

**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI**

**REBECCA DE ARAÚJO FIORE**

**POTENCIAL DE ESPÉCIES FLORESTAIS PARA REMEDIAÇÃO DE SUBSTRATO  
CONTAMINADO COM ATRAZINE E 2,4-D**

**DIAMANTINA – MG**

**2014**

REBECCA DE ARAÚJO FIORE

**POTENCIAL DE ESPÉCIES FLORESTAIS PARA REMEDIAÇÃO DE SUBSTRATO  
CONTAMINADO COM ATRAZINE E 2,4-D**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal, nível de Mestrado, da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM, como parte dos requisitos para obtenção do título de "Mestre".

**Orientador:** Profº. Dr. José Barbosa dos Santos- UFVJM

DIAMANTINA – MG

2014

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

F518p 2014	<p>Fiore, Rebecca de Araújo Potencial de espécies florestais para remediação de substrato contaminado com atrazine e 2,4-D / Rebecca de Araújo Fiore. – Diamantina: UFVJM, 2014. 54 p.: il.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. José Barbosa dos Santos</p> <p>Dissertação (mestrado) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Faculdade de Ciências Agrárias. Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciência Floretal, 2014.</p> <p>1. Descontaminação. 2. Herbicidas. 3. T-RFLP. I. Santos, José Barbosa dos. II. Título.</p> <p style="text-align: right;"><b>CDD 631.4</b></p>
---------------	---

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

**POTENCIAL DE ESPÉCIES FLORESTAIS PARA REMEDIAÇÃO DE SUBSTRATO  
CONTAMINADO COM ATRAZINE E 2,4-D**

**REBECCA DE ARAÚJO FIORE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal, nível de Mestrado, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

APROVADO EM 25 / 02 / 2014

Prof<sup>a</sup>. Alessandra Ferreira Belo – UFES

Prof. Evander Alves Ferreira – UFVJM

Prof. Jorge Marcelo Padovani Porto – UFVJM

Prof. José Barbosa dos Santos – UFVJM

Presidente

DIAMANTINA

2014

## AGRADECIMENTOS

Ao meu pai, que desde minha aprovação no vestibular mostrou total confiança em mim, me apoiando nas decisões mais difíceis com seus conselhos e conversas longas que só me engrandeceram como pessoa.

A minha mãe, que sempre me orientava a fazer o que eu achava melhor pra mim e pra minha vida, mas sem desvincular do lado espiritual que nos mostra que tudo é possível quando se tem auto-confiança e fé.

Ao Henrique, parceiro, marido, amigo que não há como deixar de reconhecer ao longo desses anos sua contribuição no meu crescimento profissional e emocional, sempre com respeito e carinho comigo, assim como todos da sua família que me aceitaram de coração aberto.

Ao prof. José Barbosa dos Santos que me abriu portas e me aceitou como sua orientada, me incentivando a seguir neste caminho.

Ao prof. Evander Alves Ferreira, por todas as suas explicações e por ter contribuído muito para realização desse trabalho.

À Michelle Cabral, Sarah Diamantina e Letícia, que foram parceiras no desenvolvimento de todo o trabalho.

À todos do grupo de pesquisa MaSPD, que não pouparam esforços para ajudar, sem o apoio de vocês não seria possível.

Ao IEF- Instituto Estadual de Florestas de Diamantina que forneceu as mudas do viveiro de Gouveia para a execução do experimento.

A UFVJM e seus professores, funcionários e técnicos de laboratório que auxiliaram muito durante todos esses anos.

A FAPEMIG pelo financiamento da bolsa durante o período de realização do mestrado.

Aos professores do mestrado de Ciência Florestal por todo o conhecimento e aprendizado.

Aos amigos e parceiros de mestrado, que participaram de tantos momentos felizes durante esses anos e que fizeram tudo parecer mais leve.

Obrigada a todos vocês!

## RESUMO

Em se tratando da contaminação de ecossistemas por resíduos de defensivos agrícolas, especial atenção é dada para a classe dos herbicidas, em função do volume de aplicação. Os que possuem moléculas solúveis passíveis de contaminação de lençóis hídricos subterrâneos se destacam pela abrangência dos efeitos negativos. Nesse sentido, objetivou-se selecionar espécies vegetais arbóreas interessantes na remediação de ambientes contaminados por resíduos de atrazine e 2,4-D. Foram avaliados 36 tratamentos compostos pela combinação de 12 espécies florestais [*Inga marginata* (ingá), *Schizolobium parahyba* (guapuruvu), *Handroanthus serratifolius* (ipê amarelo), *Jacaranda puberula* (carobinha), *Cedrela fissilis* (cedro), *Calophyllum brasiliensis* (landin), *Psidium mirsinoides* (goiabinha), *Tibouchina glandulosa* (quaresmeira), *Caesalpinia férrea* (pau-ferro), *Caesalpinia pluviosa* (sibipiruna), *Terminalia argêntea* (capitão) e *Schinopsis brasiliensis* (braúna)] e três soluções simulando o composto lixiviado (atrazine, 2,4-D e água – controle), com quatro repetições. Foram feitas 3 aplicações dos herbicidas atrazine e 2,4-D com intervalos de 20 dias (aos 60, 80 e 100 dias após o plantio), sendo cada aplicação correspondente à metade da dose comercial dos produtos. Para as avaliações de crescimento foram mensuradas a altura da planta, o diâmetro do caule, o número de folhas, a área foliar e o acúmulo de biomassa seca. Na estimativa do efeito visual dos herbicidas às plantas avaliadas, optou-se pela atribuição de notas em escala de intoxicação. Para verificação de capacidade remediadora das espécies arbóreas procedeu-se a semeadura da espécie indicadora para indicativo do resíduo do herbicida no solo, (*Cucumis sativus* (L.)). Posteriormente em amostras de solo provenientes da espécie remediadora mais promissora procedeu-se a análise de polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição terminal (T-RFLP), com intuito de caracterizar a diversidade microbiana presente. As espécies florestais sobreviveram à aplicação dos herbicidas, sendo que umas se mostram mais sensíveis do que outras. O ingá apresentou bons resultados de remediação com o bioensaio, assim como o ipê amarelo, apesar da sua sensibilidade aos herbicidas. Observou-se aumento no conteúdo relativo de macronutrientes para as plantas sob ação dos herbicidas, na maioria dos tratamentos. Os resultados de T-RFLP confirmaram a diversidade microbiana diferenciada associada à rizosfera de ingá, principalmente quando submetida à ação de atrazine.

**Palavras chave:** descontaminação, herbicidas, T-RFLP.

## ABSTRACT

In the case of contamination of ecosystems by residues of pesticides, special attention is given to the class of herbicides, according to the application volume. Those with likely contamination of underground water soluble molecules sheets are distinguished by breadth of negative effects. In this sense, the aim of this work was to select interesting woody plant species in the remediation of contaminated by residues of atrazine and 2,4-D environments. Were evaluated 36 treatments consisted of combinations of 12 forest species [*Inga marginata* (ingá), *Schizolobium parahyba* (guapuruvu), *Handroanthus serratifolius* (ipê amarelo), *Jacaranda puberula* (carobinha), *Cedrela fissilis* (cedro), *Calophyllum brasiliensis* (landin), *Psidium mirsinoides* (goiabinha), *Tibouchina glandulosa* (quaresmeira), *Caesalpinia férrea* (pau-ferro), *Caesalpinia pluviosa* (sibipiruna), *Terminalia argêntea* (capitão) and *Schinopsis brasiliensis* (braúna)] and three leachate solutions simulate the compound ( atrazine , 2,4 - D and water - control),with four replicates each. Three applications of atrazine and 2,4-D were made at intervals of 20 days (at 60, 80 and 100 days after planting), each application was corresponding to half of the recommended. Evaluations of growth were measured plant height, stem diameter, number of leaves, leaf area and dry biomass. In estimating the visual effect of herbicides on plants assessed, was opted for the grading scale of intoxication. To check remediation ability of tree species proceeded seeding indicator species for indication of herbicide residue in the soil (*Cucumis sativus* (L.)). Later in soil samples from the species most promising remedial proceeded to analysis of length polymorphism terminal restriction fragment (T-RFLP), in order to characterize the microbial diversity present. Forest species survived the herbicide application, and some are more sensitive than others. The ingá had good results with the remediation bioassay, as well as the ipe amarelo, despite their sensitivity to herbicides. Observed increase in the relative content of macronutrients for plants under the effect of herbicides in most treatments. The results of T-RFLP confirmed the differentiated microbial diversity associated with the rhizosphere of ingá, especially when subjected to the action of atrazine.

**Keywords:** decontamination, herbicides, T-RFLP.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	i
ABSTRACT.....	ii
LISTA DE FIGURAS .....	iv
LISTA DE TABELAS .....	v
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	2
3. OBJETIVOS .....	10
3.1. <i>Objetivo Geral</i> .....	10
3.2. <i>Objetivos específicos</i> .....	10
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	11
5. RESULTADOS .....	17
5.1. <i>Tolerância e crescimento das espécies florestais aos herbicidas</i> .....	17
5.2. <i>Avaliação da capacidade remediadora das espécies florestais</i> .....	29
5.3. <i>Diversidade microbiológica</i> .....	33
6. DISCUSSÃO.....	38
6.1. <i>Tolerância e crescimento das espécies florestais aos herbicidas</i> .....	38
6.2. <i>Avaliação da capacidade remediadora das espécies florestais</i> .....	41
6.3. <i>Diversidade microbiológica</i> .....	42
7. CONCLUSÕES.....	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	46



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Dados da venda de defensivos agrícolas por classe no Brasil no ano de 2012 (SINDIVEG, 2013)..... 3
- Figura 2.** Foto do momento da aplicação da solução contendo o herbicida, realizada em três épocas (aos 60, 80 e 100 dias após o plantio das mudas) totalizando doses equivalentes a 3,75 kg ha<sup>-1</sup> para atrazine e 1,2 kg ha<sup>-1</sup> de 2,4-D. .... 12
- Figura 3.** Sintomas de intoxicação visual provenientes do herbicida atrazine em algumas das espécies florestais estudadas. A- guapuruvu, B- ipê-amarelo, C- ingá, D- cedro, E – braúna, F- quaresmeira..... 17
- Figura 4.** Sintomas de intoxicação visual provenientes do herbicida 2,4-D em algumas das espécies florestais estudadas. A e B- braúna, C- pau-ferro, D- ipê-amarelo, E – cedro, F- goiabinha. .... 18
- Figura 5.** Estimativa de intoxicação (curva de dose-resposta) relativa ao bioensaio com pepino, submetido á ação de atrazine, aplicado até a dose máxima de 2.500 g ha<sup>-1</sup>. .... 31
- Figura 6.** Estimativa de intoxicação (curva de dose-resposta) relativa ao bioensaio com a pepino, submetida a ação de 2,4-D, aplicado até a dose máxima de 1200 g ha<sup>-1</sup>. .... 32
- Figura 7.** Riqueza de Unidades Taxonômicas Operacionais (UTOs) detectadas com a técnica de T-RFLP. Solo sem herbicida e sem ingá (A1), solo sem herbicida e cultivado previamente com ingá (A2), solo com 2,4-D e cultivado previamente com ingá (A3), solo com atrazine e cultivado previamente com ingá (A4); solo com 2,4-D e sem ingá (A5) e solo com atrazine e sem ingá (A6). .... 33
- Figura 8.** Número de UTOs exclusivas de cada tratamento, em diagrama de Venn, para as amostras com cultivo prévio de ingá (coluna da esquerda) e sem o cultivo prévio (coluna da direita) em vaso, para cada grupo microbiológico. (A- Archaea, B- Bacteria e C- Fungi)..... 35
- Figura 9.** Análise de Componentes Principais (PCA) das comunidades microbianas dos solos estudados determinados por T-RFLP. Solo sem herbicida e sem ingá (A1), solo sem herbicida e cultivado previamente com ingá (A2), solo com 2,4-D e cultivado previamente com ingá (A3), solo com atrazine e cultivado previamente com ingá (A4), solo com 2,4-D e sem ingá (A5) e solo com atrazine e sem ingá (A6). .... 37

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Caracterização físico-química e textural da amostra de solo utilizada no experimento .....	11
<b>Tabela 2.</b> Primers para amplificação dos grupos-alvo na comunidade microbiana utilizados para o PCR- T-RFLP multiplex.....	16
<b>Tabela 3.</b> Médias de intoxicação visual observadas em mudas de espécies florestais, aos 14 dias após cada uma das três aplicações do herbicida atrazine, correspondentes a 1,25 kg ha <sup>-1</sup> . .....	19
<b>Tabela 4.</b> Médias de intoxicação visual observadas em mudas de espécies florestais, aos 14 dias após cada uma das três aplicações do herbicida 2,4-D, correspondentes a 0,4 kg ha <sup>-1</sup> .....	20
<b>Tabela 5.</b> Altura de planta (AP %) e diâmetro do caule (DC %), de espécies florestais submetidas à aplicação dos herbicidas atrazine e 2,4-D comparadas a sua respectiva testemunha (100%).....	21
<b>Tabela 6.</b> Número de folhas (NF %) e área foliar (AF %) de espécies florestais submetidas à aplicação dos herbicidas atrazine e 2,4-D comparadas a sua respectiva testemunha (100%)..	22
<b>Tabela 7.</b> Massa seca de folhas (MSF) e Massa seca de caule (MSC) de espécies florestais submetidas à aplicação dos herbicidas atrazine e 2,4-D comparadas a sua respectiva testemunha (100%).....	23
<b>Tabela 8.</b> Massa seca de raiz (MSR) e Massa seca total (MST) de espécies florestais submetidas à aplicação dos herbicidas atrazine e 2,4-D comparadas a sua respectiva testemunha (100%).....	24
<b>Tabela 9.</b> Teor de macronutrientes (dag/kg) na parte aérea de espécies florestais, cultivadas em vasos, sob o efeito da absorção dos herbicidas Atrazine e 2,4-D, e sem o efeito (Controle) .....	25
<b>Tabela 10.</b> Conteúdo Total (mg/ planta) de macronutrientes da parte aérea de espécies florestais, cultivadas em vasos, sob o efeito da absorção dos herbicidas atrazine e 2,4-D, e sem o efeito (Controle) .....	27
<b>Tabela 11.</b> Conteúdo Relativo de macronutrientes da parte aérea de espécies florestais, cultivadas em vasos, sob o efeito da absorção dos herbicidas atrazine e 2,4-D, em relação ao controle .....	28
<b>Tabela 12.</b> Valores médios de altura (Alt.) de pepino aos 26 dias após a semeadura, cultivadas em solo com e sem aplicação de atrazine e 2,4-D, previamente cultivados ou não com espécies florestais. ....	29

**Tabela 13.** Equações de regressão relacionando ao grau de intoxicação (%) e dias após a semeadura (DAS), das plantas de pepino (*Cucumis sativus*) cultivadas em vasos que foram previamente cultivados, ou não, com espécies florestais submetidas á ação do herbicida atrazine.....30

**Tabela 14.** Equações de regressão linear relacionando ao grau de intoxicação (%) e dias após a semeadura (DAS), das plantas de pepino (*Cucumis sativus*) cultivadas em vasos que foram previamente cultivados, ou não, com espécies florestais submetidas á ação do herbicida 2,4-D ..... 31

**Tabela 15.** Índice de Diversidade Shannon ( $H'$ ) e medidas de Equitabilidade\* das amostras obtidas usando T-RFLP .....36

## 1. INTRODUÇÃO

Herbicidas lixiviáveis tem sido alvo de pesquisas e discussões em todo mundo, uma vez que a movimentação de suas moléculas no perfil do solo pode alcançar zonas superficiais ou mesmo atingir o lençol freático (LAVORENTI & REGITANO, 2003). Quando o produto permanece por mais tempo no solo sem ser adsorvido, degradado ou mineralizado, a possibilidade de lixiviação é maior (PIRES et al., 2003), sendo assim sua intensidade dependente das características físico-químicas dos compostos, do tipo de solo, teor de matéria orgânica, saturação, regime de chuvas, irrigação, além da presença de plantas (PIRES et al., 2003; BICALHO, 2007).

Entre os grupos de herbicidas que vem mostrando alto potencial de contaminação de águas de subsolo e se caracteriza pela persistência no ambiente, encontra-se o das Triazinas, na qual o herbicida atrazine (6-cloro-N-etil-N'-(1-metiletil)-1, 3,5-triazina-2,4-diamina), faz parte. Esse é encontrado em muitas águas superficiais e subterrâneas na América do Norte, bem como em alguns países da Europa (STRUTHERS et al., 1998), e seus efeitos ecológicos aquáticos são uma possível preocupação para as comunidades reguladoras. Outro grupo de herbicidas, os auxínicos, ou hormonais, também apresenta potencial de lixiviação. Entre estes se destaca o 2,4-D (ácido 2,4 diclorofenoxiacético), bastante utilizado no país, sendo detectado em cursos d água principalmente na região sul (PRIMEL et al., 2005).

Nesse sentido, as pesquisas que se voltam para busca de alternativas ao uso de herbicidas, juntamente com técnicas para acelerarem sua degradação no ambiente, constituem prioridades na área de sustentabilidade ambiental. Dentre estas alternativas á despoluição de ambientes por resíduos orgânicos, não apenas por herbicidas, pode-se citar a biorremediação, que consiste na capacidade de biodegradação ou indisponibilização destes compostos por meio do metabolismo de micro-organismos (TONINI et al., 2010). No entanto, a fim de minimizar as limitações desta técnica, como por exemplo, a adaptação de certos micro-organismos na região contaminada, tem-se o uso de plantas, como estímulo para a microbiota (BICALHO, 2007). Esse processo é denominado de fitorremediação, e consiste na utilização de plantas, bem como sua microbiota associada, na remoção ou imobilização destes metabólitos, ou mesmo tornando estes inofensivos ao ecossistema (PIRES et al.,2003).

A fitorremediação é um processo que potencializa a biorremediação na superfície do solo e de corpos d'água pela sua capacidade de concentrar maior quantidade de poluentes nas raízes, assim como de aumentar em até duas ordens de grandeza a população microbiana rizosférica (BICALHO, 2007).

No caso particular de herbicidas lixiviáveis uma proposta mais direcionada é a rizofiltração, que consiste na adsorção ou precipitação do contaminante de um meio aquoso através das raízes (GRATÃO et al.,2005 ), por meio de espécies arbóreas desenvolvidas à jusante das áreas agrícolas, preferencialmente em barreiras próximas ou contidas nas matas ciliares. A importância de se permanecer com as matas ciliares deve-se ao fato dessas situarem-se entre a área agrícola e a água de superfície, que acaba remetendo a este bioma, possivelmente, o papel de barreira física à contaminação por pesticidas (HUBBARD & LOWRANCE, 1994). Com essa hipótese, espécies tolerantes aos referidos produtos e com capacidade para diminuição de seus resíduos, evitariam ou, pelo menos, diminuiriam, a quantidade efetiva desses compostos nos cursos hídricos.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

A produção nacional de alimentos, madeiras, fibras e seus derivados, no mercado agrícola, vêm acompanhada de um histórico com cenário promissor no nosso país. No ano de 2006, o Brasil já era considerado o terceiro exportador mundial de alimentos, e na safra de 2011/2012 totalizou 50,86 milhões de hectares em área cultivada e 165,9 mil toneladas de grãos produzidos, consistindo em um aumento de 2% em relação à safra anterior. A previsão para a área plantada para o cultivo de grãos em 2013/2014 é de 55 milhões de hectares e 195 mil toneladas de grãos, com destaque para a soja, com previsão de produção de 90 mil toneladas, e o milho, com 78 mil toneladas (CONAB, 2013).

