</i> | 23,30 | A a | 23,13 | A a | 23,06 | A a | | | | | | | | | | | | |
| <i>Senna macranthera</i> | 23,38 | A a | 23,14 | A a | 23,14 | A a | | | | | | | | | | | | |
| <i>Cybistax antisyphilitica</i> | 23,35 | A a | 23,03 | A a | 23,43 | A a | | | | | | | | | | | | |
| <i>CV</i> | 2,61 | | | | | | | | | | | | | | | | | |

*Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si segundo critério de Tukey a 5% de probabilidade do erro. Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si segundo critério de agrupamento de Scott knott a 5% de probabilidade.

Diante do exposto, e levando-se em consideração a variável taxa transpiratória (TR), mesmo não significativa a variável Gs, esta interferiu na TR das espécies *C. brasiliense* e *T. guianensis* (Tabela 6). Em conjunturas de estresse, como sob o efeito de herbicidas, plantas podem promover o fechamento de seus estômatos, com o objetivo minimizar a perda de água, induzindo ao aumento da resistência e, conseqüentemente, reduzindo a condutância estomática (TAIZ e ZEIGER, 2013).

É possível observar que a eficiência no uso da água (EUA) alcançou menor valor para as plantas *I. vera* e *C. antisiphilitica* quando no solo já contaminado com 2,4-D foi adicionado a molécula atrazine. Essa variável tem íntima ligação com TR e FOT além do Gs. *I. vera* apresentou baixas taxas de FOT mas manteve a taxa de TR, no entanto, percebe-se no Ci valores altos quando comparado à testemunha, denotando injúria no aparato fotossintético (MACHADO et al., 2010). *C. antisiphilitica* apresentou menor razão na eficiência do uso da água quando exposta ao mix 2, mantendo a taxa fotossintética e apresentando comportamento semelhante a *I. vera*, em relação à Gs, TR e Ci. Este fato demonstra a plasticidade de *C. antisiphilitica* havendo o mínimo de perda de água para assimilação do CO₂.

CONCLUSÃO

Em face das observações acima podemos afirmar que, perante análises de crescimento, estruturais e fisiológicas, a maioria das espécies testadas apresentou injúrias provenientes da presença dos herbicidas no sistema experimental. *I. vera*, *C. brasiliense* apresentaram sensibilidade à mistura 2,4-D + atrazine. *T. guianensis* foi tolerante à mistura 2,4-D + atrazine, no entanto, apresentou injúrias sob efeito de diuron + hexazinona, denotando sensibilidade ao total de herbicidas aplicados. *S. macranthera* e *C. antisiphilitica* foram consideradas tolerantes ao mix de herbicidas (2,4-D, atrazine, diuron e hexazinona) por manterem a integridade de funcionamento vital próximo aos das testemunhas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEGAS, F. S. et al. Impacto econômico da resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil. **Embrapa Soja-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2017.

AGUIAR, L. M. et al. Physiological Characteristics of Trees Recommended for the Phytoremediation of Soils Contaminated with Herbicides. **Planta Daninha**, v. 36, n. 0, 29 out. 2018.

AMÉRICO, G. H. P. et al. Desenvolvimento e Produtividade do Algodoeiro em Função da Aplicação de subdoses de Ácido Diclorofenoxiacético e Cloreto de Mepiquat. **BRAZILIAN JOURNAL OF AGRICULTURE - Revista de Agricultura**, v. 91, n. 2, p. 117–129, 18 ago. 2016.

BOEGER, M. R.; ALVES, L. C.; NEGRELLE, R. R. B. Variações morfo-anatômicas dos folíolos de *Tapirira guianensis* Aubl. em relação a diferentes estratos da floresta. **Biotemas**, v. 11, n. 2, p. 27–38, 1 jan. 1998.

CABRAL, C. M. et al. Structural Evaluation of damage caused by Herbicide Clomazone in Leaves of Arborescent Species Native to Brazil. **Planta Daninha**, v. 35, 2017a.

CABRAL, C. M. et al. Tolerance to the herbicide clomazone and potential for changes of forest species = Uso de espécies florestais para diminuição do resíduo de clomazone no ambiente. **Bioscience Journal**, v. 33, n. 4, 25 jul. 2017b.

DOS SANTOS, N. M. C. et al. Phytoremediation of Brazilian tree species in soils contaminated by herbicides. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 27, p. 27561–27568, 1 set. 2018.

FERRAÇO, M. et al. Effect of population density of *Canavalia ensiformis* on the phytoremediation of soil contaminated with sulfentrazone. **REVISTA CIÊNCIA AGRONÔMICA**, v. 48, 2017.

FERREIRA, E. A. et al. Respostas fisiológicas da mandioca à aplicação de herbicidas. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 2, p. 645, 22 abr. 2015a.

FERREIRA, E. A. et al. Respostas fisiológicas da mandioca à aplicação de herbicidas. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 2, p. 645, 22 abr. 2015b.

FRANCO, A. M. S.; DILLENBURG, L. R. Ajustes morfológicos e fisiológicos em plantas jovens de *Araucária angustifolia* (Bertol.) Kuntze em resposta ao sombreamento. **Hoehnea**, v. 34, n. 2, p. 135–144, 2007.

GALON, L. et al. Influência de herbicidas na atividade fotossintética de genótipos de cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v. 28, n. 3, p. 591–597, 2010.

GIROTTI, M. et al. Efeito do hexazinone isolado e em mistura na eficiência fotossintética de *Panicum maximum*. **Planta Daninha**, v. 30, n. 2, p. 341–347, jun. 2012.

GOULART, L. M. L. et al. Production of Yellow Cortez (*Tabebuia serratifolia*) Seedlings in Response to Nitrogen Fertilization. **Floresta e Ambiente**, v. 24, 2017.

INOUE, M. H. et al. Potencial de lixiviação e efeito residual de diuron + hexazinone + sulfometuron-methyl em solos de textura contrastante. **Revista de Ciências Agrárias Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 58, n. 4, p. 418–426, 2015.

LEAL, D. P. B. et al. Atrazine degradation patterns: the role of straw cover and herbicide application history. **Scientia Agricola**, v. 76, n. 1, p. 63–71, fev. 2019.

MACHADO, A. F. L. et al. Photosynthetic efficiency and water use in eucalyptus plants sprayed with glyphosate. **Planta Daninha**, v. 28, n. 2, p. 319–327, jun. 2010.

MACHADO, S. R.; RODRIGUES, T. M. Anatomy and ultrastructure the primary pulvinus of *Pterodon pubescens* Benth. (Fabaceae - Faboideae). **Brazilian Journal of Botany**, v. 27, n. 1, p. 135–147, mar. 2004.

MACHADO, V. M. et al. Sensitivity of native forest species seedlings to glyphosate. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 6, 13 set. 2013.

PARADA, J. et al. Combined pollution of copper nanoparticles and atrazine in soil: Effects on dissipation of the pesticide and on microbiological community profiles. **Journal of Hazardous Materials**, v. 361, p. 228–236, jan. 2019.

PIAIA, B. R. et al. Fitorremediação Dos Herbicidas 2,4-Diclorofenoxiacético E Propanil Em Solo Cultivado Por Erva Cidreira (*melissa Officinalis*). **Ciência e Natura; Santa Maria**, v. 39, n. 1, p. 91–98, 2017.

POLINI, D. M. S. S.; MENDOÇA, C. G.; TEODORO, P. E. Selectivity of herbicides in native forest species of cerrado = Seletividade de herbicidas em espécies florestais nativas do cerrado. **Bioscience Journal**, v. 34, n. 2, 26 mar. 2018.

