

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CAMPUS DE ENGENHARIAS E DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
PRODUÇÃO VEGETAL

LUCAS ALCEU RODRIGUES DE LIMA

Seleção de espécies para a fitorremediação de solos com tebuthiuron

RIO LARGO-AL

2020

LUCAS ALCEU RODRIGUES DE LIMA

Seleção de espécies para a fitorremediação de solos com tebuthiuron

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós-graduação em
Agronomia (Produção Vegetal) da
Universidade Federal de Alagoas,
como requisito parcial para a obtenção
do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Renan Cantalice de Souza

Coorientador: Prof. Dr. Jorge Luiz Xavier Lins Cunha

RIO LARGO-AL

2020

**Catálogo na fonte Universidade
Federal de Alagoas**
Biblioteca Campus de Engenharias e Ciências Agrárias
Bibliotecário Responsável: Erisson Rodrigues de Santana

L732s Lima, Lucas Alceu Rodrigues de.
 Seleção de espécies para a fitorremediação de solos com
 tebuthiuron. / Lucas Alceu Rodrigues de Lima. – 2020.

51f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Renan Cantalice de Souza
Coorientador: Prof. Dr. Jorge Luiz Xavier Lins Cunha

Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós - graduação
em Agronomia, Área de concentração em produção vegetal, Campus
de Engenharias e Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas.
Rio Largo, 2020.

Bibliografia: p. 42-49.

1. Descontaminação. 2. Dissipação. 3. Herbicidas. I. Título

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus pela minha vida, por nunca me deixar desistir, estando sempre ao meu lado e me fortalecendo para alcançar os meus sonhos.

Aos meus Pais Tânia Maria Rodrigues Belo e Cláudio Stenio Fernandes de Lima. À minha irmã Camila Rodrigues de Lima por serem a base da minha vida.

Ao meu orientador Prof. Dr. Renan Cantalice de Souza e coorientador Jorge Luiz Xavier Lins Cunha pela oportunidade da orientação, paciência, compreensão e todo conhecimento compartilhado comigo.

Aos membros da banca examinadora, Dr^a. Vilma Marques Ferreira e Dr. Hugo Henrique Costa do Nascimento pela disposição e dedicação em contribuir para com a melhoria do trabalho.

Aos colegas e companheiros do Laboratório de Tecnologia da Produção, em especial Gerlan do Nascimento Rodrigues e Antônio Barbosa da Silva Júnior.

Aos colegas de mestrado Samuel Silva e Cristian Bernardo, pela amizade e companheirismo.

Ao técnico do laboratório de Fisiologia Vegetal, Paulo Henrique Barcellos, por toda sua contribuição nas análises, bem como no experimento.

À Professora Dr. Maria de Fátima da Silva Muniz pela grande ajuda concedida na realização do experimento.

Ao Laboratório de Tecnologia da Produção por todo suprimento disponibilizado para realização do meu experimento.

À Universidade Federal de Alagoas e ao Centro de Ciências Agrárias, por possibilitarem a realização de me tornar Mestre em Produção Vegetal.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa durante todo o curso.

RESUMO

O trabalho teve como objetivo selecionar espécies de plantas para a fitorremediação de solos com tebuthiuron, avaliar o desenvolvimento de bioindicadoras após a fitorremediação do herbicida, além de quantificar sua dissipação do solo. Os tratamentos foram compostos por dez espécies: Mucuna preta (*Mucuna aterrima*); Feijão de porco (*Canavalia ensiformes* L.); Bucha (*Luffa aegyptiaca* L.); Calopogonio (*Callopogonium mucunoides* L.); Feijão guandu (*Cajanus cajan* L.); Nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.); Crotalaria spectabilis (*Crotalaria spectabilis* L.); Mata pasto (*Senna obtusifolia* L.); Leucena (*Leucaena leucocephala* L.); e Mamona (*Ricinus communis* L.). O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Campus de Engenharias e de Ciências Agrárias (CECA-UFAL), em vasos contendo 3 dm³ de solo de textura franco argilo arenoso. O experimento foi em delineamento inteiramente casualizado, em fatorial duplo: espécies de plantas (10) x presença de herbicida (2), com 6 repetições, no tratamento com herbicida foi aplicado em pré-emergência a dose de 1,0 kg.ha⁻¹ (recomendação comercial). A avaliação do comportamento de diferentes espécies vegetais cultivadas em sucessão às fitorremediadoras de solo contaminado por tebuthiuron foi realizado em plantas bioindicadoras, dentre as quais, o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e pepino (*Cucumis sativus* L.) foram utilizados e indicaram a presença ou ausência de níveis tóxicos do herbicida. Também foi utilizado a quantificação do herbicida no solo, realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e corroboraram com os dados obtidos pelas espécies bioindicadoras. As avaliações foram feitas em quatro épocas de avaliação (15, 30, 45 e 60 dias após a semeadura) nas espécies fitorremediadoras e bioindicadoras por meio de variáveis fisiológicas e biométricas. As variáveis fisiológicas foram: Índice SPAD, Eficiência quântica máxima (Fv/Fm) e Eficiência quântica efetiva (YIELD) do fotossistema II. As variáveis biométricas foram: altura de plantas, número de folhas verdes, massa seca. Apenas a *Mucuna aterrima* foi tolerante ao tebuthiuron, demonstrando menor interferência para as variáveis fisiológicas e biométricas, e em seu cultivo, foi constatado uma diminuição de 86,5% da concentração do herbicida no solo pelo método HPLC. Em relação as espécies bioindicadoras, tanto o pepino quanto o feijão apenas se desenvolveram onde houve o cultivo da *Mucuna aterrima*, indicando, com isso, potencial dessa espécie para a fitorremediação de tebuthiuron no solo.

Palavras-chave: Descontaminação, Dissipação, Herbicidas.

ABSTRACT

This work aimed to select plant species for phytoremediation of soils with tebuthiuron, to evaluate the development of bioindicators after herbicide phytoremediation, in addition, quantify their soil dissipation. The treatments were composed of ten species: hamburguer seed (*Mucuna aterrima*); Jack bean (*Canavalia ensiformes* L.); Sponge gourd (*Luffa aegyptiaca* L.); Calopogonio (*Callopogonium mucunoides* L.); Pigeon pea (*Cajanus cajan* L.); radish (*Raphanus sativus* L.); rattle pods (*Crotalaria spectabilis* L.); Chinese senna (*Senna obtusifolia* L.); leadtrees (*Leucaena leucocephala* L.); and castor bean (*Ricinus communis* L.). The experiment was carried out in a greenhouse at the Campus Engineering and Agrarian Sciences (CECA-UFAL), in pots containing 3 dm³ of soil with a sandy loam texture. The experiment was carried out in a completely randomized design, in a double factorial: plant species (10) x presence of herbicide (2), with 6 replications, in the treatment with herbicide a dose of 1.0 kg was applied pre-emergence. 1 (commercial recommendation). The evaluation of the behavior of different plant species cultivated in succession to phytoremediation of soil contaminated by tebuthiuron was carried out in bioindicator plants, among which, beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and cucumbers (*Cucumis sativus* L.) were used and indicated the presence or absence of toxic levels of the herbicide. Quantification of the herbicide in the soil was also explored, performed by high performance liquid chromatography (HPLC) and corroborated with the data obtained by the bioindicator species. The evaluations were made in four evaluation periods (15, 30, 45 and 60 days after sowing) in phytoremediation and bioindicator species through physiological and biometric variables. The physiological variables were: SPAD index, maximum quantum efficiency (Fv / Fm) and effective quantum efficiency (YIELD) of photosystem II. Biometric variables were: plant height, number of green leaves, dry matter. Only *Mucuna aterrima* was tolerant to tebuthiuron, showing less interference for physiological and biometric variables, and in its cultivation, an 86.5 % decrease in the concentration of the herbicide in the soil by the HPLC method was found. Regarding bioindicator species, both cucumber and beans only developed where *Mucuna aterrima* was cultivated, thus indicating the potential of this species for the phytoremediation of tebuthiuron in the soil.

Keywords: Decontamination, Dissipation, Herbicides.

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Composição físico-química do solo utilizado no experimento.....	18
Tabela 02. Análise de variância das concentrações observadas no solo após 60 dias de cultivo de espécies fitorremediadoras. Rio Largo – AL, 2020.....	17
Tabela 03. Cromatograma das diferentes concentrações de tebuthiuron injetadas para construção da curva de calibração.....	50
Tabela 04. Coeficiente de variação para cada concentração de tebuthiuron recuperada pelo teste de recuperação.....	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 01. Germinação das espécies fitorremediadoras, 15 dias após a semeadura.....	23
Figura 02. Rendimento quântico máximo (Fv/Fm), efetivo (YIELD) do FSII e índice SPAD das espécies fitorremediadoras ao longo das épocas de avaliação (15, 30, 45 e 60 dias).....	25
Figura 03. Altura (cm) e número de folhas verdes das espécies fitorremediadoras ao longo das épocas de avaliação (15, 30, 45 e 60 dias).....	27
Figura 04. Matéria seca (g) 60 dias após a semeadura das espécies fitorremediadoras.....	28
Figura 05. Médias da taxa de germinação da bioindicadora pepino 15 dias após a semeadura.....	30
Figura 06. Rendimento quântico máximo (Fv/Fm), efetivo (YIELD) do FSII e índice SPAD da bioindicadora pepino ao longo das épocas de avaliação (15, 30, 45 e 60 dias).....	31
Figura 07. Altura (cm) e número de folhas verdes da bioindicadora pepino ao longo das épocas de avaliação (15, 30, 45 e 60 dias).....	33
Figura 08. Matéria seca (g) 60 dias após a semeadura da bioindicadora pepino.....	34
Figura 09. Médias da taxa de germinação da bioindicadora feijão 15 dias após a semeadura.....	35
Figura 10. Rendimento quântico máximo (Fv/Fm), efetivo (YIELD) do FSII e índice SPAD da bioindicadora feijão ao longo das épocas de avaliação (15, 30, 45 e 60 dias).....	36
Figura 11. Altura (cm) e número de folhas verdes da bioindicadora feijão ao longo das épocas de avaliação (15, 30, 45 e 60 dias).....	37
Figura 12. Matéria seca (g) 60 dias após a semeadura da bioindicadora pepino.....	38
Figura 13. Concentração de tebuthiuron no solo após o cultivo das espécies fitorremediadoras, pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).....	39
Figura 14. Curva de calibração do tebuthiuron obtida por cromatografia líquida de alta eficiência.....	51

SUMÁRIO

RESUMO	iv
ABSTRACT.....	v
1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 Problemática do uso de herbicidas residuais.....	11
2.2 Fitorremediação	14
2.3 Características físico-químicas dos herbicidas como fatores de aumento do residual	16
2.4 Tebuthiuron	18
2.5 Aparato fotossintético.....	17
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.1 Instalação dos experimentos.....	21
3.2 Experimento 1	21
3.3 Experimento 2	22
3.4 Avaliações fisiológicas	22
3.5 Avaliações de crescimento	22
3.6 Quantificação de tebutiuron no solo	23
3.7 Análise Estatística.....	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
4.2 Bioindicadora Pepino.....	32
4.3 Bioindicadora Feijão.....	37
5. CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS:.....	44
6. APÊNDICES:.....	51

1. INTRODUÇÃO

O crescimento da população mundial tem pressionado o aumento da produção de alimentos e para suprir esta demanda é fundamental a diversificação de culturas. Porém, a interferência de plantas daninhas surge como um dos principais fatores que culminam na redução do potencial produtivo dos sistemas agrícolas.

O uso de herbicidas se destaca como principal método de medida de manejo, principalmente no que se refere aos herbicidas de pré-emergência que visam a utilização de moléculas residuais como fator de controle prolongado. Outra ferramenta que pode ser utilizada, é a melhoria das condições do solo através do uso de adubação verde, entre o período do preparo do solo e a semeadura, em que haverá a fixação de nitrogênio por leguminosas (Paulino *et al.*, 2009). Além da melhora da fertilidade do solo, através da ciclagem de nutrientes, produzida pelas espécies de rotação, quando as mesmas são incorporadas no solo.

Em relação aos agroquímicos o Brasil é o maior consumidor, desde 2010 (Almeida *et al.*, 2017). Segundo Gianessi (2013), é provável que sejam aplicados mais de 1 milhão de toneladas de agroquímicos a cada ano nas lavouras brasileiras. Os herbicidas são os produtos com maior volume de uso, responsáveis por aproximadamente 60% do total comercializado no país (Gianessi, 2013).

Fatores ambientais, formas de aplicação e, sobretudo, fatores físico-químicos dos produtos tornam-se grandes variáveis no que se refere a predição de perdas dos agroquímicos no ambiente e podem sofrer lixiviação. Com isso, reservatórios de água, rios, córregos e afins são os eminentes acumuladores finais dos herbicidas (Murray *et al.*, 2010).

Dentre os métodos de avaliação da retenção de resíduos de herbicidas no solo são aplicadas técnicas como espectrometria de massa, cromatografia líquida e gasosa, sobretudo o uso de bioensaio, na qual consiste na utilização de espécies vegetais que demonstram alta sensibilidade ao produto e são de rápido desenvolvimento e fácil cultivo, além de ser de menor custo dentre as demais (Nunes; Vidal, 2009). O pepino é largamente utilizado como espécie bioindicadora da presença de herbicidas como trifloxysulfuron-sodium e pyrithiobac-sodium (Guerra *et al.*, 2011), atrazine, cloransulam-methyl, imazaquin, metribuzin e s-metolachlor (Nunes; Vidal, 2009).

A sustentabilidade da produção agrícola e a sua adequação ambiental são vertentes atualmente indispensáveis aos atuais meios de produção. Com isso, alternativas biológicas como a fitorremediação podem ser utilizadas para amenizar problemas ambientais relacionados a herbicidas com longo residual no solo (Pires *et al.*, 2001; Carmo *et al.*, 2008). No Brasil,

algumas pesquisas sobre fitorremediação de herbicidas como tebuthiuron tem sido estudadas (Pires *et al.*, 2003; 2005 e 2006; Belo, 2006).

Por apresentar longo efeito residual no solo, o tebuthiuron é um herbicida que pode causar sérios impactos ambientais (Approbato Filho *et al.*, 1988; Meyer; Bovey, 1988). Por esse motivo, torna-se importante o estudo de processos que possibilitem a redução ou anulação de seus níveis no solo. Em experimentos de seletividade de plantas ao tebuthiuron, visando sua remediação, observou-se que, em baixas concentrações desse herbicida, espécies de adubos verdes como mucuna-preta, tremçoço- branco e feijão-de porco mostraram-se promissoras (Pires *et al.*, 2003).

O tebuthiuron possui longo efeito residual no ambiente, cuja meia vida é de 360 dias. Segundo Andrei (2013), este herbicida é altamente tóxico para algas, altamente persistente ao meio ambiente e com grande potencial de mobilidade ao longo do perfil do solo, podendo atingir principalmente águas subterrâneas. O uso do tebuthiuron tem despertado grande preocupação em relação ao risco ambiental, principalmente no tocante à contaminação dos lençóis freáticos (Bernardes *et al.*, 2014) (Faria *et al.*, 2013).

A pesquisa sobre fitorremediação ainda é incipiente no Brasil, tendo o uso mais difundido nos EUA e na Europa, principalmente no que se refere a remediação de metais pesados. Devido a isso, há poucos relatos sobre o uso da fitorremediação de tebuthiuron. Entre os trabalhos que avaliaram a seletividade desse herbicida a adubos verdes pode-se citar o de Dal Piccolo; Christoffoleti (1985) e Pires *et al.* (2005).

Diante disso, o objetivo do trabalho foi de avaliar a existência de espécies de plantas com potencial para fitorremediação de solos contaminados por tebuthiuron, avaliar o desenvolvimento de bioindicadoras após a fitorremediação do herbicida e quantificar a dissipação do herbicida no solo pelo método de cromatografia líquida.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Problemática do uso de herbicidas residuais

Visando maior produção em larga escala, devido ao crescimento populacional, o uso de agrotóxicos tem sido cada vez mais elevado, com isso, a preocupação quanto à contaminação ambiental e a utilização racional dos recursos hídricos e do solo está cada vez mais evidente.

O uso de herbicidas com longo período residual é uma prática cada vez mais comum, principalmente em monoculturas e em culturas que não proporcionam a cobertura rápida do solo e, portanto, estão sujeitas a período mais longos de interferência das plantas daninhas.

O controle químico e técnicas culturais são os principais métodos para o manejo e controle de plantas daninhas, o que tem possibilitado decréscimo nas perdas de produtividade das culturas pela competição com as mesmas. Entretanto, no que se refere ao controle químico, o uso de herbicidas de forma indiscriminada pode causar problemas como: contaminação ambiental e o efeito residual (*carryover*) (Guimarães, 2017).

O efeito residual dos herbicidas no solo visa suprimir novos fluxos de plantas daninhas, o que permite reduzir o número de aplicações e favorecer a cultura no ambiente, com pouca ou nula competição. No entanto, apresenta riscos ambientais além de limitar a rotação de culturas, as quais visam promover a diversificação e sustentabilidade dos meios de produção (Melo *et al.*, 2016).