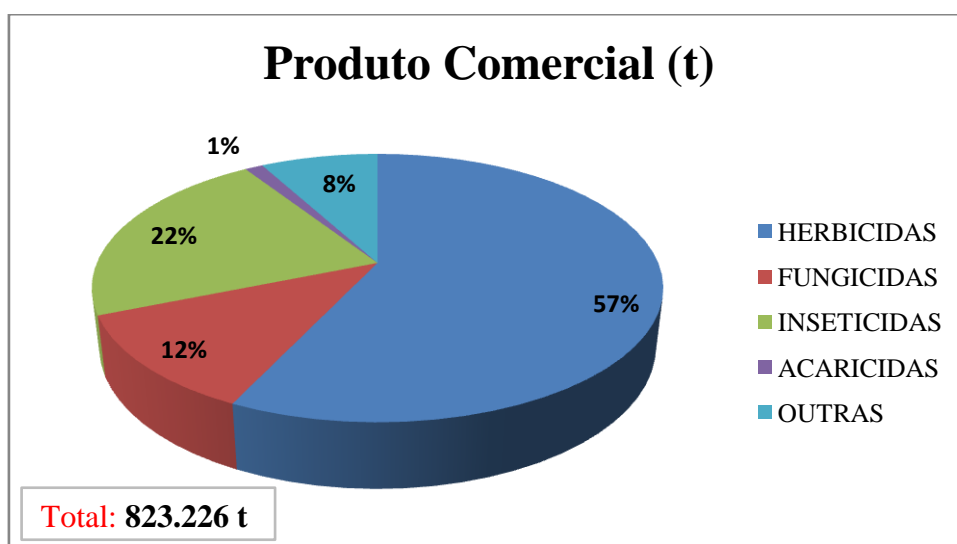
Segundo projeções do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) o setor agropecuário e florestal brasileiro no período de 2012/13 a 2022/23 permitirão abastecer anualmente um total de 200 milhões de brasileiros e gerar excedentes exportáveis para algo em torno de 200 países, sendo o saldo do mercado agrícola e pecuário interno forte e uma balança comercial que gera mais de 100 bilhões de dólares a cada ano.

O crescimento da produção agrícola deve continuar acontecendo com base na produtividade, ou seja, com maiores acréscimos na produção do que os acréscimos de área. O MAPA revelou que entre 2013 e 2023 a produção de grãos pode crescer entre 20 e 34%, enquanto que a área deverá expandir-se entre 8 e 21%. Essa projeção exemplifica o quadro de crescimento com base na produtividade, que remete a nova concepção do setor agrícola de sustentabilidade ambiental, com a otimização do uso das áreas disponíveis.

Ainda assim, em meio a essa nova visão preservacionista, o aumento na produtividade deve estar atrelado à forma com que se mantém a produção, principalmente com o uso de

tecnologias e insumos. Atender a demanda crescente da produção agrícola em campos cultivados sem o uso de novas áreas demanda ainda mais do uso de defensivos agrícolas, que são de grande eficiência no controle de pragas, doenças e plantas daninhas (ANDEF, 2013).

As importações brasileiras de defensivos agrícolas (princípios ativos e produtos intermediários) bateram recorde em 2012, cresceram 10% em relação a 2011(SINDIVEG, 2013). Não só as importações, mas o mercado interno de defensivos também está em expansão. Em 2012, as quantidades totais vendidas de defensivos agrícolas no Brasil cresceram quando comparadas com aquelas contabilizadas no ano anterior. Observou-se que, em termos de produto comercial, foram transacionadas 823.226 t, o que contabiliza um acréscimo de 12,7% em relação a 2011 (SINDIVEG, 2013). Dentre esses produtos, o que mais tem sido comercializado pertence à classe dos herbicidas, em torno de 57%, se tratando do produto comercial (Figura 1).



**Figura 1.** Dados da venda de defensivos agrícolas por classe no Brasil no ano de 2012 (SINDIVEG, 2013).

Os herbicidas são substâncias químicas que possuem a capacidade de controlar plantas não cultivadas que se desenvolvem concomitantemente com as culturas, e seu uso é o mais difundido entre os métodos de controle de plantas daninhas, devido á sua facilidade de aplicação, rapidez e melhor relação custo/benefício (BARBOSA, 2013). Parte dos herbicidas registrados para uso na agricultura apresenta atividade residual no solo, de média a longa, o que tem sido alvo de atenções maiores quando se trata do comportamento desses no meio ambiente.

Esse comportamento é importante quando se trata do uso onde o PTPI- Período Total de Prevenção da Interferência (PITELLI & DURIGAN, 1984) das plantas daninhas sobre as

culturas é longo. Isso porque, durante esse período a cultura deve ser mantida livre de plantas daninhas para não afetar a produção, e geralmente a cultura possui crescimento lento. Se nessa situação a opção for para herbicida sem efeito residual, que controla apenas as plantas daninhas já emergidas, o resultado será a necessidade de repetidas aplicações para manter a cultura livre da interferência durante todo período. Isso pode resultar em aumento de custos, dos danos às culturas e maior necessidade de equipamentos de aplicação (PROCÓPIO et al., 2009).

Assim, nessa situação, é desejável o uso de herbicidas de efeito residual no solo, a fim de promover a eficiência no controle de plantas daninhas e manter a qualidade da produção. Contudo, esses herbicidas, principalmente os de longo efeito residual, após o término do PTPI, onde a própria cultura por meio do sombreamento impede o desenvolvimento de plantas daninhas, se tornam indesejáveis no ambiente, pois podem provocar intoxicação em culturas sucessivas (*carryover*) e atingir aquíferos subterrâneos (BELO et al., 2007), além de percolar ao longo do perfil do solo (lixiviação) e/ou promover o escoamento superficial (*runoff*), contaminando os mananciais e corpos d'água (CORREIA & LANGENBACH, 2006; BORTOLUZZI et al., 2007). Ainda, podem promover a toxicidade em organismos não alvo (ROUSSEAU et al., 2003), como a microbiota do solo.

No ambiente, o comportamento dos herbicidas é determinado, principalmente, pelas propriedades físico-químicas da molécula; pelas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo e também pelas condições meteorológicas (BARBOSA, 2013). Além disso, o destino dessas moléculas também pode ser governado pelos processos de retenção (sorção, absorção e dessorção), de transformação (degradação química e biológica) e de transporte (deriva, volatilização, lixiviação e carreamento superficial), e as interações entre esses (SPADOTTO, 2006).

A lixiviação exerce influencia direta no potencial de contaminação ambiental pelos herbicidas (INOUE et al., 2003; BORTOLUZZI et al., 2007), e vai depender do tipo de solo, teor de matéria orgânica, saturação do solo, presença de plantas e regime de chuvas (BICALHO, 2007). No Brasil, pesquisas sobre lixiviação de herbicidas aplicados em áreas agrícolas e consequente contaminação de águas subterrâneas já foram relatadas (DE OLIVEIRA et al., 1999; DORES & DE-LAMONICA-FREIRE, 2001; PINHO et al., 2006). Atualmente trabalhos expressivos indicando níveis considerados de moléculas tóxicas lixiviáveis em mananciais e rios têm sido realizados (YUA et al., 2009; VONBERG et al., 2014; STEMPVOORT et al., 2014).

Entre os herbicidas que são potencialmente capazes de lixiviar no meio estão àqueles pertencentes ao grupo das triazinas. Entre eles está o atrazine, altamente persistente nos solos e de mobilidade considerada de moderada a alta em solos com pouco conteúdo de argila ou matéria orgânica (CERDEIRA et al., 2005), podendo o seu tempo de meia vida variar de 2 meses a 6 anos, dependendo das condições do meio (DE ÁVILA et al., 2009).

Há inúmeros relatos de casos de contaminação de lençóis freáticos pelo herbicida atrazina em várias partes do mundo. Cerejeira et al.(2003) monitoraram os níveis de herbicidas em águas superficiais e subterrâneas de regiões de Portugal no período de 1983 a 1999, e constataram que o atrazine foi o mais encontrado. No Brasil, são informados alguns casos na literatura de contaminação de águas superficiais e subterrâneas com esse herbicida (CERDEIRA et al., 2005; CORREIA & LANGENBACH, 2006; VASCONCELOS et al.,2008).

Uma das formulações comerciais do atrazine que tem sido bastante utilizada é o Primóleo®, herbicida seletivo à cultura do milho, recomendado para o controle na pós-emergência das plantas daninhas anuais, folhas largas e capim-marmelada nos sistemas de plantio direto e convencional (AGROFIT, 2013). Esse produto possui alta periculosidade ambiental, o que o torna passível de preocupações com relação ao seu lançamento no ambiente. O atrazine age no fotossistema II das plantas, como inibidor do transporte de elétrons na fotossíntese, ocasionando estresse oxidativo, o que permitirá a peroxidação dos lipídios das membranas, levando assim as plantas tratadas à morte (KRUSE et al., 2001).

Outro grupo de herbicidas, o dos auxínicos, ou hormonais, também apresenta potencial de lixiviação. Estes foram introduzidos na agricultura no final da década de 1940, sendo os primeiros herbicidas orgânicos seletivos para o controle de plantas daninhas e ainda hoje são intensivamente utilizados em culturas de arroz, milho, trigo, cana-de-açúcar e em pastagens (AGROFIT, 2013). Sendo hormonais ou mimetizadores de auxina, agem na planta interferindo na ação da enzima RNA-polimerase e, conseqüentemente, na síntese de ácidos nucléicos e proteínas, induzindo, assim, intensa proliferação celular em tecidos, causando epinastia de folhas e caule, devido ao estímulo da produção de etileno, além de interrupção do floema, impedindo o movimento dos fotoassimilados das folhas para o sistema radicular (MORELAND, 1980).

O 2,4D é um latifolicida que apresenta persistência moderada nos solos sendo algumas formulações menos adsorvidas, como as formulações aminas (JUNIOR et al., 2002). Essas formulações são mais propícias a serem lixiviadas para cursos d'água e acumularem metabólitos secundários no perfil do solo (D'ANTONINO et al.,2009). Segundo Primel et al.



(2005) o 2,4-D detêm baixo potencial de contaminação de águas superficiais, porém, apresenta potencial de contaminação de águas subterrâneas.

Nesse sentido, as pesquisas que se voltam para a busca de alternativas ao uso desses produtos, acompanhado de técnicas para acelerarem sua degradação no ambiente, constituem prioridades na área de sustentabilidade ambiental. A estimativa mundial para os gastos anuais com a despoluição ambiental gira em torno de 25-30 bilhões de dólares. Este mercado, que é estável nos Estados Unidos (7-8 bilhões), tende a crescer no Brasil (LOPES, 2010), uma vez que os investimentos para tratamento dos rejeitos agrícolas crescem à medida que aumentam as exigências da sociedade e das leis ambientais que são aplicadas no país.

A remediação de áreas contaminadas, tanto por poluentes orgânicos quanto por poluentes inorgânicos, envolve o uso de técnicas que podem promover a descontaminação, ainda que parcial, de uma área ou isolar o material contaminado de forma a evitar a dispersão dos poluentes (HUANG et al., 2005). Essas técnicas podem ocorrer *ex situ*, de forma a remover o contaminante da área, por transporte ou armazenamento, ou *in situ*, cujo solo e/ou água são tratados sem a remoção destes do local (MARQUES et al., 2011). Atualmente tem se optado pelas técnicas *in situ*, dada a importância de sua abordagem ambiental, que fornece menos riscos ao meio ambiente, além de serem menos dispendiosas e mais simples (NASCIMENTO & XING, 2006).

Dentre essas alternativas *in situ*, a fitorremediação tem sido uma das mais atraentes por prezar o uso de plantas e sua microbiota associada e por estar inserida dentro do contexto da biorremediação (PIRES et al., 2003). Trata-se de um processo que potencializa a biorremediação na superfície do solo e de corpos d'água pela sua capacidade de concentrar maior quantidade de poluentes nas raízes, assim como de aumentar em até duas ordens de grandeza a população microbiana rizosférica (BICALHO, 2007).

Esta técnica se torna ainda mais interessante e alvo de inúmeros estudos quando o contexto é o da descontaminação de produtos orgânicos, como os herbicidas, pois a degradação desses pode ser facilitada pela liberação de exudados radiculares que estimulam a atividade microbiana nas plantas (SANTOS et al., 2010; SOUTO et al., 2013).

De acordo com alguns autores (CUNNINGHAM et al., 1996; PIRES et al., 2005; GERHARDT et al., 2009; VIEIRA et al., 2011; CHEN et al., 2013) existem diferentes abordagens para a fitorremediação de compostos orgânicos com base na diferença do mecanismo remediador das plantas. Essas podem promover a absorção radicular direta do contaminante e subsequente acúmulo de metabólitos não-fitotóxicos ou degradação do composto nos tecidos das plantas (fitodegradação); podem, após absorverem e incorporarem o

poluente em seu tecido, tornar esses compostos voláteis (fitovolatização) e ainda os poluentes orgânicos podem ser degradados pelas enzimas e exudados liberados pelas plantas e que estimulam a mineralização desses compostos por micro-organismos associados (fitoestimulação/rizodegradação).

No caso particular de herbicidas lixiviáveis, como atrazine e 2,4-D, uma proposta ainda mais promissora é a rizofiltração, que consiste na adsorção ou precipitação do contaminante de um meio aquoso sobre as raízes (GRATÃO et al., 2005), por meio de espécies arbóreas desenvolvidas à jusante das áreas agrícolas, preferencialmente em barreiras próximas ou contidas nas matas ciliares.

O fato das matas ciliares situarem-se entre a área agrícola e a água de superfície proporcionam a este bioma, possivelmente, o papel de barreira física à contaminação por herbicidas (HUBBARD & LOWRANCE, 1994). O uso dessas faixas vegetadas, localizadas ao longo do perímetro da área cultivada ou das margens dos corpos d'água podem reduzir a velocidade do escoamento superficial, impedindo que as moléculas dos poluentes cheguem aos cursos d'água ou, ao menos, diminuindo a quantidade a eles chegada.

A análise do potencial de biodegradação de herbicidas na região de Orlandia-SP, entre os anos de 2003 e 2004, no transecto constituído de cana-de-açúcar contígua à mata ciliar jovem e antiga, resultou na informação de que as matas ciliares antigas, mais estabilizadas, funcionaram como faixa tampão reduzindo a contaminação por diuron e hexazinona movida pelo lençol d'água (BICALHO, 2007). Ainda segundo o autor da pesquisa, em ensaios de microcosmos com duas espécies arbóreas, *Cecropia hololeuca* Miq. e *Trema micrantha* Trécul, ambas típicas de ambientes ripários, simulando um lençol d'água contaminado com herbicidas, foi observado que a *Cecropia hololeuca* Miq., junto com sua microbiota associada, promoveu a mineralização expressiva do herbicida atrazine, enquanto que a *Trema micrantha* Trécul pode ser determinada como uma espécie bioindicadora desse produto no ambiente.

O estudo sobre a biodegradação de herbicidas por meio do uso de espécies florestais como faixas de contenção, a exemplo das matas ciliares, pode estar atrelado com a legislação, pertinente ao Código Florestal (Lei 12.651/12). As áreas de proteção permanentes (APP's) em zonas rurais funcionando como faixas marginais de cursos d'água naturais, podem exercer esse papel de minimizar a concentração de herbicidas, evitando a poluição de recursos hídricos, além de preservar a estabilidade geológica e a biodiversidade. No entanto, o desempenho da faixa na redução de poluentes depende também do tipo dos mesmos, da vegetação e da largura da referida faixa (LUDOVICE et al., 2003).

Em se tratando do uso de matas ciliares como faixas de retenção para herbicidas, a escolha da espécie arbórea é de fundamental importância. Caracterização da área; estimativa do tempo requerido para fitorremediação com base nas características da área e da espécie vegetal escolhida e o destino do contaminante e seus metabólitos no corpo da planta (MARQUES et al., 2011), são fatores relevantes nesses estudos.

É importante destacar ainda, com relação à escolha das espécies, que apesar da maioria dos testes avaliar plantas isoladas para essa finalidade, várias espécies podem ser usadas num mesmo local ao mesmo tempo ou em sucessão, para remover mais de um contaminante, uma vez que em áreas agrícolas vários herbicidas são utilizados (SILVA & MONQUEIRO, 2006).

O grande foco de pesquisas de fitorremediação no Brasil deve ser direcionado a fim de se explorar o potencial dos biomas brasileiros ricos em diversidade, como o Cerrado. Para a descontaminação de metais pesados, vários autores já identificaram espécies desse bioma com potencial fitorremediador, como o cedro (*Cedrela fissilis*), a timbaúva (*Enterolobium contortisiliquum*) e a caranana (*Echinocloa polystachya*) (SANTOS & NOVAK, 2013). Mas ainda são insipientes os estudos que mostrem a relação de espécies de árvores, principalmente de zonas ripárias, que sejam efetivas para servir o propósito de descontaminação de herbicidas em mananciais próximos a áreas de cultivo.

A influência da rizosfera dessas plantas também é um ponto importante a ser mencionado quando se fala em fitorremediação de herbicidas. É nessa região que ocorre um aumento da biomassa microbiana, pois as raízes afetam fisicamente o solo, aumentando a aeração e criando condições mais favoráveis aos micro-organismos. Esses são estimulados por meio da liberação de exudados radiculares (aminoácidos, carboidratos, ácidos orgânicos) e pela decomposição do material vegetal (ANDRADE et al., 2007; BICALHO, 2007).

Esse estímulo fornecido à 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 micro-organismos favorecidos por esta técnica promovem a decomposição dos contaminantes orgânicos, degradando suas moléculas e reduzindo a toxicidade (JONER & LEYVAL, 2003).

A relação entre plantas e micro-organismos é fundamental para o sucesso desse tipo de técnica remediadora, pois é grande a diversidade tanto de espécies vegetais quanto de micro-organismos capazes de interagir e de se adaptarem a condições adversas de contaminação, garantindo vantagens em relação a outros métodos de remediação (TAVARES, 2009).

Assim, o estudo da diversidade das comunidades microbianas e sua relação com o ambiente e com a rizosfera da planta associada é de grande importância para o entendimento da dinâmica da remediação. Alguns índices matemáticos como, o de diversidade de Shannon-Weaver e o de equitabilidade de Pielou, fornecem informações importantes acerca do padrão de distribuição de espécies microbianas dentro do ecossistema (KENNEDY, 1999), porém não muito complexas.

A extração de DNA total de amostras ambientais, com posterior amplificação e análise do material genético, tem sido uma das alternativas usadas para se alcançar dados de diversidade mais complexos (ZILLI et al., 2003). Dentre essas técnicas, pode-se citar a do T-RFLP (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism), que é tido como um método molecular quantitativo para análises rápidas de comunidades microbianas complexas (LIU et al., 1997). O uso de tal técnica é vantajoso, pois se obtém dados mais aproximados da abundância da população na comunidade microbiana, além de estimativas a cerca da diversidade filogenética das comunidades em diferentes ambientes (CAFFARO-FILHO et al., 2007). Portanto uma junção de conhecimentos se torna crucial para determinar com êxito quais espécies podem ser potenciais para remediação de solos contaminados com herbicidas.

### **3. OBJETIVOS**

#### ***3.1. Objetivo Geral***

Avaliar o potencial de espécies florestais para remediação de substrato contaminado com atrazine e 2,4-D.

#### ***3.2. Objetivos específicos***

- i) Definir escala de tolerância entre as espécies selecionadas a cada herbicida;
- ii) Avaliar a capacidade remediadora por meio da técnica do bioensaio;
- iii) Estimar por técnicas de avaliação genética, a diversidade microbiana da espécie promissora para a fitorremediação.

#### 4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação pertencente ao Grupo de Pesquisa Manejo Sustentável de Plantas Daninhas (MaSPD) da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM, em Diamantina-MG. As espécies vegetais nativas utilizadas foram adquiridas no Horto do Instituto Estadual de Florestas (IEF) de Diamantina-MG, com cerca de seis a oito meses de idade, em fase inicial de crescimento, com altura padronizada e número de folhas aproximado entre elas.

Foram avaliados 36 tratamentos compostos pela combinação das 12 espécies florestais [*Inga marginata* (ingá), *Schizolobium parahyba* (guapuruvu), *Handroanthus serratifolius* (ipê amarelo), *Jacaranda puberula* (carobinha), *Cedrela fissilis* (cedro), *Calophyllum brasiliensis* (landin), *Psidium mirsinoides* (goiabinha), *Tibouchina glandulosa* (quaresmeira), *Caesalpinia férrea* (pau-ferro), *Caesalpinia pluviosa* (sibipiruna), *Terminalia argêntea* (capitão) e *Schinopsis brasiliensis* (braúna)] e por três soluções simulando o composto lixiviado (atrazine, 2,4-D e água – controle), com quatro repetições cada tratamento, em delineamento em blocos ao acaso.