PROCÓPIO, S. D. O. et al. Toxicidade de herbicidas utilizados na cultura da cana-de-açúcar à bactéria diazotrófica *Herbaspirillum seropedicae*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 5, p. 2383, 5 nov. 2014.

PULFORD, I.; WHATSON, C. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees—a review. **Environment International**, v. 29, n. 4, p. 529–540, jul. 2003.

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

RODRIGUES, P. T. A.; ORLANDELLI, R. C. Plantas como Ferramentas para a Remediação Ambiental: uma Revisão da Literatura. **UNICIÊNCIAS**, v. 22, n. 1, p. 38, 6 set. 2018.

RUIZ DE ARCAUTE, C.; SOLONESKI, S.; LARRAMENDY, M. L. Evaluation of the genotoxicity of a herbicide formulation containing 3,6-dichloro-2-methoxybenzoic acid (dicamba) in circulating blood cells of the tropical fish *Cnesterodon decemmaculatus*. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 773, p. 1–8, 1 out. 2014.

SANTOS, C. F. DOS; NOVAK, E. PLANTAS NATIVAS DO CERRADO E FITORREMEDIAÇÃO. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 7, n. 1, p. 67–77, 30 jul. 2013.

SANTOS, E. A. DOS et al. Atrazine levels in the Jaboticabal water stream (São Paulo State, Brazil) and its toxicological effects on the pacu fish *Piaractus mesopotamicus* / Razine atrazina u vodotoku Jaboticabal (São Paulo, Brazil) i njihovi toksikološki učinci na ribu *Piaractus mesopotamicus*. **Archives of Industrial Hygiene and Toxicology**, v. 66, n. 1, p. 73–82, 1 mar. 2015.

SETTE JR, C. R. et al. Crescimento em diâmetro do tronco das árvores de *Eucalyptus grandis* W. Hill. ex. Maiden e relação com as variáveis climáticas e fertilização mineral. **Revista Árvore**, v. 34, n. 6, p. 979–990, dez. 2010.

SILVA, F. G. DA et al. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em plantas de berinjela sob lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, n. 10, p. 946–952, out. 2015.

SILVA, L. A. DA et al. Aspectos biológicos de *Tetranychus ludeni* Zacher, 1913 (Acari: Tetranychidae) alimentados com folhas de batata-doce pulverizadas com o 2,4-D. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 84, n. 0, 22 jan. 2018.

SILVA, L. Q. et al. Modificações fisiológicas em folhas de pequi (*Caryocar brasiliense*) causadas pela aplicação de glyphosate. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 15, n. 2, p. 165, 15 jun. 2016.

SOUSA, G. V. et al. Sorption and Desorption of Diuron, Hexazinone and Mix (Diuron + Hexazinone) in Soils With Different Attributes. **Planta Daninha**, v. 36, n. 0, 11 out. 2018.

TAKANO, H. K. et al. Efeito da adição do 2,4-D ao glyphosate para o controle de espécies de plantas daninhas de difícil controle. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 12, n. 1, p. 1–13, 10 abr. 2013.

TREVISAN, E. et al. Influência da matéria orgânica na fitorremediação de solo contaminado com sulfentrazone. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 15, n. 4, p. 371–379, 10 dez. 2016.

TROPALDI, L. et al. Herbicidas inibidores do fotossistema II em pré-emergência no controle de espécies de capim-colchão. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 16, n. 1, p. 30, 10 mar. 2017.

TUFFI SANTOS, L. D. et al. Visible and anatomic damages caused by glyphosate in *Eucalyptus grandis* leaves. **Planta Daninha**, v. 26, n. 1, p. 9–16, mar. 2008.

VARONA-URIBE, M. E. et al. Exposure to pesticide mixtures and DNA damage among rice field workers. **Archives of Environmental & Occupational Health**, v. 71, n. 1, p. 3–9, 2 jan. 2016.

VOGELMAN, T. C.; NISHIO, J. N.; SMITH, W. K. Leaves and light capture: Light propagation and gradients of carbon fixation within leaves. **Trends in Plant Science**, v. 1, n. 2, p. 65–70, 1 fev. 1996.

CAPÍTULO 2- FITORREMEDIAÇÃO DE HERBICIDAS APLICADOS EM SEQUÊNCIA POR ESPÉCIES ARBÓREAS NATIVAS.

RESUMO

A fitorremediação é uma técnica que objetiva a descontaminação do solo por meio de plantas como agente remediador. Objetivou-se selecionar espécies arbóreas com capacidade fitorremediadora de solo contaminado pelos herbicidas 2,4-D, atrazine e diuron + hexazinona. Foi utilizado o delineamento em blocos ao acaso com quatro repetições. Foram realizadas 3 aplicações dos herbicidas 2,4-D, atrazine e a mistura hexazinone +diuron. Cada aplicação correspondeu a meia dose comercial do composto por hectare totalizando para cada agroquímico individualmente uma dose comercial e meia. Tais aplicações foram efetuadas em tempos diferentes para cada herbicida, com intervalos de 60 dias entre herbicidas, estabelecendo três etapas de aplicação. Foram avaliadas a intoxicação das plantas por meio de notas de toxicidade e a capacidade remediadora das espécies arbóreas por meio de análises cromatográficas do solo, material vegetal e água residual provenientes das unidades amostrais. Dentre as espécies florestais avaliadas *Senna macranthera* se destaca como fitorremediadora dos herbicidas 2,4-D e atrazine, tolerando e reduzindo a quantidade de resíduo presente no solo, tal espécie também se mostrou tolerante a mistura 2,4-D+atrazine+ hexazinona +diuron. *Cybistax antisyphilitiva* tolerou e fitorremediou a mistura de herbicidas, reduzindo consideravelmente o resíduo dos pesticidas, mesmo apresentando sintomas leves de intoxicação.

Palavras-chave: Biorremediação, herbicidas, espécies florestais nativas

ABSTRACT

Phytoremediation is a technique that aims to decontaminate the soil by means of plants as decontamination agent. The objective to select tree species with phytoremediation capacity of soil contaminated with the herbicides 2,4-D, atrazine, diuron and hexazinone. A randomized block design with four replications was used. Three applications of 2,4-D herbicides, atrazine and hexazinone + diuron were used. Each application corresponded to the commercial half dose of the compound per hectare, totalizing for each agrochemical individually a commercial dose and a half. These applications were carried out at different times for each herbicide, with intervals of 60 days between herbicides, establishing three application stages. In the second stage the remediation capacity of the tree species was evaluated by means of chromatographic analyzes of the soil, vegetal material and residual water from the sample units, to detect the residue. Among the forest species evaluated, *Senna macranthera* stands out as a phytoremediate of 2,4-D and atrazine herbicides, tolerating and reducing the amount of residues present in the soil. This species was also tolerant to 2,4-D + atrazine + hexazinone + diuron. *Cybistax antisiphilitiva* tolerated and phyto-remediated the herbicide mixture, greatly reducing pesticide residues, even with mild symptoms of intoxication.

Keyword: Bioremediation, herbicides, native forest species

INTRODUÇÃO

Para atender à demanda por alimentos exigida pelo crescimento populacional, a atividade agropecuária se vale da tecnologia para a redução dos custos de produção. O controle químico de plantas daninhas é procedimento comum sobretudo para viabilizar o cultivo de áreas extensas. A aplicação de agroquímicos persistentes pode resultar em problemas de contaminação do meio ambiente, de águas superficiais e subterrâneas, contudo nem sempre é possível a utilização de herbicidas menos persistentes, até mesmo levando-se em conta as peculiaridades dos locais de aplicação, a necessidade de várias aplicações em uma cultura na mesma safra ou ainda a carência de produtos seletivos e eficientes (MADALÃO et al., 2016).