Carryover é o efeito fitotóxico, que por meio da persistência do herbicida no solo após o final do ciclo da cultura que foi utilizado levando à intoxicação de culturas sucessoras (Oliveira Júnior; Regitano, 2009). O potencial do efeito está ligada a fatores como: natureza química, a dosagem e a meia vida do herbicida utilizado, bem como efeitos relativos ao solo, como: a atividade microbiana, textura do solo, pH do solo, teor de matéria orgânica. Condições ambientais que após a aplicação afetam a taxa de dissipação e degradação do composto no solo, como a temperatura após a aplicação (Nummer, 2015). Fatores esses que estão diretamente interligados nos processos de retenção, transformação e transporte das moléculas, na dinâmica do herbicida no solo (Oliveira Júnior; Regitano, 2009).

Mesmo que a intoxicação não seja visível, devido as baixas concentrações dos herbicidas no solo, pode resultar em menor crescimento e afetar negativamente a produtividade da cultura. (Robinson; McNaughton, 2012).

Além de interferir negativamente no desenvolvimento de culturas em sucessão, são

frequentes relatos em pesquisas de monitoramento em reservas de água a presença de herbicidas utilizados no controle de plantas daninhas em diversas culturas, devido a capacidade de serem translocados pelo perfil do solo. Trabalhos onde se estudaram os herbicidas alachlor, atrazine, metolachlor, simazine e trifluralin descrevem a degradação e a lixiviação dos mesmos em subsolos brasileiros, onde foi detectada a presença destes no perfil do solo até 95 cm de profundidade (Laabs *et al.*, 2002).

Johnson e Talbert (1996) constataram toxicidade às culturas de melão, pepino, girassol e mostarda resultante do efeito residual do herbicida imazaquin mesmo quando semeados 112 dias após a aplicação.

Regiões que possuem maiores áreas plantadas com monocultivos apresentam também maiores índice de contaminação de agrotóxicos agrícolas ao meio ambiente, as culturas de ciclo curto, como as olerícolas, que são frequentes em sistema de rotação de cultura, mas, sobretudo, os maiores índices de intoxicação humana (Neves *et al.*, 2018) e (Rahman *et al.*, 2014).

É necessário conhecer parâmetros de sorção e de lixiviação ao mesmo tempo em que se busca o controle de plantas daninhas, a fim de prevenir prejuízos ambientais na dinâmica do herbicida no solo e no efeito residual a culturas em sucessão. Esse conhecimento é necessário, pois a aplicação indiscriminada em solos cuja capacidade sortiva seja baixa irá favorecer o carreamento da molécula até reservas de água, além de danos produtivos às culturas (Silva *et al.*, 2012).

2.2 Fitorremediação

Fitorremediação é a tecnologia que tem como base uma solução ecológica estratégica em utilizar plantas para reduzir, extrair, conter ou imobilizar substâncias tóxicas do meio ambiente. O termo fitorremediação é relativamente novo, consiste no prefixo *phyto* = planta e remediação que significa “corrigir ou remover o mal”.

A fitorremediação surge como uma ciência de elevada eficácia e alto potencial na extração de contaminantes do solo, em que visa amenizar ou até degradar por completo o efeito residual dos herbicidas. Além de técnica que se baseia na utilização de plantas como agentes fitodegradadores da molécula do herbicida no solo podendo imobilizá-la na planta ou até mesmo degradá-la em substâncias inofensivas. A fitorremediação se baseia no processo de seletividade para resistência desenvolvida por espécies vegetais a herbicidas ou agente xenobiótico (Pires *et al.*, 2003; Madalão, 2012).

As principais vantagens da fitorremediação são o baixo custo de execução e de investimento, como também baixa degradação da área a ser descontaminada (Chaves *et al.*,

2010). E por serem plantas despoluidoras, não raro, resultam em benefícios adicionais além da própria remediação, principalmente quando são leguminosas ou espécies florestais (Pires *et al.*, 2006).

A fitorremediação se relaciona diretamente com as propriedades do solo, com o potencial da planta em fitorremediar os compostos orgânicos, e na capacidade de bioestimular microrganismos presentes no solo capazes de favorecer o processo (fitoestimulação), a partir do estímulo de exsudatos radiculares (Krutz *et al.*, 2009; Vasconcellos *et al.*, 2012).

As limitações da fitorremediação se relacionam a fatores que levam a planta a crescer mais lentamente, fazendo com que se aumente tempo necessário para o processo de fitorremediação, além dos fatores favoráveis do o clima, o tipo de solo, à estação do ano, à concentração e profundidade do contaminante e à interferência do contaminante no crescimento da planta (Cunningham; Ow, 1996; PilonSmits, 2005).

Os processos responsáveis pela fitorremediação de compostos tóxicos estão relacionados com o transporte diferencial do composto para os tecidos da planta, a volatilização, a degradação parcial ou total, a transformação em compostos mais inofensivos (Accioly; Siqueira, 2000; Scramin *et al.*, 2001; Pires *et al.*, 2003). Além disso, pode estar relacionada também à liberação de exsudatos radiculares, os quais estimulam micro-organismos, degradando o composto no solo, processo conhecido como rizodegradação (Cunningham *et al.*, 1996; Silva *et al.*, 2007). A disponibilidade de um pesticida à degradação microbiana varia devido as propriedades físico-químicas do mesmo e pelo fato da sorção por colóides do solo diminuir a taxa de degradação microbiológica, em uma impedição física à colonização microbiana.

A fitorremediação depende da técnica a ser empregada, natureza química e das propriedades dos poluentes. Os processos que envolvem os mecanismos da fitorremediação são de acordo com o quadro abaixo:

Quadro 1. Mecanismos de fitorremedição em áreas com poluentes.

MECANISMO	PROCESSO
FITOEEXTRAÇÃO	A capacidade da planta em absorver o contaminante do solo e armazená-los no tecido vegetal das folhas, caules e raízes da planta.
FITODEGRADAÇÃO	O poluente é bioconvertido e passa para uma forma menos tóxica por uma ação enzimática.

FITOVOLATILIZAÇÃO	Há absorção e conversão do poluente em uma forma volátil, o qual é liberado na atmosfera.
FITOESTIMULAÇÃO	Biodegradação microbiana mediante exsudados radiculares.
FITOESTABILIZAÇÃO	Imobilização do poluente à parede vegetal.

Fonte: Adaptado de Santos *et al.* (2010).

O mecanismo mais desejado do processo da fitorremediação é o da fitodegradação, considerando-se a probabilidade da completa degradação do composto por esta via (Procópio *et al.*, 2007). Procópio (2009), também afirma que os processos que envolvem a fitorremediação podem ocorrer ao mesmo tempo ou sequencialmente.

A primeira etapa de um planejamento de fitorremediação consiste na seleção de plantas que apresentem características pré-determinadas como indicativo de uma planta fitorremediadora, segundo Procópio (2009), tem-se de levar em conta e avaliar características físico-químicas da molécula do herbicida aplicado e do solo a ser remediado, condições climáticas do local e a topografia da área.

A seleção de plantas deve seguir determinados critérios indicativos para o projeto de fitorremediação, Procópio (2009), Oliveira *et al.* (2007) e Santos *et al.*, (2006) relataram dentre os quais: sistema radicular profundo e denso; alta taxa de crescimento e grande produção de biomassa; capacidade transpiratória elevada; elevada taxa de exsudação radicular; resistência a pragas e doenças; adaptabilidade ao local a ser remediado (clima e solo); fixação biológica de nitrogênio atmosférico; alta associação com fungos micorrízicos; ter capacidade de desenvolver-se em locais diversos; capacidade de absorção, concentração e/ou metabolização e tolerância ao contaminante; fácil aquisição ou multiplicação de propágulos; ser de fácil colheita e; ocorrência natural em áreas contaminadas. Sendo ideal agrupar todas essas características em uma só espécie vegetal, ou reunir o maior número delas.

2.3 Características físico-químicas dos herbicidas como fatores de aumento do residual

Fatores físico-químicos regulam o destino dos herbicidas ao entrarem em contato com o solo, onde podem ser absorvidos pelas plantas e microrganismos, lixiviados, degradados ou sorvidos pelas partículas de solo, neste caso permanecendo por mais tempo e aumentando seu poder residual no solo (Silva e Silva, 2007).

Independentemente do método de aplicação, seja ele em pós ou em pré-emergência, o solo tende a ser o destino final do herbicida (Law, 2001). A partir do momento que a molécula

de herbicida atinge este, estará sujeita a processos de retenção, transporte e transformação os quais estão diretamente ligados a eficiência no controle de plantas daninhas e no aumento residual da molécula (Silva *et al.*, 2013). A intensidade com que esses processos ocorrem depende de atributos físicos, químicos e biológicos do solo, bem como de diversos fatores físicos e químicos da molécula que podem ocasionar na sorção da molécula pelos colóides do solo, na absorção dessas pelas plantas e degradação por microrganismos.

A mobilidade e poder residual de um herbicida no solo é dependente de características físico-químicas da molécula, como a constante de equilíbrio de ionização (pKa), o coeficiente de partição octanol-água (Kow), a solubilidade em água (Sw), a pressão de vapor (PV), constante da Lei de Henry (H), meia vida e a interação entre essas propriedades, bem como de características inerentes ao solo, como a granulometria, o pH, a capacidade tampão, a mineralogia, o teor de matéria orgânica e a atividade microbiana, além das condições climáticas (Mancuso *et al.*, 2011). Assim, chega-se à conclusão que herbicidas de maior efeito residual são os de maior persistência no solo, tendo assim potencial para afetar o crescimento e produção de cultivos e agroecossistemas posteriores.

A capacidade do solo de reter uma molécula orgânica e evitar que ela se mova na matriz do solo, é chamada de retenção (Silva *et al.*, 2013). Esse processo é um mecanismo geral que envolve a sorção de herbicidas no solo e que engloba mecanismos específicos de dissipação dos herbicidas: absorção, precipitação e adsorção.

Por atuarem mais diretamente na concentração do herbicida disponível na solução do solo, os processos de sorção e dessorção estão entre os principais processos que influenciam o transporte, taxa de degradação e eficiência dos herbicidas (Rubio-bellido *et al.*, 2018). De acordo com seus atributos físicos e químico (solubilidade, polaridade e capacidade de dissociação eletrolítica) a capacidade sortiva dos solos podem variar (Cabrera *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2015). Qualquer modificação em um desses atributos pode promover alteração na dinâmica da molécula no solo e, conseqüentemente, a sua bioatividade (Zhang *et al.*, 2014; Yue *et al.*, 2017).

A adsorção, que é um dos processos que caracteriza a sorção, é o mecanismo onde o produto se liga a matriz coloidal dos solos e determina a quantidade de herbicida biodisponível na solução do solo para absorção pelas plantas daninhas, degradação e transporte. Associar as características físico-químicas dos herbicidas pré-emergentes com a capacidade adsorviva dos solos pode fornecer uma propensão a sua sorção (Christoffoleti *et al.* 2009). Ainda, o processo oposto a adsorção, a dessorção, é um componente importante na biodisponibilidade dos herbicidas na solução do solo e por meio desta pode-se estimar o período residual do produto

no ambiente.

Estudar a associação entre as características físico-químicas dos herbicidas com os atributos do solo e características climáticas (precipitação pluviométrica), pode resultar em informações relevantes em relação ao potencial de contaminação ambiental do produto. Quanto maior o residual no solo e quanto mais apresentar uma dessorção contínua do produto nos solos maior a probabilidade de sofrer lixiviação e causar contaminação de reservas de água (Mancuso, 2011).

A principal forma de transporte de moléculas, não voláteis e solúveis em água, ao longo do perfil do solo é a lixiviação. O deslocamento dessas moléculas se dá acompanhando o fluxo de água, o qual é conduzido pela diferença de potencial da água entre dois pontos (Prata *et al.*, 2003).

As moléculas dos herbicidas podem ser lixiviadas ou degradadas em camadas mais profundas. (Havens *et al.*, 1995; Prata; Lavoretti, 2000 e Oliveira JR; Regitano, 2009). Rocha *et al.* (2013) presumi que a eficácia do controle de plantas daninhas, pela absorção dos herbicidas pelas plantas, e a sua movimentação no solo dependem grande parte do equilíbrio entre processos de sorção e dessorção.

Situações de menor sorção e maior dessorção aumentam o risco de contaminação dos recursos hídricos, principalmente para herbicidas com alta solubilidade em água, como o tebuthiuron. Além da alta solubilidade, o médio a longo tempo de meia-vida desse herbicida agrava o risco de contaminação ambiental uma vez que o herbicida se torna mais propenso a sofrer lixiviação (Tonieto *et al.*, 2016). Em alguns estudos, a presença de tebuthiuron em águas subterrâneas (Gomes *et al.*, 2015) e lençóis freáticos (Close; Skinner, 2012) já tem sido relatada.

2.4 Tebuthiuron

O uso excessivo de herbicidas tem despertado preocupação em relação ao risco ambiental, principalmente à contaminação dos lençóis freáticos. Dentre os herbicidas de longo período residual e risco de contaminação ambiental, está o tebuthiuron, utilizado no controle de plantas daninhas principalmente na cultura da cana-de-açúcar (Giroto *et al.*, 2015).

Dentre os herbicidas com potencial de lixiviação destaca-se o tebuthiuron. Esse herbicida do grupo das uréias, inibidor do fotossistema II, é utilizado em pré ou pós emergência para controle de folhas largas e gramíneas, sendo um herbicida de longo residual no solo, podendo chegar à meia-vida de 360 dias (Rodrigues; Almeida, 2011). Dentro deste grupo se encontram também o diuron, o ametryn e o hexazinone, todos de longo período residual (derivados das triazinas e das uréias substituídas). Esses herbicidas, no fotossistema II,

competem com a plastoquinona parcialmente reduzida (QbH) pelo sítio na proteína D-1, ocasionando a saída da plastoquinona e interrompendo o fluxo de elétrons entre os fotossistemas (Silva *et al.*, 2007).

O herbicida (tebuthiuron) N-[5-(1,1-dimetiletil)-1,3,4-tiadiazol-2-il]-N,N'-dimetiluréia possui solubilidade em água de 2,5 g L⁻¹ a 25°C, o que favorece sua movimentação no solo; pKa: 1; Kow: 671 e Koc médio de 80 mg g⁻¹ de solo. As doses variam de 1,6 a 2,4 L ha⁻¹ a depender das características físicas do solo. É adsorvido pelos coloides orgânicos e minerais, apresentando média lixiviação no perfil do solo. Se aplicado em doses mais altas em cana-de-açúcar, requer um intervalo de segurança entre a aplicação e o plantio de feijão, soja e amendoim de dois anos, e de três, se utilizado em pastagens (Rodrigues; Almeida, 2011).

O tebuthiuron aplicado no solo é absorvido pelas raízes das plantas, sendo acumulado na parte aérea, pode causar sério impacto ambiental pela possibilidade de contaminação da água na superfície do solo e subterrânea pelo alto potencial de escoamento superficial (Pires *et al.*, 2005). Por esse herbicida apresentar alta solubilidade em água e baixo Koc, é recomendado para aplicação em épocas secas (Inoue *et al.*, 2007). No entanto, por apresentar residual longo, permanece no solo por todo período chuvoso, associado à alta solubilidade em água que favorece sua lixiviação. O que pode ser monitoramento da lixiviação no campo por amostragem direta da água subterrânea, análise de amostras de solo ou estudos com lisímetros (Oliveira; Brighenti, 2011).

2.5 Aparato fotossintético

A fotossíntese ocupa uma posição central no metabolismo, fornecendo uma ligação entre processos internos da planta e o ambiente externo. O uso de parâmetros da fluorescência das clorofilas tem sido difundido, principalmente no estudo da capacidade fotossintética das plantas, por ser um método não-destrutivo que permite a análise qualitativa e quantitativa da absorção e aproveitamento da energia luminosa pelo aparelho fotossintético. Essa técnica tem permitido um aumento no conhecimento dos processos fotoquímicos e não-fotoquímicos que ocorrem na membrana dos tilacóides, além de possibilitar o estudo de características relacionadas à capacidade de absorção e transferência da energia luminosa na cadeia de transporte de elétrons (Krause; Weis, 1991).

Medidas da fluorescência da clorofila a podem gerar informações sobre mudanças ocorridas na fase fotoquímica (Maxell; Johnson, 2000). A fluorescência da clorofila a em sua maior parte emitida pelo fotossistema II (FSII) e pelo sistema coletor de luz do FSII, onde os estudos sobre essa emissão têm sido relacionados com a respostas de fluorescência, quando um tecido fotossintetizante é rapidamente iluminado, após uma adaptação ao escuro (Campostrini,

2001).