As espécies foram plantadas em vasos de polietileno com capacidade de 8 dm<sup>3</sup> e área de 0,0314 m<sup>2</sup>, contendo como substrato amostras de solo classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo, de textura argilo-arenosa, proveniente do campus da UFVJM, coletado em camada de 0-20 cm, em área não cultivada e que não havia histórico de contaminação por herbicidas.. A adubação foi feita conforme necessidade do solo, observada por meio da análise química (Tabela 1), que consistiu da aplicação de 8 Kg/m<sup>3</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> na forma de super fosfato simples, 0,8 Kg/m<sup>3</sup> de N em sulfato de amônio e 0,4 Kg/m<sup>2</sup> de K<sub>2</sub>O com o cloreto de potássio (CANTARUTTI et al, 2007).

**Tabela 1.** Caracterização físico-química e textural da amostra de solo utilizada no experimento

Análise Granulométrica (dag km <sup>-1</sup> )											
Areia		Silte		Argila		Classificação Textural					
38		6		56		Argiloso					
Análise Química											
pH	P	K <sup>+</sup>	Ca	Mg	H+Al	SB	t	T	m	V	M.O
(H <sub>2</sub> O)	mg /dm <sup>2</sup>		-----cmolc/dm <sup>3</sup> -----						---%---	---dag/kg---	
6,1	0,7	25	1,7	0,5	0	3,7	2,3	6	2	38	1

\* Análises realizadas no Laboratório de Fertilidade do Solo do Departamento de Agronomia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri- UFVJM. (MO – matéria orgânica; V- saturação por bases; m- saturação por alumínio; T- capacidade de troca de cátions a pH 7,0; t- capacidade de troca de cátions efetiva; SB- soma de bases).

A dose total proposta para os herbicidas foi fracionada em três aplicações com intervalos de 20 dias (aos 60, 80 e 100 dias após o plantio das mudas), sendo cada aplicação correspondente a metade da dose comercial da formulação Primóleo® ( $2,5 \text{ l ha}^{-1}$ ), o que corresponde a  $1,25 \text{ kg ha}^{-1}$  de atrazine, e metade da dose comercial da formulação DMA 806 BR® ( $0,5 \text{ l ha}^{-1}$ ) que corresponde a  $0,4 \text{ kg ha}^{-1}$  de 2,4-D. Esse fracionamento foi feito a fim de simular a lixiviação dos herbicidas a jusante da área de aplicação, uma vez que estes não alcançam o lençol freático em sua totalidade. As aplicações foram feitas por meio do uso de micropipetas com ajuste manual, de forma a direcionar as alíquotas diretamente em pratos de contenção de água colocados sob os vasos, com o intuito de simular a absorção de água pela raiz a partir de um lençol freático contaminado pelo herbicida (Figura 2). Para a irrigação durante toda a condução do experimento a água também foi depositada nos pratos de contenção, não ultrapassando sua capacidade de campo.



**Figura 2.** Foto do momento da aplicação da solução contendo o herbicida, realizada em três épocas (aos 60, 80 e 100 dias após o plantio das mudas) totalizando doses equivalentes a  $3,75 \text{ kg ha}^{-1}$  para atrazine e  $1,2 \text{ kg ha}^{-1}$  de 2,4-D.

Na primeira etapa do trabalho, avaliaram-se a tolerância das espécies vegetais aos herbicidas, características de crescimento e nutricional.

A tolerância das espécies aos herbicidas foi avaliada por meio da intoxicação visual, atribuindo-se notas de acordo com os sintomas visíveis na parte aérea das plantas, com escala variando de 0 a 100%, onde 0 era a ausência de quaisquer sintomas e 100 caracterizava a morte da planta (SBCPD, 1995). Foram realizadas três avaliações de intoxicação das espécies, sempre 14 dias após cada uma das três aplicações dos herbicidas.

Os resultados obtidos referentes à intoxicação foram submetidos à análise de variância sendo as médias, quando significativas, agrupadas segundo o critério Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro.

Aos 60 dias após a terceira aplicação dos herbicidas, foram avaliadas as características de crescimento: altura da planta (AP), medida com o auxílio de uma régua, desde o colo da planta até a inserção da última folha; o diâmetro do caule (DC), medido com o auxílio de um paquímetro a dois centímetros do nível do solo; o número de folhas (NF) e a área foliar (AF). Além disso, todo o material vegetal foi colhido, separado em raízes, caules e folha, foi posteriormente desidratado em estufa de circulação forçada de ar, a 65° C, até atingir massa constante para a determinação da massa seca. Para as medidas de peso seco foi empregada uma balança semi-analítica. Para a determinação da área foliar, foi realizada a digitalização do limbo em scanner de mesa acoplado ao computador, e analisadas com o auxílio de software de processamento de imagem e medição avançada ANATI QUANTI 2.0.

Os dados referentes às características de crescimento foram transformados em porcentagem em relação à testemunha, uma vez que se trata de espécies diferentes e, portanto com características de desenvolvimento distintas. Posteriormente procedeu-se a análise de variância sendo as médias, quando significativas, agrupadas segundo o critério Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro.

Para determinação dos teores de nutrientes nas folhas, as amostras foram submetidas ao processo de digestão sulfúrica, seguida pela destilação e titulação, no intuito de quantificar o teor de nitrogênio; e digestão nitroperclórica, sendo que a leitura do fósforo foi feita por colorimetria pelo método da vitamina C, com espectrofotômetro (BRAGA & DEFELIPO, 1974), e o potássio em fotometria de chama de acordo com Malavolta (1980). Para a interpretação dos resultados foi calculado o teor, conteúdo total e conteúdo relativo dos nutrientes na parte aérea das plantas. Procedeu-se com a análise de variância dos dados sendo as médias entre as espécies, quando significativas, agrupadas segundo critério de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro, e as médias entre os herbicidas foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na segunda etapa de avaliação do trabalho, foi determinada a capacidade fitorremediadora de cada espécie em questão, procurando verificar o nível de descontaminação a partir da primeira etapa trabalhando-se com plantas bioindicadoras. Além disso, foi confeccionada curva de dose resposta para estimar a relação entre a quantidade de herbicida aplicada e a intensidade dos efeitos observados (KRUSE et al., 2006).



As unidades experimentais que compunham os tratamentos da primeira etapa foram conservadas, mantendo assim o delineamento em blocos ao acaso com quatro repetições, inclusive os vasos sem planta. Foi retirada uma amostra de solo de cada vaso e imediatamente, estas foram resfriadas e mantidas a  $-20^{\circ}$  C para posterior análise de diversidade microbiana na terceira etapa do estudo.

O substrato contido em cada vaso foi revolvido até sua homogeneização, aproximadamente 27 dias após a retirada das espécies florestais. Em seguida cultivou-se pepino (*Cucumis sativus* (L.)), para indicação do resíduo de atrazine e 2,4-D. Aos 26 dias após a semeadura (DAS), fez-se a avaliação do grau de intoxicação dessas plantas pelo herbicida (atribuindo-se notas variando de 0, para ausência de intoxicação, a 100%, para morte da planta, segundo SBCPD, 1995). Foram consideradas também a altura e a massa seca total das plantas de pepino. Os dados referentes à intoxicação da espécie indicadora (pepino) foram submetidos à análise de regressão. Os dados referentes à massa seca total e altura foram submetidos à análise de variância sendo as médias entre as espécies, quando significativas, agrupadas segundo o critério Scott- Knott, a 5% de probabilidade de erro e as médias entre os herbicidas comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A curva dose-resposta foi ajustada para porcentagens de controle visual em relação à testemunha. O modelo matemático utilizado foi o log-logístico proposto por Seefeldt *et al.* (1995), sendo o mais utilizado na Europa pelos pesquisadores em Ciências das Plantas Daninhas (CHRISTOFFOLETI, 1999). O Bioensaio referente à curva de dose-resposta foi conduzido em casa de vegetação, utilizando amostras do mesmo solo empregado no experimento. As amostras com peso de 180g de substrato foram colocadas em copos plásticos com capacidade volumétrica de 300 ml.

Foram aplicadas diferentes doses crescentes para cada herbicida correspondentes a 10 frações da dose comercial de cada um deles,  $5 \text{ l ha}^{-1}$  para o atrazine e  $1 \text{ l ha}^{-1}$  para o 2,4-D. Aplicou-se o delineamento em blocos ao acaso com quatro repetições. Em seguida foi efetuada a semeadura do pepino. Aos 26 dias após a aplicação dos herbicidas, fez-se a avaliação visual dos sintomas de toxicidade das plantas de pepino, atribuindo-se notas de acordo com os sintomas visíveis na parte aérea das plantas, utilizando escala variando de 0 a 100%, onde 0 era a ausência de quaisquer sintomas e 100 caracterizava a morte da planta (SBCPD, 1995).

Na terceira etapa executaram-se as análises de estimativa da diversidade genética microbiana por meio da técnica do Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) para a espécie mais promissora, em seis amostras de substrato, a saber: solo sem

herbicida e sem planta; solo sem herbicida e cultivado; solo com 2,4-D e cultivado; solo com atrazine e cultivado; solo com 2,4-D e sem planta e solo com atrazine sem planta.

Para isso, o DNA total contido nas amostras de solo foi extraído e purificado com o auxílio do PowerSoil™ DNA Isolation Kit (MoBio Laboratories, Carlsbad, CA), seguindo o protocolo do fabricante com algumas modificações, que incluem a utilização de 0,5 g de solo para extração e adição de um passo de aquecimento a 70 °C no processo de lise. O DNA purificado foi verificado em gel de agarose a 0,8% em tampão TAE 1X e quantificado por fluorometria, utilizando o equipamento Qubit® 2,0 (Invitrogen™).

O T-RFLP *multiplex* foi realizado para comparar o perfil genético das comunidades de arqueas, bactérias e fungos simultaneamente (SINGH et al, 2006), entre as amostras, utilizando os oligonucleotídios iniciadores apresentados na tabela 2. O mix de PCR foi constituído de: tampão de reação a 1 X, MgCl<sub>2</sub> a 2 mM, dNTP's a 200 µM de cada desoxinucleotídeo, 20 µg de BSA, iniciador 63F (10 µM) a 200 nM, iniciador 1087R NED (10 µM) a 200 nM, iniciador ITS1F FAM (20 µM) a 400 nM, iniciador ITS4 (20 µM) a 400 nM, iniciador Ar3f (20 µM) a 400 nM, iniciador Ar927 R HEX (20 µM) a 400 nM, enzima Taq polimerase a 2,5 u, 2 µL de DNA molde e água Milli-Q® estéril para completar 50 µL de reação. A amplificação do DNA foi realizada em termociclador automático, conforme o seguinte programa: 5 min. a 95 °C, seguido de 30 ciclos consistindo de desnaturação (30 seg. a 95 °C), pareamento (1 min. a 55 °C) e extensão (1 min. a 72 °C), e finalmente um passo de extensão final (10 min. a 72 °C). O produto da amplificação (alíquota de 2 µL) foi verificado por meio de eletroforese em gel de agarose a 1,5 % em tampão TAE 1X.

Os produtos de amplificação marcados foram purificados com o auxílio do kit *Illustra GFX® PCR DNA and Gel Band Purification* (GE Healthcare) e em seguida eluídos em 40 µL de tampão de eluição. O produto da purificação foi submetido à clivagem enzimática em *master mix* constituído de 100-400 ng de produto da PCR purificado, 20 U de enzima de restrição *MspI* (Promega, Madison, Wis., USA), 0,2 µL de BSA acetilado, em um volume final de 20 µL (com água Milli-Q®). A clivagem foi conduzida em termociclador em um programa de 37 °C por 3 h, seguido de um período de inativação da enzima de 15 min. a 95 °C. Os produtos da clivagem foram precipitados e novamente ressuspensos em água Milli-Q®. Posteriormente, foram transferidos para placa de seqüenciamento, juntamente com o marcador de tamanho *ET550-R* (GE Healthcare) diluído em *Loading Solution* (Amersham Pharmacia Biotech). O *mix* na placa foi submetido à desnaturação a 95 °C por 5 min. e mantido no gelo até a corrida em seqüenciador automático *MegaBACE 1000 DNA Analysis*

*System* (Molecular Dynamics/GE Healthcare), utilizando o conjunto de filtros *Genotyping filter set 2*. As condições da corrida foram: tempo de injeção de 45 s., tensão de injeção de 3 kV, tempo de corrida de 75 min. e tensão de corrida de 10 kV

A análise dos dados obtidos foi realizada com o auxílio do programa *MegaBACE Fragment Profiler v 1.2* (Amersham Biosciences Corp.). Somente os picos com tamanhos entre 50 e 500 pb foram considerados, a fim de se evitar T-RF's causados por dímeros de iniciadores e obter fragmentos dentro da faixa linear do marcador de tamanho (SINGH & NAZARIES 2006). Para cada T-RF foi considerada uma unidade taxonômica operacional (UTO) distinta. A partir das planilhas organizadas foi realizada análise de ordenação – Análise de Componentes Principais (PCA) e análise de riqueza.

**Tabela 2.** Primers para amplificação dos grupos-alvo na comunidade microbiana utilizados para o PCR- T-RFLP multiplex.

Iniciador	Marcação	Seqüência de 5' para 3'	Gene alvo	Grupo	Referência
63f	-	AGGCCTAACACATGCAAGTC	16S rRNA	Bactéria	Marchesi et.al. (1998)
1087r	NED	[NED]-CTCGTTGCGGGACTTACCCC	16S rRNA	Bactéria	Hauben et al., (1997)
ITS1f	6-FAM	[6-FAM]- CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA	ITS (18S rRNA)	Fungi	Gardes & Bruns (1993)
ITS4	-	TCCTCCGCTTATTGATATGC	ITS (18S rRNA)	Fungi	White et al., (1990)
Ar3F	-	TTCCGGTTGATCCTGCCGGA	16S rRNA	Archaea	Giovannoni et al., (1988)
Ar927R	HEX	[HEX]-CCCGCCAATTCCTTTAAGTTTC	16S rRNA	Archaea	Jurgens et al., (1997)

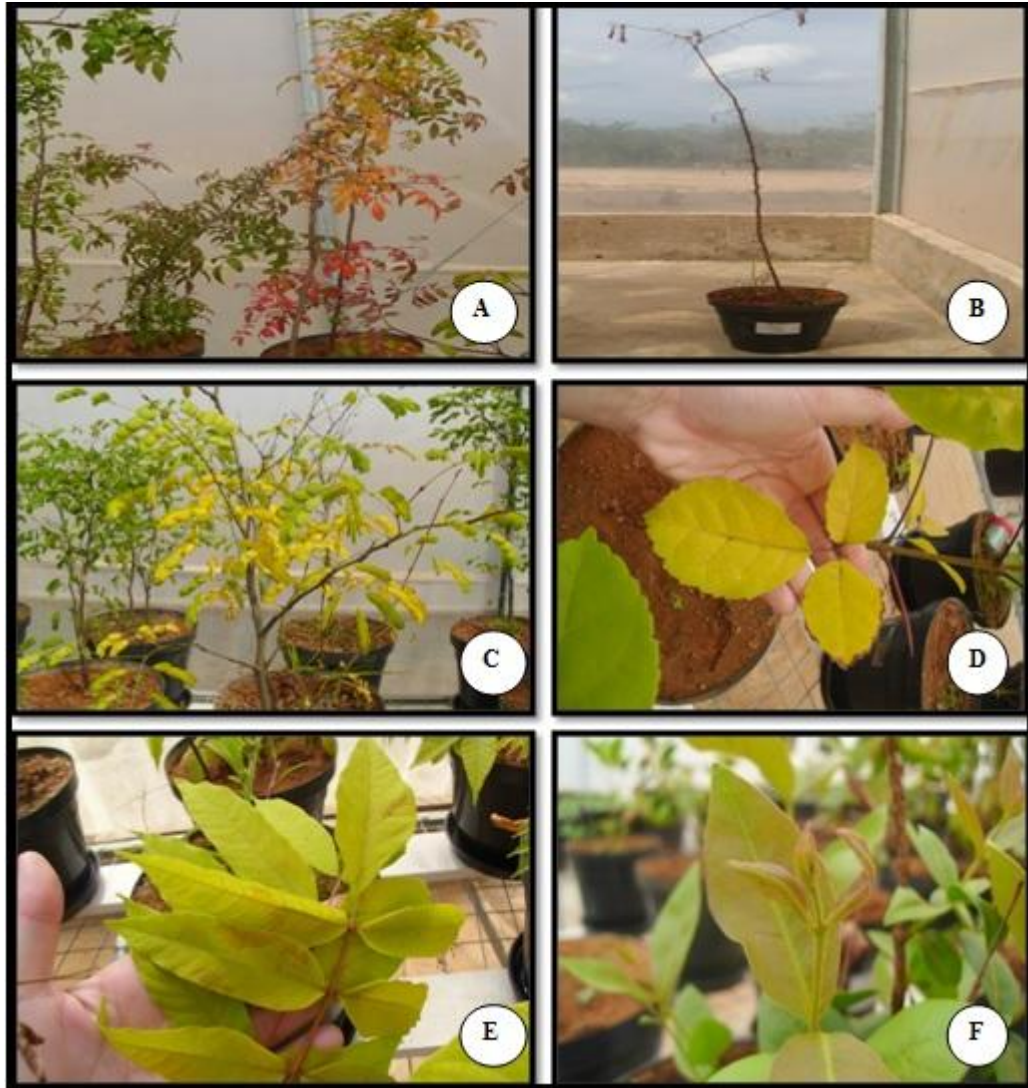
## 5. RESULTADOS

### 5.1. Tolerância e crescimento das espécies florestais aos herbicidas

Os resíduos do atrazine e 2,4-D no solo ocasionaram sintomas de intoxicação à maioria das espécies florestais estudadas (Figura 3 e 4). Um dos sintomas visíveis do atrazine é a clorose foliar, promovida devido a fotoxidação da clorofila. O 2,4-D, por ser um herbicida mimetizador de auxina, desregula o metabolismo da planta e assim ocorre o crescimento desordenado dos tecidos, provocando visivelmente a epinastia das folhas, encarquilhamento e o engrossamento das gemas terminais.



**Figura 3.** Sintomas de intoxicação visual provenientes do herbicida atrazine em algumas das espécies florestais estudadas. A- guapuruvu, B- ipê-amarelo, C- ingá, D- cedro, E – braúna, F- quaresmeira.



**Figura 4.** Sintomas de intoxicação visual provenientes do herbicida 2,4-D em algumas das espécies florestais estudadas. A e B- braúna, C- pau-ferro, D- ipê-amarelo, E – cedro, F- goiabinha.

Nas primeiras avaliações, aos 14 dias após a 1ª aplicação do herbicida atrazine, não foram constatadas diferenças significativas entre as espécies (Tabela 3). No entanto, 14 dias após a 2ª aplicação, as espécies ingá, guapuruvu, cedro, quaresmeira, braúna e ipê amarelo, apresentaram os primeiros sinais de intoxicação pelo herbicida. Estas permaneceram com estes sintomas até o momento da colheita, exceto a espécie ipê-amarelo e cedro, que avançaram seu quadro de intoxicação nas últimas avaliações, já na 3ª aplicação.

As mudas de carobinha, goiabinha, pau-ferro, sibipiruna apresentaram os menores valores de intoxicação ao atrazine. A espécie capitão mereceu destaque, pois foi a única a não apresentar sintoma algum, ao longo dos 60 dias de avaliações.

**Tabela 3.** Médias de intoxicação visual observadas em mudas de espécies florestais, aos 14 dias após cada uma das três aplicações do herbicida atrazine, correspondentes a 1,25 kg ha<sup>-1</sup>.