Neste sentido o uso de moléculas com diferentes modos de ação para controle de invasoras, o emprego de misturas de moléculas e a aplicação sequencial em uma única safra, proporciona aumento da produção agrícola. Em contra partida seu uso frequente e muitas vezes incorreto torna realidade a contaminação do solo, atmosférica, de alimentos, águas superficiais e subterrâneas, atingindo assim organismos não alvo (PIAIA et al., 2017). A exposição crônica a agroquímicos em áreas adjacentes a regiões de práticas agrícolas intensas contribui para a atenuação de toda ecologia da área afetada. Estima-se que cerca de 30 toneladas de herbicidas inibidores do fotossistema II são transportados ao longo de mares e oceanos, sendo os mais usualmente encontrados diuron, atrazine, hexazinona, tebutiuron e ametrina (MERCURIO et al., 2016).

A deriva é um dos principais problemas na aplicação de agrotóxicos, sendo os herbicidas, 2,4-D, atrazine, hexazinona e diuron muitas vezes citados em trabalhos de detecção destas moléculas no ambiente (SOUSA et al., 2018; GODINHO JÚNIOR et al., 2017; SOUZA et al., 2016). 2,4-D é herbicida auxínico usado na dessecação de plantas invasoras em sistema de plantio direto, muitas vezes em mistura com glifosato e no controle de dicotiledôneas em pastagens (GODINHO JÚNIOR et al., 2017). Atrazine, hexazinona e diuron são inibidores do Fotossistema II. O atrazine, um pesticida da classe das triazinas mais utilizado no mundo; apresenta baixa taxa de degradação na água, denotando persistência (SOUZA et al., 2016). Hexazinone pertencente ao grupo químico das triazinonas, é um herbicida empregado em pré e pós-emergência, registrado no Brasil para a cultura da cana-de-açúcar, sua elevada solubilidade em água lhe confere alta mobilidade no solo (VAZ, 2016). Diuron é uma molécula não iônica pertencente ao grupo químico das ureias substituídas de amplo espectro, utilizadas no controle

em pré e pós-emergência de monocotiledôneas e dicotiledôneas em culturas cana-de-açúcar (SOUSA et al., 2018).

Diante do exposto e considerando a importância do solo e água como insumo indispensável aos seres vivos, além do seu uso imprescindível em atividades de produção e na economia, a contaminação por herbicidas constitui preocupação, afetando o equilíbrio do ecossistema em toda sua circunscrição. Nesse sentido, a fitorremediação tem sido utilizada em estudos recentes de recuperação de ambientes contaminados (FERRAÇO et al., 2017; MADALÃO et al., 2016; PIAIA et al., 2017; RODRIGUES; ORLANDELLI, 2018). Esta técnica é estabelecida como alternativa de tratamento para descontaminação de ambientes, se valendo de plantas e sua microbiota associada para a mitigação dos poluentes (RODRIGUES; ORLANDELLI, 2018).

A fitorremediação, empregando espécies florestais, é uma estratégia viável para a reabilitação de áreas contaminadas por herbicidas, uma vez que estas o imobilizam por mais tempo em seus tecidos diminuindo os impactos ambientais desta molécula, pois produzem alta biomassa, tem sistema radicular extenso e grande variabilidade genética, (PULFORD; WHATSON, C., 2003)

Desse modo, objetivou-se o potencial fitorremediador de cinco espécies florestais cultivadas em solo contaminado pelos herbicidas 2,4-D, atrazine, hexazinona e diuron, aplicados em sequência.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado experimento a campo em área pertencente ao Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Campus JK, em Diamantina-MG, localizado nas coordenadas geográficas: latitude de 18°12'16,8" S, longitude de 43°34'07,4" W e altitude de 1.384 m. No local foram construídas unidades de contenção (Figura 1) consistindo as parcelas experimentais, onde se desenvolveu cada planta. O substrato utilizado (Figura 1e) foi composto por amostra de um Latossolo Vermelho, coletada na camada de 0-20 cm, em área não cultivada e, portanto, sem histórico de aplicação de herbicida, cuja caracterização encontra-se na tabela 1

Figura 1- Desenho esquemático das partes constituintes da unidade de contenção utilizada no experimento evidenciando: a) Solução contendo fração da dose do herbicida conforme tratamento; b) tubo para injeção da solução simulando lençol freático contaminado com herbicida; c) Válvula de contenção fechada somente ao final do período de avaliação para coleta do lixiviado; d) zona saturada (brita e areia) simulando lençol freático; e) porção de solo evidenciando zona de aeração para o desenvolvimento do sistema de raízes.

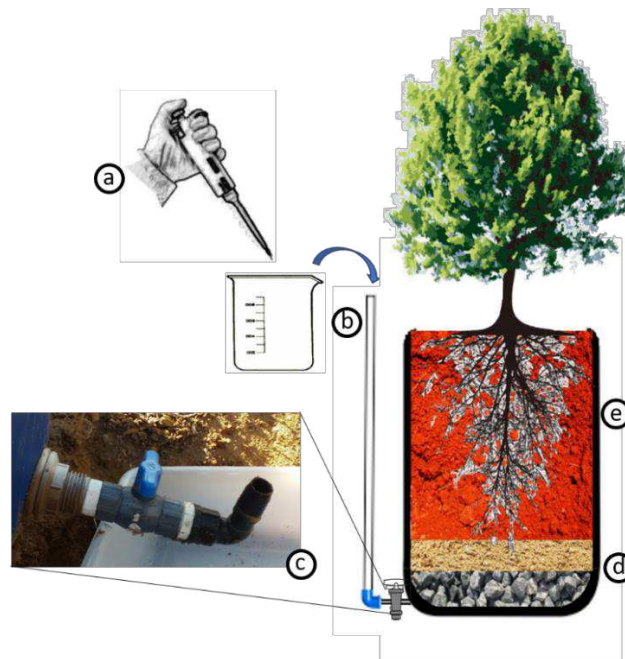


Tabela 1- Composição físico-química de um latossolo- vermelho amarelo na camada de 0-20 cm utilizado no experimento.

| Análise Granulométrica (dag kg -1) | | | | | | | | | | | | |
|------------------------------------|--------------------|------|-----------------------|------|-----|------|--------|------|------|----|---|--------|
| Areia | | | Silte | | | | Argila | | | | | |
| 42 | | | 22 | | | | 36 | | | | | |
| Análise Química | | | | | | | | | | | | |
| pH | P | k | Ca | Mg | Al | H+Al | SB | t | T | m | V | M.O. |
| H2O | mg/dm ² | | cmolc/dm ³ | | | | | | | % | | dag/kg |
| 6.0 | 0.2 | 8,46 | 0,24 | 0,16 | 0,1 | 5,8 | 0,42 | 0,25 | 6,22 | 19 | 7 | 1,2 |

Análises realizadas no Laboratório de Fertilidade do Solo do Departamento de Agronomia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri- UFVJM.

As espécies selecionadas foram: *Inga vera* Willd (Fabaceae), *Calophyllum brasiliense* Cambess (Calophyllaceae), *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae), *Senna macranthera*

(DC. exCollad.) H. S. Irwin Barneby (Fabaceae) e *Cybistax antisiphilitica* (Mart.) Mart (Bignoniaceae). As mudas utilizadas foram procedentes de sementes coletadas em matrizes selecionadas na região de Conceição do Mato Dentro -MG. Posteriormente ao beneficiamento das sementes, estas foram colocadas para germinar em tubetes preenchidos com 55 cm³ de substrato composto por mistura de três partes, sendo um terço de solo esterilizado, um terço de casca de arroz carbonizada e um terço de areia. Foram acondicionadas em viveiro sob condições de irrigação por microaspersão. Aos oito meses de idade as mudas que continham três pares de folhas e aproximadamente sete cm de altura foram selecionadas e retiradas dos tubetes, com posterior destorramento do substrato, lavagem das raízes em água deionizada e transplântio de uma muda por vaso de polietileno contendo 5 kg de substrato. Estas foram acondicionadas em estufa para recuperação.

