

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**FITORREMEDIÇÃO DE SOLO DE VÁRZEA
CONTAMINADO COM OS HERBICIDAS IMAZETAPIR
E IMAZAPIQUE**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Kelen Müller Souto

Santa Maria, RS, Brasil

2011

FITORREMEDIAÇÃO DE SOLO DE VÁRZEA CONTAMINADO COM OS HERBICIDAS IMAZETAPIR E IMAZAPIQUE

Kelen Müller Souto

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM-RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Agronomia**

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Luiz de Oliveira Machado

Santa Maria, RS, Brasil

2011

S728f Souto, Kelen Müller
Fitorremediação de solo de várzea contaminado com herbicidas imazetapir e
imazapique / por Kelen Muller Souto. – 2011.
109 f. ; il. ; 30 cm

Orientador: Sérgio Luiz de Oliveira Machado
Coorientador: Enio Marchesan
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de
Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, RS, 2011

1. Agronomia 2. Arroz irrigado 3. Poluição orgânica 4. Residual de herbicidas
5. Solo de várzea I. Machado, Sérgio Luiz de Oliveira II. Marchesan, Enio
III. Título.

CDU 633.18

Ficha catalográfica elaborada por Cláudia Terezinha Branco Gallotti – CRB 10/1109
Biblioteca Central UFSM

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Agronomia**

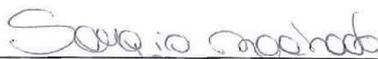
A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**FITORREMEDIAÇÃO DE SOLO DE VÁRZEA CONTAMINADO
COM OS HERBICIDAS IMAZETAPIR E IMAZAPIQUE**

elaborado por
Kelen Müller Souto

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Agronomia

COMISSÃO EXAMINADORA:



Sérgio Luiz de Oliveira Machado, Dr.
(Presidente/Orientador)



Luis Antonio de Avila, Ph.D. (UFPEL)



Rodrigo Josemar Seminoti Jacques, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 25 de fevereiro de 2011.

DEDICO

À minha amada avó **Emma Viegas Müller** (*in memoriam*),
pelos inúmeros valores, pelo exemplo de ser humano e a certeza de que o trabalho,
a honestidade e a humildade são os grandes impulsionadores para a busca de um
futuro melhor.

OFEREÇO

À minha mãe, **Enilda Terezinha Viegas Müller**,
por todo amor, compreensão, confiança, força e
tempo que sempre me dedicou, nunca medindo
esforços para eu desfrutasse de uma vida plena
e feliz.

AGRADECIMENTOS

À Deus, o qual agradeço por todas oportunidades recebidas e por colocar pessoas boas no meu caminho, as quais sem elas não chegaria onde estou.

À minha mãe e minha avó (*in memoriam*), que me incentivaram desde o princípio e conduziram toda a minha formação com carinho, compreensão e apoio.

Ao professor e principalmente amigo, Luis Antonio de Avila pelos ensinamentos, sinceridade e incontestável dedicação em minha orientação durante o curso de Pós-Graduação, não limitados a aspectos acadêmico-científicos.

Ao Professor Sérgio Luiz de Oliveira Machado, por ter me recebido como sua orientada com toda a compreensão e carinho, nunca medindo esforços para que todas as minhas dúvidas e medos fossem sanados.

A Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia pela minha formação de qualidade, oportunidade de realização do curso e disponibilização da sua estrutura para a condução de meu trabalho.

À CAPES pelo apoio financeiro.

Aos professores Enio Marchesan e Rodrigo Josemar Seminotti Jacques pelo convívio e grande aprendizado.

Aos estagiários e **irmãos do coração** do Grupo de Pesquisa em Arroz Irrigado e Uso Alternativo de várzeas, em especial à Marcos Marchezan, Diogo Machado Cezimbra, Mariah Marques, Dâmaris dos Santos e Cláudia Peixoto de Barros e aos colegas de Pós-Graduação Gustavo Mack Teló, Bibiana Moraes, Luiz Fernando Martini, Guilherme Cassol, João Paulo Refatti, Paulo Fabrício Massoni, Rafael Bruck e Gerson Meneguetti pela grande amizade, ensinamentos, companheirismo e apoio nos trabalhos de pesquisa.

Ao professor Renato Zanella do Departamento de Química da UFSM, pelo apoio na parte de química analítica,

Aos funcionários do Departamento de Fitotecnia: João Colpo e em especial, ao funcionário Gilmar, pela prestatividade e amizade.

Por fim a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para o êxito desse trabalho, **muito obrigado**.

“Pouco se pode esperar de alguém que só se
esforça quando tem a certeza de
vir a ser recompensado”

José Ortega y Gasset

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
Universidade Federal de Santa Maria

FITORREMEDIÇÃO DE SOLO DE VÁRZEA CONTAMINADO COM OS HERBICIDAS DO IMAZETAPIR E IMAZAPIQUE

AUTOR: KELEN MÜLLER SOUTO
ORIENTADOR: SÉRGIO LUIZ DE OLIVEIRA MACHADO
Santa Maria, RS, 25 de fevereiro de 2010.

Os efeitos adversos da utilização de herbicidas como sua toxicidade para espécies não-alvo e produção de resíduos persistentes no solo e em águas superficiais, têm chamado a atenção e estimulado pesquisas para melhor compreensão do destino no ambiente e para o desenvolvimento de métodos eficientes de descontaminação. A fitorremediação é um processo baseado na utilização de plantas e sua microbiota associada com a finalidade de extrair, estabilizar, metabolizar, compartimentalizar e/ou degradar poluentes. Em vista do exposto, a presente dissertação de mestrado teve por objetivos: 1) fazer uma revisão de literatura sobre a fitorremediação de solos contaminados com herbicidas (Capítulo I); 2) selecionar espécies vegetais que apresentem tolerância à presença do herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹) para serem testadas quanto sua eficiência fitorremediadora (Capítulo II); 3) avaliar a eficiência de espécies vegetais na remediação do solo contaminado com a mistura herbicida estudada, utilizando a cultivar de arroz irrigado IRGA 417 como planta bioindicadora (Capítulo III) e 4) avaliar a degradação do herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹) em solo rizosférico proveniente do cultivo de *Canavalia ensiformis*, *Glycine max*, *Lolium multiflorum*, *Lotus corniculatus*, *Stizolobium aterrimum* e *Vicia sativa* (Capítulo IV). As espécies *Avena strigosa*, *Lolium multiflorum*, *Lotus corniculatus*, *Crotalaria juncea*, *Vicia sativa*, *Canavalia ensiformis*, *Stizolobium aterrimum*, *Glycine max* e *Raphanus sativus* apresentaram tolerância significativa e potencial fitorremediador, sendo eficientes na descontaminação do solo com presença do herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹). A maior atividade metabólica, evidenciada pelo desprendimento de CO₂, observada em solo vegetado com as espécies vegetais *Lotus corniculatus*, *Lolium multiflorum*, *Vicia sativa*, *Canavalia ensiformis*, *Stizolobium aterrimum* e *Glycine max*, permiti inferir que estas espécies podem influenciar a atividade da microbiota presente na rizosfera das mesmas, resultando na mineralização dos herbicidas imazetapir e imazapique.