<b>Espécie</b>	<b>1ª Aplicação</b>	<b>2ª Aplicação</b>	<b>3ª Aplicação</b>
Ingá	7,6 a	14,0 b	19,4 b
Guapuruvu	5,3 a	23,3 b	30,3 b
Capitão	0,0 a	0,0 a	0,0 a
Quaresmeira	8,6 a	15,0 b	28,6 b
Carobinha	12,0 a	8,3 a	10,6 a
Cedro	10,0 a	15,3 b	45,0 c
Landim	1,6 a	0,0 a	17,0 b
Goiabinha	1,0 a	6,6 a	11,6 a
Pau-Ferro	5,0 a	9,3 a	0,0 a
Sibipiruna	5,6 a	6,3 a	9,3 a
Ipê amarelo	22,6 a	54,3 c	74,3 d
Braúna	3,0 a	16,6 b	19,3 b
<b>Média Geral</b>	<b>6,88</b>	<b>14,11</b>	<b>22,14</b>
<b>CV (%)</b>	<b>88,46</b>	<b>47,22</b>	<b>46,20</b>

\* Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si segundo critério de agrupamento de Scott Knott a 5% de probabilidade de erro.

Para o herbicida 2,4-D, logo nas primeiras avaliações, correspondentes ao período da 1ª aplicação, as espécies carobinha, cedro, sibipiruna e braúna, se mostraram mais sensíveis com médias superiores de intoxicação (Tabela 4). A partir das avaliações seguintes, aos 80 dias após o plantio das mudas, as espécies ingá e ipê amarelo, que anteriormente não apresentaram sintomas significativos, se mostraram sensíveis ao herbicida com um aumento, em média, de 65% na avaliação visual. Assim como estas espécies, o pau-ferro também se mostrou mais sensível, apresentando o dobro de intoxicação em relação à avaliação anterior. A carobinha, que inicialmente apresentou sintomas significativos, obteve uma melhora com relação à observação visual de intoxicação, e depois, aos 60 dias de avaliações, voltou a apresentar os sintomas de forma mais severa.

Após a 3ª aplicação do 2,4-D, as espécies guapuruvu, ipê amarelo, carobinha e goiabinha apresentaram sintomas de intoxicação visual semelhantes. As espécies pau-ferro e braúna foram as que apresentaram maiores índices de intoxicação de 2,4-D. O ingá e a sibipiruna apresentaram uma melhora em seus sintomas, mostrando certa capacidade em se recuperar da ação deste herbicida no meio. O landim não apresentou sintomas nas duas primeiras avaliações de intoxicação, apenas na 3ª aplicação os sintomas apareceram, mesmo assim não muito severos. Assim como o landim, as plantas de quaresmeira e capitão

apresentaram o mesmo tipo de comportamento quanto aos sintomas de intoxicação, não se mostrando sensíveis durante o período de avaliações (Tabela 4).

**Tabela 4.** Médias de intoxicação visual observadas em mudas de espécies florestais, aos 14 dias após cada uma das três aplicações do herbicida 2,4-D, correspondentes a 0,4 kg ha<sup>-1</sup>

<b>Espécie</b>	<b>1ª Aplicação</b>	<b>2ª Aplicação</b>	<b>3ª Aplicação</b>
Ingá	4,0 a	10,6 b	7,3 a
Guapuruvu	3,6 a	7,0 a	15,0 b
Capitão	6,0 a	5,0 a	0,0 a
Quaresmeira	3,0 a	3,3 a	4,3 a
Carobinha	14,0 b	8,6 a	19,3 b
Cedro	14,0 b	20,0 b	49,6 c
Landim	0,0 a	0,0 a	7,3 a
Goiabinha	3,0 a	4,6 a	26,0 b
Pau-Ferro	4,6 a	38,3 c	81,6 d
Sibipiruna	9,3 b	13,0 b	9,3 a
Ipê amarelo	4,6 a	14,3 b	24,6 b
Braúna	18,3 b	35,0 c	69,3 d
<b>Média Geral</b>	<b>7,08</b>	<b>13,33</b>	<b>26,16</b>
<b>CV (%)</b>	<b>77,24</b>	<b>32,52</b>	<b>30,76</b>

\* Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si segundo critério de agrupamento de Scott Knott a 5% de probabilidade de erro.

A variável AP das espécies, quando comparadas entre os dois herbicidas, não apresentou diferenças significativas, exceto para o ipê-amarelo, que apresentou altura 29% inferior sob efeito do 2,4-D (Tabela 5).

Avaliando o comportamento das espécies sob efeito do atrazine, nota-se que a altura da planta da maioria das espécies foi moderadamente menor a, em média, 15%, se comparado as suas respectivas testemunhas (100%). No entanto, as espécies ingá, ipê amarelo, carobinha, landim e pau-ferro apresentaram incremento significativo ( $p < 0,05$ ) de 9%, em média (Tabela 5). Já sob efeito do 2,4-D apenas duas espécies obtiveram incremento significativo, que foram o ingá (22,15%) e carobinha (14,75%). As demais espécies apresentaram uma menor AP, em média de 14% (Tabela 5).

Para a variável DC, não foi constatada diferenças significativas se comparado ao comportamento de cada espécie com os dois herbicidas (Tabela 5). Para o tratamento com atrazine, a maioria das plantas apresentou menor valor de DC, em média de 18,4%, se comparadas às suas respectivas testemunhas. As plantas de guapuruvu, carobinha, pau-ferro e sibipiruna apresentaram incremento em DC, de 9% em média.

Sob efeito do 2,4-D as espécies braúna, pau-ferro, goiabinha, landim, cedro e ipê amarelo, apresentaram menor DC, em torno de 18% (Tabela 5). Todavia, algumas plantas



também apresentaram incremento significativo, como o foi o caso do guapuruvu (9,6%), carobinha (4,97%), quaresmeira (6,48%) e sibipiruna (25,01 %).

**Tabela 5.** Altura de planta (AP %) e diâmetro do caule (DC %), de espécies florestais submetidas à aplicação dos herbicidas atrazine e 2,4-D comparadas a sua respectiva testemunha (100%)

Espécie	AP (%)		DC (%)	
	Atrazine	2,4-D	Atrazine	2,4-D
Ingá	102,18 aA	122,15 aA	98,00 aA	98,13 aA
Guapuruvu	87,07 bA	84,91 bA	109,25 aA	109,67 aA
Capitão	67,71 bA	77,88 bA	94,54 bA	96,66 aA
Quaresmeira	91,76 bA	98,62 bA	80,90 bA	106,48 aA
Carobinha	120,23 aA	114,75 aA	109,66 aA	104,97 aA
Cedro	80,36 bA	85,05 bA	80,63 bA	78,30 bA
Landim	100,89 aA	100,75 bA	70,36 bA	86,16 bA
Goiabinha	92,94 bA	83,97 bA	76,59 bA	91,55 bA
Pau-Ferro	108,35 aA	93,54 bA	111,00 aA	87,61 bA
Sibipiruna	92,33 bA	95,25 bA	106,67 aA	125,01 aA
Ipê amarelo	112,65 aA	83,18 bB	82,37 bA	80,14 bA
Braúna	82,65 bA	75,96 bA	89,73 bA	70,26 bA
<b>CV (%)</b>	<b>20,52</b>		<b>21,19</b>	

\* Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si segundo critério de agrupamento de Scott Knott a 5% de probabilidade de erro. Na linha para cada variável, médias com mesma letra maiúscula, não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade de erro.

A característica NF variou entre plantas sob ação dos herbicidas (Tabela 6). Sob efeito do atrazine, 50% das espécies apresentaram incremento no NF, com destaque para a carobinha e o pau-ferro que apresentaram um aumento superior à 100% em relação às suas testemunhas. As demais espécies apresentaram menor valor, em média de 49%. Em contrapartida, a menor produção de AF foi marcante em quase todas as espécies submetidas a ação do atrazine, sendo de 18% a 78% a menos.

Já sob efeito do 2,4-D, a maioria das espécies apresentou menores valores para NF, sendo em média de 36% para as menos afetadas e 95% para as mais afetadas. As espécies cedro, goiabinha, quaresmeira e sibipiruna obtiveram incremento médio no NF de 22% (Tabela 6). A carobinha mereceu destaque pelo seu elevado incremento, cerca de 260% em relação a sua testemunha. Assim como o NF o parâmetro AF também foi significativamente menor para quase todas as espécies quando submetidas ao 2,4-D. A exceção foi a espécie guapuruvu com valor de AF de 56% superior àquele observado para a testemunha.



**Tabela 6.** Número de folhas (NF %) e área foliar (AF %) de espécies florestais submetidas à aplicação dos herbicidas atrazine e 2,4-D comparadas a sua respectiva testemunha (100%)

Espécie	NF (%)		AF (%)	
	Atrazine	2,4D	Atrazine	2,4D
Ingá	127,64 cA	69,92 cB	81,54 bA	90,15 bA
Guapuruvu	66,66 dA	58,33 cA	132,36 aA	156,02 aA
Capitão	48,78 dA	69,51 cA	97,49 bA	87,14 bA
Quaresmeira	80,00 cA	111,37 bA	77,57 bA	91,76 bA
Carobinha	216,67 aB	366,66 aA	101,00 bA	47,18 cB
Cedro	32,00 dB	144,00 bA	80,66 bA	69,96 bA
Landim	54,07 dA	61,63 cA	31,11 cA	30,33 cA
Goiabinha	145,09 bA	120,65 bA	65,83 bA	72,63 bA
Pau-Ferro	237,43 aA	5,02 dB	90,89 bA	90,89 bA
Sibipiruna	108,69 cA	115,22 bA	19,04 cA	9,77 cA
Ipê amarelo	28,57 dA	60,71 cA	16,98 cA	41,21 cA
Braúna	107,09 cA	9,65 dB	82,03 bA	104,14 bA
<b>CV (%)</b>	<b>38,30</b>		<b>32,96</b>	

\* Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si segundo critério de agrupamento de Scott Knott a 5% de probabilidade de erro. Na linha para cada variável, médias com mesma letra maiúscula, não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade de erro.

Quanto à biomassa seca das folhas (MSF), sob ação do atrazine, todas as espécies apresentaram menor valor, em média de 40%, sendo as mais afetadas o ipê amarelo (92%) e o cedro (78%). Sob ação do 2,4-D a espécie mais afetada foi a braúna, resultante da perda total das folhas (Tabela 7). As espécies afetadas negativamente apresentaram menor valor para biomassa da parte aérea, variando de 33 a 70%.

A variável MSC apresentou diferenças significativas entre os dois herbicidas, para as espécies: landim, quaresmeira, pau-ferro e sibipiruna (Tabela 7). Sob ação do atrazine observou-se valor 75% menor para o cedro. Ingá, guapuruvu e pau-ferro, apresentaram incrementos significativos ( $p < 0,05$ ) em MSC, de 19%, 21% e 32%, respectivamente. A aplicação de 2,4-D também não permitiu acúmulo satisfatório de MSC ao cedro, com valor 75% menor. Ingá e guapuruvu apresentaram incrementos, de 11 e 7 %, respectivamente, indicando o potencial destas espécies na tolerância a esses dois herbicidas.

**Tabela 7.** Massa seca de folhas (MSF) e Massa seca de caule (MSC) de espécies florestais submetidas à aplicação dos herbicidas atrazine e 2,4-D comparadas a sua respectiva testemunha (100%)

Espécie	MSF (%)		MSC (%)	
	Atrazine	2,4-D	Atrazine	2,4-D
Ingá	82,13 aA	94,60 aA	119,76 aA	111,80 aA
Guapuruvu	49,12 bA	72,51 bA	121,97 aA	107,11 aA
Capitão	81,46 aB	117,41 aA	56,15 cA	67,56 bA
Quaresmeira	66,90 aB	101,74 aA	51,46 cB	119,13 aA
Carobinha	89,43 aA	62,90 bA	90,47 bA	77,77 bA
Cedro	22,10 cA	33,67 cA	25,55 cA	25,55 bA
Landim	72,16 aA	92,16 aA	45,43 cB	82,65 aA
Goiabinha	42,40 bA	65,66 bA	54,78 cA	53,31 bA
Pau-Ferro	54,43 bA	12,53 dB	132,32 aA	55,61 bB
Sibipiruna	81,31 aA	92,44 aA	59,95 cB	95,28 aA
Ipê amarelo	8,77 cB	44,68 cA	57,69 cA	61,53 bA
Braúna	82,05 aA	00,00 dB	91,73 bA	62,32 bA
<b>CV (%)</b>	<b>37,40</b>		<b>31,25</b>	

\* Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si segundo critério de agrupamento de Scott Knott a 5% de probabilidade de erro. Na linha para cada variável, médias com mesma letra maiúscula, não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade de erro.

Em relação à MSR, observou-se que as espécies apresentaram comportamento diversificado sob a ação dos herbicidas (Tabela 8). Ingá e carobinha obtiveram incremento em ambos os tratamentos. Quaresmeira e capitão apresentaram menor valor de MSR sob ação do atrazine, porém mostraram incremento com 2,4-D. Ao contrário dessas últimas espécies, o pau-ferro e a braúna apresentaram o inverso, com incremento para o tratamento com atrazine e menor valor sob ação do 2,4-D. As demais espécies avaliadas mostraram menor valor de MSR de forma similar sob ação dos dois herbicidas.

As alterações em relação à biomassa supracitadas determinaram modificações da massa seca total (MST), observando um incremento médio das espécies ingá, carobinha e pau-ferro de 7,54% quando sob ação do atrazine e de 8% para as espécies ingá e quaresmeira, sob ação do 2,4-D (Tabela 8). Para as demais espécies os valores de MST foram menores em 52%, sob ação do atrazine e 32%, sob ação do 2,4-D.

**Tabela 8.** Massa seca de raiz (MSR) e Massa seca total (MST) de espécies florestais submetidas à aplicação dos herbicidas atrazine e 2,4-D comparadas a sua respectiva testemunha (100%)

ESPÉCIE	MSR (%)		MST (%)	
	Atrazine	2,4-D	Atrazine	2,4-D
Ingá	108,95 bA	111,87 aA	103,61 aA	106,09 aA
Guapuruvu	98,74 bA	89,46 aA	81,61 aA	89,69 aA
Capitão	89,24 bB	135,88 aA	75,62 aA	90,28 aA
Quaresmeira	53,30 cB	110,98 aA	57,22 bB	110,62 aA
Carobinha	142,24 aA	124,49 aA	107,38 aA	88,39 aA
Cedro	46,55 cA	48,27 bA	31,40 cA	35,83 bA
Landim	45,53 cA	79,41 bA	54,37 bA	84,74 aA
Goiabinha	63,00 cA	65,41 bA	53,39 bA	61,46 bA
Pau-Ferro	148,18 aA	42,05 bB	111,64 aA	36,73 bB
Sibipiruna	68,85 cA	104,93 aA	70,04 bA	97,55 aA
Ipê amarelo	23,06 cA	59,10 bA	29,84 cA	55,11 bA
Braúna	104,56 bA	50,10 bB	92,78 aA	46,88 bB
<b>CV (%)</b>	<b>32,68</b>		<b>29,44</b>	

\* Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si segundo critério de agrupamento de Scott Knott a 5% de probabilidade de erro. Na linha para cada variável, médias com mesma letra maiúscula, não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade de erro.

O teor de N na parte aérea das espécies florestais (Tabela 9), ou seja, a quantidade de nitrogênio por biomassa, não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos exceto para o landim (que apresentou maior teor de N para o tratamento submetido ao atrazine) e pau-ferro (cujo teor de N foi maior no tratamento com 2,4-D). Quanto à variação entre as espécies, as mudas de ingá, guapuruvu, carobinha e cedro apresentaram os maiores teores de N no tratamento controle, em média de 1,83 dag/kg, considerado adequado para espécies arbóreas (MALAVOLTA, 1980), enquanto que as demais apresentaram em média 0,81dag/kg.

As espécies guapuruvu, landim, goiabinha e capitão apresentaram maior teor de P quando submetidas ao atrazine (Tabela 9). Já o ipê amarelo apresentou menor teor de P sob ação do atrazine e a braúna obteve menor teor de P sob ação do 2,4-D. As demais espécies não apresentaram variação do teor de P. Quanto à variação observada entre as espécies, no tratamento controle a espécie capitão obteve destaque no teor de P, com 5,3 dag/kg, enquanto as demais se mantiveram num mesmo grupo.

O teor de K encontrado nas espécies florestais foi superior ao valor médio relatado na literatura (Tabela 9). Diferenças significativas foram encontradas entre os tratamentos quanto ao teor de K para algumas espécies. Guapuruvu, landim, quaresmeira e sibipiruna apresentaram o maior teor K no tratamento quando submetidas ao atrazine. O pau-ferro mostrou maior teor desse nutriente sob ação do 2,4-D. Ipê amarelo obteve maior teor no tratamento controle sendo que a redução desse nutriente foi significativa no tratamento com

atrazine. A braúna obteve maior teor de K no tratamento sob ação do atrazine, que não diferiu do tratamento controle, e apresentou redução significativa no tratamento com 2,4-D.

**Tabela 9.** Teor de macronutrientes (dag/kg) na parte aérea de espécies florestais, cultivadas em vasos, sob o efeito da absorção dos herbicidas Atrazine e 2,4-D, e sem o efeito (Controle)

Espécies	Teor de N (dag/kg)		
	Controle	atrazine	2,4-D
Ingá	2,27 aA	2,35 aA	2,76 bA
Guapuruvu	1,63 aA	2,12 aA	1,56 cA
Capitão	0,87 bA	1,06 bA	0,76 cA
Quaresmeira	0,90 bA	1,22 bA	0,97 cA
Carobinha	1,64 aA	1,78 aA	1,74 cA
Cedro	1,81 aA	2,29 aA	1,24 cA
Landim	0,79 bB	1,92 aA	1,01 cB
Goiabinha	0,45 bA	1,16 bA	0,80 cA
Pau-Ferro	1,08 bB	1,13 bB	3,69 aA
Sibipiruna	1,18 bA	1,62 aA	1,19 cA
Ipê amarelo	1,30 bA	2,02 aA	1,48 cA
Braúna	0,41 bA	0,84 bA	0,31 cA
<b>CV(%)</b>	<b>42,04</b>		
Espécies	Teor de P (dag/kg)		
	Controle	atrazine	2,4-D
Ingá	1,48 bA	1,69 cA	2,30 cA
Guapuruvu	1,05 bB	3,83 bA	1,60 cB
Capitão	5,30 aB	6,23 aA	4,58 aB
Quaresmeira	1,49 bA	2,51 cA	1,43 cA
Carobinha	2,48 bA	1,33 cA	1,44 cA
Cedro	2,60 bA	3,07 bA	2,95 bA
Landim	1,05 bB	2,87 bA	1,05 cB
Goiabinha	1,78 bB	3,55 bA	3,89 aB
Pau-Ferro	1,30 bA	1,68 cA	0,91 cA
Sibipiruna	2,12 bA	3,45 bA	3,09 bA
Ipê amarelo	2,23 bA	0,72 cB	2,12 cA
Braúna	1,99 bA	2,77 bA	0,43 cB
<b>CV(%)</b>	<b>35,40</b>		
Espécies	Teor de K (dag/kg)		
	Controle	atrazine	2,4-D
Ingá	9,39 cA	8,21 cA	7,71 cA
Guapuruvu	8,21 cB	19,87 aA	8,97 cB
Capitão	7,12 cA	8,30 cA	7,21 cA
Quaresmeira	9,39 cB	14,17 bA	9,39 cB
Carobinha	11,82 cA	9,72 cA	12,88 bA
Cedro	13,75 bA	13,46 bA	11,20 bA
Landim	7,54 cB	17,94 aA	7,37 cB
Goiabinha	11,15 cB	18,61 aA	17,33 aA
Pau-Ferro	7,96 cB	8,13 cB	17,88 aA
Sibipiruna	9,47 cB	15,00 bA	11,48 bB
Ipê amarelo	18,69 aA	5,03 cC	13,66 bB
Braúna	7,21 cA	7,36 cA	1,92 dB
<b>CV(%)</b>	<b>25,16</b>		

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

Com relação ao conteúdo total de N (Tabela 10), observaram-se diferenças significativas entre os tratamentos apenas para as espécies carobinha, sibipiruna e capitão. Nas duas primeiras a aplicação dos herbicidas provocou diminuição no acúmulo de N, o que diverge da última espécie, que apresentou maior acúmulo de N no tratamento com atrazine. Quanto à variação entre as espécies, o ingá apresentou maior acúmulo de N nos tratamentos com atrazine e com 2,4D.