Após período de oito meses, quando as mudas já estavam com em média 30 cm de altura e oito folhas para *I. vera*; 70 cm e 20 folhas para *C. brasiliense*, 45 cm e 12 folhas para *T. guianensis*, 45 cm e oito folhas para *S. macranthera* e 23 cm e 16 folhas para *C. antisiphilitica* (todos os valores são médias dos dados aferidos no dia do plantio), foram transferidas para as unidades de contenção no campo (Figura 1). As plantas permaneceram recebendo os cuidados silviculturais para pegamento e vigor por 12 meses até a primeira aplicação de herbicidas, quando estava com 28 meses.

Em campo foram demarcados quatro blocos, com aproximadamente 9 x 6 m (54 m²) cada, onde foram dispostas as unidades de contenção (Figura 1). Tal recipiente possuía diâmetro médio de 60 cm, com 110 cm de profundidade, resultando em capacidade volumétrica de 283 L (Figura 1). Na base da unidade foi instalado flange e registro para fornecimento da solução de irrigação bem como os herbicidas (Figura 1c). A necessidade hídrica e, posteriormente, a adição dos herbicidas às plantas, foi atendida por esse acesso (Figura 1a e b). A umidade do solo foi padronizada entre 60 e 70% da capacidade de campo (GOULART et al., 2017), aferida a partir de um medidor de umidade portátil HidroFarm HFM2010/HFM2030. A unidade foi construída com uma camada de 5 cm de brita (diâmetro médio de 2 cm); logo acima uma camada de 5 cm de areia e uma malha de escoamento (filtro, malha 2 mm), permitindo o fluxo hídrico em ambos sentidos (Figura 1d). Posteriormente foi adicionada a amostra de solo até limite do recipiente (aproximadamente 250 dm³), onde foi cultivada uma única planta de cada espécie (Figura 1e).

Os tratamentos foram constituídos por um fatorial 5 x 2, representados pelas cinco espécies florestais e a presença ou ausência do mix de herbicidas em solução. A distância entre cada unidade amostral dentro do bloco foi de 3 m e de 20 m entre blocos, para evitar a interferência de uma planta sobre as demais.

Aos 360 dias após plantio (DAP) no campo iniciou-se a aplicação dos herbicidas, simulando a contaminação pelo lençol freático (Figura 1a e b). Entre os 361 e 375 DAP, foi aplicado o 2,4-D (mix 1); entre 422 e 436 DAP foi adicionado o atrazine (mix 2) e, entre 482 e 496 DAP, adicionou-se a mistura hexazinone + diuron (mix 3). Em cada período, o respectivo herbicida teve sua dose total estimada e fracionada em três aplicações, uma vez que no processo de lixiviação ou mesmo em *carriover* os herbicidas não chegam em sua totalidade a áreas não alvo. Neste sentido procuramos simular a chegada do poluente via lençol freático e em quantidades aquém das recomendadas comercialmente. As informações sobre os produtos comerciais e as doses utilizadas estão listadas na Tabela 2. Assim, as avaliações realizadas consideraram os efeitos conjuntos dos produtos nas plantas.

Para preparo da solução estoque dos herbicidas, os produtos comerciais foram pesados em balança de precisão (0,0001g) e diluídos em pré-solução diretamente em Becker de vidro de 1 L, acondicionados em frasco âmbar (01 L) e ministrados com micropipeta (precisão de 10 µL) (Figura 1-a). Nas épocas pré-determinadas, os herbicidas foram aplicados, sendo a solução vertida no tubo simulando a chegada dos resíduos do herbicida pelo lençol freático contaminado (Figura 1-b). Considerou-se mix 01, solução contendo o 2,4-D, fracionada nas três épocas; mix 02, o mix 01 somado às frações do atrazine, aplicadas 60 dias depois e mix 3, o mix 02 somado às frações da mistura diuron + hexazinone, aplicadas 60 dias após. Contabilizou-se o volume de água aplicado durante o período, sempre fornecida pelo tubo ao fundo da unidade de contenção (Figura 1-b).

Tabela 2– Relação dos herbicidas, épocas de aplicação e dose aplicada para estimar a capacidade remediadora, por espécies florestais, de resíduos de herbicidas em águas subterrâneas, simulando contaminação pelo lençol freático.

| Herbicida | Produto comercial (P.C.) | Dose total estimada: 150% da recomendação* | Dose total do P.C. na Unidade Experimental (U.E.) | Quantidade total do princípio ativo na U.E. | Épocas das aplicações das doses fracionadas (1/3 a cada sete dias) (DAP**) |
|---------------------------|--------------------------|--|---|---|--|
| 2,4-D | DMA 806BR [®] | 6 l/ ha | 0,192 ml | 0,154g | 1 ^a aplic 361DAP 2 ^a aplic 368 DAP 3 ^a aplic 375 DAP |
| Atrazine | Primóleo [®] | 9 l/ ha | 0,288 ml | 0,115g | 1 ^a aplic 422 DAP 2 ^a aplic 429DAP 3 ^a aplic 436 DAP |
| Hexazinone +Diuron | Velpar-K [®] | 4,5 kg/ ha | 0,144 g | 0,02g +0,067g | 1 ^a aplic 482 DAP 2 ^a aplic 489 DAP 3 ^a aplic 496 DAP |

*/MAPA/Agrofit (2019): Disponível em <http://www.agricultura.gov.br/mapadosite>

**/DAP: dias após plantio.

A característica avaliada para a determinação da seletividade do herbicida às diferentes espécies foi a intoxicação visual. O monitoramento do surgimento de sintomas visuais nas folhas foi realizado diariamente após a aplicação de cada herbicida. As avaliações de intoxicação visual foram efetivadas aos 7, 14, 28, 35, 42 e 49 dias após a adição de cada herbicida. Foram atribuídas notas de acordo com os sintomas visíveis, na parte aérea da planta, utilizando escala variando de 0 a 100%, onde 0 era a ausência de quaisquer sintomas e 100 caracterizava a morte da planta. Foi considerada a proporção de folhas na planta e as folhas que apresentaram cloroses, necroses, entre outros sintomas (adaptado de FOLONI *et al.*, 2005).

Aos 370 DAA (Dias Após Aplicação) do primeiro herbicida realizou-se o fechamento da válvula ligada ao tubo (Figura 1-c) para coleta de material vegetal e de solo e posterior saturação do solo para coleta do lixiviado. Amostras dos tecidos das plantas, do solo e do

lixiviado foram analisadas por cromatografia para determinação dos níveis de resíduos dos herbicidas.

Nesta etapa avaliou-se a capacidade fitorremediadora de duas espécies em questão: *S. macranthera* e *C. antisiphilitica*, uma vez que estas apresentaram durante a condução do experimento integridade próximas às testemunhas caracterizando-as como mais promissoras.

Para a coleta do solo, foi introduzida uma sonda de 50 cm de comprimento e 3 cm de diâmetro em quatro pontos da superfície do recipiente (unidade de contenção) totalizando um quilo de substrato coletado por repetição. Este material foi homogeneizado, separado em amostras de 250g e acondicionado em refrigerador. O material vegetal (folhas) foi coletado, empacotado em sacos plásticos zip lock e acondicionados em refrigerador.