No escuro os centros de reações são ditos como abertos, pois a quinona A (Q_A) está completamente oxidada, e assim são capazes de realizar a redução fotoquímica da Q_A . A exposição de uma folha adaptada ao escuro, a um feixe de luz de baixa intensidade resulta no mínimo de fluorescência (F_0). O F_0 representa a emissão de luz pelas moléculas de clorofila excitadas antes da energia de a energia ser dissipada para o centro de reação do FSII. Esse é um valor de referência para a determinação de outros parâmetros da fluorescência, podendo ser alterado em casos onde existam mudanças estruturais nos fotossistemas do FSII (Campostrini, 2001) (Backer, 2008).

A variação dos valores da F_m nas espécies pode demonstrar variações nas propriedades dos aceptores de elétrons do FSII, causadas por mudanças conformacionais induzidas pelo estresse no principal constituinte do complexo proteico que forma o FSII, a proteína D1 (Bulkhov *et al.*, 1999).

A eficiência fotossintética máxima das plantas é dada pela relação F_v/F_m , em que F_m é a fluorescência máxima e F_v é a fluorescência variável, que é obtida pela diferença entre a $F_m - F_0$. O F_0 representa a fluorescência inicial, correspondente à fração da energia absorvida pelo complexo-antena e não é transmitida, ou seja, não é absorvida pelos pigmentos fotossintéticos (Rascher *et al.*, 2000). Dessa forma, a avaliação desses parâmetros é útil para mensurar as alterações na capacidade fotossintética das plantas em decorrência de estresse causado por deficiência hídrica.

Em condições ambientais estressantes, ocorre decréscimo na eficiência quântica potencial do fotossistema II (PSII), que pode ser detectada pela queda da eficiência fotoquímica máxima do PSII, ou seja, decréscimo da fluorescência variável em relação à fluorescência máxima (F_v/F_m) (Krause; Weis, 1991).

A relação F_v/F_m representa a eficiência máxima que a luz absorvida pela antena do PSII é convertida em energia química (em condições adequadas, apresenta valores em torno de 0,80) e é um indicador da ocorrência de fotoinibição, quando plantas estão sujeitas a vários tipos de estresses (Baker, 2008). Quando a disponibilidade de energia de excitação é superior à capacidade de utilização na fotossíntese (reações bioquímicas), há fotoinibição, indicada por valores de F_v/F_m menores que 0,725 (Critchley, 1998). Neste trabalho, os valores da relação F_v/F_m encontrados, foram inferiores a 0,725, considerado limite inferior para ocorrência de fotoinibição, apenas no tratamento com herbicida.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi composto por dois experimentos, os quais serão descritos a seguir:

3.1 Instalação dos experimentos

Os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação, com cobertura sombrite, localizada no Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas (CECA/UFAL), no município de Rio Largo-AL, latitude 9° 29' 45" , longitude 35° 49' 54" e altitude 165 metros (Casagrande *et al.*, 2017), no período de dezembro de 2018 a Julho de 2019.

As unidades experimentais foram vasos de polietileno, contendo 10 dm³ de solo, perfurados na base. Após o enchimento dos vasos, houve a aplicação de tebuthiuron, em pré-emergência, na dose de 1,0 kg ha⁻¹ do produto comercial Butiron (500 SC), sendo a dose comercial recomendada na bula, simulando a aplicação do plantio da cultura de cana de açúcar. O tebuthiuron foi aplicado com equipamento costal pressurizado com gás carbônico (CO₂) provido de barra de pulverização contendo um bico leque Teejet 110.02.

Como substrato, utilizou-se material de solo de áreas de pousio, classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo, de textura franco argilo arenosa, na profundidade de 0-20 cm e peneirado em malha de 4 mm. Sua caracterização física e química está tabela 01, a seguir.

Tabela 01 – Composição Físico-química do solo Argissolo Vermelho-Amarelo utilizado no experimento.

Análise Física (g/Kg)										
Argila		Silte		Areia Fina		Areia Grossa		Classificação Text.		
305		26		206		463		Franco Argilo Arenoso		
Análise Química										
pH	P	K+	Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	H + Al	CTC total	V	m	MO
H ₂ O	ppm		(meq/100mL)					(%)		
6,2	54,0	240,0	0,0	5,2	2,2	3,2	12,0	73,3	0,0	2,9

A semeadura foi feita 20 dias após a aplicação de tebuthiuron, utilizando 10 sementes de cada espécie por vaso em profundidade de 5 mm. Após a aplicação, os vasos foram irrigados para manter a umidade do solo próximo a capacidade de campo.

3.2 Experimento 1

Para esse ensaio foi montado um experimento em esquema fatorial, em delineamento

interamente casualizado, onde os fatores foram: espécies fitorremediadoras (10) x presença de herbicida (2), com 6 repetições. As espécies foram: Leucena (*Leucaena leucocephala* L.), Feijão de porco (*Canavalia ensiformis* L.), Mata pasto (*Senna obtusifolia* L.), Calopogônio (*Calopogonium mucunoides* L.), Crotalaria (*Crotalaria spectabilis* L.), Feijão guandu (*Cajanus cajan* L.), Bucha (*Luffa aegyptiaca* L.), Mucuna Preta (*Mucuna aterrima* L.), Nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.) e Mamona (*Ricinus communis* L.).

As espécies estudadas foram escolhidas em função de estudos anteriores realizados por Pires (2003) visando, além da descontaminação do solo, a seleção de adubos verdes devido a melhoria nas propriedades físico químicas do solo e pela potencial utilização na cobertura do solo. No caso da Mamona e Bucha, devido a potencial capacidade de tolerar o herbicida pela alta espessura da semente das mesmas (Rosenthal *et al.*, 2006).

3.3 Experimento 2

Na segunda etapa de avaliação do trabalho foi utilizada espécies para a bioindicação da persistência dos herbicidas no solo. Com isso, após 60 dias de ação das plantas fitorremediadoras, foram imediatamente semeados o feijão (*Phaseolus vulgaris*) (Franco *et al.* 2014) e pepino (*Cucumis sativus*) (Silva Junior *et al.*, 2018), dispostas em 3 repetições de cada tratamento e no fator com e sem herbicida, resultando num total de 60 parcelas para cada espécie, submetidas as mesmas condições de plantio e de avaliação das plantas remediadoras, realizando o bioensaio nos mesmos vasos após cultivo das fitorremediadoras.

3.4 Avaliações Fisiológicas

Aos 15, 30, 45 e 60 dias foram analisados o rendimento quântico máximo do PSII (Φ PSII) através da razão F_v/F_m , em que F_v é a fluorescência variável e F_m a fluorescência máxima, e rendimento quântico efetivo do PSII (Φ PSII) (YIELD). A medição da fluorescência máxima foi realizada após um período de adaptação ao escuro de 20 minutos e a fluorescência efetiva sob luz ambiente. As medições foram realizadas através de um fluorômetro portátil (PAM 2500, WALZ) de acordo com Maxell; Johnson (2000). Cada repetição foi obtida pela média de duas leituras por folha na parte mediana. O índice SPAD foi mensurado por meio de um clorofilômetro portátil modelo SPAD 502, obtendo-se as médias provenientes de três leituras de cada folha.

3.5 Avaliações de crescimento

Foram mensurados o número de folhas verdes e a altura das plantas aos 15, 30, 45 e 60 dias após a semeadura (DAS). Aos 61 DAS, as plantas foram coletadas e realizou-se a separação

da parte aérea. Em seguida, o material vegetal foi colocado em estufa com circulação forçada de ar a 65 ± 2 °C por 72 horas para quantificação da matéria seca.

3.6 Quantificação de tebutiuron no solo

Amostras de solo foram coletadas em três alíquotas de diferentes profundidades nas repetições de cada tratamento. O material foi então homogeneizado em um moinho de bolas (Retsch PM100CM, Haan, Alemanha) a 300 rpm durante 10 minutos.

Para a extração do tebutiuron, 5,0 g de solo seco à temperatura ambiente foram inseridos em tubos do tipo Falcon, aos quais foram adicionados 10 mL de metanol (MeOH). O material foi agitado verticalmente por 15 min em um Mini-Beadbeater-96 (Biospec Products, Bartlesville, EUA) e, logo após, centrifugado por dez minutos a 20 °C e 3000 rpm (Eppendorf 5810R, Hamburgo, Alemanha). O sobrenadante foi então removido com auxílio de uma seringa (Descarpac®), filtrado através de uma membrana de PVDF com porosidade de 0,45 µm (Millipore Millex- HV) e coletado em vials de 2,0 mL.

Todos os solventes utilizados foram de grau HPLC (Sigma-Aldrich Chromasolv® para o metanol, Tedia para a acetonitrila). A água ultrapura foi obtida a partir do sistema Milli-Q Direct 8 (Millipore, Bredford, EUA).

A análise cromatográfica do extrato foi realizada em cromatógrafo líquido Shimadzu Corporation LC20AD (Quioto, Japão) com detector UV-Vis (Shimadzu DGU-20A) e coluna C8 (Shim-pack CLC-C8(M), 150 mm × 4,6 mm d.i.). As separações cromatográficas foram conduzidas em modo isocrático usando como fase móvel uma mistura de água/acetonitrila na proporção de 70:30 (v/v), com fluxo de 1,0 mL/min, volume de injeção de 20 µL e temperatura do forno de 40 °C. O comprimento de onda monitorado foi estabelecido como 254 nm.

A validação do método de extração e análise foi feita com base em parâmetros de seletividade, taxa de recuperação, linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão, conforme preconizado pelas diretrizes da Eurachem (2014). As áreas obtidas nos cromatogramas foram quantificadas e comparadas usando o método de calibração externa através de superposição da matriz. Todas as análises foram executadas pelo mesmo analista e feitas no mesmo equipamento.

Uma solução estoque do herbicida na concentração de 1 mg/mL em metanol foi preparada a partir do padrão analítico com pureza de 98,0% (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA). A fortificação foi realizada por meio da adição de 1 mL de soluções de trabalho de tebuthiuron em MeOH (com concentrações de 0,5 mg/mL, 1,1 mg/mL, 2,1 mg/mL, 3,1 mg/mL, 4,1 mg/mL, 5,1 mg/mL, 6,1 mg/mL) a 5,0 g de solo não contaminado, de modo a se obter amostras de solo

com concentrações finais de 0,1 mg/g, 0,22 mg/g, 0,42 mg/g, 0,62 mg/g, 0,82 mg/g, 1,02 mg/g e 1,22 mg/g, respectivamente. Após o acréscimo, as amostras foram homogeneizadas por agitação em um Mini-Beadbeater-96 por 5 minutos e então foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 35 °C. Para cada concentração final, as amostras foram obtidas em triplicata. A extração do tebuthiuron foi realizada posteriormente conforme a metodologia já descrita e os extratos foram então analisados por HPLC para a construção da curva de calibração.

A seletividade foi estabelecida por meio de inspeção visual dos picos ao se verificar que o pico de resposta correspondia exclusivamente ao tebuthiuron. A linearidade foi observada na faixa de 0,5 a 6,1 mg/mL com base em uma regressão linear, considerando R^2 maior que 0,98. O limite de detecção foi feito por injeção de amostras contendo concentrações conhecidas decrescentes do analito. Já o limite de quantificação definido foi o ponto mínimo da curva de calibração.

A precisão e a exatidão foram determinadas intradia e interdia (por 3 dias). Para tanto, a precisão para cada amostra fortificada foi determinada com base na estimativa do desvio padrão relativo e a exatidão foi determinada para cada concentração por meio do cálculo da recuperação relativa das amostras fortificadas.

3.7. Análise Estatística

Os dados obtidos de todas as variáveis foram submetidos à análise de variância com comparações pelo teste “F” e entre médias dos tratamentos experimentais com aplicação do teste *Tukey* a 5 %. Para as análises foi utilizado o programa estatístico SISVAR 5.3.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Espécies fitorremediadoras

No que se refere a taxa de germinação, observa-se que não houve diferença significativa para as espécies estudadas entre os tratamentos com e sem herbicida, com exceção da espécie *Luffa aegyptiaca* que diferenciou da testemunha, como pode-se observar na figura 01 abaixo.

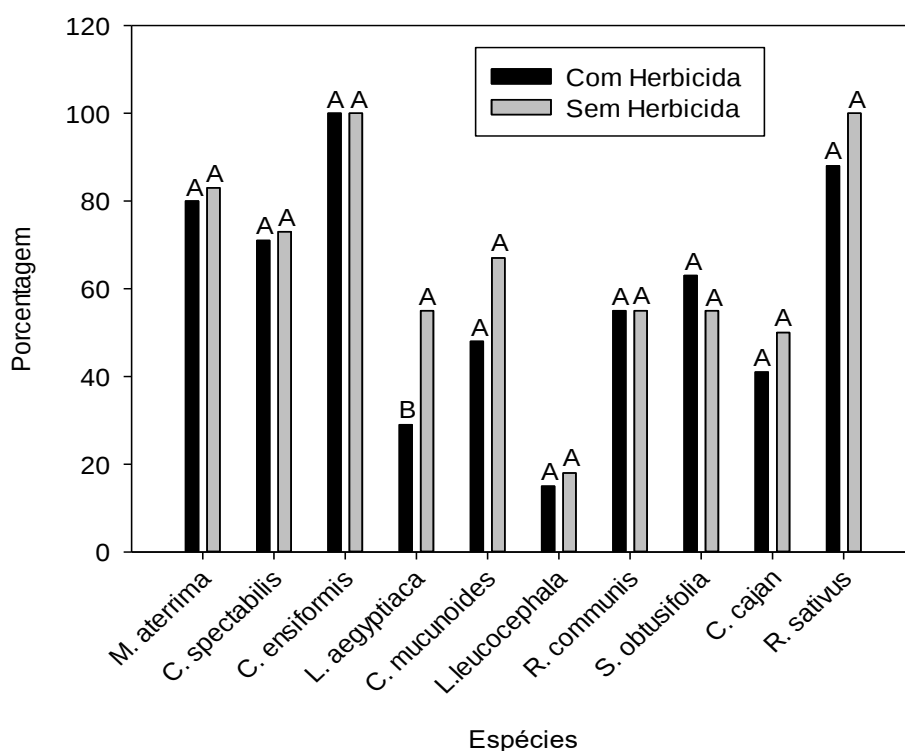


Figura 01. Germinação das espécies fitorremediadoras, 15 dias após a semeadura.

Carvalho *et al.* (2012), constataram, em seu trabalho, que a lixiviação pode ter contribuído para o arraste de moléculas de tebuthiuron para fora da zona de germinação e, portanto, houve menor contato do produto, principalmente pelo fato da aplicação ter ocorrido 30 dias antes da avaliação de germinação. Assim como, Carbonari *et al.* (2003) que avaliando os efeitos do herbicida sulfentrazone, em feijão, também não observaram reduções na germinação das sementes utilizadas.

Aos 15 DAS (figura 01-A), os efeitos no rendimento quântico máximo (F_v/F_m) no tratamento com herbicida indicavam significativa alteração na sanidade do fotossistema das espécies, os maiores decréscimos em relação ao tratamento sem herbicida, para essa variável, foram verificadas nas espécies: *R. sativus*, *C. cajan*, *L. Leucocephala*, *C. ensiformis* e *S. obtusifolia*. As espécies menos susceptíveis foram: *L. aegyptiaca*, *M. aterrima*, *R. communis* e

C. mucunoides e *C. spectabilis* com menor decréscimo em relação a testemunha.

Em condições normais, o Fv/Fm pode variar em torno de 0,75 a 0,83 para a maioria das espécies não submetidas a estresses (Maxwell; Johnson, 2000; Baker, 2008). Neste estudo, foram observadas reduções drásticas na Fv/Fm por efeito do herbicida. Portanto, a redução desta razão é um excelente indicador de efeito fotoinibitório (Araus *et al.*, 1994).

Aos 30 DAS, foi observado uma recuperação do fotossistema para a relação (Fv/Fm) entre as espécies *M. aterrima* e *C. ensiformes*, onde não houve diferença significativa em relação a testemunha. Esta característica é citada por alguns autores como a capacidade que algumas plantas apresentam de se recuperarem de injúrias após a aplicação de herbicidas (Araldi *et al.*, 2011; Catunda *et al.*, 2005). Catunda *et al.* (2005) observaram este efeito através do registro de queda na eficiência quântica do FSII de plantas de abacaxi (*Ananas comosus*) aos cinco DAS e um aumento da razão Fv/Fm a partir de 10 DAS, sugerindo, assim, que a aplicação de alguns herbicidas podem causar dano reversível ao aparato fotossintético, podendo a planta se recuperar sem sintomas aparentes.

Aos 45 DAS, foi observado uma estável recuperação do fotossistema, no que se refere a relação (Fv/Fm), somente a espécie *M. aterrima* que não diferenciou significativamente da testemunha. Notou-se também, um decréscimo da espécie *C. ensiformis* em relação a época de avaliação aos 30 DAS o que levou a diferenciar do tratamento sem herbicida.

Na última época de avaliação (60 DAS), apenas a *M. aterrima* sobreviveu e não diferenciou do tratamento sem herbicida, indicando tolerância da espécie ao herbicida na dose aplicada.