Carobinha e braúna apresentaram menor acúmulo de P nos tratamentos sujeitos à ação dos herbicidas (Tabela 10). O capitão apresentou maior acúmulo de P nos tratamentos com herbicida e as demais, não diferiram quanto ao conteúdo total desse nutriente. Observou-se que, entre as espécies, capitão apresentou o maior acúmulo de P nos tratamentos com atrazine e 2,4-D.

As espécies carobinha, sibipiruna e braúna apresentaram menor acúmulo de K nos tratamentos com os herbicidas (Tabela 10). Ipê amarelo mostrou menor acúmulo de K quando submetido à ação do atrazine. Capitão apresentou maior acúmulo desse nutriente nos tratamentos com os herbicidas. As demais não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos.

**Tabela 10.** Conteúdo Total (mg/ planta) de macronutrientes da parte aérea de espécies florestais, cultivadas em vasos, sob o efeito da absorção dos herbicidas atrazine e 2,4-D, e sem o efeito (Controle)

Espécies	Conteúdo Total de N (mg/planta)		
	Controle	atrazine	2,4-D
Ingá	130,0 aA	120,0 aA	150,0 aA
Guapuruvu	60,0 bA	40,0 bA	40,0 bA
Capitão	10,0 cB	40,0 bA	30,0 bB
Quaresmeira	10,0 cA	10,0 cA	10,0 bA
Carobinha	60,0 bA	30,0 bB	20,0 bB
Cedro	40,0 cA	30,0 bA	20,0 bA
Landim	10,0 cA	30,0 bA	20,0 bA
Goiabinha	10,0 cA	10,0cA	10,0 bA
Pau-Ferro	20,0 cA	10,0 cA	20,0 bA
Sibipiruna	60,0 bA	20,0 bB	20,0 bB
Ipê amarelo	30,0 cA	10,0 cA	20,0 bA
Braúna	20,0 cA	10,0 cA	10,0 bA
<b>CV(%)</b>	<b>64,62</b>		
Espécies	Conteúdo Total de P (mg/planta)		
	Controle	atrazine	2,4-D
Ingá	80,0 aA	80,0 bA	130,0 bA
Guapuruvu	40,0 bA	80,0 bA	40,0 cA
Capitão	30,0 bB	240,0 aA	220,0 aA
Quaresmeira	10,0 bA	20,0 cA	10,0 cA
Carobinha	80,0 aA	20,0 cB	10,0 cB
Cedro	70,0 aA	50,0 bA	40,0 cA
Landim	10,0 bA	40,0 bA	20,0 cA
Goiabinha	20,0 bA	20,0 cA	40,0 cA
Pau-Ferro	20,0 bA	10,0 cA	0,00 cA
Sibipiruna	10,0 aA	50,0 bA	50,0 cA
Ipê amarelo	40,0 bA	10,0 cA	30,0 cA
Braúna	80,0 aA	10,0 cB	10,0 cB
<b>CV(%)</b>	<b>75,72</b>		
Espécies	Conteúdo Total de K (mg/planta)		
	Controle	atrazine	2,4-D
Ingá	590,0 aA	430,0 aA	440,0 aA
Guapuruvu	320,0 bA	400,0 aA	220,0 bA
Capitão	50,0 cB	300,0 aA	270,0 aA
Quaresmeira	90,0 cA	110,0 bA	110,0 bA
Carobinha	410,0 bA	180,0 bB	170,0 bB
Cedro	360,0 bA	250,0 aA	170,0 bA
Landim	120,0 cA	310,0 aA	160,0 bA
Goiabinha	130,0 cA	120,0 bA	160,0 bA
Pau-Ferro	140,0 cA	40,0 bA	90,0 bA
Sibipiruna	440,0 bA	220,0 aB	200,0 bB
Ipê amarelo	360,0 bA	20,0 bB	230,0 bA
Braúna	310,0 bA	40,0 bB	10,0 bB
<b>CV(%)</b>	<b>55,15</b>		

\* Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si segundo critério de agrupamento de Scott Knott a 5% de probabilidade de erro. Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

O conteúdo relativo de macronutrientes (Tabela 11) mostrou que a maioria das espécies apresentou incrementos em N, P e K em relação às suas testemunhas, fato este

interessante uma vez que estas mudas foram submetidas á ação de herbicidas e mesmo assim obtiveram melhor aproveitamento nutricional.

**Tabela 11.** Conteúdo Relativo de macronutrientes da parte aérea de espécies florestais, cultivadas em vasos, sob o efeito da absorção dos herbicidas atrazine e 2,4-D, em relação ao controle

Espécies	Conteúdo Relativo de N	
	atrazine	2,4-D
Ingá	1,03 bA	1,20 bA
Guapuruvu	1,59 bA	1,07 bA
Capitão	1,22 bA	0,86 bA
Quaresmeira	1,34 bA	1,08 bA
Carobinha	1,17 bA	1,15 bA
Cedro	1,44 bA	0,73 bA
Landim	2,52 aA	1,26 bA
Goiabinha	2,84 aA	2,07 bA
Pau-Ferro	1,14 bB	4,06 aA
Sibipiruna	1,36 bA	1,02 bA
Ipê amarelo	1,60 bA	1,16 bA
Braúna	2,11 aA	0,63 bB
<b>CV(%)</b>	<b>59,02</b>	
	Conteúdo Relativo de P	
	atrazine	2,4-D
Ingá	1,23 bA	1,70 aA
Guapuruvu	3,69 aA	1,52 aB
Capitão	1,18 bA	1,18 bA
Quaresmeira	1,66 bA	1,03 bA
Carobinha	0,58 cA	0,66 bA
Cedro	1,51 bA	1,22 bA
Landim	2,88 aA	0,98 bB
Goiabinha	1,95 bA	2,30 aA
Pau-Ferro	1,45 bA	0,78 bA
Sibipiruna	1,81 bA	1,74 aA
Ipê amarelo	0,33 cA	0,98 bA
Braúna	1,58 bA	0,14 bB
<b>CV(%)</b>	<b>46,74</b>	
	Conteúdo Relativo de K	
	atrazine	2,4-D
Ingá	0,87 cA	0,84 aA
Guapuruvu	2,55 aA	1,14 aB
Capitão	1,19 cA	1,07 aA
Quaresmeira	1,52 bA	0,98 aA
Carobinha	0,83 cA	1,14 aA
Cedro	1,03 cA	0,83 aA
Landim	2,41 aA	1,00 aB
Goiabinha	1,67 bA	1,56 bA
Pau-Ferro	1,04 cB	2,28 aA
Sibipiruna	1,70 bA	1,31 aA
Ipê amarelo	0,27 dA	0,74 aA
Braúna	1,03 cA	0,32 aB
<b>CV(%)</b>	<b>34,38</b>	

\* Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si segundo critério de agrupamento de Scott Knott a 5% de probabilidade de erro. Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

## 5.2. Avaliação da capacidade remediadora das espécies florestais

O crescimento de plantas de pepino no substrato previamente cultivado com as espécies florestais foi uniforme quanto à altura de plantas para a maioria dos tratamentos. A exceção foi observada para as plantas com cultivo prévio das espécies goiabinha e quaresmeira, sob efeito do atrazine (Tabela 12).

**Tabela 12.** Valores médios de altura (Alt.) de pepino aos 26 dias após a semeadura, cultivadas em solo com e sem aplicação de atrazine e 2,4-D, previamente cultivados ou não com espécies florestais.

<b>Solo cultivado com:</b>	<b>Alt. Controle</b>	<b>Alt. Atrazine</b>	<b>Alt. 2,4-D</b>
Ingá	6,43 Aa	6,03 Ab	6,97 Aa
Guapuruvu	8,43 Aa	8,72 Aa	7,25 Aa
Capitão	5,56 Aa	6,51 Ab	7,38 Aa
Quaresmeira	5,92 Ba	8,25 Aa	5,72 Ba
Carobinha	6,41 Aa	6,56 Ab	6,28 Aa
Cedro	5,72 Aa	6,35 Ab	6,13 Aa
Landim	5,91 Aa	5,71 Ab	5,97 Aa
Goiabinha	7,16 Ba	8,88 Aa	5,72 Ba
Pau-Ferro	6,50 Aa	6,75 Ab	6,93 Aa
Sibipiruna	6,60 Aa	7,56 Aa	6,50 Aa
Ipê amarelo	6,40 Aa	6,15 Ab	5,50 Aa
Braúna	5,31 Aa	4,90 Ab	4,32 Aa
Sem cultivo prévio	5,93 Aa	4,31 Aa	4,88 Aa
<b>CV</b>	<b>25,23</b>		

\* Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si segundo critério de agrupamento de Scott Knott a 5% de probabilidade de erro e médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A massa seca das plantas de pepino não foi alterada em função dos tratamentos, sendo o valor médio das plantas de 0,87g. Dessa forma, pode-se afirmar que a massa seca dessas plantas não representa estimativa de resíduo dos herbicidas atrazine e 2,4-D, na dose aplicada e no tempo passado até seu cultivo.

Por outro lado, a intoxicação visual mostrou-se excelente variável relacionada à estimativa de resíduos dos herbicidas. Nas tabelas 13 e 14, encontram-se as equações de regressão relacionando o percentual de intoxicação das plantas de pepinos utilizadas no bioensaio, a fim de verificar a capacidade de descontaminação do solo pelas plantas.

Observou-se que o cultivo prévio das espécies arbóreas foi positivo quanto à diminuição dos resíduos de atrazine na maioria dos tratamentos, uma vez que a intoxicação das plantas de pepino crescidas nos substratos previamente cultivado foi inferior ao valor observado naquelas sobre substrato sem cultivo prévio (Tabela 13). Isso traduz de forma positiva o uso de espécies arbóreas na descontaminação de atrazine. No entanto, nos tratamentos que anteriormente foram cultivados com carobinha e cedro, a intoxicação



observada foi superior ao observado pelo vaso sem cultivo de plantas, cerca de 20% e 10%, respectivamente.

Plantas de pepino cultivadas nos vasos onde se desenvolveu o landim apresentaram 57% de intoxicação inferior ao do tratamento sem planta (Tabela 13). O ipê amarelo merece destaque, pois se mostrou bastante sensível ao atrazine e, no entanto, apresentou uma das melhores respostas na descontaminação do solo com resíduo desse herbicida. O ingá foi o que proporcionou maior potencial para a descontaminação de atrazine, pois além de tolerar muito bem este produto, possibilitou excelente crescimento das plantas de pepino no solo anteriormente contaminado.

**Tabela 13.** Equações de regressão relacionando ao grau de intoxicação (%) e dias após a semeadura (DAS), das plantas de pepino (*Cucumis sativus*) cultivadas em vasos que foram previamente cultivados, ou não, com espécies florestais submetidas à ação do herbicida atrazine

Tratamento	Equação ajustada	$r^2$	Intoxicação Final (% aos 26 DAS)
Sem Planta	$f = -10,5811 + 3,3880 * x$	0,9226	77,51
Ingá	$f = -7,7413 + 1,5886 * x$	0,9366	33,56
Guapuruvu	$f = 4,5164 + 2,4649 * x$	0,9039	68,60
Capitão	$f = -21,8707 + 3,2943 * x$	0,9470	63,78
Quaresmeira	$f = -5,2858 + 2,7554 * x$	0,9644	66,35
Carobinha	$f = -20,1125 + 4,5267 * x$	0,8998	97,58
Cedro	$f = -5,6795 + 3,5989 * x$	0,9092	87,89
Landim	$f = -2,8397 + 1,7994 * x$	0,9092	43,94
Goiabinha	$f = 2,1742 + 2,4836 * x$	0,9538	66,74
Pau-Ferro	$f = -0,4967 + 2,4930 * x$	0,8961	64,81
Sibipiruna	$f = -10,4171 + 3,0366 * x$	0,9282	68,53
Ipê amarelo	$f = -17,2540 + 1,9728 * x$	0,9280	34,03
Braúna	$f = -7,9569 + 2,7648 * x$	0,9164	63,92

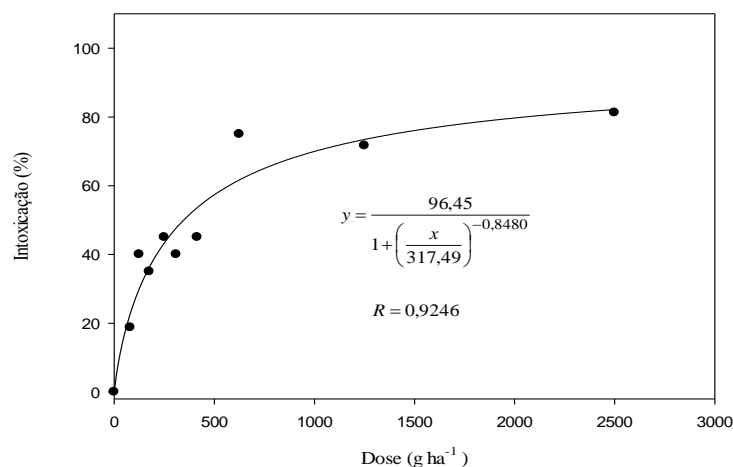
Na Tabela 14, pode-se observar que em praticamente todos os tratamentos, a intoxicação pelo 2,4-D se manteve próxima a observada no tratamento sem planta, ou seja, mesmo nos tratamentos em que houve cultivo prévio das espécies florestais, o herbicida permanece em concentração suficiente no solo para ser absorvido pelas plantas de pepino e causar-lhes injúria. Ipê amarelo e cedro, apesar de apresentarem sensibilidade ao 2,4-D na análise de intoxicação visual das mudas, apresentaram valores melhores de descontaminação, em vista das demais espécies, cerca de 9%. Novamente, o tratamento contendo ingá foi o de maior eficiência na remediação, apesar do valor não muito expressivo, sendo observada

redução de 12% na intoxicação das plantas de pepino, quando comparadas ao substrato contaminado com o herbicida e sem plantas remediadoras.

**Tabela 14.** Equações de regressão linear relacionando ao grau de intoxicação (%) e dias após a semeadura (DAS), das plantas de pepino (*Cucumis sativus*) cultivadas em vasos que foram previamente cultivados, ou não, com espécies florestais submetidas á ação do herbicida 2,4-D

Tratamento	Equação Ajustada	$r^2$	Intoxicação Final (% aos 26 DAS)
Sem Planta	$f = -17,0947 + 3,0600 * x$	0,8861	62,46
Ingá	$f = -22,3055 + 2,7976 * x$	0,9003	50,43
Guapuruvu	$f = -17,4039 + 3,0084 * x$	0,9197	60,81
Capitão	$f = -22,2259 + 3,3411 * x$	0,8839	64,64
Quaresmeira	$f = -21,2062 + 3,2990 * x$	0,8792	64,56
Carobinha	$f = -22,2259 + 3,3411 * x$	0,8839	64,64
Cedro	$f = -24,7329 + 2,9991 * x$	0,9228	53,24
Landim	$f = -24,2324 + 3,3552 * x$	0,9217	63,00
Goiabinha	$f = -22,1275 + 3,1303 * x$	0,8570	59,26
Pau-Ferro	$f = -19,8313 + 3,2099 * x$	0,9417	63,62
Sibipiruna	$f = -22,1275 + 3,1303 * x$	0,8570	59,26
Ipê amarelo	$f = -24,7329 + 2,9991 * x$	0,9228	53,24
Braúna	$f = -22,1931 + 3,2709 * x$	0,9132	62,85

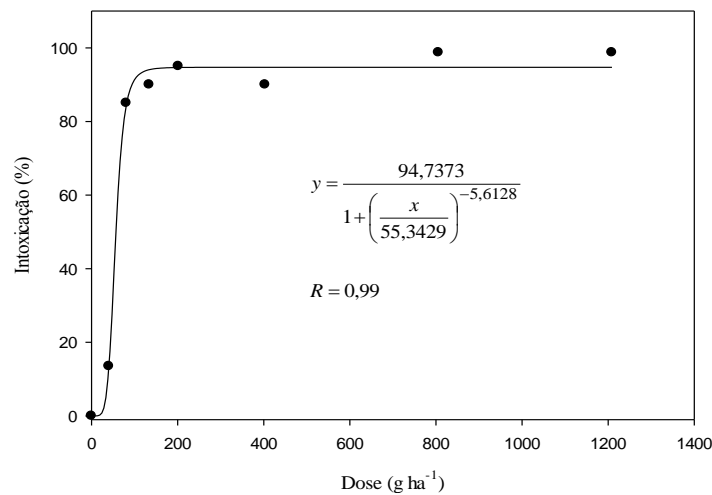
Na Figura 5 é apresentada a curva de dose-resposta para a intoxicação de plantas de pepino pelo atrazine. A análise dos dados de porcentagem de intoxicação, obtidos a partir das plantas de pepino cultivadas em diferentes doses de atrazine no substrato correspondente ao solo utilizado no experimento, foi significativa ( $p < 0,05$ ). Nota-se que pela equação, o  $C_{50}$ , dose correspondente a 50% de resposta em intoxicação, encontra-se definido em  $317,49 \text{ g ha}^{-1}$ .



**Figura 5.** Estimativa de intoxicação (curva de dose-resposta) relativa ao bioensaio com pepino, submetido á ação de atrazine, aplicado até a dose máxima de  $2.500 \text{ g ha}^{-1}$ .

Admitindo-se a equação estimada para representação do resíduo de atrazine disponível no solo a partir dos dados de intoxicação, observou-se que o valor máximo encontrado para plantas de pepino em ambiente não remediado (substrato isento do cultivo prévio por espécies florestais corresponde a 77% (Tabela 13), equivalente a  $1699,77 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$  de herbicida. Ao comparar esse valor com aquele encontrado para as plantas de pepino cultivadas no substrato proveniente dos vasos com ingá, cuja intoxicação máxima foi de 33% (Tabela 13), observa-se que a dose estimada presente no solo é de  $150,32 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$  do atrazine, significando remediação de 90% desse herbicida ( $1549,45 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$ ), mostrando o potencial da espécie em remediar tal contaminante.

Na Figura 6 encontra-se a análise da curva de dose-resposta para a intoxicação de plantas sob efeito do 2,4-D. A análise dos dados de porcentagem de intoxicação do substrato sobre as plantas foi significativa ( $p < 0,05$ ). O  $C_{50}$  foi determinado na dose de  $55,34 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$ .



**Figura 6.** Estimativa de intoxicação (curva de dose-resposta) relativa ao bioensaio com a pepino, submetida a ação de 2,4-D, aplicado até a dose máxima de  $1200 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$ .

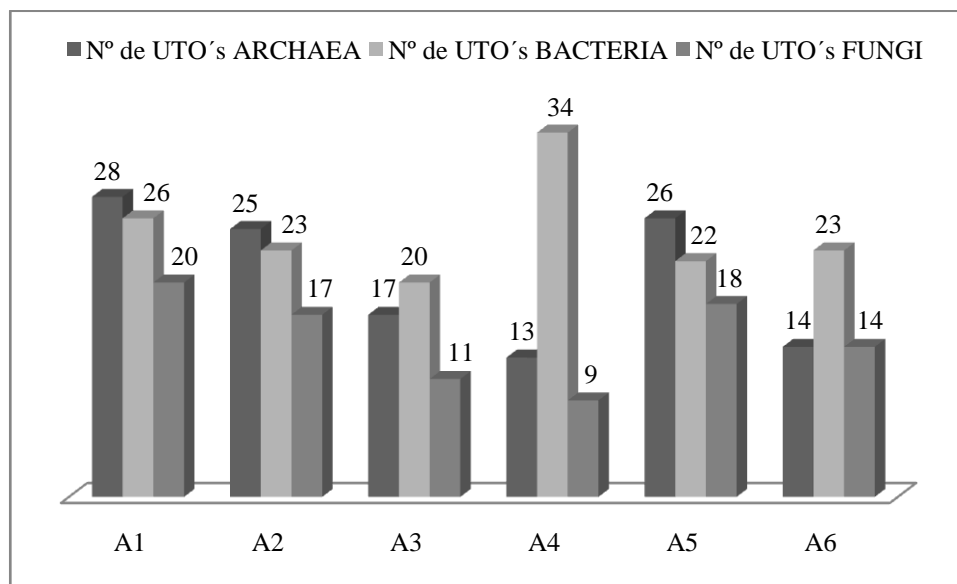
Novamente, após comparação da curva com os valores de remediação observados na avaliação visual das plantas de pepino, pode-se afirmar melhor resultado quando o solo estava ocupado com ingá, permitindo redução no nível de resíduo estimado do 2,4-D de  $63,83 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$  para  $57,75 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$ . Mesmo não sendo um número muito expressivo, pode-se dizer que o ingá promoveu a remediação de 10% da molécula de 2,4-D presente no solo, em um curto período de tempo avaliado.