Para avaliação de eventual resíduo de herbicidas em água, o solo sob cultivo foi saturado com volume conhecido de água. Por meio do flange instalado na base da unidade amostral o lixiviado foi coletado. Foi coletado 1 litro de solução para cada unidade amostras. As amostras foram acondicionadas em geladeira e posteriormente enviadas ao Centro de Ciências Agrárias – Laboratório de Plantas Daninhas (LPD- UFERSA) para a detecção de resíduos de hexazinona. Para a quantificação dos resíduos de 2,4-D, atrazine e diuron o material coletado foi enviado ao Laboratório de análise de Resíduos de Pesticidas (LARP-UFSM).

Para a detecção do hexazinona o instrumento LC-MS/MS consistiu de um sistema de cromatografia líquido de ultra alta performance (UHPLC) (Shimadzu) acoplado a um espectrômetro de massa triplo quadropolo da Shimadzu (modelo LCMS-8040) operado no modo de ionização por eletrospray positivo (ESI+). O UHPLC é equipado com uma coluna Restek (Pinnacle DB AQ C18 de tamanho 50 x 2,1 mm, com partículas de 1,9 µm), incluindo duas bombas LC - 30AD, um desgaseificador DGU – 20A_{5R}, um auto - sampler Sil - 30AC, um forno de coluna CTO - 30AC e um CBM –20A controlador.

Após otimização dos parâmetros instrumentais para obter o máximo de sensibilidade, as condições adotadas para a determinação do composto estudado em cada matriz considerada foram as seguintes: modo de eluição envolvendo condição isocrática com uma fase móvel binária composto por ácido fórmico a 0,1% em água (fase móvel A) e acetona (fase móvel B), na proporção de 40 para 60%, respectivamente. Bombeando um fluxo de 0,2 ml min⁻¹. O volume de injeção foi de 5 µL e a temperatura do gerenciador de amostras foi ajustada para 15 °C.

Os parâmetros do sistema LC-MS / MS foram os seguintes: temperatura da coluna, 40°C; tensão de interface, 4,5 kV; temperatura da linha de dessolvatação, 250°C; fluxo de gás nitrogênio de nebulização, 3 L / min; temperatura do bloco de calor, 400°C; fluxo de gás nitrogênio de secagem, 15 L / min; gás argônio de colisão, 230 kPa. A interface ESI foi operada em modo positivo (ESI +) e o espectrômetro de massa em monitoramento de reações múltiplas (MRM), o íon precursor com m/z de 253,1 e dois íons produtos, o de maior intensidade foi usada para quantificação (m/z 253,1 > 171,2), e o segundo usado para confirmação (m/z 253,1 > 71,2).

Para as análises de detecção de 2,4-D, atrazine e diuron, nas amostras de água foi realizada a extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*) e análise por cromatografia líquida de ultra alta eficiência acoplada a espectrometria de massas em série (UHPLC-MS/MS, do inglês *ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry*).

Para o procedimento SPE foram utilizados cartuchos Oasis® HLB, o qual 100 mL de amostra foram percoladas e eluídas com a mistura acidificada dos solventes MeOH:MeCN (1:1, v/v). Antes da injeção cromatográfica as amostras foram diluídas duas vezes em água ultrapura.

As amostras foram analisadas no sistema UHPLC-MS/MS da Waters (EUA), equipado com: cromatógrafo líquido; detector MS do tipo triplo quadrupolo, modelo Xevo TQ; interface/fonte de ionização por eletronebulização; gerador de nitrogênio peak; sistema controlador de solventes (sistema binário de bombas) para operação de gradientes a alta pressão; coluna analítica Acquity UPLC® BEH C18 (50 × 2,1 mm, 1,7 μm) da Waters (EUA); sistema de aquisição de dados através do *software MassLynx* 4.1 (Waters, EUA). Monitoramento de reações selecionadas foram utilizadas para a quantificação e identificação dos analitos.

A fase móvel empregada foi (A) água:metanol (98:2, v/v) e (B) metanol, ambas contendo 5 mmol L⁻¹ de formiato de amônio e ácido fórmico 0,1% (v/v); com vazão 0,225 mL min⁻¹ e 10 μL de volume de injeção. Utilizou-se modo de eluição gradiente de acordo com a tabela 3 (KEMMERICH, 2017).

Tabela 3- Gradiente de eluição empregado para determinação de agrotóxico por UHPLC-MS/MS. A- água e B- metanol.

| Tempo (min) | %A | %B |
|-------------|----|----|
| 0 | 95 | 5 |
| 0,25 | 95 | 5 |
| 7,75 | 5 | 95 |
| 8,5 | 5 | 95 |
| 8,51 | 95 | 5 |
| 10 | 95 | 5 |

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância. As médias quando significativas foram submetidas ao teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os modelos foram escolhidos com base na significância dos coeficientes de regressão, utilizando-se o teste t a 5% de probabilidade do erro, no fenômeno biológico e no coeficiente de determinação (r^2), para cada espécie.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resíduos dos agroquímicos no solo ocasionaram intoxicação à maioria das espécies florestais estudadas. À medida que se aumentam as doses dos herbicidas e se adiciona a molécula de interesse para formação do mix a ser incrementado no solo, os sintomas se potencializam para algumas espécies. Após a terceira aplicação do 2,4-D, que ocorreu 21 dias depois da primeira exposição, as espécies apresentaram os primeiros sintomas de intoxicação (Figura 2 A e B), que se caracterizaram por encarquilhamento de folhas, injúria típica de herbicidas hormonais (SILVA et al., 2011). De forma geral, os sintomas tiveram uma progressão entre 20-40 dias após a primeira aplicação de 2,4-D (DAA) (Gráfico 1) e posteriormente foram regredindo, com exceção de *C. brasiliense*, esta exibiu as injúrias mais severas nesta primeira etapa chegando à média de 48% de folhas encarquilhadas.