Palavras-chave: Arroz irrigado. Poluição orgânica. Remediação. Residual de herbicidas. Solo de várzea.

ABSTRACT

Master Dissertation
Graduate Program in Agronomy
Universidade Federal de Santa Maria

PHYTOREMEDIATION OF LOWLAND SOIL CONTAMINATED WITH THE HERBICIDES IMAZETHAPYR AND IMAZAPIC

AUTHOR: KELEN MÜLLER SOUTO
ADVISOR: SÉRGIO LUIZ DE OLIVEIRA MACHADO
Santa Maria, RS, February 25th, 2010.

Adverse effects of the use of herbicides, such as toxicity to non-target species and production of persistent residues in soil and in surface water, have drawn attention and stimulated research to better understand the destination in the environment and to the development of efficient methods of decontamination. The Phytoremediation is a process based on the use of plants and their associated microbiota in order to extract, stabilize, metabolize, compartmentalize and / or degrade pollutants. In view of the exposed, this dissertation aimed to: 1) make a review on phytoremediation of soils contaminated with herbicides (Chapter I), 2) select plant species that show tolerance to the herbicide compound made by mixing Imazapic + imazethapyr (75 + 25 g e.a. L⁻¹) to be tested for its phytoremediation efficiency (Chapter II), 3) evaluate the efficiency of plant species in the remediation of soil contaminated with the studied herbicide mixture, using the irrigated rice cultivar IRGA 417 as a bioindicator plant (Chapter III) and 4) evaluate the degradation of the herbicide compound formulated mixture of imazethapyr + Imazapic (75 + 25 g e.a. L⁻¹) in rhizosphere soil from the cultivation of *Canavalia ensiformis*, *Glycine max*, *Lolium multiflorum*, *Lotus corniculatus*, *Stizolobium aterrimum* and *Vicia sativa* (Chapter IV). The species espécies *Avena strigosa*, *Lolium multiflorum*, *Secale cereale*, *Lotus corniculatus*, *Crotalaria juncea*, *Vicia sativa*, *Canavalia ensiformis*, *Stizolobium aterrimum*, *Glycine max* and *Raphanus sativus* showed significant tolerance and phytoremediation potential, being efficient in descontaminating the soil with compost by the presence of the herbicide formulated mixture imazethapyr + Imazapic (75 + 25 g ai L⁻¹). The highest metabolic activity, evidenced by the release of CO₂ observed in soil vegetated with plant species *Lutus corniculatus*, *Lolium multiflorum*, *Vicia sativa*, *Canavalia ensifromis*, *Stizolobium aterrimum* and *Glycine max*, allows to infer that these species can influence the activity of the microbiota present in rhizosphere of the same, resulting in mineralization of the herbicides imazethapyr and Imazapic.

Key- words: Irrigated rice. Organic pollution. Remediation, Herbicide residual, Lowland soil.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Dose do herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir +imazapique (75 + 25 g e.a. L ⁻¹) que causa 50% de redução de estatura (EST ₅₀) nas espécies avaliadas aos 35 DAE e respectivos fatores de suscetibilidade (Fs) das espécies vegetais, com base na espécie mais suscetível ao herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir + imazapique. Santa Maria, RS, 2010.	56
Tabela 2- Dose do herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir +imazapique (75 + 25 g e.a. L ⁻¹) que causa 50% de fitointoxicação (FT ₅₀) nas espécies avaliadas aos 35 DAE e respectivos fatores de suscetibilidade (Fs) das espécies vegetais. Santa Maria, RS, 2010.	58
Tabela 3 - Dose do herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir +imazapique (75 + 25 g e.a. L ⁻¹) que causa 50% de redução na massa da matéria seca (MS ₅₀) nas espécies avaliadas aos 35 DAE e respectivos fatores de suscetibilidade (Fs) das espécies vegetais, com base na espécie mais suscetível ao herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir+imazapique. Santa Maria, RS, 2010.	60
Tabela 4 - Efeito do cultivo de espécies vegetais no período de entressafra na dose de herbicida que causa 50% de fitointoxicação (FT ₅₀), 50% de redução de estatura de plantas (EST ₅₀) aos 21 DAE e 50% de redução de massa da matéria seca da parte aérea (MS ₅₀) aos 50 DAE de plantas de arroz irrigado não tolerante, IRGA 417. E respectivos fatores de remedição (FRem). Santa Maria, RS. 2010.	78
Tabela 5 - Quantidade dos herbicidas imazapique e imazetapir aplicados, recuperados por LC-MS-MS, transformados e % de mineralização aos 63 DAT em função da dose do herbicida e da cultura hiberna utilizada. Santa Maria, RS. 2010.	99

Tabela 6 - Quantidade dos herbicidas imazapique e imazetapir aplicados, recuperados por LC-MS-MS, transformados e % de mineralização aos 63 DAT em função da dose do herbicida e da cultura estival utilizada. Santa Maria, RS. 2010.	100
--	-----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Resumo das principais etapas de um esquema proposto para programa de fitorremediação de solos contaminados por herbicidas residuais. Fonte: Silva (2007).	31
Figura 2 - Curvas de dose resposta de espécies tolerantes (A) e suscetíveis (B) a mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 e 25 g e.a. L ⁻¹) avaliadas através da estatura aos 35 dias após a emergência (DAE), em relação à testemunha. Santa Maria, RS, 2010.	54
Figura 3 - Curvas de dose resposta de espécies resistentes (A) e suscetíveis (B) ao herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 e 25 g e.a. L ⁻¹) avaliadas visualmente a partir da fitointoxicação aos 35 dias após a emergência (DAE). Santa Maria, RS, 2010.	57
Figura 4 - Curvas de dose resposta de espécies resistentes (A) e suscetíveis (B) ao herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 e 25 g e.a. L ⁻¹) avaliadas através da redução de massa da matéria seca aos 60 dias após a emergência (DAE). Santa Maria, RS, 2010.	59
Figura 5 - Curvas de dose resposta de espécies resistentes (A) e suscetíveis (B) mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 e 25 g e.a. L ⁻¹) avaliadas através da redução da estatura de plantas de arroz não tolerantes (IRGA 417) aos 21 dias após a emergência (DAE), em relação à testemunha. Santa Maria, RS, 2010.	74
Figura 6 - Curvas de dose resposta de espécies resistentes (A) e suscetíveis (B) ao herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 e 25 g e.a. L ⁻¹) avaliadas através da fitointoxicação visual de plantas de arroz não tolerantes (IRGA 417) aos 21 dias após a emergência (DAE). Santa Maria, RS, 2010.	75