### 5.3. Diversidade microbológica

A partir dos dados obtidos com a seleção de plantas e avaliação com a planta indicadora, a espécie *I. marginata* (ingá) foi considerada a mais promissora e selecionada para estudo do Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP). Foram analisados os dados de riqueza de Unidades Taxonômicas Operacionais (UTO's), onde, para cada T-RF encontrado no perfil de uma comunidade, uma Unidade Taxonômica Operacional (UTO) foi considerada.

A Figura 7 mostra os gráficos de riqueza de UTO's das comunidades de *Bacteria*, *Archaea* e *Fungi* dos seis ambientes estudados no experimento. É possível notar uma menor riqueza de UTO's para o domínio *Fungi* em relação aos demais, devido a uma menor quantidade T-RFs (ou picos detectados nos eletroferogramas). O grupo *Archaea*, apesar de estar mais distribuído entre os ambientes, se manteve com menor riqueza em relação ao grupo *Bacteria*.

Nos ambientes em que havia a presença de atrazine, com e sem o cultivo prévio do ingá, o grupo *Bacteria* foi predominante. O grupo *Archaea* foi predominante nos ambientes em que não foram aplicados os herbicidas (Figura 7).



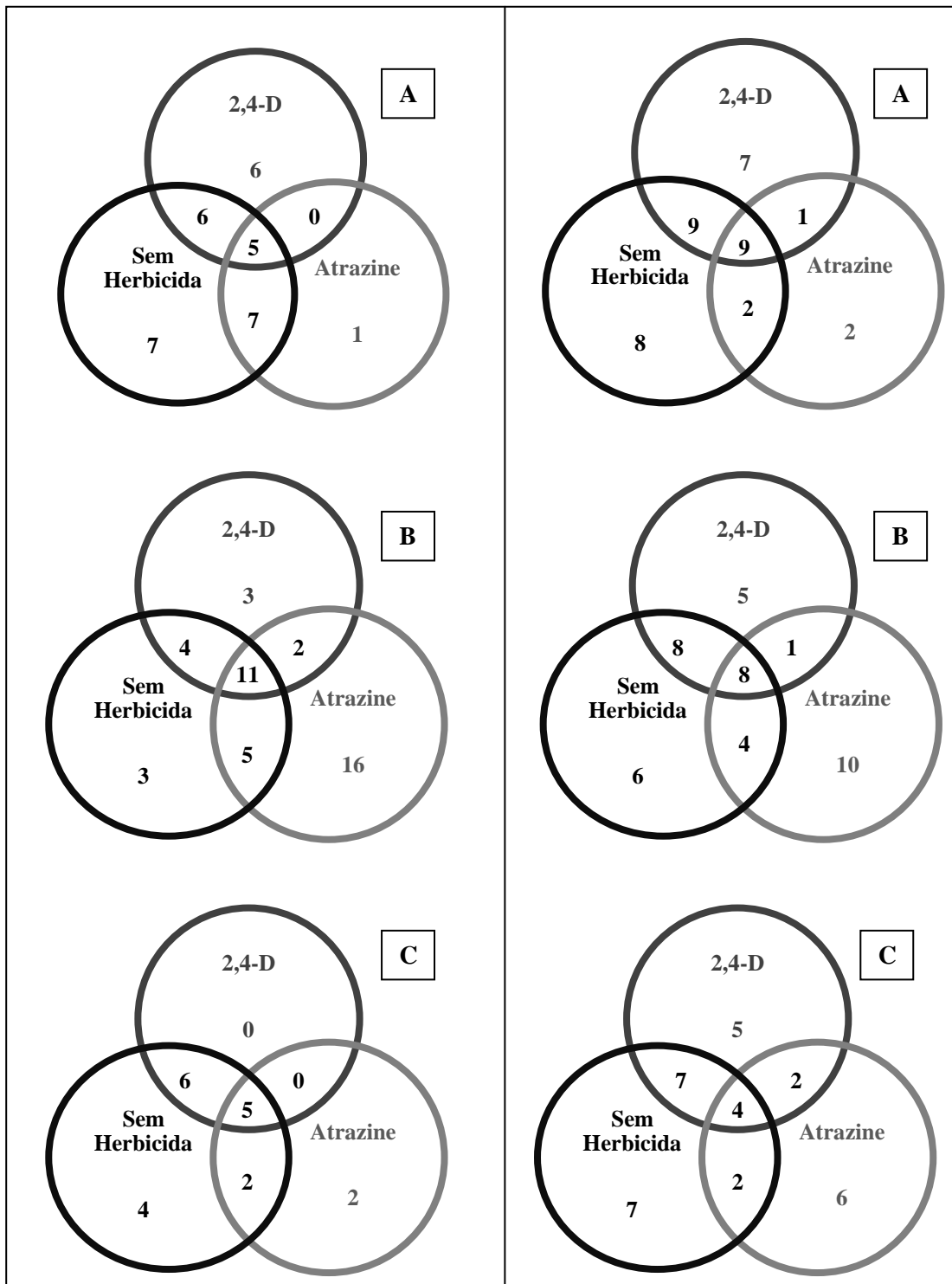
**Figura 7.** Riqueza de Unidades Taxonômicas Operacionais (UTOs) detectadas com a técnica de T-RFLP. Solo sem herbicida e sem ingá (A1), solo sem herbicida e cultivado previamente com ingá (A2), solo com 2,4-D e cultivado previamente com ingá (A3), solo com atrazine e cultivado previamente com ingá (A4); solo com 2,4-D e sem ingá (A5) e solo com atrazine e sem ingá (A6).

Para verificar as intersecções e peculiaridades entre os ambientes, foram construídos diagramas de Venn (FAUTH et al., 1996), identificando o número de UTO's exclusivas e

compartilhadas entre as amostras que continham o ingá previamente cultivado em vaso e as amostras que não continham o ingá (Figura 8).

Observa-se que para o grupo *Archaea*, em substrato com cultivo prévio de ingá, o ambiente sem herbicida possui o maior número de UTO's exclusivas, e compartilha do mesmo número que o ambiente com atrazine. Apenas 5 UTO's do grupo *Archaea* puderam ser observadas nos três ambientes. Já para o grupo *Bacteria* em cultivo prévio com ingá, o ambiente contendo atrazine foi o que mais apresentou diversidade de UTOs, sendo 16 exclusivas, e 11 encontradas nos três ambientes. Assim como para o grupo das *Archaea*, o grupo *Fungi* em cultivo prévio com ingá teve maior número de UTOs exclusivas no ambiente sem aplicação dos herbicidas (Figura 8).

Observando os ambientes sem o cultivo prévio de ingá, verificou-se um comportamento semelhante quanto ao número de espécies exclusivas dos grupos *Archaea* e *Bacteria* se comparado aos ambientes com cultivo prévio. O grupo *Fungi*, ao contrário, apresentou um maior número de espécies nas amostras sem o cultivo de ingá.



**Figura 8.** Número de UTOs exclusivas de cada tratamento, em diagrama de Venn, para as amostras com cultivo prévio de ingá (coluna da esquerda) e sem o cultivo prévio (coluna da direita) em vaso, para cada grupo microbiológico. (A- Archaea, B- Bacteria e C- Fungi).

O índice de diversidade de *Shannon* expressa a uniformidade dos valores de importância por meio de todas as espécies da amostra (KANIESKI, 2010). Observa-se que os índices condizem com a análise de riqueza de UTO's analisada anteriormente (Tabela 15). Os grupos de *Archaea* e *Fungi* revelaram maior diversidade nos tratamentos onde não havia

aplicação dos herbicidas e nem o cultivo prévio de ingá. O grupo *Bacteria*, por sua vez, apresentou maior diversidade para a amostra com herbicida atrazine, em solo cultivado previamente com ingá, a mesma amostra que apresentou a maior diversidade de bactérias exclusivas.

Também foi calculado o índice de Pielou ( $J'$ ) (PIELOU, 2000), que mede a proporção da diversidade observada em relação à máxima diversidade esperada. Quanto maior a equitabilidade das amostras, mais robustos são os resultados.

As amostras do grupo *Archaea* apresentaram uma equitabilidade variando entre 0,64 a 0,81, indicando alta uniformidade das amostras, exceto pela amostra com atrazine em cultivo prévio com ingá, que apresentou baixo valor, de 0,41 (Tabela 15). O grupo *Bacteria* apresentou equitabilidade entre 0,65 e 0,78, consideradas assim com alta uniformidade (KANIESK et al., 2010). Por fim, o grupo *Fungi* variou de 0,51 a 0,75 sua equitabilidade.

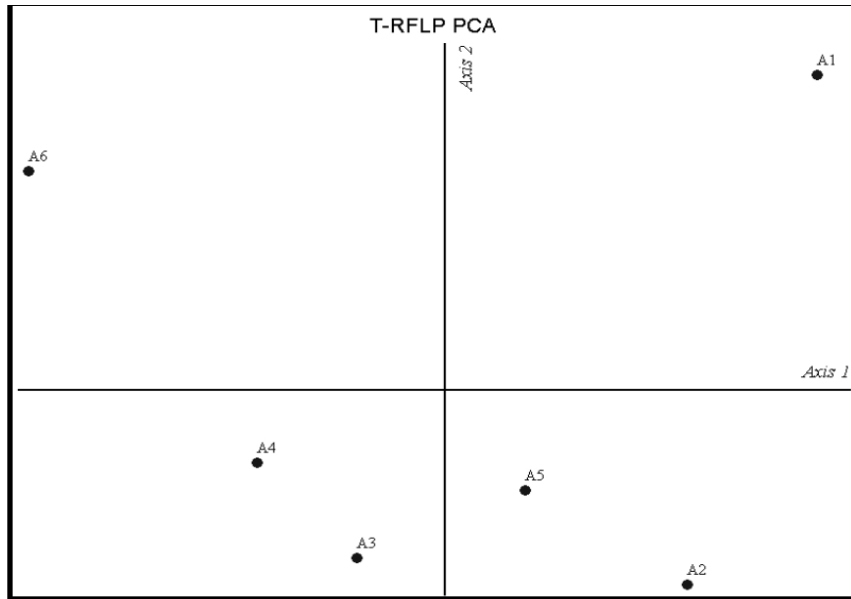
**Tabela 15.** Índice de Diversidade Shannon ( $H'$ ) e medidas de Equitabilidade\* das amostras obtidas usando T-RFLP

Amostras	<i>Archaea</i>		<i>Bactéria</i>		<i>Fungi</i>	
	<i>Shannon</i> ( $H'$ )	<i>Pielou</i> ( $J'$ )	<i>Shannon</i> ( $H'$ )	<i>Pielou</i> ( $J'$ )	<i>Shannon</i> ( $H'$ )	<i>Pielou</i> ( $J'$ )
<b>A1</b>	3,13	0,81	3,05	0,72	2,86	0,75
<b>A2</b>	3,09	0,79	2,96	0,70	2,62	0,69
<b>A3</b>	2,66	0,68	2,75	0,65	2,18	0,57
<b>A4</b>	1,61	0,41	3,31	0,78	1,92	0,51
<b>A5</b>	3,11	0,80	2,85	0,67	2,73	0,72
<b>A6</b>	2,48	0,64	2,87	0,68	2,37	0,63

\*Índice de Pielou, quanto mais próximo de 1 maior é a equitabilidade da amostragem. (Solo sem herbicida e sem ingá (A1), solo sem herbicida e cultivado previamente com ingá (A2), solo com 2,4-D e cultivado previamente com ingá (A3), solo com atrazine e cultivado com ingá (A4); solo com 2,4-D e sem ingá (A5) e solo com atrazine sem ingá (A6)).

As análises de componentes principais (PCA) realizadas com os dados de T-RFLP das comunidades de *Bacteria*, *Archaea* e *Fungi* também revelaram diferenças estruturais na composição dessas comunidades nos ambientes estudados (Figura 9).

Observou-se proximidade entre as amostras que continham herbicidas e que tinham sido cultivadas previamente com o ingá. Assim como essas, as amostras A2 (sem herbicida e cultivado com ingá) e A5 (com 2,4-D e sem ingá) demonstram características semelhantes quanto a composição da sua comunidade microbiana. As amostras A1 (sem herbicida e sem ingá) e A6 (com atrazine e sem ingá) obtiveram características singulares, que as diferiram entre si e das demais amostras (Figura 9).



**Figura 9.** Análise de Componentes Principais (PCA) das comunidades microbianas dos solos estudados determinados por T-RFLP. Solo sem herbicida e sem ingá (A1), solo sem herbicida e cultivado previamente com ingá (A2), solo com 2,4-D e cultivado previamente com ingá (A3), solo com atrazine e cultivado previamente com ingá (A4), solo com 2,4-D e sem ingá (A5) e solo com atrazine e sem ingá (A6).



## 6. DISCUSSÃO

### 6.1. Tolerância e crescimento das espécies florestais aos herbicidas

A maioria das espécies florestais apresentou sintomas de intoxicação ao atrazine. Esse é absorvido pelas raízes e translocado via xilema, interrompendo o fluxo de elétrons do fotossistema II (FS II) para o fotossistema I, além de diminuir a produção de energia (ATP) e poder redutor (NADPH) (GIROTTI et al., 2010). Assim, os sintomas aparecem inicialmente nas folhas, incluindo clorose nas internervuras e nas bordas das folhas, em função do rompimento dos pigmentos ocasionados pela peroxidação de lipídios na membrana, como foi observado nas espécies mais afetadas. Esse sintoma pode progredir, evoluindo para necrose (WELLER, 2003).

Plantas que se desenvolvem em condições de menor luminosidade, ou seja, que toleram certo grau de sombreamento em sua fase inicial de crescimento são mais suscetíveis a ação do atrazine (SILVA et al., 2007). Isso reflete, de maneira geral, para as espécies do grupo ecológico das secundárias (BUDOWSKI, 1965), que possuem um aparato fotossintético menor (MACIEL et al., 2003) e assim, produzem menos proteína D-1, na qual a molécula do herbicida se prende inibindo o fluxo de elétrons, além de apresentarem menor barreira cuticular à penetração do atrazine. O resultado é a menor tolerância dessas espécies ao herbicida em questão, como foi observado para a espécie ipê-amarelo. Ao contrário, as espécies pioneiras (BUDOWSKI, 1965), de uma forma geral, apresentam maior tolerância pelo fato de possuírem uma capacidade fotossintética maior do que as secundárias, como foi o caso da espécie pioneira capitão, que não apresentou sintomas de intoxicação.

A maioria das espécies também se mostrou sensível a aplicação do 2,4-D. Esse herbicida pertencente ao grupo dos hormonais, afeta o metabolismo de ácidos nucleicos e aspectos metabólicos da plasticidade da parede celular das plantas, comprometendo a distribuição de H<sub>2</sub>O e nutrientes para elas. Os sintomas visuais observados foram característicos de herbicidas auxínicos, como epinastia (curvatura e enrolamento) do ápice das folhas e encarquilhamento (VIDAL, 1997), progredindo para necrose e queda de folhas, em algumas das espécies. O mesmo foi observado por Yamashita et al (2009) ao avaliarem os efeitos da aplicação de 2,4-D nas espécies florestais *Schizolobium amazonicum* e *Ceiba pentandra*. Apesar do 2,4-D não ser indicado para controle de espécies arbóreas, o efeito tóxico pode ser explicado pela idade das mudas.

As espécies florestais que menos toleraram o 2,4-D foram pertencentes ao grupo das secundárias, braúna e pau-ferro, que apresentaram alta sensibilidade. Pelo fato desse herbicida

afetar o sistema radicular, essas espécies se mostraram mais sensíveis, visto que apresentam crescimento lento, e assim, suas raízes, na fase inicial de muda, são menos desenvolvidas (MACIEL et al, 2003). Evidentemente que, em se tratando da tolerância das mudas ao 2,4-D, em condições de campo, os sintomas desapareceriam após determinado período. Já as plantas pioneiras possuem sistema radicular mais desenvolvido (POGGIANI & SCHUMACHER, 2004) e se mostraram mais tolerantes, como foi o caso da quaresmeira, capitão e ingá, sendo que este último apresentou recuperação na última aplicação. Ferreira, et al (2010) avaliando o efeito de diferentes tratamentos com herbicidas de pré-emergência, como o atrazine e o imazapyr, no desenvolvimento inicial de mudas de espécies arbóreas pioneiras, típicas de matas ciliares, observaram que mesmo com efeito fitotóxico provocado pelos produtos, houve recuperação das mudas das espécies, em relação ao dano inicial promovido pelos herbicidas.

A análise de crescimento permite conhecer as diferenças funcionais e estruturais entre plantas de forma a identificar respostas à aplicação de diferentes tratamentos.

Observou-se ao analisar a altura e diâmetro, que certas espécies foram mais tolerantes do que outras. Neste caso o fator grupo ecológico não pode justificar os efeitos observados, pois tanto espécies pioneiras quanto espécies secundárias apresentaram incrementos em AP e DC sob ação do atrazine e 2,4-D.

No entanto, maior atenção é dada para o ingá, em vista da sua crescente utilização em projetos de recuperação de matas ciliares, pois este apresentou incremento em altura sob a condição de contaminação com os dois herbicidas e diâmetro considerável, próximo ao valor do controle. Alguns autores (CORRÊA, 2006; SILVA & CORRÊA, 2008; STARR, 2009), avaliando o desenvolvimento de espécies em condições de solo com resíduos de mineração, observaram que o ingá obteve melhor desempenho em crescimento, se mostrando uma espécie capaz de se desenvolver bem em condições adversas.

As espécies apresentaram, no geral, um comportamento semelhante de compensação, pois investiram pouco em área foliar e compensaram com o incremento do número de folhas (NF).

A produção do número de folhas pelas plantas é determinada por uma alocação de recursos, envolvidas em uma relação de compensação (LONNIE, 2012). Essa relação pode ser observada tanto nos tratamentos com atrazine quanto nos que foram submetidos ao 2,4-D, ou seja, a ação dos herbicidas funcionou com uma situação adversa à condição de algumas espécies, levando algumas a investirem mais em quantidade de folhas do que em área, como forma de melhor aproveitamento de recursos.

A redução de massa seca foliar apresentada por todas as espécies sob ação do atrazine pode estar relacionada com a inibição ou redução do aparato fotossintético no fotossistema II das mudas (ALADESANWA et al., 2001), em virtude da ação desse herbicida.

A fenologia da braúna, que foi a mais afetada negativamente quanto a massa seca das folhas sob ação do 2,4-D, pode explicar a perda total de folhas, sendo esta uma espécie decídua facultativa e pode perder suas folhas em plena estação seca, ou por outros distúrbios fisiológicos (BARBOSA et al., 1989)

Avaliando a massa seca do caule, ingá e guapuruvu apresentaram incremento sob ação dos herbicidas. Ambas pertencem ao grupo ecológico das pioneiras, que possuem rápido crescimento e a característica de possuir uma madeira leve (CARVALHO, 2003, CARVALHO, 2006), o que pode ter levado ao melhor desempenho dessas nessa condição.

Ingá e carobinha apresentaram incremento de raiz sob ação dos herbicidas, o que novamente pode ter sido favorecido pelo grupo ecológico a qual pertencem, pois estudos já afirmaram que as pioneiras possuem sistema radicular mais desenvolvido (GONÇALVES et al., 1992). Além disso, o incremento de raiz apresentado sob ação do 2,4-D pode ser explicado pelo fato desse herbicida promover a esse órgão um crescimento desordenado das células, com isso as raízes se tornam mais curtas, porém mais grossas (JUNIOR et al., 2002). Contudo, admitindo-se que o mecanismo de ação constitui-se pelo aumento na produção de enzimas e proteínas, é provável efeito positivo para as plantas mencionadas, quando em doses toleráveis.