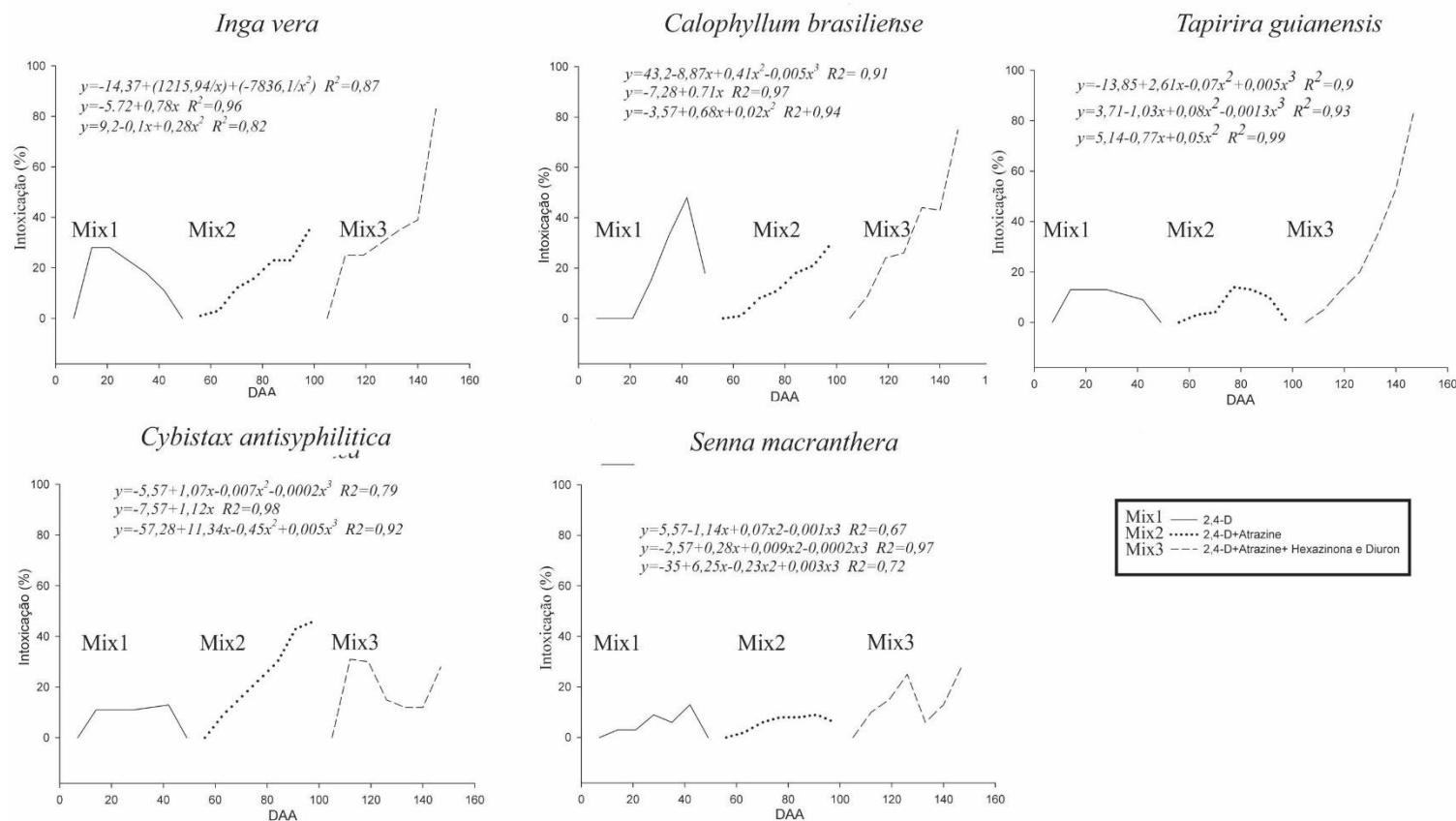
Figura 2- Sintomas de toxicidade encarquilhamento de folhas (A e B) e cloroses provenientes da aplicação em sequência dos herbicidas 2,4-D, atrazine e hexazinona+diuron em espécies florestais. A e B- *Tapirira guianensis*, C, E, F e G- *Cybistax antisyphilitica*



Aos 60 DAA procedeu-se a adição do herbicida atrazine e 67 DAA (7 dias após adicionado o atrazine) já se percebe os primeiros sintomas como o amarelecimento das folhas (início de clorose). As plantas foram atingidas em maior e menor grau pela exposição ao mix 2. Nesta etapa percebe-se que os sintomas são simultâneos, em uma mesma planta (*I. vera*, *C. brasiliense* e *C. antisyphilitica*) encontrando-se folhas encarquilhadas e cloróticas. As cloroses concentram-se perto das nervuras e na borda contrária à inserção do pecíolo e evoluem para necrose (Figura 2 C, D e E). *C. antisyphilitica* apresentou o maior índice de injúria neste período. Outro ponto importante reside no fato de que composição dos mix 2 coincidiu com a decídua de folhas, característica da espécie em época de floração (GUILHERME; SALGADO, 2011). A mudança no metabolismo da planta pode tê-la favorecido em estratégia para retirar a molécula contaminante do seu sistema.

Aos 120 DAA efetuou-se a adição da mistura comercial hexazinona+diuron, constituindo o mix 3 (2,4-D+atrazine+ hexazinona+diuron). Na primeira avaliação (7 dias após adição de hexazinona +diuron) não foi constatado sintomas de intoxicação; as plantas apresentavam aparente tolerância à exposição ao mix (Gráfico 1). No entanto, aos

Gráfico 1- Porcentagem de intoxicação avaliada dos 7 – 160 dias após a aplicação, em sequência dos herbicidas 2,4- D, atrazine e diuron+ hezaxinona aplicados em sequência em espécies florestais. As aplicações entre herbicida ocorreram com intervalos de 60 dias. DAA- dias após aplicação. Mix1-2,4D; Mix2- 2,4-D e atrazine; Mix3-2,4-D e atrazine e hexazinone +diuron.



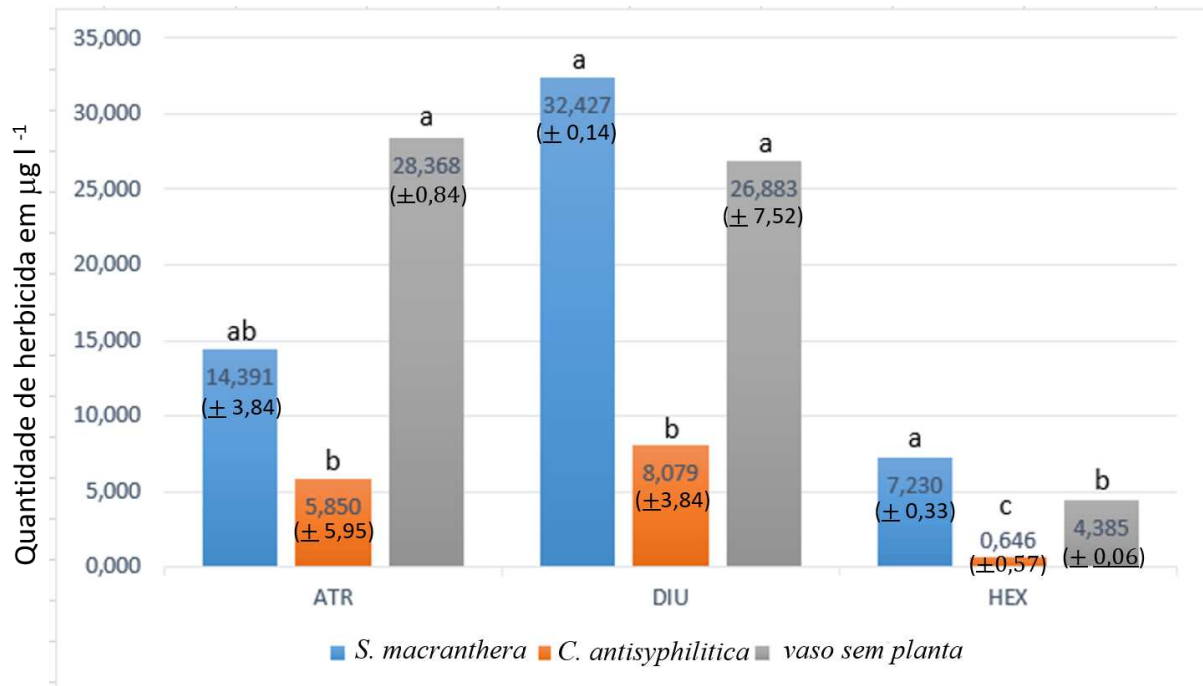
135 DAA (15 dias após exposição ao mix 3), todas as plantas apresentaram de 9-31% das folhas afetadas, variando de amarelecimento das folhas a clorose com aparente murcha (Figura 2 F e G) Sintomas semelhantes foram observados em folhas de cana de açúcar por Azania et al.,(2006)

Para *I. vera*, *C. brasiliense* e *T. guianensis* os sintomas progrediram ao longo das avaliações atingindo 75-84% de intoxicação, com necrose generalizada e queda acentuada de folhas. *S. macranthera* e *C. antisyphilitica* apresentam sintomas percentuais de intoxicação que aumentam, declinam e posteriormente voltam a subir, coincidindo com as aplicações do herbicida (Gráfico 1). Esse comportamento demonstra tendência a recuperação por tais espécies. Recuperação após a aplicação de subdoses da mistura diuron + hexazinone + MSMA foi verificada em experimento com cana de açúcar (GALON et al., 2012). Durante o período de observação as espécies que se mostraram mais tolerantes ao mix de herbicidas, levando-se em conta as avaliações visuais de intoxicação, foram *S. macranthera* e *C. antisyphilitica*. Por outro lado, *I. vera*, *C. brasiliense* e *T. guianensis* se mostraram sensíveis à mistura das moléculas, apresentando sintomas de até 90% de intoxicação, com grandes alterações ao longo do tempo (Gráfico 1). De forma geral, verificou-se que os efeitos de intoxicação das plantas ao se aumentar as doses dos herbicidas foi elevado. Corroboram esses resultados os observados por Galon et al. (2012) ao medir a intoxicação em plantas de cana de açúcar e *Brachiaria brizantha* sob efeito da mistura diuron, hexazinone e MSMA.