Figura 7 - Curvas de dose resposta de espécies resistentes (A) e suscetíveis (B) ao herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 e 25 g e.a. L ⁻¹) avaliadas através da massa da matéria seca de plantas de arroz não tolerantes (IRGA 417) aos 60 dias após a emergência (DAE). Santa Maria, RS, 2010.	75
Figura 8 - Produção acumulada de CO ₂ em solo rizosférico das espécies hibernais aos 63 dias de incubação em função da dose correspondente a mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 + 25 g e.a. L ⁻¹). Santa Maria, RS. 2010.	92
Figura 9 - Produção acumulada de CO ₂ em solo rizosférico das espécies estivais aos 63 dias de incubação em função da dose correspondente a mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 + 25 g e.a. L ⁻¹). Santa Maria, RS. 2010.	93
Figura 10 - Concentração do herbicida imazetapir encontrado em solo rizosférico das espécies hibernais <i>Lolium multiflorum</i> , <i>Lotus corniculatus</i> , <i>Vicia sativa</i> e solo sem cultivo no inverno (A) e das espécies estivais <i>Canavalia ensiformis</i> , <i>Stizolobium aterrimum</i> , <i>Glycine max</i> e sem cultivo no verão (B), após 63 dias de incubação. Santa Maria, RS. 2010.	97
Figura 11 - Concentração do herbicida imazapique encontrado em solo rizosférico das espécies hibernais <i>Lolium multiflorum</i> , <i>Lotus corniculatus</i> , <i>Vicia sativa</i> e solo sem cultivo no inverno (A) e das espécies estivais <i>Canavalia ensiformis</i> , <i>Stizolobium aterrimum</i> , <i>Glycine max</i> e sem cultivo no verão (B), após 63 dias de incubação. Santa Maria, RS. 2010.	98

LISTA DE ANEXOS

Anexo A - Relação de plantas daninhas, distribuídas por família e espécie, citadas durante o texto. Santa Maria, RS. 2010.	108
Anexo B - Propriedades físico-químicas dos agrotóxicos utilizados nos presentes estudos. Fonte: Sensaman (2007).	110

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	15
BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO COM HERBICIDAS: UMA REVISÃO.....	18
Resumo.....	18
Introdução.....	19
Biorremediação.....	21
Fitorremediação.....	23
Mecanismos de fitorremediação.....	26
Metabolização dos herbicidas.....	33
Considerações finais.....	40
Referências bibliográficas.....	40
SELEÇÃO DE PLANTAS PARA FITORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO COM OS HERBICIDAS IMAZETAPIR E IMAZAPIQUE.....	48
Resumo.....	48
Introdução.....	49
Material e Métodos.....	51
Resultados e Discussão.....	54
Conclusão.....	63
Referências bibliográficas.....	63
ESPÉCIES VEGETAIS FITORREMEIADORAS DE SOLO CONTAMINADO COM OS HERBICIDAS IMAZETAPIR E IMAZAPIQUE.....	68
Resumo.....	68
Introdução.....	69
Material e Métodos.....	71
Resultados e Discussão.....	73
Conclusão.....	80
Referências bibliográficas.....	81
ATIVIDADE RIZOSFÉRICA DE ESPÉCIES VEGETAIS FITORREMEIADORAS DE SOLO CONTAMINADO COM OS HERBICIDAS IMAZETAPIR E IMAZAPIQUE.....	85
Resumo.....	85
Introdução.....	86
Material e Métodos.....	89
Resultados e Discussão.....	91
Conclusão.....	101
Referências bibliográficas.....	101
CONCLUSÕES GERAIS.....	104
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	106
ANEXOS.....	107

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos há um considerável aumento no consumo de água e agrotóxicos na agricultura. Isso se deve à crescente demanda por alimentos e fibras, sendo que essa produção deve ser adequadamente manejada, pois está sujeita a uma série de processos que reduzem a produção e o valor das culturas.

Para a obtenção de elevadas produtividades nas culturas agrícolas, é necessário, entre outros fatores, um manejo adequado para o controle de plantas daninhas, o qual pode ser realizado basicamente com a utilização de herbicidas. Hoje, a grande maioria dos herbicidas utilizados são moléculas orgânicas obtidas por rotas sintéticas, portanto, não são encontrados na natureza, e por isso, denominados xenobióticos.

O solo é um dos destinos dos produtos químicos usados na agricultura, sejam eles aplicados diretamente neste ou na parte aérea das plantas. Ao entrarem em contato com o solo, os herbicidas estão sujeitos a processos físico-químicos que regulam seu destino no ambiente.

A maioria desses compostos é transformada, predominantemente, por processos biológicos através de enzimas existentes em animais, plantas e microrganismos, e essas transformações geralmente resultam na degradação da estrutura molecular do composto em formas menos complexas (TAUK, 1990). No entanto, se as condições ambientais forem desfavoráveis para a degradação, as moléculas do pesticida podem permanecer no solo, dando origem ao denominado efeito residual (*carryover*), o que implica em problemas quando se trata da sucessão de espécies sensíveis a esses compostos (PIRES et al., 1995).

Herbicidas pertencentes ao grupo químico das imidazolinonas são exemplos de compostos que possuem alta persistência no solo, podendo afetar culturas não tolerantes semeadas em rotação/sucessão (RENNER et al., 1998). Esses herbicidas são usualmente utilizados em áreas de várzea cultivadas sob o Sistema Clearfield® para o controle do arroz vermelho, principal planta daninha da cultura do arroz irrigado.