Do ponto de vista nutricional, o maior teor de N observado nas espécies florestais pode ser interpretado como um efeito de concentração desse nutriente nas folhas por redução na taxa de crescimento (SANTOS et al., 2007), visto que o landim obteve menor massa seca total quando submetido ao atrazine e o pau-ferro quando submetido ao 2,4-D.

Quanto ao conteúdo total de N, foi observado que as espécies carobinha e sibipiruna apresentaram valores maiores quando submetidas ao atrazine. Esse aumento do acúmulo de N em plantas tratadas com herbicida do grupo das triazinas já foi observado em alguns trabalhos com subdoses de atrazine (MOHANADAS et al., 1978; KLEPPER, 1979). Uma das formas das plantas adquirirem o nitrogênio é pela absorção do nitrato via raízes. O nitrato é reduzido a nitrito em, em seguida a amônio, por meio das enzimas redutases (NR) do nitrato e (NiR) do nitrito (DÉLU-FILHO et al., 1998). Fleck et al. (2001) analisando o efeito de atrazine no aproveitamento de nitrogênio por plantas de milho observou que o herbicida, dependendo da fonte de nitrogênio aplicada, favorece o teor de N na fitomassa, isso porque a ação no metabolismo da planta está associado ao fornecimento de energia às enzimas NR e NiR.

O fato de a espécie capitão ter apresentado maior teor de P condiz com a síntese de que as espécies pioneiras têm maior eficiência nutricional para o fósforo do que as de estágio sucessional mais avançado (DUBOC, 2005), visto que o capitão pertence ao grupo das pioneiras. Santos et al. (2008) avaliando o comportamento de espécies pioneiras e secundárias na absorção de P também constataram que, de maneira geral, a tendência é das pioneiras apresentarem maior capacidade de absorção desse nutriente.

Os teores de K encontrados acima do esperado podem estar relacionados com fatores externos como temperatura e umidade do solo, pois a elevação desses fatores no ambiente contribui para o aumento da absorção de K pelas plantas (ERNANI et al., 2007).

De maneira geral pode-se observar que as espécies dos estágios sucessionais iniciais possuem maior capacidade de absorção de nutrientes relativamente às daquelas dos estágios sucessionais subsequentes, característica intimamente relacionada com o potencial de crescimento, maior desenvolvimento e densidade de raízes finas e do maior potencial na taxa de síntese de biomassa (GONÇALVES et al., 1992, FURTINI NETO et al., 2000).

Assim tem-se a resposta de que as espécies sobreviveram à presença das moléculas de atrazine e 2,4-D. Contudo, ipê amarelo e cedro foram mais susceptíveis aos produtos. Ambas pertencem ao grupo ecológico das secundárias (BUDOWSKI, 1965; CARVALHO, 2003), o que poderia ser uma das razões da baixa intolerância, pois são espécies de crescimento tardio e levam mais tempo para se estabelecerem (GOMIDE, 1997). Por outro lado, o ingá e carobinha obtiveram respostas positivas à aplicação dos herbicidas, o que pode ser explicado pelo fato destas espécies pertencerem ao grupo das pioneiras e possuírem um crescimento mais rápido, sistema radicular mais desenvolvido e maior poder de absorção de nutrientes do que as secundárias (POGGIANI & SCHUMACHER, 2004), garantindo a estas mudas melhor desempenho nos primeiros meses.

## **6.2. Avaliação da capacidade remediadora das espécies florestais**

O método do bioensaio para estimativa de resíduos de herbicidas tem sido bastante utilizado apesar das críticas à sua adoção em trabalhos científicos (FORNAROLLI et al., 1998; SANTOS et al., 2009; SANTOS et al., 2013). Os métodos analíticos, apesar de mais confiáveis não podem ser empregados em algumas situações em função das baixas concentrações do composto que se quer avaliar na amostra de solo. Assim, mesmo não se obtendo resultado satisfatório para altura e biomassa de plantas de pepino sob efeito dos

herbicidas estudados, pode-se afirmar a validade do emprego da técnica pelo efeito visual de intoxicação observado.

A carobinha não apresentou sintomas visuais de intoxicação por atrazine, porém, a remediação pode não ter sido eficiente, mesmo se tratando de uma espécie pioneira, a ponto de intoxicar o pepino plantado posteriormente, ou seja, não sendo eficiente o processo de remediação, apesar da sua tolerância ao herbicida. Ao contrário dessa espécie, o ipê amarelo, que foi bastante sensível ao atrazine conforme as avaliações de intoxicação e crescimento das mudas, mesmo pertencendo ao grupo das secundárias, foi capaz de remediar o produto do solo pelo resultado positivo quanto à resposta de intoxicação das plantas de pepino. Assim, evidencia-se a importância de se mesclar espécies de grupos ecológicos diferentes no processo de remediação (SILVA & MONQUEIRO, 2006).

Por meio da análise do gráfico de dose-resposta dos herbicidas, observou-se que 317,49g ha<sup>-1</sup> de atrazine e 55,34 g ha<sup>-1</sup> de 2,4-D no ambiente, são capazes de promover 50% de intoxicação nas espécies utilizadas neste estudo. Além disso, foi possível verificar o potencial de remediação do ingá, uma vez que este promoveu uma redução de 90% de atrazine e 10% de 2,4-D, quando comparado ao tratamento sem cultivo de plantas em sua máxima intoxicação. Esse é um fator de grande relevância para este estudo, confirmando o potencial da espécie para compor programas de fitorremediação para esses herbicidas, sendo necessários mais estudos a fim de se encontrar quais mecanismos, como fitodegradação, fitoextração, por exemplo, são utilizados pela espécie na remediação.

### 6.3. Diversidade microbiológica

Ao avaliar a diversidade presente na rizosfera da espécie em potencial para a remediação, através do estudo de T-RFLP, observou-se menor riqueza de UTO's para o domínio *Fungi*. O domínio *Archaea*, apesar de estar mais distribuído entre os ambientes, se manteve com menor riqueza em relação ao grupo *Bacteria*, concordando com Aller & Kemp (2008), que haviam observado que as comunidades de *Archaea* são menos diversas que as comunidades de *Bacteria* num mesmo sítio.

Admitindo-se que o ingá é uma espécie da família das leguminosas e possui a capacidade de associar-se com bactérias endossimbiontes do gênero *Rhizobium* sp. (FARIA et al., 1984), é possível a contribuição dessa associação ao resultado observado.

Nos ambientes em que havia a presença de atrazine, com e sem o cultivo prévio do ingá, o grupo *Bacteria* foi predominante, contendo também um maior número de bactérias

exclusivas em relação aos demais. Camargo et al. (2011) ao analisarem a associação de *Rhizobium* sp. com duas leguminosas em solo contendo atrazine, observaram que no tratamento com inoculo da bactéria e com esse herbicida o número de nódulos foi superior ao tratamento sem herbicida, o que pode evidenciar o potencial dessas bactérias em degradar essas moléculas ou a necessidade da associação para a planta driblar os efeitos tóxicos do herbicida.

Mesmo não se tendo as informações de quais bactérias estavam presentes nas amostras, sabe-se que a diversidade dessas é interessante para a remediação, uma vez que pesquisas recentes demonstram que a utilização de bactérias, não só endofíticas, pode acentuar o processo de fitorremediação de substratos contaminados com herbicidas (DOTY, 2008).

Os grupos de *Archaea* e *Fungi* revelaram maior diversidade nos tratamentos onde não havia aplicação dos herbicidas e nem o cultivo prévio de ingá. Geralmente este comportamento é esperado pelo fato de áreas não perturbadas, neste caso pela aplicação dos produtos, manterem o padrão de diversidade (TSAI et al., 2003).

Os domínios *Bacteria* e *Archaea* apresentaram maior equitabilidade, segundo o índice de Pielou, o que comprova a alta uniformidade desses, ou seja, o número de indivíduos está distribuído de forma uniforme entre as espécies encontradas nesses dois domínios, nos ambientes estudados (KANIESKI, 2010). Ao contrário, o domínio *Fungi* apresentou menor equitabilidade, o que pode estar relacionada à redução da diversidade e da riqueza de UTO's (MOÇO et al., 2005).

Na observação da análise de PCA, nota-se que as amostras de solo submetidas à aplicação dos herbicidas atrazine e 2,4-D, com o cultivo de ingá, apresentam similaridades em sua diversidade microbiana. Assim, esta pode ser uma importante informação para programas de descontaminação, uma vez que a principal via de degradação dos herbicidas em ambientes tropicais é a microbiológica (PIRES et al., 2005, SANTOS et al., 2007, CAMARGO et al., 2011). Além disso, alguns autores afirmam que os herbicidas podem contribuir na ativação da microbiota do solo, servindo como fonte de carbono e energia (SOUZA et al., 1999; MORENO et al., 2007).

Os resultados são interessantes, pois revelam a necessidade de isolamento e identificação das espécies de micro-organismos presentes no solo, capazes de atuarem na remediação. Vários autores já constataram que as bactérias dos gêneros *Rhodococcus*, *Nocardia*, *Bacillus* e principalmente *Pseudomonas*, são capazes de degradar moléculas de

atrazine e também de 2,4-D (BEHKI & KHAN, 1986; LEVANON, 1993; LAMEGO & VIDAL, 2007).

A identificação, isolamento e adoção de técnicas de bioestimulação associada às boas práticas silviculturais para produção e plantio das espécies estudadas em áreas de mata ciliar ou próximas a elas, à jusante dos campos agrícolas que recebem, para o controle de plantas daninhas, os herbicidas atrazine e 2,4-D, constitui opção sustentável. Além do benefício promovido pela presença efetiva nas zonas ripárias, a capacidade remediadora das espécies florestais diminuirá a quantidade de resíduos desses produtos que chegam aos cursos hídricos, tornando menores os danos ambientais promovidos pelo uso da técnica de controle químico de plantas daninhas.

## 7. CONCLUSÕES

- Observou-se uma tendência maior de tolerância a ação dos herbicidas atrazine e 2,4-D para as espécies florestais do grupo das pioneiras. Tal fato não exclui a capacidade das demais espécies para programas de fitorremediação, visto que todas toleraram a ação dos produtos;
- Sob contaminação de 317,49g ha<sup>-1</sup> de atrazine e 55,34 g ha<sup>-1</sup> de 2,4-D no substrato utilizado, as espécies estudadas foram capazes de apresentar 50% de intoxicação;
- O ingá foi capaz de remediar 90% de atrazine no solo e 10% de 2,4-D;
- No ambiente com a rizosfera de ingá, sob a ação do atrazine, foi possível verificar maior número de bactérias, inclusive maior número de espécies exclusivas;
- Os ambientes que continham as moléculas de atrazine e 2,4-D apresentaram similaridade quanto à diversidade microbiana.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROFIT. Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em: <[http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)> Acessado em: 10 dez.2013.
- ALADESANWA, R.D., ADENAWOOLA, A.R., OLOWOLAFE, O.G. Effects of atrazine residue on the growth and development of celosia (*Celosia argentea*) under screenhouse conditions in Nigeria. **Crop Protection**, Fayetteville, v.20, n.4.p.321-324, 2001.
- ALLER, J.Y.; KEMP, P.F. Are Archaea inherently less diverse than Bacteria in the same environments? **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 65, n.1, p. 74-87, 2008.
- ANDEF. Associação Nacional de Defesa Vegetal. Disponível em: <<http://www.undef.com.br/noticias/noticia.asp?cod=108>> Acessado em: 7 de novembro de 2013.
- ANDRADE, J.C.M., TAVARES, S.R.L., MAHLER, C.F. *Fitorremediação: O uso de plantas na melhoria da qualidade ambiental*. 1ª Ed. São Paulo: Oficina de Textos, 2007.176p.
- BARBOSA, D.B.P. *Degradação de atrazina em solo sob plantio direto aplicada em formulações de liberação controlada*. 2013.105f. Tese (Doutorado em Ciência do solo)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia. Porto Alegre, 2013.
- BARBOSA, D. C. A., ALVES, J.L.H. PRAZERES, S.M. PAIVA, A.M.A. Dados fenológicos de 10 espécies arbóreas de uma área de caatinga (Alagoinha - PE). **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 3, n.2, p. 109-117, 1989.
- BEHKI, R. M. & KHAN, S. U. Degradation of atrazine by Pseudomonas: N-dealkylation and dehalogenation of atrazine and its metabolites. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.34, n.4, p.746-749, 1986.
- BELO, A.F., SANTOS, E.A., SANTOS, J.B., FERREIRA, L.R., SILVA, A.A., CECON, P.R. e SILVA, L.L. Effect of soil humidity on *canavalia ensiformis* and *stizolobium aterrimum* capacity of remediating soils contaminated by herbicides. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 25, n. 2, p. 239-249, 2007.
- BICALHO, S. T. T. *As matas ciliares na dinâmica dos pesticidas*. Rio de Janeiro, 2007.162f. Tese (Doutorado em Ciências – Microbiologia) – Instituto de Microbiologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.
- BORTOLUZZI, E. C., RHEINHEIMER, D. S., GONÇALVES, C. S., PELLEGRINI, J. B., MARONEZE, A. M., KURZ, M. H & ZANELLA, R. Investigation of the occurrence of pesticide residues in rural wells and surface water following application to tobacco. **Química Nova**, Santa Maria, v. 30, n. 8, p. 1872, 2007.
- BRAGA, J, M. & DEFELIPO, B.V. Determinação espectrofotométrica de fósforo em extratos de solos e plantas. **Revista Ceres**, Viçosa, v.21, p,73-85, 1974.
- BUDOWSKI, G. Distribution of tropical american rain forest species in the light of successional processes. **Turrialba**, v. 15, n. 1, p. 40-42, 1965.

CAFFARO-FILHO, R. A., FANTINATTI-GARBOGGINI, F. DURRANT, L.R. Quantitative analysis of terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) microbial community profiles: peak height data showed to be more reproducible than peak area. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.38, n.4, p.736-738.2007.

CAMARGO, D., BISPO, K.L., SENE, L. Associação de *Rhizobium* sp. a duas leguminosas na tolerância à atrazina. **Revista Ceres**, Viçosa, v.58, n.4, p. 425-431, jul./ago. 2011.

CANTARUTTI, R.B; BARROS, N.F; MARTINEZ, H.E.P; NOVAIS, R.F. Avaliação da fertilidade do solo e recomendação de fertilizantes. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Eds). *Fertilidade do solo*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 769-850.

CARVALHO, P.E.R. Espécies Arbóreas Brasileira. Brasília-DF: Embrapa informação Tecnológica, 2003.v.1, p.1035. 1ª edição.

CARVALHO, P.E.R. Espécies Arbóreas Brasileira. Brasília-DF: Embrapa informação Tecnológica, 2006, v.2, p.625.

CERDEIRA, A. L; PESSOA, M.C.P. Y; SANTOS, N.A. G; LANCHOTE, V.L. Lixiviação de atrazina em solo em área de recarga do aquífero guarani. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Passo Fundo, v. 4, n.1, p. 99-101, 2005.

CEREJEIRA, M.J; VIANA, P; BATISTA, S; PEREIRA, T; SILVA, E; VALLERIO, M.J; SILVA, A; FERREIRA, M; SILVA-FERNANDES, A.M. Pesticides in Portuguese surface and ground waters. **Water Research**, Portugal, v.37, p.1055-1063.2003.

CHEN, J., QING-XUAN, X., SU, Y., SHI, Z., HAN, F.X. Phytoremediation of organic polluted soil. **Bioremediation & Biodegradation**, USA, v.4, n.3, p.132-135.2013.

CHRISTOFFOLETI, P.J. *Resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da acetolactato sintase e acetil coenzima A carboxilase*. 1999. 211f. Tese (Livre Docência) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 1999.

CONAB- Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1464&t=2>>. Acesso em: 2 dez.2013.

CORRÊA, R. S. *Recuperação de áreas degradadas pela mineração no Cerrado* - Manual para revegetação. Brasília, Ed. Universa, 2006. 187p.

CORREIA, F.V & LANGENBACH, T. Dinâmica da distribuição e degradação de atrazina em argissolo vermelho-amarelo sob condições de clima tropical úmido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.30 n.1, p.183-192, jan./fev. 2006.

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

D'ANTONINO, L.; SILVA, A.A.; FERREIRA, L.R.; CECON, P.R.; QUIRINO, A.L.S. FREITAS, L.H.L. Efeitos de culturas na persistência de herbicidas auxínicos no solo. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 27, n. 2, p. 371-378, 2009.

- DE ÁVILA, L. G., LEITE, S. B., DICK, D. P., POHLMANN, A. R. Formulações de atrazina em xerogéis: síntese e caracterização. **Química Nova**, Santa Maria, v.32,n.7,p.1727-1733.2009.
- DE OLIVEIRA, M. F., DA SILVA, A. A., FERREIRA, F. A., & RUIZ, H. A. Lixiviação de flumioxazin e metribuzin em dois solos em condições de laboratório. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 17, n. 2, p. 207, 1999.
- DÉLU-FILHO, N. Oliveira, L.E.M.,Alves,J.D.,Purcino,A.A.C. Redução de nitrato e assimilação de amônio em plantas jovens de *Hevea brasiliensis* cultivadas sob níveis crescentes de nitrato. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Lavras, v.10, n.3, p.185-190.1998.
- DUBOC, N. *Desenvolvimento inicial e nutrição de espécies arbóreas nativas sob fertilização, em plantios de recuperação de áreas de cerrado degradado*. 2005.173f.Tese (Doutorado em Agronomia)- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu,São Paulo.2005.
- DORES, E. F. G. D & DE-LAMONICA-FREIRE, E. M. Contaminação do ambiente aquático por pesticidas. Estudo de caso: águas usadas para consumo humano em primavera do leste, mato grosso – análise preliminar. **Química Nova**, Santa Maria, v. 24, n. 1, p. 27-36, 2001.
- DOS SANTOS, C. F; NOVAK, E. Plantas nativas do cerrado e fitorremediação. **Revista de Ciencias Ambientais**, v. 7, n. 1, p. 67-77, 2013.
- DOTY, S.L. Enhancing phytoremediation through the use of transgenics and endophytes. **New Phytologist**, v.179, n.2, p.318-333.2008.
- ERNANI, P.R.,ALMEIDA,J.A & SANTOS,F.C.Potássio. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H. BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L.(Eds). *Fertilidade do solo*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 769-850.
- FARIA, S. M., FRANCO, A. A., MENANDRO, M. S., JESUS, R. M., BAITELLO, J. B. AGUIAR, O. T.. DÖBEREINER, J. Levantamento da nodulação de leguminosas florestais nativas na Região Sudeste do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.19, p. 143-153, 1984.
- FAUTH, J.E.; BERNARDO, J.; CAMARA, M.; RESETARITS Jr., W.J.; VAN BUSKIRK, J.; McCOLLUM, S.A. Simplifying the jargón of community ecology: a conceptual approach. **The American Naturalist**, Chicago, v. 147, n. 2, p. 282-286, 1996.
- FERREIRA, F, A; SILVA, A A; FERREIRA, L.R. Mecanismos de ação de herbicidas. In: V Congresso Brasileiro de Algodão. Disponível em: <[http://www.cnpa.embrapa.br/produtos/algodao/publicacoes/trabalhos\\_cba5/336.pdf](http://www.cnpa.embrapa.br/produtos/algodao/publicacoes/trabalhos_cba5/336.pdf)>. 2005.
- FERREIRA, R. A., Davide, A. C., Alcântara, E. N. Motta, M. S. Efeito de herbicidas de pré-emergência sobre o desenvolvimento inicial de espécies arbóreas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Paraná, v. 4, n. 1, p. 133-145, 2010.
- FLECK, N.G., RIZZARDI, M.A., NEVES, R., AGOSTINETTO, D. Ação dos herbicidas atrazine e glufosinate de amônio no aproveitamento de nitrogênio pelas plantas de milho. **Planta Daninha**, Viçosa, v.19, n.2, p.235-245, 2001.