O mesmo comportamento das espécies para a variável Fv/Fm foi observado no rendimento quântico efetivo (Yield) (Figura 02- E-H), em que o tratamento com herbicida teve efeito altamente significativo em relação ao tratamento sem herbicida. Os maiores decréscimos foram constatados nas espécies: *R. Sativus*, *C. cajan*, *C. mucunoides*, *C. ensiformes*, *M. aterrima*, *L. leucocephala*, *L. aegyptiaca*. As espécies que menos apresentaram diferença foram: *S. obtusifolia*, *R. communis* e *C. spectabilis*.

Aos 30 DAS, as espécies *M. aterrima* e *C. ensiformes* demonstraram recuperação do fotossistema em relação a primeira avaliação. Além de não diferenciarem da testemunha, apresentaram um acréscimo do valor em relação a primeira época de avaliação (15 DAS). Em relação as demais espécies constatou-se uma maior diferença em relação a testemunha ou uma inibição do fotossistema.

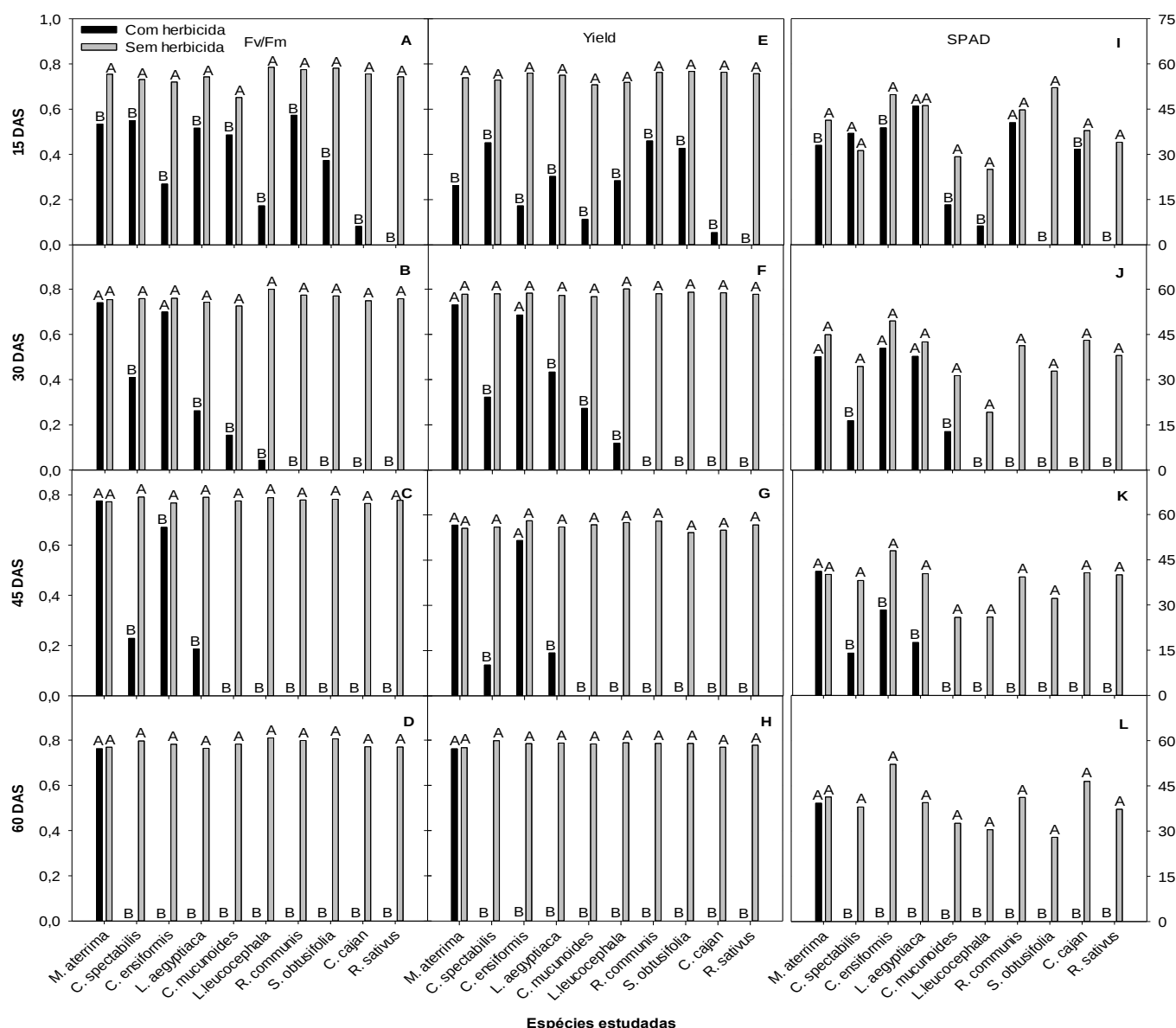


Figura 02. Rendimento quântico máximo (Fv/Fm), efetivo (YIELD) do FSII e índice SPAD das espécies fitorremediadoras ao longo das épocas de avaliação (15, 30, 45 e 60 dias).

O decréscimo no Yield se manteve até a última época de avaliação (60 DAS) para todas as espécies, com poucas exceções, uma delas foi a da *M. aterrima* que aos 30 DAS apresentou uma recuperação dos PSII igualando-se à testemunha, mantendo esse comportamento até a última época de avaliação, sinalizando tolerância dessa espécie ao herbicida. Outra espécie que demonstrou capacidade de recuperação foi o Feijão de Porco (*C. ensiformes*) que apresentou um aumento da sua eficiência quântica efetiva aos 30 DAS, não diferenciou da testemunha aos 45 DAS, no entanto, morreu logo após. Isto demonstra que o nível de interação do herbicida com o sítio de ação decresce levemente após a intoxicação inicial, porém a planta volta a exercer suas atividades normalmente nas plantas tolerantes.

Quanto ao índice SPAD, as espécies *M. aterrima* apresentou o mesmo comportamento

de recuperação observado para as outras variáveis fisiológicas, e acréscimo para essa variável a partir da segunda época de avaliação. A espécie *M. aterrima*, manteve-se constante em relação a segunda avaliação e não diferiu estatisticamente da testemunha nas demais épocas de avaliação.

Houve uma variação do índice SPAD dos 15 aos 60 DAS nas espécies, já aos 15 dias a variável apresentou diferença significativa para todas as espécies com exceção das espécies *R. communis*, *C. spectabilis* e *L. aegyptiaca*. Apesar de ter ocorrido diferenciação aos 15 DAS das espécies *M. aterrima*, a partir dos 30 DAS notou-se uma recuperação do teor de clorofila nas folhas das plantas da mesma, onde não diferenciou da testemunha até a última avaliação. Estas alterações no metabolismo da planta resultam na degradação das clorofilas, que possuem estrutura química instável, sensível a ação dos herbicidas. Portanto, métodos de quantificação e de estimativa de tais pigmentos, são utilizados como ferramentas para a seleção de espécies tolerantes a moléculas herbicidas (Streit *et al.*, 2005).

Em relação as variáveis biométricas (figura 03), observou-se em relação a altura das espécies, um maior desenvolvimento da *M. aterrima* que não diferenciou da testemunha a partir da terceira época de avaliação (45 DAS), possivelmente em virtude da recuperação dos parâmetros fotossintéticos averiguados aos 30 DAS. Contrastando com a estagnação, também para essa variável, da *C. ensiformis*, onde não foi observado crescimento substancial a partir da segunda época de avaliação (30 DAS), o que implica dizer que sua atividade fotossintética estava prejudicada e não proporcionou o seu devido desenvolvimento.

O mesmo foi observado para a variável número folhas verdes em que se notou maior desenvolvimento da *M. aterrima*, onde a mesma não diferenciou da testemunha. Em relação as outras espécies constatou-se a estagnação dessa variável em função das épocas de plantio, vide *C. ensiformis* 30 e 45 DAS, e a morte das demais espécies ao longo das avaliações.

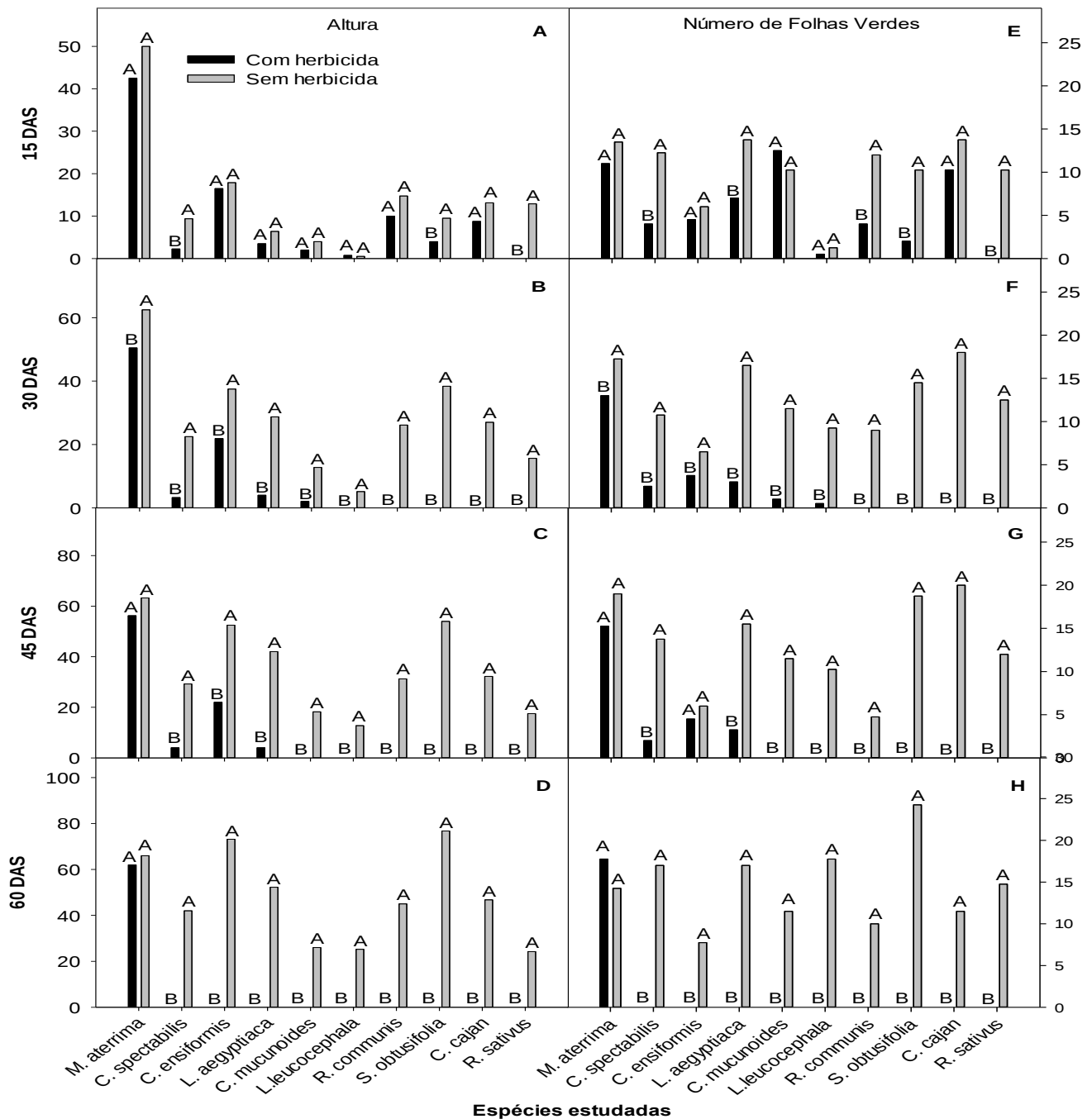


Figura 03. Altura (cm) e número de folhas verdes das espécies fitorremediadoras ao longo das épocas de avaliação (15, 30, 45 e 60 dias).

Parâmetros biométricos como altura de planta, número de folhas verdes e massa seca da parte aérea (figura 04), os quais estão diretamente relacionados com a capacidade fotossintética da cultura foram bastante afetados. A altura das plantas foi negativamente afetada pelo herbicida ao longo das avaliações, a *M. aterima* foi a única espécie que apesar de ter diferenciado estatisticamente da testemunha aos 15 DAS conseguiu se recuperar, como mostra nas avaliações do 30 aos 60 DAS, onde não diferenciou da testemunha e, portanto, não teve seu

crescimento afetado. Resultados semelhantes foram obtidos por Silva & Bueno (2000) onde a *M. aterrima* foi tolerante aos herbicidas alachlor, imazaquin e pendimethalin.

Os resultados mostram que, assim como na altura da planta e número de folhas, a atividade residual no solo de tebuthiuron também pode ser observada através do acúmulo de massa seca (figura 04). Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Pires *et al.* (2005) para *Mucuna aterrima*, *Cajanus cajan* e *Canavalia ensiformes* na dose de 0,5 kg.ha⁻¹. Segundo os autores, essa quantidade de herbicida representa um valor provável de ser encontrado no solo após sua aplicação, mesmo que de forma lenta ocorra a degradação microbiana e química, e a potencial lixiviação (Gomes; Spadotto; Lanchotte, 2001), além ainda, da absorção pela cultura.

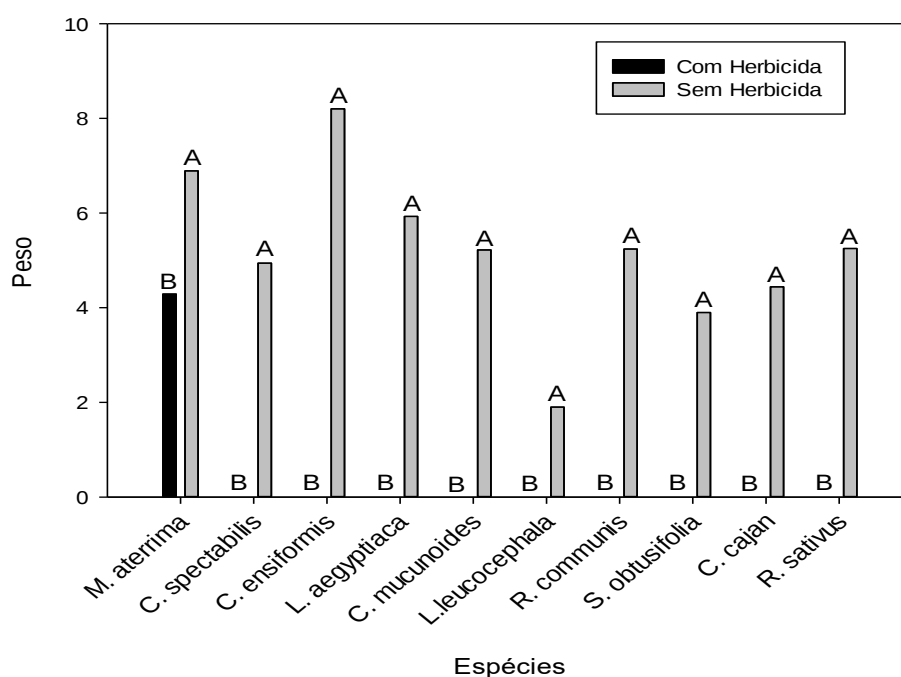


Figura 04. Matéria seca (g) 60 dias após a semeadura das espécies fitorremediadoras.

Em relação à massa seca da parte aérea das plantas, os tratamentos com aplicação do herbicida proporcionaram diminuição em relação à testemunha. No caso do intervalo de 60 dias entre o plantio da espécie e a colheita houve ligeira diminuição da massa seca da parte aérea chegando a ser significativa a diferença entre os tratamentos com e sem herbicida. Entretanto, as demais espécies foram mais afetadas para essa variável a ponto de não terem sobrevivido.

É interessante notar que oito das dez espécies avaliadas pertencem à família das leguminosas e que, apesar disso, apresentaram desempenho diferenciado quanto à fitorremediação do tebuthiuron. Anderson e Coats (1995) constataram que a família das plantas não foi um parâmetro adequado para prever o aumento da mineralização de atrazine, pois bons

resultados foram obtidos com plantas de famílias diferentes, o que concorda com os resultados obtidos neste trabalho.

O amplo espectro de ação do tebuthiuron e seu longo efeito residual (Dal Piccolo; Christoffoleti, 1985; Blanco; Oliveira, 1986) corroboram a dificuldade de identificar espécies que lhe sejam tolerantes e que, ao mesmo tempo, apresentem interesse agrônomo, características estas desejáveis numa planta fitorremediadora.

Mucuna preta se mostrou tolerante ao produto no solo e tal tolerância e capacidade de diminuir o residual do herbicida no solo é ponto positivo na escolha de tal espécie para cultivo em área próxima a canaviais aonde o tebuthiuron é comumente utilizado. Esses resultados podem ser explicados pela tolerância que algumas espécies podem ter sobre herbicidas, sendo que as enzimas que metabolizam herbicidas podem garantir a tolerância da planta à diversos herbicidas (Oliveira; Inoue, 2011).