Análises cromatográficas foram realizadas em solo, material vegetal e água residual das unidades de contenção onde foram cultivadas *S. macranthera* e *C. antisyphilitica*, uma vez que estas arbóreas apresentaram tolerância na presença dos herbicidas no solo e portanto são promissoras para aplicação de processos de fitorremediação.

A cromatografia realizada na água residual proveniente dos recipientes de contenção onde foram cultivadas as espécies *S. macranthera* e *C. antisyphilitica*, detectou presença de herbicidas em todas as amostras analisadas (Gráfico 2). Contudo não foi verificada a nível de quantificação resíduos da molécula 2,4-D. Este composto tem um tempo de meia vida relativamente baixo, podendo variar de 6-8 dias no solo (PIAIA et al., 2017) e inferior a 40 dias em água (BRITTO et al., 2012).

Gráfico 2-Concentração dos herbicidas atrazine (ATR), diuron (DIU) e hexazinona (HEX) em água residual proveniente das unidades amostrais onde foram cultivadas *Senna macranthera* e *Cybtastax antisiphilitica* além de vaso sem cultivo de planta utilizado como como testemunha. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre se segundo critério de Tukey a 5% de probabilidade. Valores entre parênteses correspondem ao desvio padrão.



O herbicida atrazine, foi detectado em todas as amostras de água proveniente de solos que o recebeu. Onde foram cultivadas *S. macranthera*, houve redução média de 49,3% da molécula herbicida (Gráfico 2). Atrazine tem persistência no ambiente, dependendo das condições ambientais e dos atributos do solo, de 60 a mais de 100 dias, sendo os microrganismos os principais responsáveis pela degradação (MARTINS et al., 2014). Em água residual coletada de recipientes onde foi cultivada *C. antisiphilitica* foi quantificado o equivalente a 20,8% do valor referente ao recipiente sem planta, perfazendo uma redução de quase 80% do resíduo de atrazine (Gráfico 2). Há trabalhos que tratam de fitorremediação de atrazine, sendo na maioria verificação de tolerância e potencial fitorremediador, mas até então sem resultados tão expressivos (GALON et al., 2017; CAMARGO; BISPO; SENE, 2015; ARTHUR et al., 2000)

Diuron apresenta elevada persistência no ambiente e foi detectado em todas as amostras. Esse agroquímico foi quantificado em amostras de água residual derivada de solo cultivado com *S. macranthera* com valores próximos ao do solo testemunha. *S. macranthera* apresentou, apesar de exibir sintomas pela presença do herbicida, tolerância ao agroquímico. O cultivo de

C. antisiphilitica no solo favoreceu a degradação de diuron. Esta espécie apresentou valores de redução da molécula na água residual do solo, em média, 70% em relação aos valores encontrados no solo sem cultivo (Gráfico2). No caso do diuron, sua principal via de degradação é a microbiológica (ROCHA et al., 2013). Assim pode-se inferir que *C. antisiphilitica*, apesar de exibir sintomas da presença desse herbicida, o que denota sua absorção, favorecendo inferências sobre a fitorremediação, possivelmente possui em sua rizosfera microbiota associada que favorece a degradação da molécula.

Para hexazinona, observou-se comportamento semelhante ao descrito para diuron, onde *C. antisiphilitica* se destaca por reduzir em 85,3% o resíduo da molécula (Figura 3). O cultivo de *S. macranthera* parece ser indiferente na redução do composto, uma vez que os valores encontrados foram além dos verificados para a testemunha de solo. O uso da mistura diuron+hexazinone aumenta a sorção desses herbicidas ao solo, ficando menos disponíveis para as plantas (SOUSA et al., 2018).

Para as amostras de solo e material vegetal não foi detectada a presença das moléculas herbicidas. Acredita-se que de alguma forma a planta metabolizou os compostos, e posteriormente a recuperação da fase de alarme, quando o material foi coletado, as folhas novas já não apresentavam resíduo dos compostos, pelo menos não ao nível de detecção do método.

Em relação a não detecção dos xenobióticos nas amostras de solo, acredita-se que a quantidade de água usada na irrigação das plantas, cerca de 2435,00 L de água por unidade amostral ou seja, o equivalente a 6,7 litros/dia, bem como as características de mobilidade desses compostos, que possuem coeficientes de sorção da ordem de 0,98 a 3,55 L kg⁻¹ para a atrazine, de 7,14 a 14, 37 L kg⁻¹ em latossolos a depender do pH pra diuron e 0,96 a 2,42 L kg⁻¹ em latossolos para hexazinona (ROCHA et al., 2013; PROCÓPIO et al., 2001); sejam as causas da baixa sorção e presença das moléculas na solução lixiviada. Neste sentido justifica-se a presença dos herbicidas nas amostras de resíduos de água e a não detecção das moléculas nas amostras de solo.

Tanto a água quanto as aplicações de herbicidas foram ministradas durante todo o experimento por meio da abertura na base do recipiente, no intuito de simular a chegada da água ao sistema por meio do lençol freático. Diante disso, as plantas por meio das raízes interceptaram os herbicidas presentes na água, validando a capacidade das mesmas de formar uma rede rizosférica para captação destas moléculas antes que elas cheguem aos recursos

d'água, mitigando os impactos destes agroquímicos no ambiente. Por fim, não se pode descartar a possibilidade de resíduos dos herbicidas estarem abaixo do limite de detecção do aparelho.

CONCLUSÃO

Cybistax antisyphilitica reduziu significativamente resíduos dos herbicidas testados, mesmo exibindo sintomas leves de intoxicação, ratificando esta espécie como fitorremediadora dos compostos, mesmo em misturas. *S. macranthera* pode ser considerada fitorremediadora do herbicida atrazine e espécie tolerante quando se trata dos herbicidas diuron e hexazinona, mesmo apresentando sintomas leves de intoxicação.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARTHUR, E. L. et al. Degradation of an Atrazine and Metolachlor Herbicide Mixture in Pesticide-Contaminated Soils from Two Agrochemical Dealerships in Iowa. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 119, n. 1, p. 75–90, 1 abr. 2000.

AZANIA, C. A. M. et al. Seletividade de herbicidas: III - aplicação de herbicidas em pós emergência inicial e tardia da cana-de-açúcar na época da estiagem. **Planta Daninha**, v. 24, n. 3, p. 489–495, set. 2006.

BRITTO, F. B. et al. Herbicidas no alto Rio Poxim, Sergipe e os riscos de contaminação dos recursos hídricos. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 2, p. 390–398, 2012.

CAMARGO, D.; BISPO, K. L.; SENE, L. Associação de Rhizobium sp. a duas leguminosas na tolerância à atrazina. **Ceres**, v. 58, n. 4, 30 abr. 2015.