Devido às semelhanças morfofisiológicas entre o arroz cultivado e o arroz-vermelho, os herbicidas tradicionalmente utilizados na lavoura são ineficientes no controle dessa planta daninha (SANTOS et al., 2007). Contudo, o desenvolvimento

de cultivares de arroz irrigado tolerante a herbicidas que controlam essa planta daninha possibilitou o controle do arroz-vermelho de forma seletiva (FONTANA et al., 2007). De acordo com Steele et al., (2002), o sistema denominado Clearfield[®], desenvolvido na Universidade de Louisiana/EUA, utiliza cultivares de arroz irrigado tolerantes aos herbicidas do grupo químico das imidazolinonas, sendo estas, portanto, dependentes desses herbicidas. Quando aplicados, uma proporção significativa destes compostos atinge o solo, onde são passíveis de serem absorvidos pelas raízes das plantas e sorvidos aos colóides do solo (KRAEMER et al., 2009), podendo então sofrer lixiviação causando efeitos negativos ao ambiente.

A produção de culturas não-tolerantes pode ser comprometida caso o intervalo entre a aplicação das imidazolinonas e a semeadura da cultura em rotação não seja observado (RENNER et al., 1998). O uso continuado do Sistema Clearfield[®], sem rotação com outros sistemas de cultivo, provoca grande pressão de seleção no arroz-vermelho, gerando biótipos tolerantes/resistentes a esses herbicidas (VILLA et al., 2006), podendo também contaminar o lençol freático, que em áreas de várzea, fica próximo da superfície.

Além de causar danos ao arroz não tolerante, os herbicidas pertencentes a esse grupo químico também são conhecidos por causar fitointoxicação em culturas como alfafa, aveia, azevém, beterraba-açucareira, ervilha, melão, milho, pimenta, pimentão e tomate (ALISTER; KOGAN, 2005).

Em vista do exposto, é crescente a preocupação em despoluir áreas contaminadas com herbicidas do grupo químico das imidazolinonas, e para isto há várias tecnologias biológicas de remediação sendo pesquisadas em todo o mundo. Geralmente, essas tecnologias, conhecidas como Biorremediação, são fundamentadas nas atividades biodegradativas dos microrganismos e plantas, visando incrementar os processos já existentes na natureza (MELO et al., 2001). A biorremediação tem aplicações potenciais de descontaminação em solos, sedimentos e água. Comparadas aos métodos físicos de remediação, esse processo é considerado menos oneroso e causa menor impacto ambiental (MONQUEIRO et al., 2000).

Anterior a implantação de um projeto de biorremediação, devem ser avaliados importantes parâmetros, como a determinação da biodegradabilidade do composto ou da possível acumulação em plantas e microrganismos, e conhecer o mecanismo mais efetivo de biodegradação do mesmo. Essa biodegradação, por sua vez, é

influenciada por uma série de fatores químicos, físicos e biológicos, tais como, solubilidade em água, lipoficidade, concentração no meio, pH, temperatura, concentração de O₂, nutrientes, densidade populacional de plantas e microrganismos, capacidade de absorção, entre outros (MELO et al., 2001).

Entre os muitos métodos de biorremediação disponíveis, alguns podem ser empregados em grandes extensões de solos contaminados. O nível de contaminação para que haja intervenção, pode ser aquele onde os níveis de resíduos presentes afetam o desenvolvimento de outras culturas agrícolas suscetíveis, ou que estejam além dos níveis aceitáveis estipulados pelos órgãos regulamentadores nacionais e internacionais, tais como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) e a Environmental Protection Agency (USEPA) (SKLADANY; METTING, 1992). Dentro dessa abordagem, a fitorremediação, técnica que visa descontaminar solo e/ou água com a utilização de plantas e sua microbiota associada, aparece como uma alternativa prática, eficiente e de baixo custo.

Nesse contexto, esse trabalho de dissertação teve por objetivos: 1) apresentar características peculiares da técnica de bio/fitorremediação e também de outras técnicas utilizadas na remediação de solos contaminados com herbicidas (Capítulo I); 2) selecionar espécies vegetais que apresentem tolerância à presença do herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹) para serem testadas quanto sua eficiência fitorremediadora (Capítulo II); 3) avaliar a eficiência de espécies vegetais na remediação do solo contaminado com a mistura herbicida estudada, utilizando a cultivar de arroz irrigado IRGA 417 como planta bioindicadora (Capítulo III) e 4) avaliar a degradação do herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹) em solo rizosférico proveniente do cultivo de *Canavalia ensiformis*, *Glycine max*, *Lolium multiflorum*, *Lotus corniculatus*, *Stizolobium aterrimum* e *Vicia sativa* (Capítulo IV).

- CAPÍTULO I -

BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO COM HERBICIDAS: UMA REVISÃO

Resumo

Hoje, vários setores têm observado com grande interesse o crescente número de poluentes existentes em todo o mundo. Por esse motivo aumenta o interesse por técnicas remediadoras. Técnicas de biorremediação podem ser utilizadas para descontaminar esses ambientes e a fitorremediação, técnica que objetiva a descontaminação de solo e água por meio da utilização de plantas e sua microbiota associada, possui um lugar de destaque devido à sua eficiência na descontaminação dos solos e também devido ao seu custo ser mais acessível do que outras técnicas. Após extrair o contaminante do solo, a planta armazena-o e/ou metaboliza-o, podendo, em alguns casos, transformá-lo em produtos menos tóxicos podendo também estimular a atividade microbiana degradadora através da fitoestimulação. Em vista do exposto, essa revisão tem por objetivo apresentar características peculiares da técnica de bio/fitorremediação e também de outras técnicas utilizadas na remediação de solos contaminados com herbicidas. O estudo e a subsequente avaliação da interação entre o solo, a planta e o poluente, são necessários e constituem uma promissora área de pesquisa para a remediação do ambiente. Embora ainda incipiente no Brasil, já existe estudos sobre algumas espécies agrícolas cultivadas e espécies silvestres ou nativas da própria área contaminada, com o objetivo de selecionar espécies eficientes na fitorremediação do solo. Resultados promissores já foram obtidos para metais pesados hidrocarbonetos, agrotóxicos, explosivos, solventes clorados e resíduos tóxicos da indústria.

Palavras chave: Fitorremediação. Contaminação. Meio ambiente. Poluição orgânica.

Introdução

Problemas resultantes dos processos de poluição e degradação dos recursos naturais por agrotóxicos têm recebido atenção especial, principalmente em sistemas agrícolas que necessitam utilizar esses produtos no manejo integrado de insetos, doenças e plantas daninhas (JAKELAITIS et al., 2005; SANTOS et al., 2005; SILVA et al., 2005). A poluição que afeta essas áreas é hoje um grande problema, pois muitos poluentes possuem utilidades não dispensáveis, como os herbicidas. Estes produtos bem como outros biocidas, possuem características bastante preocupantes, devido à sua persistência no solo, na água e nos alimentos (COUTINHO; BARBOSA, 2007).