Esses resultados corroboram com o obtido por Pires (2003; 2008) onde a *Mucuna aterrima* apresentou maior tolerância à aplicação do tebuthiuron com menor redução da altura de plantas e da massa da matéria seca da parte aérea em relação ao tratamento testemunha. As espécies *Canavalia ensiformes* e *Cajanus cajan*, nesse mesmo estudo, mostraram-se tolerantes e fitorremediadoras para solos com concentração de até 1,0 kg.ha⁻¹ de tebuthiuron, o que não foi observado no presente trabalho.

Alguns estudos indicam que *M. aterrima* e *C. ensiformis* são eficientes na descontaminação de áreas tratadas com os herbicidas trifloxysulfuron-sodium e tebuthiuron, sendo a interação da fitoestimulação e fitodegradação o provável mecanismo envolvido na descontaminação (Procópio *et al.*, 2005; Santos *et al.*, 2007).

4.2 Bioindicadora Pepino

Em relação a taxa de germinação do pepino (figura 05), foi observado diferença significativa para o tratamento com herbicida apenas onde houve o cultivo da espécie *L. leucocephala*.

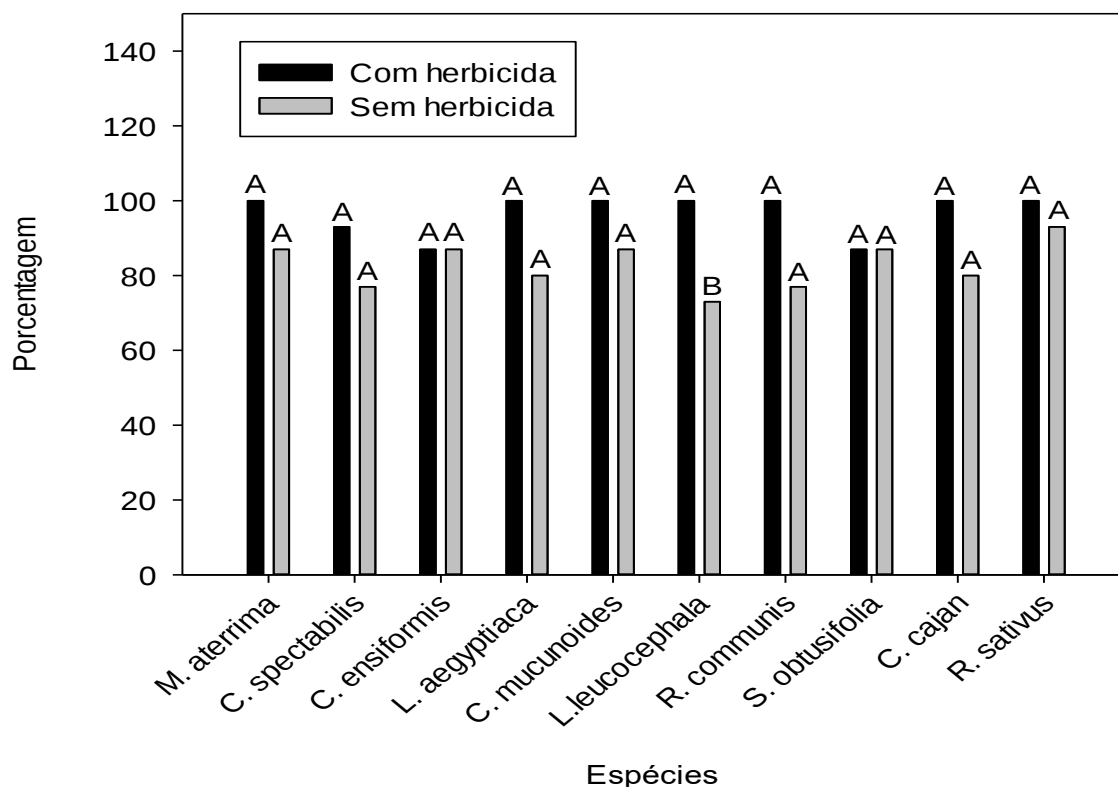


Figura 05. Médias da taxa de germinação da bioindicadora pepino 15 dias após a semeadura.

No tocante aos dados fisiológicos, aos 15 DAS (figura 06) pode ser constatado morte do pepino, indicando com isso, a presença do herbicida em concentrações tóxicas. Seguiu-se o observado nas demais espécies antecessoras, onde o pepino apresentou maior susceptibilidade e morreu durante as primeiras avaliações. Dentre essas espécies que antecederam a bioindicadora e resultaram maior decréscimo das variáveis fisiológicas foram: *R. sativus*, *L. leucocephala*, *C. mucunoides*, *L. aegyptiaca*, *R. communis*, *C. cajan*, *S. obtusifolia* e *C. specabillis* e *C. ensiformis*. A espécie antecessora que proporcionou menor dano ao fotossistema do pepino foi a *M. aterrima*.

A planta bioindicadora cultivada em sucessão a espécie *M. aterrima* apresentou melhores índices, em relação as demais espécies no que se refere a variável Fv/Fm (figura 06 A-D), onde foi constatado que não houve diferença significativa entre os tratamentos com e sem herbicida

em todas as épocas de avaliação. Em relação a variável Fv/Fm também observou-se tendência de manutenção nos valores dessa variável, onde os mesmos não ficaram abaixo de 0,75 nem a cima de 0,85, apenas onde houve o cultivo da *Mucuna aterrima*. Bòlhar-Nordenkamp *et al.* (1989) relata que o rendimento quântico máximo do PS II (Fv/Fm) pode variar de 0,75 a 0,85 em plantas não submetidas a estresses. Desta forma, a não redução desta razão é um excelente indicador de que não houve efeito fotoinibitório nas plantas de pepino em sucessão a mucuna preta.

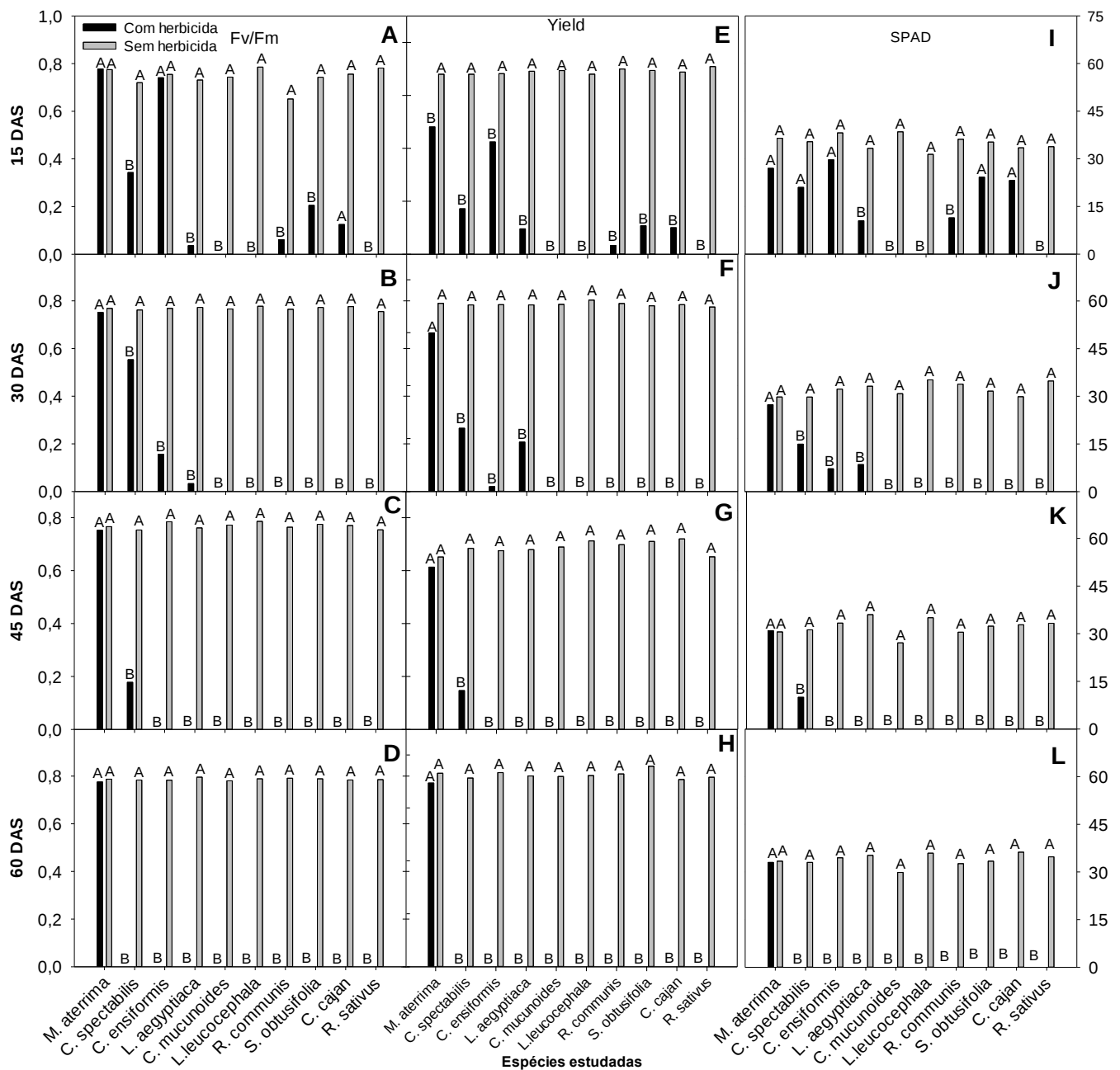


Figura 06. Rendimento quântico máximo (Fv/Fm), efetivo (YIELD) do FSII e índice SPAD da bioindicadora pepino ao longo das épocas de avaliação (15, 30, 45 e 60 dias).

O mesmo não foi observado para a variável YIELD onde o tratamento com herbicida diferiu estatisticamente do tratamento sem herbicida para todas as espécies. As menores diferenças entre os tratamentos, para essa variável foi observada no pepino quando foi plantado em sucessão a *M. aterrima*, enquanto que as demais espécies apresentaram um valor muito abaixo do tratamento sem herbicida, indicando com isso, presença do herbicida no solo.

Analizando o rendimento quântico efetivo também pode-se avaliar uma tendência de decréscimo desta variável, nas primeiras avaliações 15 e 30 DAE, no entanto, esses valores igualam-se a testemunha na avaliação aos 45 e 60 DAE, indicando pequenos resquícios do herbicida no vaso, mesmo quando cultivado em sucessão a *M. aterrima*, e uma tolerância da planta bioindicadora ao tebuthiuron.

O índice SPAD apresentou um resultado parecido no pepino em relação a variável Fv/fm onde a espécie *M. aterrima* teve menor diferença em relação ao tratamento sem herbicida, e não houve diferença significativa entre os tratamentos com e sem herbicida, outras espécies que também não diferenciaram foram: *C. cajan*, *S. obtusifolia* e *C. spectabilis*, mas apenas na primeira avaliação, logo após apresentaram perda da clorofila e sua posterior morte.

Em relação as variáveis biométricas (figura 07), tanto para a altura quanto para o número de folhas verdes apenas o pepino quando cultivado em sucessão a *M. aterrima* igualou ao tratamento sem herbicida em todas as épocas de avaliação. Nos demais tratamentos houve efeito significativo do tratamento com herbicida no número de folhas verdes e altura das plantas. Pode-se dizer então, que nos tratamentos onde não houve a remediação do herbicida, causou um desbalanço na atividade fotossintética das plantas de pepino, afetando diretamente o seu fotossistema, e diminuindo assim a taxa de desenvolvimento das mesmas.

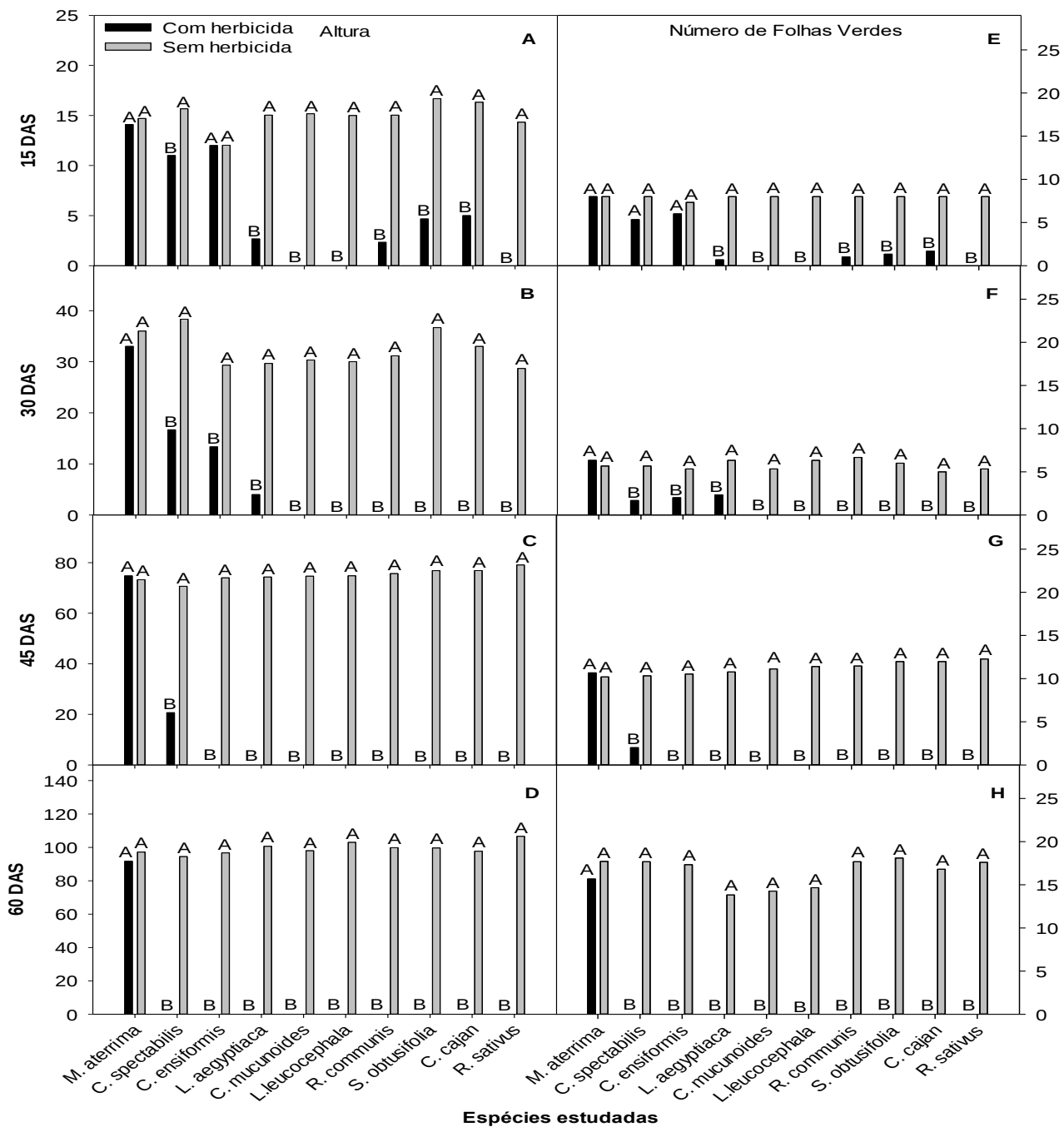


Figura 07. Altura (cm) e número de folhas verdes da bioindicadora pepino ao longo das épocas de avaliação (15, 30, 45 e 60 dias).

O pepino cultivado em sucessão à *M. aterrima* foi o que apresentou menores alterações fotossintéticas. Assim sendo, demonstra o elevado potencial fitorremediador da espécie em solos com resíduo do herbicida tebuthiuron. Além de promover reduções na disponibilidade do herbicida no solo, essa espécie pode ser utilizada como cultura de cobertura em rotação com várias espécies vegetais, provendo benefícios como a fixação de nitrogênio (Braz *et al.*, 2016).

A massa seca das plantas de pepino (figura 08), quando em sucessão a *M. aterrima*, após aplicação de tebuthiuron no solo, não houve efeito significativo comparado com a testemunha.

Já para os tratamentos onde foi cultivada as demais espécies fitorremediadoras a biomassa seca de plantas de pepino foi maior no tratamento sem herbicida do que os tratamento com herbicida, já que todas as plantas de pepino morreram. Por fim, a única espécie que apresentou a biomassa seca de plantas de pepino igual ao tratamento sem herbicida foi a *M. aterrima*.