FERRAÇO, M. et al. Efeito da densidade populacional de *Canavalia ensiformis* na fitorremediação de solo contaminado com sulfentrazone. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 1, p. 32–40, 2017.

GALON, L. et al. Efficiency of *Brachiaria brizantha* control and selectivity of the herbicides {(diuron+hexazinone)+MSMA} Applied on sugarcane. **Planta Daninha**, v. 30, n. 2, p. 367–376, jun. 2012.

GALON, L. et al. Fitorremediação de solo contaminado com herbicidas inibidores de FSII e de ALS. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 16, n. 4, p. 307–324, 10 dez. 2017.

GODINHO JÚNIOR, J. D. et al. Deriva do herbicida 2,4-d aplicado com pontas hidráulicas de jato plano tipo leque. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, v. 12, n. 4, p. 550–554, 30 dez. 2017.

GOULART, L. M. L. et al. Production of Yellow Cortez (*Tabebuia serratifolia*) Seedlings in Response to Nitrogen Fertilization. **Floresta e Ambiente**, v. 24, 2017.

GUILHERME, F. A. G.; SALGADO, A. DE A. PHENOLOGY OF *Cybistax antisiphilitica* (MART.) MART. (Bignoniaceae) IN URBAN. **Biosci. J.**, v. 27, n. 1, p. 10, 2011.

KEMMERICH, M. **Resíduos de agrotóxicos em ameixa, maçã, pera e pêsego: desenvolvimento de métodos de análise e monitoramento**. Tese—[s.l.] Universidade Federal de Santa Maria, 6 fev. 2017.

MADALÃO, J. C. et al. Fitorremediação de solo contaminado com sulfentrazone em função do tempo de cultivo de *Canavalia ensiformis*. **REVISTA AGRO@MBIENTE ON-LINE**, v. 10, n. 1, p. 36, 7 jun. 2016.

MARTINS, C. X. et al. Análise de atrazina em amostras de água e solo por cromatografia gasosa (GC-ECD). **Bioenergia em Revista: Diálogos (ISSN: 2236-9171)**, v. 4, n. 1, p. 128–138, 1 out. 2014.

MERCURIO, P. et al. Degradation of Herbicides in the Tropical Marine Environment: Influence of Light and Sediment. **PLOS ONE**, v. 11, n. 11, p. e0165890, 2 nov. 2016.

OLIVEIRA, T. L. DE et al. Seleção de espécies bioindicadoras do herbicida ethoxysulfuron. **Revista de Ciências Agrárias Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 61, 18 out. 2018.

PIAIA, B. R. et al. Fitorremediação Dos Herbicidas 2,4-Diclorofenoxiacético E Propanil Em Solo Cultivado Por Erva Cidreira (melissa *Officinalis*). **Ciência e Natura; Santa Maria**, v. 39, n. 1, p. 91–98, 2017.

PROCOPIO, S.O. et al. Sorção do herbicida atrazine em complexos organominerais. **Planta daninha** Viçosa, v. 19, n. 3, p. 391-400, Dec. 2001.

PULFORD, I.; WHATSON, C. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees—a review. **Environment International**, v. 29, n. 4, p. 529–540, jul. 2003.

ROCHA, P.R.R et al. Sorção e dessorção do diuron em quatro latossolos brasileiros. **Planta daninha**, Viçosa, v. 31, n. 1, p. 231-238, Mar. 2013.

RODRIGUES, P. T. A.; ORLANDELLI, R. C. Plantas como Ferramentas para a Remediação Ambiental: uma Revisão da Literatura. **UNICIÊNCIAS**, v. 22, n. 1, p. 38, 6 set. 2018.

SILVA, F. M. L. et al. Atividade residual de 2,4-D sobre a emergência de soja em solos com texturas distintas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 10, n. 1, p. 29–36, 10 abr. 2011.

SOUSA, G. V. et al. Sorption and Desorption of Diuron, Hexazinone and Mix (Diuron + Hexazinone) in Soils With Different Attributes. **Planta Daninha**, v. 36, n. 0, 11 out. 2018.

SOUZA, T. S. et al. Mcr-Als Aplicado no Monitoramento Quantitativo do Processo de Eletrodegradação da Atrazina usando espectros Uv: Resultados Comparativos com Hplc-Dad Como um Método de Referência. **Química Nova**, 2016.

VAZ, L. R. L. **Perdas de hexazinona e diuron por escoamento superficial em sistema de cana crua**. text—[s.l.] Universidade de São Paulo, 27 out. 2016.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As espécies florestais cultivadas em solo contaminado por herbicidas aplicados em sequência, tiveram comportamento divergente quando expostos aos contaminantes. O experimento foi dividido em 3 etapas, que coincidiam com a adição dos herbicidas ao substrato de cultivo. A maioria das espécies sobreviveu a primeira etapa, que consistia em três aplicações consecutivas de meia dose comercial de 2,4-D. No entanto, ao longo da condução do experimento, quando se completou a mistura composta pelos herbicidas 2,4-D, atrazine e hexazinona+diuron, o crescimento das espécies foi afetado negativamente. Contudo as espécies *Senna macranthera* e *Cyrtosperma antisyphilitica* apresentaram tolerância ao mix de herbicidas, em relação as análises de crescimento. As demais espécies foram afetadas em maior ou menor grau pela presença do mix no solo e não apresentaram bom desenvolvimento ao final do período de avaliação.

As análises micromorfológicas revelaram alterações morfológicas e na espessura dos tecidos foliares, mesmo antes do aparecimento de injúrias visíveis. A espessura da lâmina foliar foi afetada negativamente pela presença dos herbicidas no solo para a maioria das espécies testadas. *Inga vera*, *Calophyllum brasiliense* e *Tapirira guianensis* apresentaram maior sensibilidade já em análises da primeira coleta de provas, demonstrando potencial para serem usadas como bioindicadoras da presença de 2,4-D no solo. *S. macranthera* e *C. antisyphilitica*, se destacam por apresentar tolerância diferencial em relação às outras espécies testadas. Estas mantiveram a integridade dos tecidos próxima às da testemunha mesmo em condição de estresse. Após adição de atrazine o mesmo não é observado: todas as plantas apresentam injúrias com reduções de até 60% na espessura da lâmina foliar. Observou-se que não houve recuperação da integridade dos tecidos nas condições do experimento. Avaliações anatômicas podem de fato indicar eventual efeito negativo da prática de controle químico de plantas daninhas sobre as espécies da mata ciliar à jusante desses locais.

Os parâmetros fisiológicos apresentaram alterações que corroboram com as observações anteriores, denotando injúria no aparato fotossintético. *Senna. macranthera* e *C. antisyphilitica* foram as espécies que conseguiram manter a atividade fotossintética próxima à da testemunha, reforçando a condição de tolerantes destas espécies. Enquanto *I. vera*, *C. brasiliense* e *T.*

guianensis apresentaram elevada sensibilidade uma vez que obtiveram valores aquém aos obtidos para as testemunhas.

Foi verificado, nas condições do experimento, fitorremediação do solo onde houve cultivo das espécies *S. macranthera* e *C. antisiphilitica*, podendo ser empregadas em programas de melhoramento genético para o estímulo de genes que podem dar start a característica biorremediadora

Os resultados obtidos permitem afirmar que *Cybistax antisiphilitica* apresentou eficiência no processo de remediação do solo contaminado com o mix de herbicidas.

Afirma-se ainda que as espécies florestais *Inga vera*, *Calophyllum brasiliense* e *Tapirira guianensis* não foram eficientes no processo de biorremediação do solo, sendo sensíveis ao mix de herbicidas testados. *Senna macranthera* é fitorremediadora do herbicida atrazine e espécie tolerante aos herbicidas hexazinona e diuron.