Existe ainda o problema ambiental ocasionado pela lixiviação das moléculas de herbicidas ou de seus metabólitos para camadas mais profundas no perfil do solo, podendo atingir águas subterrâneas (PIRES et al., 2003). Quando o produto permanece por mais tempo no solo sem ser adsorvido aos colóides, degradado e/ou mineralizado, a possibilidade de lixiviação é maior. Isso comprova que o comportamento do herbicida no solo será influenciado, entre outros fatores, pelas próprias características da molécula.

Atualmente, as propriedades procuradas em um herbicida são sua pronta degradabilidade, eficiência em doses baixas, especificidade e baixa toxicidade para os organismos não-alvos, existindo uma conscientização dos problemas ambientais ou de saúde que podem ocorrer devido à má utilização desses compostos químicos (SANTOS et al., 2005). Herbicida ideal é aquele que permanece ativo no ambiente tempo suficientemente longo para o controle das plantas daninhas em determinada cultura, porém não tão longo que cause dano às culturas susceptíveis que venham em rotação (KRAEMER, 2008). Nesse contexto, é importante conhecer a forma de degradação desses compostos no solo, pois desse modo pode-se traçar estratégias de descontaminação dessas áreas.

A degradação dos herbicidas refere-se a mudanças na natureza química da molécula por processos físicos (fotodecomposição), químicos (oxidação, redução, hidrólise, formação de sais insolúveis em água e complexos químicos) ou biológicos (degradação microbiológica) (TAUK, 1990). A degradação, de modo geral, é importante por reduzir o nível de resíduo dos pesticidas no solo; e as transformações

químicas e biológicas são os processos mais importantes na degradação dos herbicidas no solo (PIRES et al., 1995).

Além da degradação microbiológica e química, a absorção e metabolização dos produtos pelas plantas daninhas e cultivadas também reduzem os resíduos de herbicidas no solo. Quando absorvidos por plantas resistentes, os herbicidas podem ser armazenados e/ou metabolizados, mas comumente conjugados com glicosídeos e peptídeos, tornando-se inativos dentro das plantas (OLIVEIRA JÚNIOR, 2001).

A idéia básica de que as plantas podem ser utilizadas para remediação ambiental é muito antiga e não pode ser atribuída a uma fonte específica, no entanto, uma série de descobertas científicas tem permitido o desenvolvimento desta idéia em uma tecnologia promissora, rentável e ambientalmente sustentável. A capacidade das plantas em absorver, acumular e metabolizar, direta ou indiretamente xenobióticos, promovendo a descontaminação do solo e/ou da água é denominada Fitorremediação (CUNNINGHAM et al., 1996).

De acordo com o destino dado ao contaminante, a fitorremediação pode ser classificada em três diferentes processos que podem estar agindo em conjunto ou separadamente: degradação, extração e contenção (VIMIEIRO; SILVA, 2007). Para cada um destes processos, existem mecanismos distintos de ação utilizados pelas plantas, que englobam: extração do contaminante do solo ou da água subterrânea; concentração do contaminante no tecido das plantas; degradação do contaminante por meio de uma série de processos metabólicos envolvendo grande número de enzimas; volatilização do contaminante para a atmosfera; imobilização dos contaminantes na zona da raiz; controle hidráulico da água subterrânea contaminada (controle da pluma de contaminação); controle do escoamento superficial, erosão e infiltração pela cobertura vegetal (CUNNINGHAM et al., 1996; ACCIOLY ; SIQUEIRA, 2000; SANTOS et al., 2004; FERNANDEZ; ALCANTARA, 2009).

Uma consideração importante no desenvolvimento de estratégias de remediação utilizando plantas é o destino a curto e longo prazo e o potencial de toxicidade dos produtos finais da biodegradação. Para a classe de produtos químicos como os herbicidas, as evidências indicam que a maioria dos metabólitos formados na degradação das moléculas desses compostos são vinculados de forma irreversível nos tecidos vegetais (SALT et al., 1998).

Apesar da dificuldade de identificar espécies que reúnem, além da capacidade remediadora, características desejáveis do ponto de vista agrônomo, como fácil aquisição ou multiplicação de propágulos (SILVA; SILVA, 2007) e também fácil colheita, quando necessária a remoção da planta da área contaminada; resultados evidenciam claramente o potencial da utilização de plantas terrestres e aquáticas na fitorremediação de agrotóxicos (PIRES et al., 2003). Um exemplo disso é que, nos solos rizosféricos de *Kockia scoparia*, a meia-vida do herbicida atrazina foi de 50 dias e, nos solos não-vegetados, de 193 dias (ARTHUR et al., 2000).

Naturalmente, torna-se difícil reunir as inúmeras características que potencializam o processo de fitorremediação em uma só planta, porém aquela que for selecionada deve reunir o maior número delas (PIRES et al., 2003). Outro aspecto a ser observado é que, embora a maioria dos testes avalie plantas isoladas, várias espécies podem ser usadas em um mesmo local, ou ao mesmo tempo ou subseqüentemente, para remover mais de um contaminante (MILLER, 1996).

O estudo da dinâmica ambiental de herbicidas é importante para estabelecer a probabilidade de contaminação ambiental, porém ainda há carência de estudos sobre a dinâmica de herbicidas no solo, assim como quais são as características do solo que mais influenciam no seu transporte. Em vista do exposto, faz-se necessário formar recursos humanos através da realização de estudos sobre os processos que regulam o transporte de herbicidas para o ambiente, assim como do efeito residual desses no solo.

Desta forma, esta revisão tem por objetivo apresentar características peculiares da técnica de bio/fitorremediação e também de outras técnicas utilizadas na remediação de solos contaminados com herbicidas.

Biorremediação

Com o intuito de despoluir áreas contaminadas com compostos tóxicos, principalmente xenobióticos, tem-se optado por soluções que englobam: eficiência na descontaminação, simplicidade na execução, tempo demandado pelo processo e menor custo (PIRES et al., 2003). Nesse contexto, cresce o interesse pela utilização de Tecnologias Inovativas de Tratamento (ITT's), que contemplam, em suas formas

mais variadas, a utilização da Biorremediação, técnica esta que visa tratar locais contaminados mediante o uso de agentes biológicos (plantas e microrganismos) capazes de modificar ou decompor poluentes alvos (BENTO et al., 2003). Estes agentes “quebram” os compostos alvos visando utilizá-los como fonte de alimento e o benefício máximo desses processos é a mineralização do poluente, isto é, a transformação em gás carbônico, água e biomassa. Essa técnica é bastante utilizada para remediação de áreas contaminadas com metais pesados (FRANCO, 2004; QUEROL et al., 2006), solventes halogenados, compostos nitroaromáticos e, mais recentemente, herbicidas (MONTEIRO, 1996).