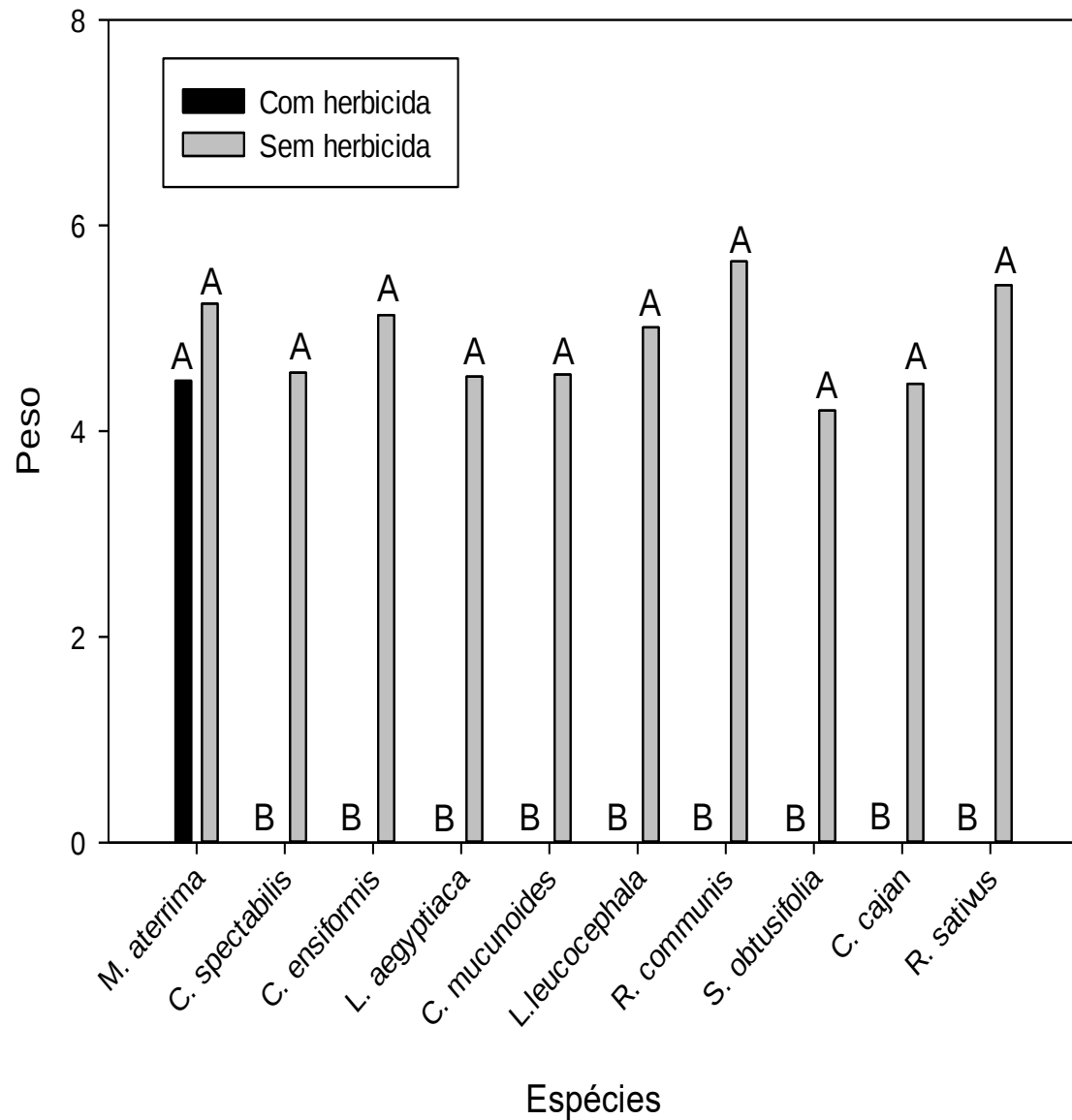


Figura 08. Matéria seca (g) 60 dias após a semeadura da bioindicadora pepino.

4.3 Bioindicadora Feijão

Na figura 09, pode-se observar que a germinação do feijão foi uniforme e não houve interferência do herbicida, possivelmente devido ao arraste da molécula do herbicida para camadas mais profundas do perfil do solo.

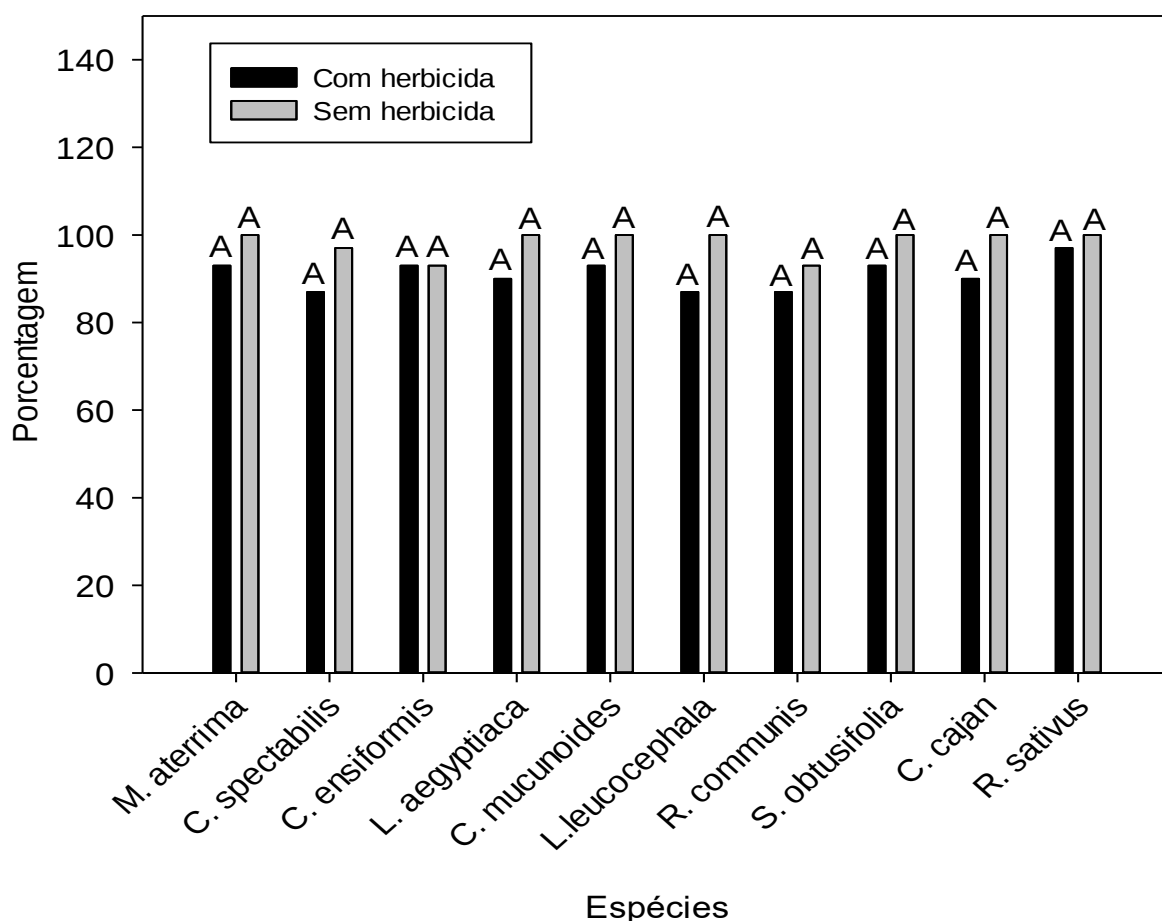


Figura 09. Médias da taxa de germinação da bioindicadora feijão 15 dias após a semeadura.

O feijão, como planta bioindicadora cultivada em sucessão a espécie *M. aterrima* apresentou os resultados que indicaram sanidade do fotossistema em todas as épocas de avaliação (figura 10), conforme preconiza (Björلمان *et al.*, 1987) no que se refere a variável F_v/F_m , e também foi constatado que não houve diferença significativa entre os tratamentos com e sem herbicida em todas as avaliações.

O mesmo ocorreu para o YIELD, onde apenas o feijão cultivado em sucessão a *M. aterrima* não diferenciou da testemunha em todas as épocas de avaliação. Nos demais cultivos das espécies o valor chegou a zero ou houve uma queda drástica no valor dessa variável com sua posterior morte. A mortalidade das plantas tornou-se visível a partir dos 30 dias após o

plantio, diferindo significativamente entre as espécies e a testemunha.

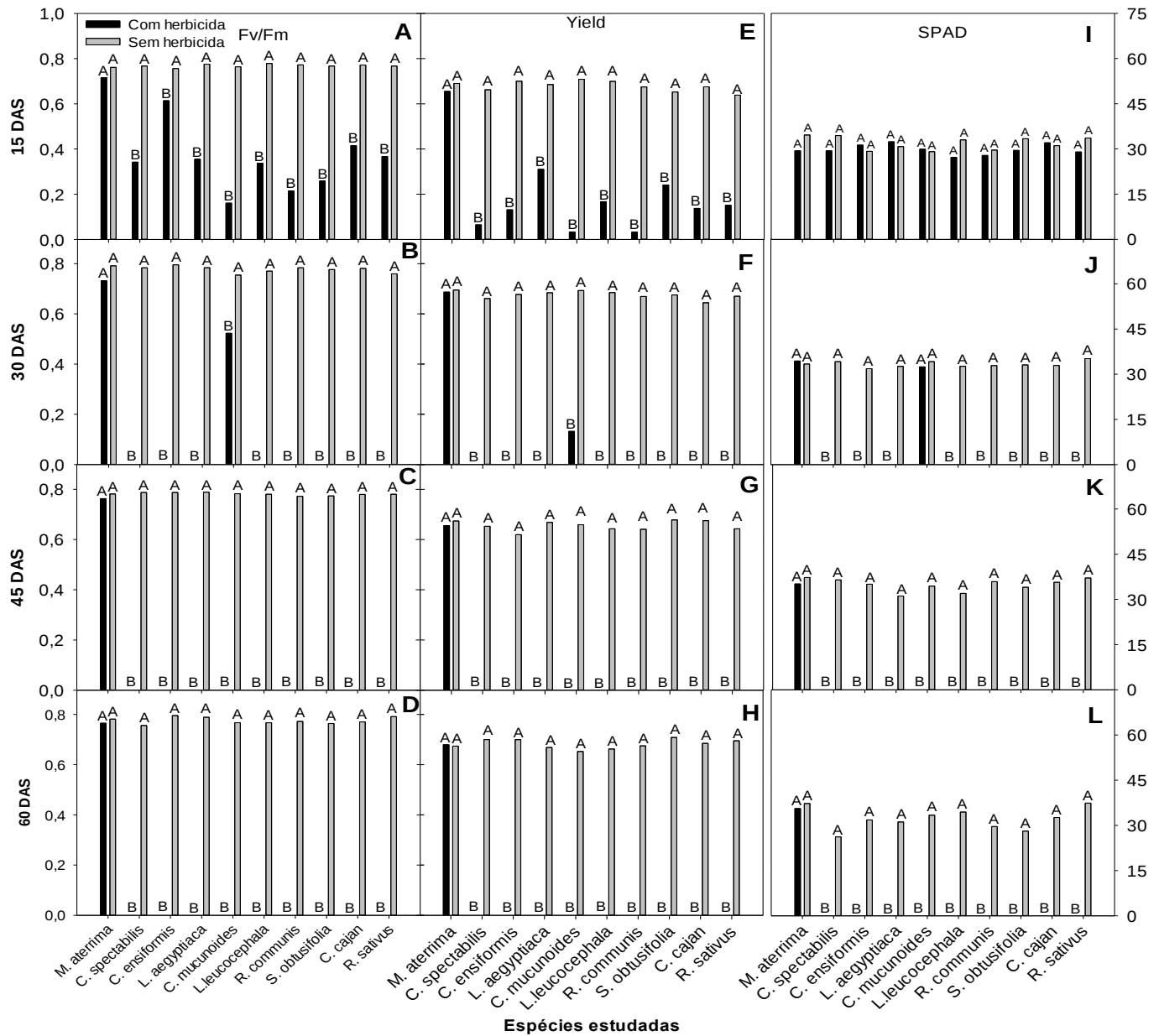


Figura 10. Rendimento quântico máximo (Fv/Fm), efetivo (YIELD) do FSII e índice SPAD da bioindicadora feijão ao longo das épocas de avaliação (15, 30, 45 e 60 dias).

O índice SPAD seguiu o mesmo observado para as outras variáveis fisiológicas para o feijão em sucessão a *M. aterrima*, onde não houve diferença significativa entre os tratamentos com e sem herbicida em todas as épocas de avaliação. Aos 15 DAS, todas as espécies se igualaram a testemunha, no entanto, resquícios do herbicida proporcionaram uma drástica queda nessa variável com a posterior morte das espécies ao longo das avaliações. Constatou-se, com isso, que nos vasos onde o cultivo de espécies de plantas remediadoras que não a *M. aterrima* houve a morte da planta bioindicadora, indicando concentrações tóxicas do herbicida

nos vasos.

Analisando-se o número de folhas e a altura das plantas de feijão (figura 11), observa-se tendência de crescimento, no tratamento com herbicida, nos valores dessas variáveis com o passar das épocas de avaliação onde houve o cultivo da *Mucuna aterrima*, ao contrário de onde houve cultivo de outras espécies fitorremediadoras. Este fato leva a crer que houve descontaminação do solo com a permanência da espécie remediadora no solo contaminado. Esses resultados mostram também uma alta sensibilidade do feijão quando na presença do tebutiuron no solo. Estes resultados corroboram o de Carmo *et al.* (2008), estes autores observaram relação positiva no incremento da altura das plantas de tomate (cultura bioindicadora) à medida que houve crescimento do capim-pé-de-galinha-gigante (*Eleusine coracana*) na remediação de solo contaminado com picloram.

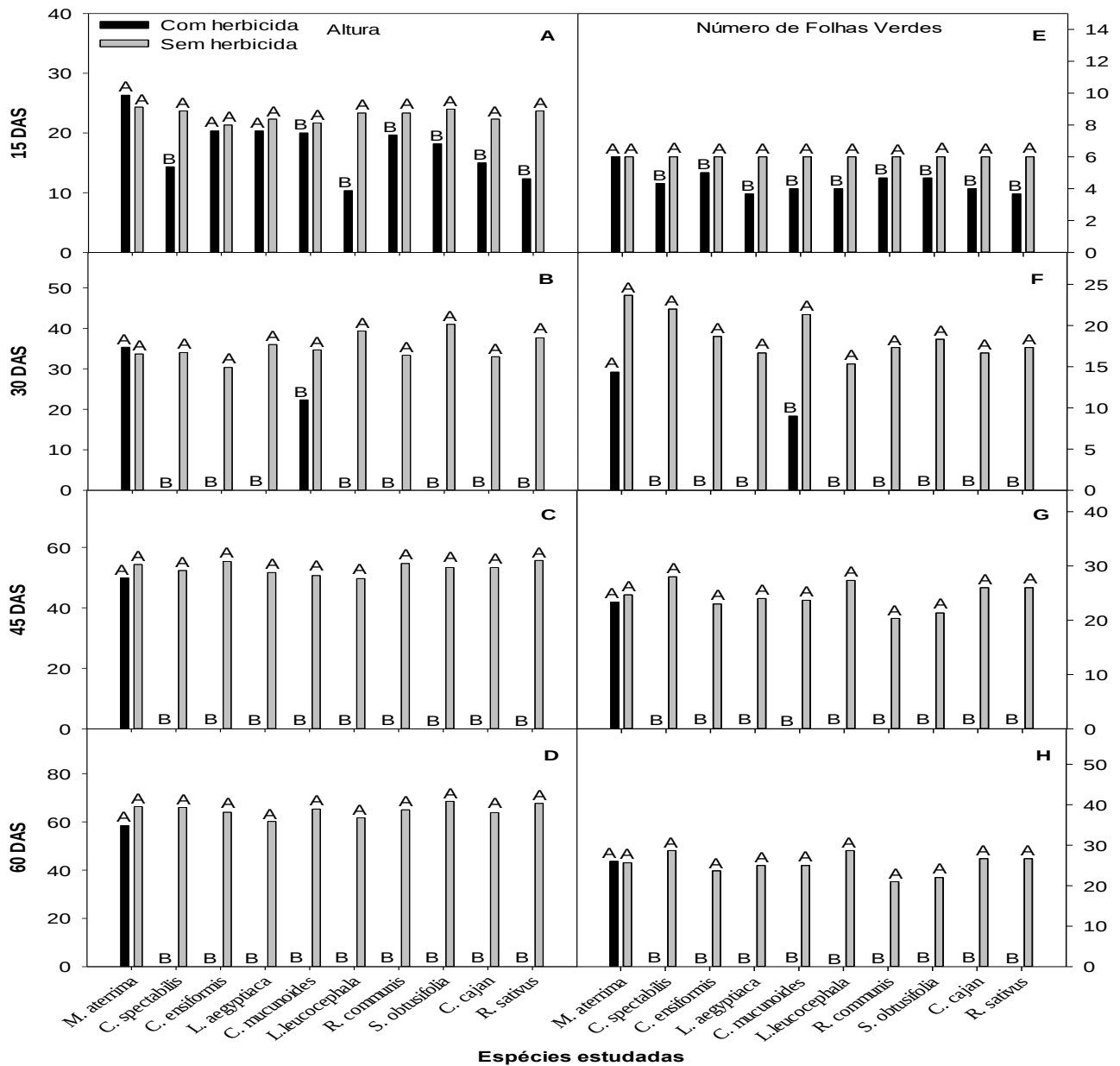


Figura 11. Altura (cm) e número de folhas verdes da bioindicadora feijão ao longo das épocas de avaliação (15, 30, 45 e 60 dias).