- FORNAROLLI, D.A., RODRIGUES, B.N., LIMA, J., VALÉRIO, M.A. Influência da cobertura morta no comportamento do herbicida atrazine. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 16, n. 2, p. 97-107. dez.1998.
- FREIBERGER, M.B., GUERRINI, I.A. GALETTI, G., FERNANDES, D.M., CÔRREA, J.C. Crescimento inicial e nutrição de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.) em função de doses de nitrogênio. **Revista Árvore**, Viçosa, v.37, n.3, p.385-392, 2013.
- FURTINI NETO, A.E.; SIQUEIRA, J.O.; CURI, N.; MOREIRA, F.M.S. Fertilização em reflorestamentos com espécies nativas. In: GONÇALVES, J.L.deM. E BENEDETTI, V. (Edts). **Nutrição e Fertilização Florestal**. Piracicaba: IPEF, 2000. p.351-383.
- GARDES, M., AND BRUNS T. D.. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes: Application to the identification of mycorrhiza and rusts. **Molecular Ecology**, v. 2, p. 113 – 118, 1993.
- GERHARDT, K.E; HUANG, X.D; GLICK, B.R; GREENBERG, B.M. Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: Potential and challenges. **Plant Science**, v. 176, n.1. p. 20-30.2009.
- GIOVANNONI, S. J., DELONG F. F., OLSEN G. J., AND PACE N. R. Phylogenetic group specific oligonucleotide probes for identification of single microbial cells. **Journal. Bacteriology**, v. 170, p. 720 – 726, 1988.
- GIROTTI, M., ARALDI, R., VELINI, E. D., JASPER, S. P., CARBONARI, C. A., & GOMES, G. L. G. Photosynthetic efficiency of sugar cane crop after S-metolachlor and atrazine herbicides application in post emergence. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Paraná, v.9, n.3, p.109-116, set./dez. 2010.
- GOMIDE, G.L.A. *Estrutura e dinâmica de crescimento de florestas tropicais primária e secundária no estado do Amapá*. 1997.181f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais)-Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 1997.
- GONÇALVES, J.L.de M.; KAGEYAMA, P.Y.; FREIXÊDAS, V.M.; GONÇALVES, J.C.; GERES W.L.de A. Capacidade de absorção e eficiência nutricional de algumas espécies arbóreas tropicais. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2., São Paulo, 1992. **Anais...** São Paulo: Instituto Florestal, 1992, p.463-468.
- GRATÃO, P. L.; PRASAD, M. N. V., CARDOSO, P. F., LEA, P. J. & AZEVEDO, R.A. Phytoremediation: green technology for the clean up of toxic metals in the environment. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 17, n. 1, p. 53-64, 2005.
- HAUBEN, L., VAUTERIN C., SWINGS J., AND MOORE E. R. B.. Comparison of 16S ribosomal DNA sequence of all *Xanthomonas* species. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 47, p. 328 – 335. 1997.
- HOLLIGER, C; GASPARD, S., GLOD, G., HEIJMAN, C., SCHUMACHER, W., SCHWARZENBACH, R. P., & Vazquez, F. Contaminated environments in the subsurface and bioremediation: organic contaminants. **FEMS microbiology reviews**, v. 20, n. 3-4, p. 517-523, 1997.
- HUANG, X-D.; EL-ALAWI, Y.; GURSKA, J.; GLICK, B.R. & GREENBERG, B.M. A multi-process phytoremediation system for decontamination of persistent total petroleum hydrocarbons (HTPs) from soils. **Microchemical Journal**, v.81, n.1, p.139-147, 2005.

- HUBBARD, R.K. & LOWRANCE, R.R. Riparian forest buffer system research at the coastal plain experiment station. **Water, Air & Soil Pollution**, Tifton, v.77, n.3-4, p.409-43, 1994.
- INOUE, M. H., OLIVEIRA JR, R. S., REGITANO, J. B., TORMENA, C. A., TORNISIELO, V. L., & CONSTANTIN, J. Critérios para avaliação do potencial de lixiviação dos herbicidas comercializados no Estado do Paraná. **Planta daninha**, Viçosa, v. 21, n. 2, p. 313-323, 2003.
- JONER, E.J. & LEYVAL, C. Phytoremediation of organic pollutants using mycorrhizal plants: a new aspect of rhizosphere interactions. **Agronomie**, Montpellier, v. 23, n.5-6, p 495-502, 2003.
- JURGENS, G., LINDSTROM K., AND SAANO A. Novel group within the kingdom Crenarchaeota from boreal forest soil. *Appl. Environmental Microbiology*, v. 63, p. 803 – 805. 1997.
- JUNIOR, O.P.A., SANTOS, T.C.R. BRITO N.M. RIBEIRO, M.L. Revisão das propriedades, usos e legislação do ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-d). **Cad.Pesq.**, São Luís, v. 13, n. 1, p. 60-70, jan./jun. 2002.
- KANIESKI, M. R. *Caracterização florística, diversidade e correlação ambiental na Floresta Nacional de São Francisco de Paula, Rio Grande do Sul*. 99 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, 2010.
- KENNEDY, A. C. Bacterial diversity in agroecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 74, n. 1, p. 65-76, 1999.
- KLEPPER, L.A. Effects of certain herbicides and their combination on nitrate and nitrite reduction. **Plant Physiology**, Nebraska, v.64, n.2, p.273-275, 1979.
- KRUSE, N.D.; VIDAL, R.A.; TREZZI, M.M. Curvas de resposta e isoblograma como forma de descrever a associação de herbicidas inibidores do Fotossistema II e da síntese de carotenóides. **Planta Daninha**, Viçosa, v.24, n.3, p.579-587, 2006.
- KRUSE, N.D., VIDAL, R.A., BAUMAN, T.T., TREZZI, M.M. Potential synergism between herbicides inhibitors of the photosystem ii and carotenoids synthesis. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.4, p.569-575, 2001.
- LAMEGO, F.P.& VIDAL,R.A. Fitorremediação: plantas como agentes de despoluição? **R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 17, p. 9-18, jan./dez. 2007.
- LAVORENTI, F.P.; REGITANO, J.B. “*Comportamento de pesticidas em Solos*” in Tópicos em Ciência do Solo – Vol. 3 – Fundamentos. 2003.
- LEVANON, D. Roles of fungi and bacteria in the mineralization of the pesticides atrazine, alachlor, malathion and carbofuran in soil. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v.25, n.8, p.1097- 1105, 1993.
- LIU, W.; MARSH, T. L.; CHENG, H.; FORNEY, L. J. Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 63, n.11, p. 4516-4522, nov/1997.
- LONNIE. W. A. Reducing size to increase number: a hypothesis for compound leaves. **Ideas in Ecology and Evolution**, Kingston, v.5, n.1–5, 2012.

- LOPES, D. Plantas nativas do cerrado uma alternativa para fitorremediação. **R.Estudos**, Goiânia, v.37, n.4, p.419-137, mar./abr.2010.
- LUDOVICE, M. T.F; ROSTON, D.M; TEIXEIRA FILHO, J. Effect of filter strip on atrazine retention in runoff. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 7, n. 2, p. 323-328, 2003.
- MACIEL, M. N. M., WATZLAWICK, L. F. SCHOENINGER, E. F. F. M., YAMAJI. Ecological classification of arboreal species. **Revista Acadêmica: ciências agrárias e ambientais**, Curitiba, v.1, n.2, p. 69-78, abr./jun. 2003.
- MALAVOLTA, E. Elementos de nutrição mineral. Piracicaba: Ceres, p.254, 1980.
- MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Projeções do Agronegócio: Brasil 2012/2013 a 2022/2023, Assessoria de Gestão Estratégica. Brasília, 2013, 98p.
- MARCHESI, J. R., SATO T., WEIGHTMAN A. J., MARTIN T. A., FRY J. C., HIOM S. J., WADE W. G.. Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. **Appl. Environmental Microbiology**, v. 64, p. 795 – 799. 1998.
- MARQUES, M; AGUIAR, C. R. C; SILVA, J. J. L. S. Desafios técnicos e barreiras sociais, econômicas e regulatórias na fitorremediação de solos contaminados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 35, n. 1, p.1-11. fev.2011.
- MOÇO, M. K. S.; GAMA-RODRIGUES, E. F; GAMA-RODRIGUES, A. C; CORREIA, M.E.F. Caracterização da fauna edáfica em diferentes coberturas vegetais na região norte Fluminense. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.29, n.4, pp. 555-564, jul. 2005.
- MOHANADAS,S.,WALLACE,W.,NICHOLAS,D.J.D. Effects of atrazine on assimilation of inorganic nitrogen in cereals. **Phytochemistry**, v.17, n.6, p.1021-1028.1978.
- MORENO, J. L., ALIAGA, A., NAVARRO, S., HERNANDEZ, T., GARCIA, C. Effects of atrazine on microbial activity in semi-arid soil. **Applied Soil Ecology**, Espinardo, v. 35, n. 1, p. 120-127, 2007.
- MORELAND, D.E. Mechanisms of action of herbicides. Annual Review of Plant Physiology, v.31, p.597-638.1980.
- NAKAGAWA, L.E.; LUCHINI, L.C.; MUSUMECI, M.R.; ANDREA, M.M. de. Comportamento da atrazina em solos brasileiros em condições de laboratório. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.30, n.4, p.471-476, abr. 1995.
- NASCIMENTO, C. W. A & XING, B. Phytoextraction: a review on enhanced metal availability and plant accumulation. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 63, n. 3, p. 299-311. jun. 2006.
- PIELOU, E.C. **The interpretation of ecological data** – a primer on classification and ordination. New York: John Wiley & Sons, 2000. 263 p.



PINHO, ALEXANDRA P. DE, MATOS, ANTÔNIO T. DE, COSTA, LIOVANDO M. DA, MORRIS, LAWRENCE A., & MARTINEZ, MAURO A. Modelagem da retenção de herbicidas em zonas ripárias. **Rev. bras. eng. agríc. ambient.**, Campina Grande, v.10, n.4, p.896-902, out.2006.

PIRES, F. R.; SOUZA, C. M.; SILVA, A. A. et al. Fitorremediação de solos contaminados por herbicidas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, p. 335-341, 2003.

PIRES, F.R., SOUZA, C.M., SILVA, A.A., CECON, P.R., PROCÓPIO, S.O., SANTOS, J.B., FERREIRA, L.R. Fitorremediação de solos contaminados com tebutiuron utilizando-se espécies cultivadas para adubação verde. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 23, n.4, p. 711-717.2005.

PITELLI, R. A.; DURIGAN, J. C. Terminologia para períodos de controle e de convivência das plantas daninhas em culturas anuais e bianuais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE HERBICIDAS E PLANTAS DANINHAS, 15, 1984, Belo Horizonte. **Resumos...** Belo Horizonte: SBHED, 1984. p.37.

POGGIANI, F. & SCHUMACHER, M. V. Nutrient cycling in native forests. In: GONÇALVES, J.L.M. e BENEDETTI, V. (orgs). **Forest nutrition and fertilization**. Instituto de Pesquisas Florestais e Estudos Florestais, Piracicaba, p.285-305. 2004.

PRIMEL, E. G; ZANELLA, R., KURZ, M. H. S., GONÇALVES, F. F., MACHADO, S. D. O, MARCHEZAN, E. Poluição das águas por herbicidas utilizados no cultivo do arroz irrigado na região central do estado do Rio Grande do Sul, Brasil: predição teórica e monitoramento. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 605-609, 2005.

PROCÓPIO, S.O; PIRES, F.R; SANTOS, J.B; SILVA, A.A. Fitorremediação de Solos com Resíduos de Herbicidas. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009.

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

SANTOS, C. F. & NOVAK, E. Plantas nativas do cerrado e possibilidades em fitorremediação. **Revista de Ciências Ambientais**, Canoas, v.7, n.1, p.67-78. 2013.

SANTOS, D. P. D; BRAGA, R. R; GUIMARÃES, F. A. R; PASSOS, A. B. R. D. J; SILVA, D. V; SANTOS, J. B. D. & NERY, M. C. Determination of bioindicators of auxinic herbicides residues. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 60, n. 3, p. 354-362, 2013.

SANTOS, E. A., COSTA, M. D., FERREIRA, L. R., DOS REIS, M. R., FRANÇA, A. C., & DOS SANTOS, J. B. Atividade rizosférica de solo tratado com herbicida durante processo de remediação por *Stizolobium aterrimum*. **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v. 40, n. 1, p. 1-7, 2010.

SANTOS, L.D.T. SIQUEIRA, C.H. BARROS, N.F. FERREIRA, F.A. FERREIRA, L.R. MACHADO, A.F.L. Crescimento e concentração de nutrientes na parte aérea de eucalipto sob efeito da deriva do glyphosate. **Revista Cerne**, Lavras, v. 13, n. 4, p. 347-352, out./dez. 2007.

- SANTOS, J.B., SILVA, A.A., FERREIRA, L.R., PROCÓPIO, S.O., PIRES, F.P. Fitorremediação de áreas contaminadas por herbicidas. In: SILVA, A.A.; SILVA, J.F. (Eds). *Tópicos em manejo de plantas daninhas*. Viçosa: Ed. UFV, 2009. p.250-278.
- SANTOS, J.Z.L., RESENDE, A.V., FURTINI NETO, A.E., CORTE, E.F. Crescimento, acúmulo de fósforo e frações fosfatadas em mudas de sete espécies arbóreas nativas. **R. Árvore**, Viçosa, v.32, n.5, p.799-807, ago.2008.
- SBCPD- Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas. **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas**. Londrina: p.42, 1995.
- SEEFELDT, S.S.; JENSEN, S.E.; FUERST, E.P. Log-logistic analysis of herbicide dose response relationship. **Weed Technology**, Champaign, v.9, n.1, p.218-227, 1995.
- SILVA, A.A.; FERREIRA, F.A.; FERREIRA, L.R.; SANTOS, J.B. Herbicidas: classificação e mecanismo de ação. In: SILVA, A.A.; SILVA, J.F. (Eds) *Tópicos em manejo de plantas daninhas*. Viçosa, MG: Editora UFV, p.367, 2007.
- SILVA, A.C. & MONQUEIRO, P.A. Fitorremediação de herbicidas. **Pesquisa & Tecnologia**, São Paulo, v. 3, n.1, jan./jun. 2006.
- SILVA, L.C.R. & CORRÊA, R.S. Sobrevivência e crescimento de seis espécies arbóreas submetidas a quatro tratamentos em área minerada no Cerrado. **R. Árvore**, Viçosa, v.32, n.4, p.731-740, 2008.
- SINDIVEG, Sindicato Nacional da Indústria de produtos para defesa vegetal. Disponível em: <[http://www.sindiveg.org.br/docs/MERCADO\\_DEF\\_AG\\_2012\\_2013\\_VERSAO\\_FINAL\\_4\\_3\\_13.pdf](http://www.sindiveg.org.br/docs/MERCADO_DEF_AG_2012_2013_VERSAO_FINAL_4_3_13.pdf)> Acessado em: 12 de dezembro de 2013.
- SINGH, B. K. & NAZARIES, L. Use of Multiplex Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism for Rapid and Simultaneous Analysis of Different Components of the Soil Microbial Community. **Appl. Environ. Microbiol.** **72**(11): 7278-7285.2006.
- SINGH, B. K., NAZARIES L., MUNRO S., ANDERSON I. C., AND CAMPBELL C. D. Use of multiplex terminal restriction fragment length polymorphism for rapid and simultaneous analysis of different components of the soil microbial community. **Applied. Environmental. Microbiology**, v. 72, p. 7278 – 7285, 2006.
- SOUTO, K.M., JACQUES, R.J.S., DE AVILA, L.A., MACHADO, S.L.O., ZANELLA, R., REFATTI, J.P. Biodegradação de herbicidas imazethapyr e imazapic na rizosfera de seis espécies de plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.43, n.10, p.1790-1796, out.2013.
- SOUZA, A. P.; FERREIRA, F. A.; SILVA, A. A.; CARDOSO, A.A.; RUIZ, H. A. Respiração microbiana do solo sob doses de glyphosate e de imazapic. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 17, n. 3, p. 387-398, 1999.
- SPADOTTO, C. A.; Abordagem Interdisciplinar na Avaliação Ambiental de Agrotóxicos. **Revista Núcleo de Pesquisa Interdisciplinar**, Embrapa Meio Ambiente, São Manuel, 2006, 9p.
- STARR, C.R. *Avaliação da sucessão ecológica e do desenvolvimento de árvores em uma lavra de cascalho revegetada no Distrito Federal, DF, Brasil*. 2009. 78f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais)-Faculdade de Tecnologia, Universidade de Brasília, Brasília-DF, 2009.



- STEMPVOORT, V.; ROY, J.W.; BROWN, S.J.; BICKERTON, G. Residues of the herbicide glyphosate in riparian groundwater in urban catchments. **Chemosphere**, Amsterdam, v.95, n.1, p.455-463, jan, 2014.
- STRUTHERS, J.K.; JAYACHANDRAN; MOORMAN, T.B. Biodegradation of atrazine by *Agrobacterium radiobacter* J14 and use of this strain in bioremediation of contaminated soil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, p.3368-3375.1998.
- TAVARES, S.R.L. *Fitorremediação em solo e água de áreas contaminadas por metais pesados provenientes da disposição de resíduos perigosos*. 2009.371f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2009.
- TONINI, R. M. C. W; DE REZENDE, C. E., & GRATIVOL, A. D. Degradação e biorremediação de compostos do petróleo por bactérias: Revisão. **CEP**, v. 28013, p. 602, 2010.
- TSAI, S.M.; CANNAVAN, F.S.; SILVA JUNIOR, J.P.; CHAVES, M.G.; PASSIANOTO, C.C.; BORGES, C.P. Diversidade bacteriana em terra preta de índio baseada em seqüenciamento do gene 16S rRNA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 29., 2003, Ribeirão Preto. **Resumos...** Ribeirão Preto: SBCS, 2003.
- VASCONCELOS, F. C. W; NÓBREGA, J. C. A; GUERREIRO, M. C; JESUS, E. A; JULIÃO, L. G. F; CURI, N. Mobilidade do herbicida atrazina em amostras de latossolos vermelhos sob calagem e adubação fosfatada. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v.18, p.133-146, 2008.
- VIDAL, R.A. *Herbicidas: mecanismos de ação e resistência de plantas*. Porto Alegre: R.A. Vidal, 1997. 165p.
- VIEIRA, G. E. G., SILVEIRA, C.R.CUTRIM, J, RIBEIRO, J. Avaliação dos principais aspectos da fitorremediação aplicados na redução da poluição no solo e água. **Engenharia Ambiental**, Espírito Santo do Pinhal, v.8, n.2, p.182-192, 2011.
- VONBERG, D.; VANDERBORGHT, J.; CREMER, N.; PUTZ, T.; HERBST, M.; VERECKEN, H. 20 years of long-term atrazine monitoring in a shallow aquifer in western Germany. **Water Research**, Delft, v.50, n.1, p.294-306. 2014.
- WELLER, S. Photosystem II inhibitors. In: *Herbicide action course*. West Lafayette: Purdue University, 2003. p.131-184.
- WHITE, T. J., BRUNS T. D., LEE S., AND TAYLOR J. Analysis of phylogenetic relationship by amplification and direct sequencing of ribosomal RNA genes. Pages 315-322 in M. A. Innis, D. H. Gelfond, J. J. Sainsky, and T. J. White, eds. PCR protocol: **A guide to method and applications**. Academic Press, New York. 1990.
- YAMASHITA, O.M.; BETONI, J.R. GUIMARÃES, S.C. ESPINOSA, M.M. Influência do glyphosate e 2,4-D sobre o desenvolvimento inicial de espécies florestais. **Scientia Forestales**, Piracicaba, v. 37, n. 84, p. 359-366, dez.2009.
- YUA, Z.G. LIU, B. JIANG, Z.H. ZHANG, G.L. Simultaneous determination of herbicide mefenacet and its metabolites residues in river water by solid phase extraction and rapid resolution liquid chromatography-mass spectrometry with pre-column derivatization. **Journal of Chromatography A**, Boston, v.1216, n.1, p.3090-3097, out.2009.

ZILLI, J. É. RUMJANEK, N. G., XAVIER, G. R., DA COSTA COUTINHO, H. L., & NEVES, M. C. P. Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 20, n. 3, p. 391-411, set./dez. 2003.