O mercado mundial de aplicação de técnicas que apresentam como princípio básico a biorremediação segue uma rota direcionada pelas agências ambientais dos próprios países que se utilizam das ITT's (FERNANDES; ALCÂNTARA, 1998). É sabido que o maior mercado mundial na área de remediações é o norteamericano, responsável por 35 a 40% do mercado, sendo o mesmo detentor do mais completo modelo de controle ambiental em execução. Segundo levantamento realizado pela United States Environmental Protection Agency (USEPA), em seu estudo denominado “*Innovative Technology Evaluation Report*” (1999), mais de 95,0% dos processos de biorremediação são empregados para descontaminação de solos e águas subterrâneas.

As estratégias de biorremediação incluem: a utilização de microrganismos autóctones, ou seja, do próprio local, sem qualquer interferência de tecnologias ativas de remediação (biorremediação intrínseca ou natural); a adição de agentes estimulantes como nutrientes, oxigênio e biossurfactantes (bioestimulação); e a inoculação de consórcios microbianos enriquecidos (bioaumento) (BENTO et al., 2003). De acordo com Accioly e Siqueira (2000), a biorremediação pode ser classificada de três modos diferentes quanto ao local de tratamento: a) *In situ*: tratamento no local da contaminação, b) *Ex situ ou off site*: remoção do solo contaminado para posterior tratamento e c) *On site*: tratamento após escavação do solo.

No tratamento *in situ* a degradação do contaminante pode ser feita de forma passiva, realizada pelos microrganismos indígenas do solo; pode ser realizada através da adição de misturas específicas de microrganismos no local contaminado, denominada de bioaumento (MELO; SILVA, 2003); pode ocorrer também a adição de nutrientes (N e P) ao meio para estimular o crescimento e atividade microbiana,

processo esse denominado de bioestimulação (ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000). Essa bioestimulação também pode ser alcançada mediante otimização das condições ambientais, como: pH, temperatura, oxigênio, umidade, entre outros. A degradação do xenobiótico também pode ser estimulada através da bioventilação, que é quando ocorre a adição de gases estimulantes, tais como O₂ e CH₄ (MILER, 2009).

O tratamento *ex situ* conta com diferentes processos, entre os quais podem ser citados os reatores tipo *bioslurry* ou reatores de fase caldo (MELO et al., 2001). Nesse processo o solo contaminado é escavado, peneirado para remoção de grandes partículas e, então, misturado com água, de modo a formar um caldo, contendo de 10% a 40% de partículas sólidas. Em um reator, esse solo é misturado e recebe nutrientes e oxigênio para manter a condição aeróbica. O solo tratado é então transferido de volta à área original. Esse tipo de biorreator é ideal para tratamento de solo com alto teor de argila devido à característica de baixa solubilidade (ALEXANDER, 1999).

Outro processo realizado no tratamento *ex situ* é o chamado *Landfarming*, onde os poluentes são removidos da área contaminada e colocados em células de confinamento (SILVA et al., 2004). O solo deve ser revolvido periodicamente para aumentar a aeração e facilitar o contato dos resíduos com as bactérias. Para Melo e Silva (2003) esse processo, embora eficiente e não oneroso, oferece o inconveniente da poluição atmosférica em áreas urbanas em função da volatilização dos compostos orgânicos e a possibilidade de contaminação de solos adjacentes devido à lixiviação e escoamento superficial dos contaminantes da pilha de tratamento.

Outra estratégia de biorremediação *ex situ* é a compostagem, processo aeróbico que utiliza a ação de microrganismos para degradar materiais orgânicos, resultando na termogênese, produção de compostos orgânicos de menor peso e inorgânicos (ALEXANDER, 1999).

Fitorremediação

Buscando alternativas para a utilização de áreas agrícolas com presença de compostos persistentes e fitotóxicos no solo, tem-se pesquisado com maior ênfase,

nos últimos anos, o emprego da fitorremediação, que dentro da biorremediação, é um processo que consiste na descontaminação do solo ou água utilizando-se de plantas e sua microbiota associada (CUNNINGHAM et al., 1996; SANTOS et al., 2007) e de amenizantes (corretivos, fertilizantes, matéria orgânica etc.) do solo, além de práticas agrônômicas que, aplicadas em conjunto, removem, imobilizam ou tornam os contaminantes inofensivos ao ecossistema (ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000).

A fitorremediação (*fito* do grego “planta” e *remediação* do latim “voltar ao que era antes, limpar”), tem ganhado respeito e destaque como uma solução de remediação de baixo custo, utilizando plantas selecionadas para limpar solos, sedimentos contaminados por metais pesados, pesticidas, solventes, óleo cru, hidrocarbonetos aromáticos cíclicos, lixiviados de aterros sanitários, entre outros resíduos comumente encontrados (VIMIEIRO; SILVA, 2007). Há muito se sabe que as plantas têm a capacidade de absorver alguns minerais, mas isso era visto geralmente sob um aspecto de nutrição e não como uma alternativa de limpeza do ambiente.

A fitorremediação é uma técnica que pode acelerar a retirada de compostos tóxicos, como herbicidas, do solo, promovendo sua descontaminação (CUNNINGHAM et al., 1996). Quando comparada com técnicas tradicionais, como bombeamento e tratamento, ou remoção física da camada contaminada, essa técnica tem sido considerada vantajosa, principalmente por sua eficiência e pelo baixo custo (CUNNINGHAM et al., 1996; PIRES et al., 2003).

Segundo Spilborghs e Casarini (1998), nesse processo ocorre o emprego de plantas para descontaminar sítios com resíduos químicos orgânicos em sua porção superficial. Em geral, é mais difícil trabalhar com contaminantes orgânicos, em razão da diversidade molecular, da complexidade de análise e das constantes transformações a que estão sujeitos. Os metais pesados, por exemplo, são mais facilmente quantificados e raramente formam metabólitos intermediários no solo, como ocorre na biodegradação dos contaminantes orgânicos (CUNNINGHAM et al., 1996). Para Coutinho e Barbosa (2007) solos contaminados apresentam certas limitações à fitorremediação por serem muitas vezes tóxicos às plantas, principalmente onde ocorrem misturas de herbicidas, o que dificulta a seleção de plantas resistentes e fitorremediadoras para este conjunto de compostos.