Pires *et al.* (2006) obtiveram em seus resultados, redução da biomassa da soja, utilizada como planta bioindicadora, cultivada após cultivos de adubos verdes, onde havia sido submetido aplicação de $1,0 \text{ kg.ha}^{-1}$ do herbicida tebuthiuron. Nesse estudo não foi observado redução da biomassa da planta bioindicadora do feijão na mesma dose após o cultivo da *M. aterrima* conforme pode ser observado na figura abaixo.

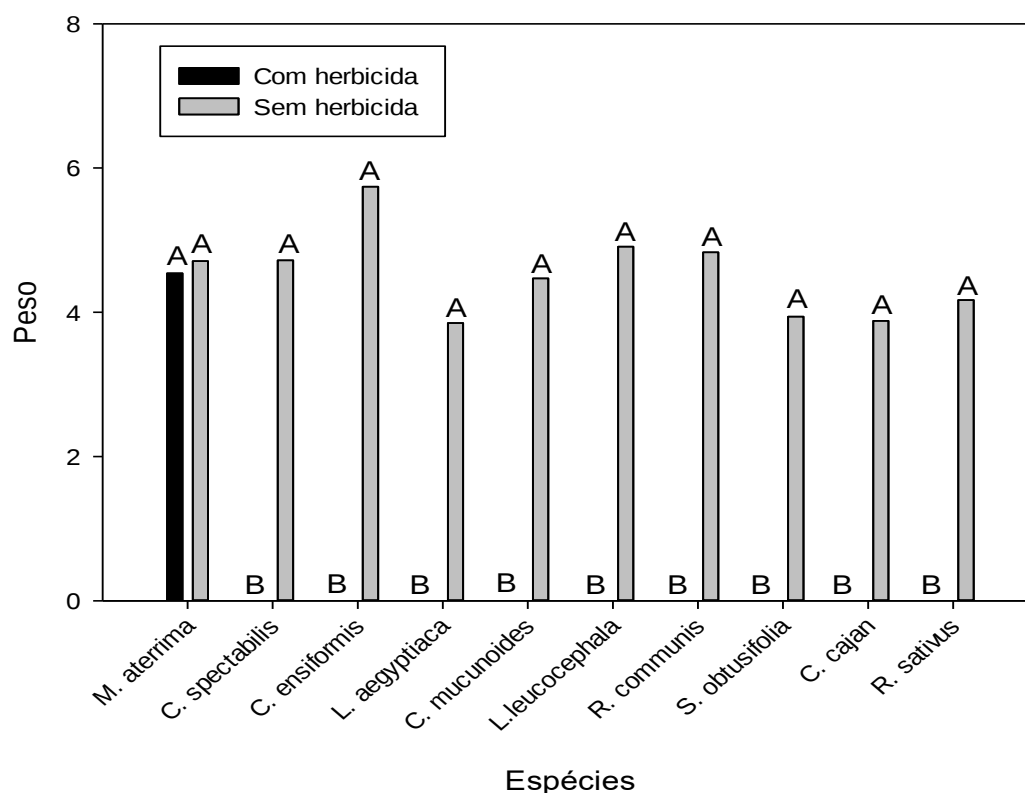


Figura 12. Matéria seca (g) 60 dias após a semeadura da bioindicadora pepino.

A tabela 01 apresenta os resultados do Quadrado Médio da variável concentração de tebuthiuron no solo. Observa-se que houve interação significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste “F” entre as espécies estudadas, ou seja, houve diferentes níveis de concentração do herbicida no solo em função dos tratamentos estudados. O coeficiente de variação apresentou ótima precisão experimental para a variável.

Tabela 01. Análise de variância das concentrações observadas no solo após 60 dias de cultivo de espécies fitorremediadoras. Rio Largo – AL, 2020.

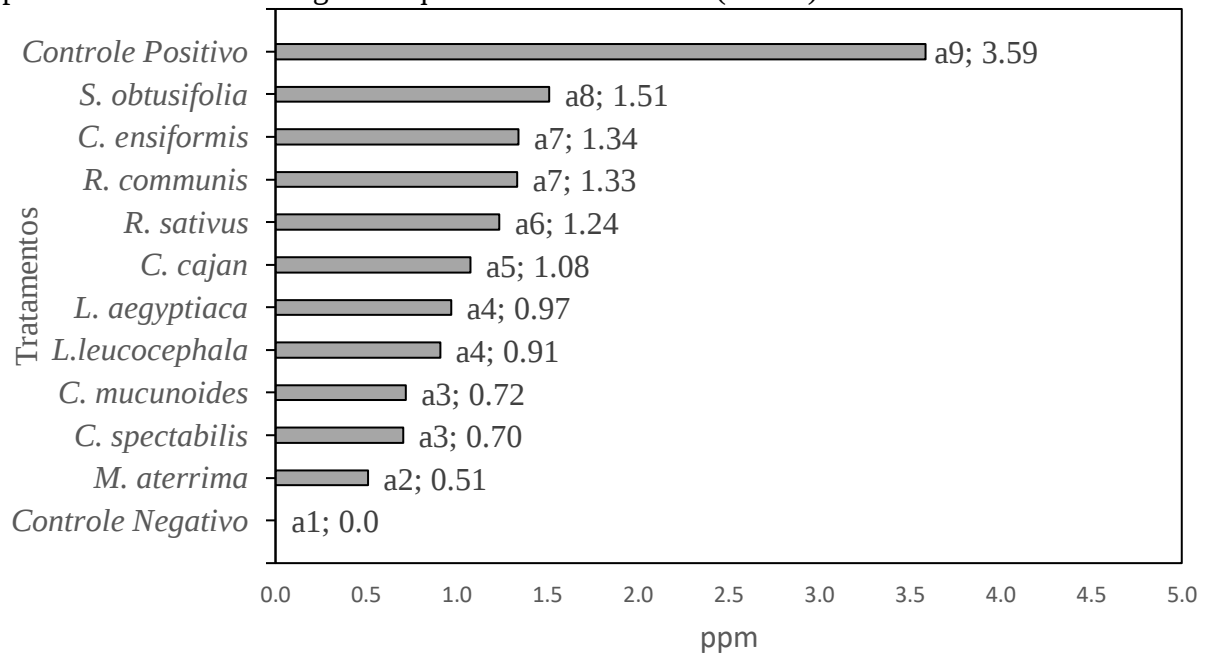
Fonte de Variação	GL	Concentração
Espécies	12	28,2658*
Repetição	2	0,0011 ^{ns}
CV(%)		3,10

*Significativo no nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Analisando os resultados das concentrações de tebuthiuron observa-se que onde houve maior desenvolvimento das plantas bioindicadoras houve menor concentração do herbicida no solo, onde foi cultivada a *M. aterrima*. O decréscimo constatado foi de 86,5 % em relação ao tratamento com herbicida, a *M. aterrima* também diferiu estatisticamente ao nível de 5 % pelo

teste de tukey das demais espécies, conforme demonstra a figura a seguir:

Figura 13. Concentração de tebuthiuron no solo após o cultivo das espécies fitorremediadoras, pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).



5. CONCLUSÃO

- A *Mucuna aterrima* se desenvolve plenamente em solos com tebuthiuron.
- A *Mucuna aterrima* é capaz de reduzir significativamente a concentração do herbicida no solo.
- A *Mucuna aterrima* é a espécie mais indicada para a fitorremediação de tebuthiuron pois possibilita o crescimento de *Phaseolus vulgaris* e *Cucumis sativus*.

REFERÊNCIAS:

- ACCIOLY, A. M. A & SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V.; V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R. **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. v. 1. p. 299-352.
- ALMEIDA, Mirella Dias *et al.* A flexibilização da legislação brasileira de agrotóxicos e os riscos à saúde humana: análise do Projeto de Lei nº 3.200/2015. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 7, 11 p., 2017.
- ANDERSON, T. A.; COATS, J. R. Screening rhizosphere soil samples for the ability to mineralize elevated concentrations of atrazine and metolachlor. **J. Environ. Sci. Health B.**, v. 30, p. 473-484, 1995.
- Andrei, E. Compêndio de Defensivos Agrícola (Guia Prático de Produtos Fitossanitários para Uso Agrícola). Organização Andrei (Org.). 9ª ed., São Paulo, p. 448, 2013.
- APPROBATO FILHO, A.; GERARDI, L.E.; ANDRADE, T.L.C.; DAMACENO, A.C.; ARALDI, R. *et al.* Efeitos na taxa de transporte de electrons de plantas daninhas após aplicação de amicarbazone. **Planta Daninha**, v.29, n.3, p.647-653, 2011.
- ARALDI, R.; GIROTTI, M.; VELINI, E.D.; GOMES, G.L.G.C.; JASPER, S.P.; BAKER, N.R. Chlorophyll fluorescence a probe of photosynthesis in pivo. **Annual Review of Plant Biology**. v.59, p.89-113, 2008.
- Baker, N.R., 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review Plant Biology**, 59, pp. 89-113.
- BAKER, N.R.; ROSENQVIST, E. Chlorophyll fluorescence for beginners. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 403, p. 1607–1621, 2004.
- BELO, A.F. **Técnicas para fitorremediação de solos contaminados com herbicidas**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, 2006, 66p.
- Bernardes, M.F.F. *et al.* Biochemical and genotoxic effects of a commercial formulation of the herbicide tebuthiuron in *Oreochromis niloticus* of different sizes. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 9, n. 1, p. 59-67, 2014.
- BJÖRKMAN, O.; DEMMING, B. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 k among vascular plants of diverse origins. **Planta, Heidelberg**, v. 170, n. 4, p. 61-66, 1987.
- BLANCO, J. G.; OLIVEIRA, D. A. Persistência de herbicidas em Latossolo Vermelho-Amarelo em cultura de cana-de-açúcar. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 22, p. 681-687, 1987.
- BOLHÀR-NORDENKAMPF, H. R. *et al.* Chlorophyll fluorescence as probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrument. **Functional Ecology**, Londres, v. 3, n. 2, p. 497-514, 1989.

CABRERA, A. *et al.* Influence of biochar amendments on the sorption–desorption of aminocyclopyrachlor, bentazone and pyraclostrobin pesticides to an agricultural soil. **Science of the total environment**, v. 470, p. 438-443, 2014.

CAMPOS, Luiz Henrique. Resíduos de herbicidas aplicados em cana de açúcar afetando adubos verdes e a cultura da soja em rotação. 2018. 90f. **Tese** (Doutorado em Fitotecnia). Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2018.

CAMPOSTRINI, E. Fluorescência da clorofila a: considerações teóricas e aplicações práticas. (Apostila 31 páginas), 2001.

Carbonari CA, Negrisoli E, Costa AGF, Velini ED, Cavariani C, Silva TRB (2003) efeitos dos herbicidas trifloxysulfuron sodium + ametrina, sulfentrazone e halosulfuron na germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de feijão. **Revista Ecosistema**, Espírito santo do Pinhal, 28:41-46.

CARBONARI, C.A.; TRINDADE, M.L.B. Eficiência fotossintética e consumo de água de Ipomoea triloba após aplicação de herbicidas. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, V. 30, N. 3, P. 517-524, 2012.

CARMO, M. L. *et al.* Influência do período de cultivo de capim-pé-de-galinha-gigante (*Eleusine coracana*) na fitorremediação de solo contaminado com picloram. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 26, n. 3, p. 601-609, 2008b.

Carmo, M. L. *et al.* Seleção de plantas para fitorremediação de solos contaminados com picloram. **Planta daninha**, v 26, n.2, p.301-313, 2008.

Carvalho JP, Dias ACR, Minamiguchi MH, Nicolai M. Christoffoleti, P.J. (2012) Atividade residuaç de seis herbicidas aplicados ao solo em época seca. **Rev. Ceres**, Viçosa, 59:278-285.

CASAGRANDE, F.; CORTIVO, F.A.; CASAGRANDE, L.; FREITAS, R.A.; FERREIRA, CATUNDA, M.G. *et al.* Efeitos de herbicidas na atividade fotossintética e no crescimento de abacaxi (*Ananas comosus*). **Planta Daninha**, v.23, n.1, p.115-121, 2005.

Chaves, L. H. G., Mesquita, E. F., Araujo, D. L., & França, C. P. (2010). **Acúmulo e distribuição de cobre e zinco em mamoneira cultivar BRS Paraguaçu e crescimento da planta**. Engenharia-Ambiental-Espírito Santo do Pinhal, 7(3), 263-277.

CHRISTOFFOLETI, P.J; LÓPEZ-OVEREJO, R.F.; DAMIN, V.; CARVALHO S.J.P.; NICOLAI M. Comportamento dos herbicidas aplicados ao solo na cultura da cana-de-açúcar. Piracicaba, 2009, 72p.

CONFORTO, E.C.; MARINÔNIO, L.C.; ANDREOLI, R.P.; GONÇALVES, .C.P. Validação das unidades arbitrárias do teor de clorofilas obtido em folhas intactas de seringueira Validação das unidades arbitrárias do teor de clorofilas obtido em folhas intactas de seringueira. **Revista Agro@mbiente** On-line, V. 8, N. 2, P. 288-292, mai- ago, 2014.

CRAVEIRO, S., A.; LOPES SOBRINHO, O., P.; SANTOS, F., I., O.; OLIVEIRA, L., S.; CRITCHLEY, C. Photoinhibition. In: RAGHAVENDRA, A.S. Photosynthesis: a comprehensive treatise. Cambridge: Cambridge University, 1998. Chap.20, p.64-272.

CUNNINGHAM, S. D.; ANDERSON, T. A.; SCHWAB, A. P. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. *Advances in Agronomy*, San Diego, v. 56, n. 01, p. 55-114, 1996. PILON-SMITS, E. Phytoremediation. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v.56, p.15- 39, 2005.

DAL PICCOLO, C. R.; CHRISTOFFOLETI, P. J. **Efeito residual de herbicidas utilizados na cultura da cana-de-açúcar sobre a Crotalaria juncea L. em rotação.** *Saccharum*, v. 8, p. 34-38, 1985.

DEVINE, M.D.; SHUKLA, A. Altered target sites as a mechanism of herbicide resistance. **Crop Protection**, v.19, p.881-889, 2000.

Faria, A. T. et al. Atividade fisiológica da cana-de-açúcar após a aplicação de herbicidas em pré-emergência. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.12, n.2, p.171-178, 2013.

FRANCO, Miguel Henrique Rosa *et al.* Fitorremediação de solos contaminados com picloram por *Urochloa brizantha*. **Pesqui. Agropecu. Trop.**, Goiânia, v. 44, n. 4, p. 460-467, Dec. 2014.

Gardea-Torresdey, J. L., Peralta-Videa, J. R., De La Rosa, G., & Parsons, J. G. (2005). Phytoremediation of heavy metals and study of the metal coordination by X-ray absorption spectroscopy. **Coordination Chemistry Reviews**, 249, 1797- 1810.
doi:10.1016/j.ccr.2005.01.001.

Gaylarde, C. C., Bellinaso, M. D. L., & MANFIO, G. P. (2005). **Biorremediação, Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, 34, 36-43.

Geoderma, v. 312, p. 130-138, 2018.

GIANESSI, P.L. The Increasing Importance of Herbicides in Worldwide Crop Production. **Pest Management Science**, v.69, n.10, p.1099-1105, 2013.

GIROTTTO, M. *et al.* Eficiência fotossintética de cana-de-açúcar submetida à aplicação de 900 atrazine e tebuthiuron em pré-emergência. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.10, n.2, 901 p.134-142, 2011.

GIROTTTO, M. et al. Eficiência fotossintética de cana-de-açúcar submetida à aplicação de atrazine e tebuthiuron em pré-emergência. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Maringá, v. 10, n. 2, p. 134-142, 2011.

GOMES, M. A. F.; SPADOTTO, C. A.; LANCHOTTE, V. L. Ocorrência do herbicida tebuthiuron na água subterrânea da microbacia do Córrego Espreado, Ribeirão Preto – SP. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 11, n. 1, p. 65-76, 2001.

Gomes, Marco & Spadotto, Claudio & Lanchote, Vera. (2015). **Ocorrência do herbicida tebuthiuron na água subterrânea da microbacia do córrego espreado**, Ribeirão Preto-SP.

GUERRA, N.; OLIVEIRA JÚNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA NETO, A. M.; GUIMARÃES, F. A. R. Efeito residual de herbicidas no cultivo de hortaliças. **Tese**

HAVENS P. L. *et al.* **Fate of herbicides in the environment.** In. SMITH I. & ALBERT E. *Handbook of weed science management systems.* New York.1995.

HOLT, J.S.; POWLES S.B.; HOLTUM J.A.M. Mechanisms and agronomic aspects of herbicide resistance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**. V.44, p203-2911, 1993.

Huang XD, El-Alawi Y, Penrose DM, Glick BR, Greenberg BM (2004) Responses of three grass species to creosote during phytoremediation. **Environ Pollut** 130:453–463.