A possibilidade de uma planta ser fitorremediadora depende do tipo de poluente, devendo ser testadas várias plantas para que seja detectada aquela que

possui maior resistência ao poluente (CUNNINGHAM et al., 1996). Em estudos realizados por Procópio et al. (2004), em ambiente controlado, as espécies vegetais *Calopogonium muconoides*, *Crotalaria juncea*, *Crotalaria spectabilis*, *Vicia sativa*, *Cajanus cajan*, *Canavalia ensiformes*, *Helianthus annuus*, *Dolichus lablab*, *Pennisitum glaucum*, *Stylosantes guianensis*, *Stizolobium aterrimum*, *Raphanus sativus* e *Lupinus albus* foram testadas para detectar seu potencial fitorremediador em solo contaminado com Trifloxysulfuron Sódio. As espécies mais eficientes na descontaminação do solo com este herbicida foram *M. aterrina* e *C. ensiformis*. No entanto, a continuação destes estudos de fitorremediação é necessária em nível de campo, visando confirmar os resultados obtidos.

Burken e Schnoor (1996) relataram que a linhagem DN3A de *Populus deltoides nigra* foi capaz de absorver a maior parte da atrazina que não foi totalmente adsorvida à fração orgânica do solo, proporcionando desenvolvimento normal das árvores da espécie testada. Anderson et al. (1994) demonstraram que a degradação de atrazina, metolachlor e trifluralin foi significativamente maior em solos rizosféricos de *K. scoparia* que em solos não-vegetados.

Seguindo essa linha de estudo, Scramin et al., (2001) observaram que as espécies *Cynodon dactylon*, *Cyperus rotundus*, *Digitaria horizontalis*, *Commelina benghalensis*, *Brachiaria decumbens*, *Euphorbia heterophylla*, *Chamaesyce hirta* e *Chamaesyce hyssopifolia* podem ser inicialmente utilizadas em programas de fitorremediação em solos contaminados com herbicidas utilizados na cultura da cana-de-açúcar no Estado de São Paulo.

Estudos realizados com os herbicidas tebuthiuron (PIRES et al., 2005b, 2006 e 2008; BELO et al., 2007) e trifloxysulfuron – sódio (PROCÓPIO et al., 2005, 2006 e 2007; e SANTOS et al., 2004 e 2007), apontam as espécies *Canavalia ensiformis*, *Crotalaria juncea* e *Stizolobium aterrimum* como fitorremediadoras desses compostos. Também existem estudos com as moléculas do herbicida picloram (FERREIRA et al., 2006; CARMO et al., 2008), que apontam como espécies remediadoras a *Brachiaria brizantha* e *Eleusine coracana*.

Em vista da grande quantidade de espécies vegetais potencialmente fitorremediadoras, torna-se possível e recomendável o emprego de plantas na descontaminação dos solos contaminados com herbicidas.

Mecanismos de fitorremediação

Para Vimieiro e Silva (2007), a fitorremediação pode ser classificada, de acordo com o destino do contaminante, em processos de degradação, extração e contenção. A degradação engloba a fitodegradação e a rizodegradação e/ou fitoestimulação. Os mecanismos de extração são a fitoextração, fitovolatilização, fitoacumulação e a rizofiltração; e o processo denominado contenção engloba os mecanismos de fitoestabilização, controle hidráulico e capas vegetativas. Todos esses processos não são exclusivos e podem ocorrer simultaneamente, podendo acontecer isolados ou conjuntamente, envolvendo fatores edafoclimáticos e, principalmente, a interação entre a planta e os microrganismos a ela associados (SANTOS et al., 2004).

Extração - Pelo mecanismo de fitoextração tem-se a absorção do herbicida pelas raízes, o qual é armazenado na própria raiz ou transportado e acumulado na parte aérea (fitoacumulação) (VOSE et al., 2000). Para a implantação da técnica são utilizadas plantas específicas chamadas “hiperacumuladoras”, que acumulam nos seus tecidos grandes quantidades de contaminantes encontrados no solo ou na água (FERNANDEZ; ALCANTARA, 2009). Segundo Teixeira e Filho (1998), esse mecanismo de extração é normalmente limitado à zona de influência das raízes e assim, a profundidade das raízes irá determinar a profundidade efetiva do processo. A maioria das plantas acumuladoras tem extensão limitada às camadas superficiais do solo.

A rizofiltração é um processo de extração aplicada à ambientes aquáticos. Nesse processo, as plantas podem ser mantidas em sistemas hidropônicos, através dos quais a água contaminada pelo herbicida passa, podendo ser absorvida pelas raízes, que por sua vez concentram ou degradam o produto (RICE et al., 1997). Esta técnica foi utilizada por Glass (1998) para limpeza de ambientes aquáticos contaminados por metais pesados, sendo hoje empregada com sucesso para despoluição de águas contendo diversos resíduos agrícolas ou industriais, além do tratamento de chorume. Diferentemente, se o contaminante for absorvido e convertido em forma volátil, sendo este liberado na atmosfera, caracteriza a fitovolatilização (SANTOS et al., 2004). De acordo com Vimieiro e Silva (2007), neste processo o contaminante pode ser volatilizado em forma menos tóxica do que a

original. A fitovolatilização também pode ser caracterizada pela absorção pelas plantas, dos contaminantes suspensos na atmosfera (NEWMAN et al., 1998).

Contenção - A retenção dos contaminantes pode acontecer em função da química e da atividade microbiológica característica da rizosfera, além de alterações no solo e no contaminante (USEPA, 2000). Como exemplo, tem-se a alteração do pH ocasionada pelo exudato das plantas e pela produção de CO₂, o que altera a solubilidade e mobilidade dos metais ou impacta a dissociação de compostos orgânicos. Por se tratar de uma técnica que apenas retém o contaminante, o seu uso muitas vezes pode ter um caráter provisório, até que outra forma de tratamento faça efetivamente a sua retirada (VIMIEIRO; SILVA, 2007). Se o poluente permanecer imobilizado na planta ou humificado na rizosfera de maneira indisponível aos microorganismos (SANTOS et al., 2004), bem como o uso das plantas e de suas raízes para prevenção da migração dos contaminantes feita pelo vento, erosão, lixiviação e dispersão no solo, estará caracterizada a fitoestabilização (USEPA, 2000).