Influence of different weed management practices on yield of garlic crop. **Sarhad Journal of Agriculture**, v. 28, n. 2, p. 213-218, 2012.

INOUE, M. H. *et al.* Performance de associações de herbicidas em cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*). **Revista Brasileira de Herbicidas**, Umuarama, v. 6, n. 2, p. 32-41, jul./dez. 2007.

IRELAND, C. R.; PERCIVAL, M. P.; BAKER, N. R. Modification of the induction of 903 photosynthesis in wheat by glyphosate, an inhibitor of amino acid metabolism. **J. Exp. Bot.**, 904 v. 37, p. 299-308, 1986.

JOHNSON, D. H.; TALBERT, R. E. 1993. Imazaquin, chlorimuron, and fomesafen may injure rotational vegetables and subflower (*Helianthus annuus*). **Weed Technology**, v.7, p.573–577, 1993.

Journal of Environmental Science and Health, Part B, v. 50, n. 8, p. 544-551, 2015.

KRAUSE, G.H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.42, p.313-349, 1991.

Krutz, L.J.; Burke, I.C.; Reddy, K.N.; Zablotowicz, R.M.; Price, A. Enhanced atrazine degradation: evidence for reduced residual weed control and a method for identifying adapted soils and predicting herbicide persistence. **Weed Science**, v.57, n. 4, p.427-434, 2009.

LAABS, V.; AMELUNG, W.; PINTO, A. & ZECH, W., Fate of pesticides in tropical soils of Brazil under _eld conditions. **J Environ Qual**, 31:256_268, 2002.

LAW, S.E. Agricultural electrostatic spray application: a review of significant research and 116 development during de 20th century. **Journal of Electrostatics.**, v. 51-52, p. 25-42, 2001.

LEAVITT, J.R.C.; HIDALGO, E. **Determinação da segurança de terbacil em culturas de rotação com cana-de-açúcar, após 3 a 4 aplicações anuais**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE HERBICIDAS E PLANTAS DANINHAS, 17°, Piracicaba, 1988.

LIMA, G., L.; MIRANDA, A., R.; LIMA, E., F., S.; SANTOS, J., R., S.; NASCIMENTO, J., A. Agrotóxicos no Semiárido de Alagoas: agricultura químicodependente e suas contradições. **DIVERSITAS JOURNAL**. Santana do Ipanema/AL. vol. 4, n. 3, p.829-847, set./dez. 2019.

LIMA, R. B.; LOUREIRO, A. **Fitorremediação: O estado da arte**. Série Tecnologia Ambiental (STA), nº 39. Centro de Tecnologia Mineral (CETEM). Rio de Janeiro, p.50, 2007.

MADALÃO, J.C.; PIRES, F.R.; CAGNELUTTI FILHO, A.; CHAGAS, K.; NASCIMENTO, A.F.; GARCIA. G.O. Fitorremediação de solos contaminados com herbicida sulfentrazone

por espécies de adubos verdes. **Revista de Ciência Agrárias Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v.55, n.4, p.288-96, out/dez, 2012.

MAGNUSSON, B.; ÖRNEMARK, U. Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – **A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics**, (2nd ed. 2014). ISBN 978-91-87461-59-0. Available from www.eurachem.org.

MANCUSO, Mauricio Antonio Cuzato; NEGRISOLI, Eduardo; PERIM, Lucas. Efeito residual de herbicidas no solo (“Carryover”). **Revista Brasileira de Herbicidas**, [S.l.], v. 10, n. 2, p. 151-164, ago. 2011. ISSN 2236-1065.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G.N. Chlorophyll fluorescence: a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v.51, 2000.

Melo, C.A.D., Dias, R.C; Mendes, K.F.; Assis, A.C.D.L.P.; dos Reis, M.R. Carryover de herbicidas em sistemas cultivados com olerícolas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.15, n.1, p.67-78, 2016.

MEYER, R.E.; BOVEY, R.W. Tebuthiuron formulation and placement effects on response of woody plants and soil residue. **Weed Science**, Champaign, v.36, p.373-378, 1988.

MURRAY, K.E.; SHEEBA, M. T.; BODOUR, A.A. Prioritizing research for trace pollutants and emerging contaminants in the freshwater environment. *Environmental Pollution*, v.158, n.12, p.3462-3471, 2010. LEU, C *et al.* Variability of herbicide losses from 13 fields to surface water within a small catchment after a controlled herbicide application. **Environmental Science and Technology**, v.38, n.14, p.3835-3841, 2004.

NEGRISOLI, E. *et al.* Associação do herbicida tebuthiuron com a cobertura de palha no controle de plantas daninhas no sistema de cana-crua. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 25, n. 3, p. 621-628, jul./set. 2007.

NEVES, Pedro Dias Mangolini; MENDONÇA, Marcelo Rodrigues. Distribuição espacial dos casos de intoxicação por agrotóxicos agrícolas em diferentes monocultivos no estado de Goiás (2005-2015). **Ateliê Geográfico**, Goiânia, v. 12, n. 2, p. 269-297, ago. 2018.

NUMMER, I. **Riscos do residual de herbicidas da soja na cultura do milho safrinha**. 2015.

NUNES, A. L.; VIDAL, R. A. Seleção de plantas quantificadoras de herbicidas residuais. Pesticidas: **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 19, n. 1, p. 19-28, 2009. doi: 10.5380/pes.v19i0.16550.

Oliveira Junior RS, Inoue MH (2011) Seletividade de herbicidas para culturas e plantas daninhas. In: OLIVEIRA JR., R.S; CONSTANTIN, J.; INOUE, M.H. (Coord.). **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas**. Curitiba, PR: Omnipax, p. 141-192.

OLIVEIRA, M. F. & BRINGHENTI, A. M. Comportamento dos herbicidas no ambiente. IN: OLIVEIRA JUNIOR, R. S. *et al.* **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax, 2011.

OLIVEIRA, M.F.; 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.207-215, 2018.

PEREIRA, A.; I.; S. Diagnóstico situacional sobre o uso de agrotóxicos por agricultores familiares do campo agrícola fomento em Codó, Maranhão, Brasil. **Revista Saúde e Meio Ambiente** – RESMA, Três Lagoas, v. 9, n.3, p. 1-14, Agosto/Dezembro. 2019. Edição especial. ISSN: 2447-8822.

PESSOA, M.C.Y.; CHAIM, A.; GOMES, M.A.F.; SILVA, A.S.; SOARES, J.M. Simulação de aldicarb e tebuthiuron movimento em solos sob cultivos de banana e cana-de-açúcar no semiárido brasileiro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.7, p.297-302, 2003

Pires FR, Procópio SO, Souza CM, Santos JB, Silva GP (2008) Adubos verdes na fitorremediação de solos contaminados com herbicida tebuthiuron. **Revista caatinga**, Mossoro, 19:92-97.

PIRES, F. R. *et al.* Adubos verdes na fitorremediação de solos contaminados com o herbicida tebuthiuron. **Caatinga**, v. 19, n.1, p. 92-97, 2006.

PIRES, F. R. *et al.* Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. **Planta Daninha**, v.21, n.2, p.335-341, 2003.

PIRES, F. R. *et al.* Fitorremediação de solos contaminados com tebuthiuron utilizando-se espécies cultivadas para adubação verde. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 23, n. 4, p. 711-717, out./dez. 2005.

PIRES, F. R. *et al.* Seleção de plantas tolerantes ao tebuthiuron e com potencial para fitorremediação. **R. Ceres**, v. 20, p. 583-594, 2003.

PIRES, F. R. *et al.* **Uso da fitorremediação na contaminação do solo.** In: ENCONTRO REGIONAL DE BOTÂNICOS, 23., 2001, Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2001. p.104.

PIRES, F.R. *et al.* Fitorremediação de solos contaminados com tebuthiuron utilizando-se espécies cultivadas para adubação verde. **Planta daninha**, Viçosa , v. 23, n. 4, p. 711-717, Dec. 2005 .

PRATA F. & LAVORENTI A. Comportamento de herbicidas no solo: Influência da matéria orgânica. **Rev. biociênc.**, Taubaté, v.6, n.2, p.17-22, jul.-dez.2000.

PRATA, F. *et al.* Glyphosate sorption and desorption in soils with different phosphorous levels. **Sci. Agric.**, v. 60, n. 1, p. 175-180, 2003.

Procópio SO, Pires FR, Santos JB dos, Silva AA. **Fitorremediação de solos com resíduos de herbicidas.** 1 ed. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros; 2009.

PROCÓPIO, S. O. *et al.* Development of bean plants in soil contaminated with trifloxysulfuron sodium after Stizolobium aterrimum and Canavalia ensiformis cultivation. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 25, n. 1, p. 87-96, 2007.

PROCÓPIO, S. O. *et al.* Fitorremediação de solo contaminado com trifloxysulfuron-sodium por mucuna-preta (*Stizolobium aterrimum*). **Planta Daninha**, v. 23, n. 4, p. 719-724, 2005.

RAHMAN, U. H.; KHATTAK, A. M.; SADIQ, M.; ULLAH, K.; JAVERIA, S.; ULLAH, I. RAVEN, P.H.; EVERT, R.; EICHHORN, S.E. **Biologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.830 p. il.

RINGTON, J.P.G.; BELTRÃO, N.E.M.; CAPUANI, S. BRITO NETO, J.F.; SILVA, F.V.F. Análise não destrutiva de pigmentos fotossintéticos em folhas de gergelim. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, V.16, N.3, P.258–261, 2012.

RODRIGUES, B. N. & ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 6. ed. Londrina: Edição dos Autores, 2011. 697 p.

ROSENTHAL, M.D.A. *et al.* Toxicidade do herbicida S-metolachlor em plantas de milho provenientes de sementes com diferentes formatos e dimensões. **Planta daninha**, Viçosa, v. 24, n. 2, p. 319-327, June 2006.

RUBIO-BELLIDO, M. *et al.* **Assessment of soil diuron bioavailability to plants and microorganisms through non-exhaustive chemical extractions of the herbicide.**

SANTOS, E.A. *et al.* Fitoestimulação por *Stizolobium aterrimum* como processo de remediação de solo contaminado com trifloxysulfuron-sodium. **Planta daninha**, Viçosa, v. 25, n. 2, p. 259-265, 2007.

SANTOS, G.; JUMES, T. M. C. Seleção de espécies bioindicadoras para os herbicidas trifloxysulfuron-sodium e pyriithiobac-sodium. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 10, n. 1, p. 37-48, 2011b. doi: 10.7824/rbh.v10i1.89.

SANTOS, M. M. *et al.* Dinâmica populacional de plantas daninhas na cultura do milho sob diferentes manejos em plantio direto. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 23, n. 3, p. 26-32, 2010.

SCRAMIN, S. *et al.* Utilização de plantas na remediação de solos contaminados por herbicidas– levantamento da flora existente em áreas de cultivo de cana-de-açúcar. In: MELO, I. S.; SILVA, C. M. M. S.; SCRAMIN, S.; SPESSOTO, A. **Biodegradação**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2001. p. 369-371.

SILVA JUNIOR, Antonio Carlos da *et al.* Evaluation of leaching potential of tebuthiuron using bioindicator plants. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 85, e0692015, 2018.

SILVA, A. A. *et al.* Herbicidas: classificação e mecanismo de ação. In: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. (Eds.). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2007. 367 p.

SILVA, A. A. *et al.* Herbicidas: comportamento no solo. In: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. (Ed.). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2007. p. 189-248.

SILVA, A. A. *et al.* Herbicidas: comportamento no solo. In: Silva, A. A.; Silva, J. F. (Ed.). 148 **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa,

2013. 149 p. 189-248.

SILVA, A. A.; SILVA, J. F. (Ed.). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa: Editora UFV, 2007. 367 p.

SILVA, D.V. Métodos não destrutivos para estimativas de clorofilas como indicadoras da qualidade de mudas de espécies florestais. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Estadual de Santa Cruz , UESC, 2014. 62p.

SILVA, J. F.; BUENO, C. R. **Tolerância de leguminosas de cobertura do solo a herbicidas**. I. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 22., 2000, Foz do Iguaçu. Resumos... Foz do Iguaçu: SBCPD, 2000a. p. 375.

SILVA, L.O.C., SILVA, A.A., D'ANTONINO, L., QUEIROZ, M.E.L.R., LIMA, C.F. e SILVA, P. V.; MONQUERO, P.A. Influência da palha no controle químico de plantas daninhas no sistema de cana crua. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 12, p. 94-103, 2013.

SILVA, A. A. *et al.* Herbicidas: Comportamento no solo. In: SILVA, A.A.; SILVA, J. F. **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa, 2007. p. 17-61.

STREIT, N. M.; CANTERLE, I. P.; CANTO, M.. W.; HECKTHEUER, I H..H. As clorofilas. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 74-755, 2005.

TONIÊTO, T. A. P. *et al.* Fate of tebuthiuron and hexazinone in green-cane harvesting system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 64, n. 20, p. 3960-3966, 2016.

CLOSE, M. E.; SKINNER, A. Sixth national survey of pesticides in groundwater in New Zealand. **New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research**, v. 46, n. 4, p. 443-457, 2012.

V. F.; ALLEONI, L. R. F. **Química e mineração do solo**. 2. ed. Viçosa, MG: SBCS, 2009. p. 187-248.

Vasconcellos, M.C.; Pagliuso, D.; Sotomaior, V.S. Phytoremediation: A proposal of soil decontamination. **Estudos de Biologia: Ambiente e Diversidade**, v.34, n.83, p.261-267, 2012.

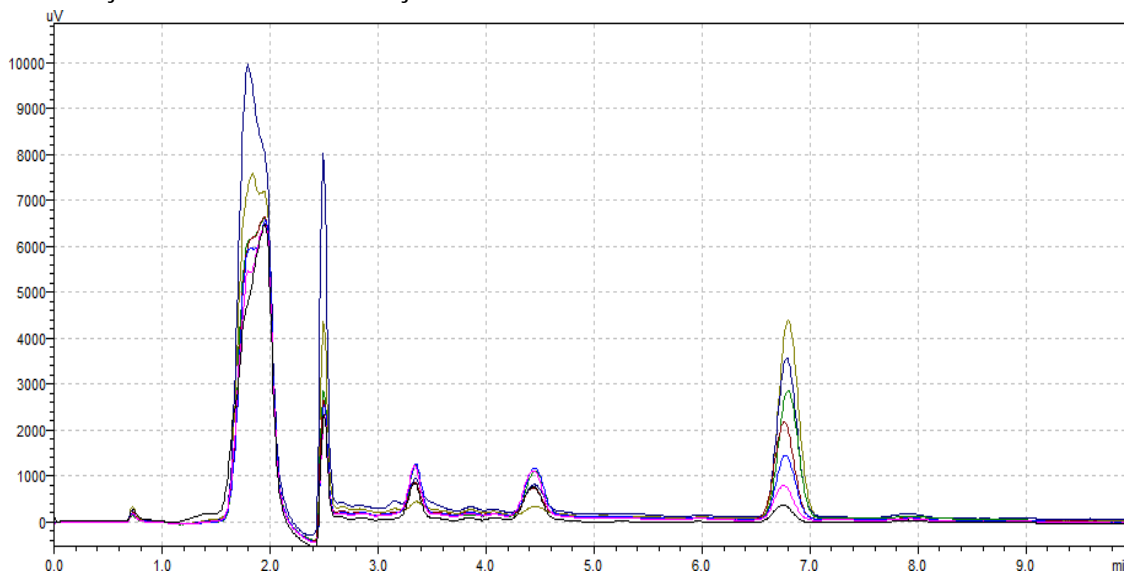
WANG, Daoyuan *et al.* Phenylurea herbicide sorption to biochars and agricultural soil. 157 YAMASOE, M.A.; CORREA, M.P. Processos radiativos na atmosfera: fundamentos. São Paulo: Oficina de textos, 2016. 142 p. il.

YUE, L. *et al.* Adsorption–desorption behavior of atrazine on agricultural soils in China. 171 **Journal of Environmental Sciences**, v. 57, p. 180-189, 2017.

ZHANG, Y. *et al.* Sorption–desorption and transport of trimethoprim and sulfonamide 174 antibiotics in agricultural soil: effect of soil type, dissolved organic matter, and pH. 175 **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 9, p. 5827-5835, 2014.

6. APÊNDICES:

Tabela 03. Cromatograma das diferentes concentrações de tebuthiuron injetadas para construção da curva de calibração.



Legenda: Concentração do tebuthiuron no tempo de retenção de 6,8 minutos: 0,5; 1,1; 2,1; 3,1; 4,1; 5,1 e 6,1 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, em ordem crescente no gráfico.

Tabela 04. Coeficiente de variação para cada concentração de tebuthiuron recuperada pelo teste de recuperação.

Concentração $\mu\text{g/mL}$	Coeficiente de Variação (%)
0,5	2,13
1,1	0,25
2,1	0,25
3,1	0,14
4,1	0,47
5,1	0,35
6,1	1,43

Figura 2. Curva de calibração do tebuthiuron obtida por cromatografia líquida de alta eficiência.