Outra forma de contenção, o controle hidráulico, faz uso das plantas (árvores) para extração e consumo da água subterrânea, objetivando impedir a migração dos contaminantes (USEPA, 1999). Para Teixeira e Filho (1998), certas espécies consomem grandes quantidades de água, maximizam a evaporação e transpiração de um local, e podem estender suas raízes até a zona saturada, possibilitando desta maneira, o controle da pluma de contaminação. Esta técnica pode ser utilizada para contaminantes solúveis em água, orgânicos ou inorgânicos, tais como águas subterrâneas contendo metais pesados, nutrientes e pesticidas. A quantidade de água evapotranspirada por uma árvore depende de muitos fatores, especialmente do seu tamanho, profundidade das raízes e das condições climáticas. A taxa com que a água é retirada variará com a temperatura, precipitação e vento, sendo menor no período do inverno (HORTIRELVA, 2010).

As capas vegetativas são coberturas vegetais, constituídas de capins ou árvores, feitas sobre aterros sanitários, para minimizar a infiltração de água da chuva, conter a disseminação dos resíduos poluentes, e evitar que o lixo fique a céu aberto (ANSELMO; JONES, 2005). A camada de solo deve ser projetada com uma espessura tal que garanta o armazenamento da água, enquanto as perdas por evaporação e transpiração se processem (HORTIRELVA, 2010). As raízes

aumentam a aeração do solo, promovendo a biodegradação, evaporação e transpiração (GLASS, 1998).

Degradação - A capacidade de metabolização do herbicida a um composto não-tóxico (ou menos tóxico) às culturas e ao ambiente, tendo como agente remediador a planta, é denominada fitodegradação (VIMIEIRO; SILVA, 2007). Por esse processo os herbicidas são degradados ou mineralizados dentro das células vegetais por enzimas específicas (ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000). Entre essas enzimas, destacam-se as nitroredutases (degradação de nitroaromáticos), desalogenases (degradação de solventes clorados e pesticidas) e lacases (degradação de anilinas) (MILER, 2009). Para Burken e Schnoor (1996), os componentes resultantes da fitodegradação podem ser tanto volatilizados (fitovolatilização), incorporados aos tecidos das plantas ou exsudados pelo sistema radicular. Se alguns componentes resultantes, ainda apresentarem características de toxidez, ao ponto de contaminar outros cultivos posteriores mais sensíveis ao herbicida parcialmente degradado, a espécie remediadora poderá ser encaminhada à combustão ou usada em aplicações alternativas.

A vantagem da fitodegradação é que ela pode ocorrer em locais onde a biodegradação não pode, como por exemplo, quando a concentração do contaminante é elevada e tóxica aos microrganismos (VIMIEIRO; SILVA, 2007). Como desvantagens Scramin et al. (2001) citam a possibilidade da formação de produtos tóxicos intermediários no processo de quebra dos contaminantes, bem como a difícil confirmação da destruição do contaminante durante a atividade metabólica da planta.

Para Scramin et al. (2001) e Santos et al. (2006), outros mecanismos de degradação de poluentes são a rizodegradação, que ocorre quando a planta, considerada fitorremediadora, libera exsudados capazes de degradar o contaminante; e a fitoestimulação que é apresentada juntamente com a rizodegradação devido à dificuldade de tratar esses dois processos separadamente, na qual há o estímulo à atividade microbiana, promovido pela liberação de exsudatos radiculares, que atuam degradando o composto no solo, o que caracteriza, em algumas plantas, a aptidão rizosférica para a biorremediação de compostos tóxicos. A fitoestimulação utiliza as raízes em crescimento (extremidades e ramificações laterais) para promover a proliferação de microrganismos degradadores na rizosfera, que usam os metabólitos exsudados da planta como fonte de carbono e energia. Além disso, as plantas

podem secretar, elas próprias, enzimas biodegradativas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002).

Os principais mecanismos atuantes na fitorremediação de agrotóxicos orgânicos não clorados e herbicidas são a fitoestimulação e/ou rizodegradação e, em menor escala, a fitodegradação (PIRES et al., 2005a). A fitorremediação por meio desses mecanismos principais tem despertado interesse, em razão das elevadas taxas de remediação obtidas com a utilização de plantas que, comprovadamente, aumentam a degradação microbiana de compostos orgânicos danosos no solo (ANDERSON et al., 1994), e das diferenças significativas observadas, quando são comparados solos vegetados e não vegetados (ARTHUR et al., 2000).

Alguns requisitos para a implantação de programas de fitorremediação devem ser levados em consideração, principalmente as características físico-químicas do solo e do contaminante, e sua distribuição na área. Qualquer fator que venha a interferir negativamente no desempenho das plantas deve ser controlado ou minimizado, para favorecer sua ação descontaminante. É desejável que as plantas que apresentem potencial para fitorremediação possuam algumas características que devem ser usadas como indicativos para seleção (NEWMAN, 1998). Em essência, a espécie vegetal ideal para remediar um solo contaminado por herbicidas seria aquela que apresenta alta produção de biomassa, que tanto pode tolerar como acumular o produto. Dessa forma, a escolha de plantas que apresentem tolerância/seletividade ao herbicida é o primeiro passo na seleção de espécies potencialmente fitorremediadoras (FERRO et al., 1994; CUNNINGHAM et al., 1996; ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000; VOSE et al., 2000, PIRES et al., 2003).

Também, segundo Pires et al. (2003) é importante que as plantas utilizadas em programas de descontaminação de solo e água apresentem determinadas características como uma boa capacidade de absorção, concentração e/ou metabolização do contaminante; retenção do contaminante nas raízes, no caso da fitoestabilização, como oposto à transferência para a parte aérea, evitando sua manipulação e disposição; sistema radicular profundo e denso; capacidade transpiratória elevada, especialmente em árvores e plantas perenes. É interessante também que essas espécies sejam de fácil colheita, quando necessária a remoção da planta da área contaminada; tenham elevada taxa de exsudação radicular; resistência a pragas e doenças; sejam de fácil aquisição ou multiplicação de

propágulos e de fácil controle ou erradicação; tenham capacidade de desenvolver-se bem em ambientes diversos; e seja de ocorrência natural em áreas poluídas. O ideal seria reunir todas essas características em uma só planta, porém, como isso nem sempre é possível, aquela que for selecionada deve reunir o maior número destas. Outro aspecto a ser observado é que, embora a maioria dos testes avalie plantas isoladas, várias espécies podem, como sugerido por Miller (1996), serem usadas em um mesmo local, ao mesmo tempo ou subseqüentemente, para promoverem maior descontaminação.

Um esquema resumindo as principais etapas para a seleção de espécies vegetais para utilização em programas de fitorremediação de herbicidas é apresentado na Figura 1.

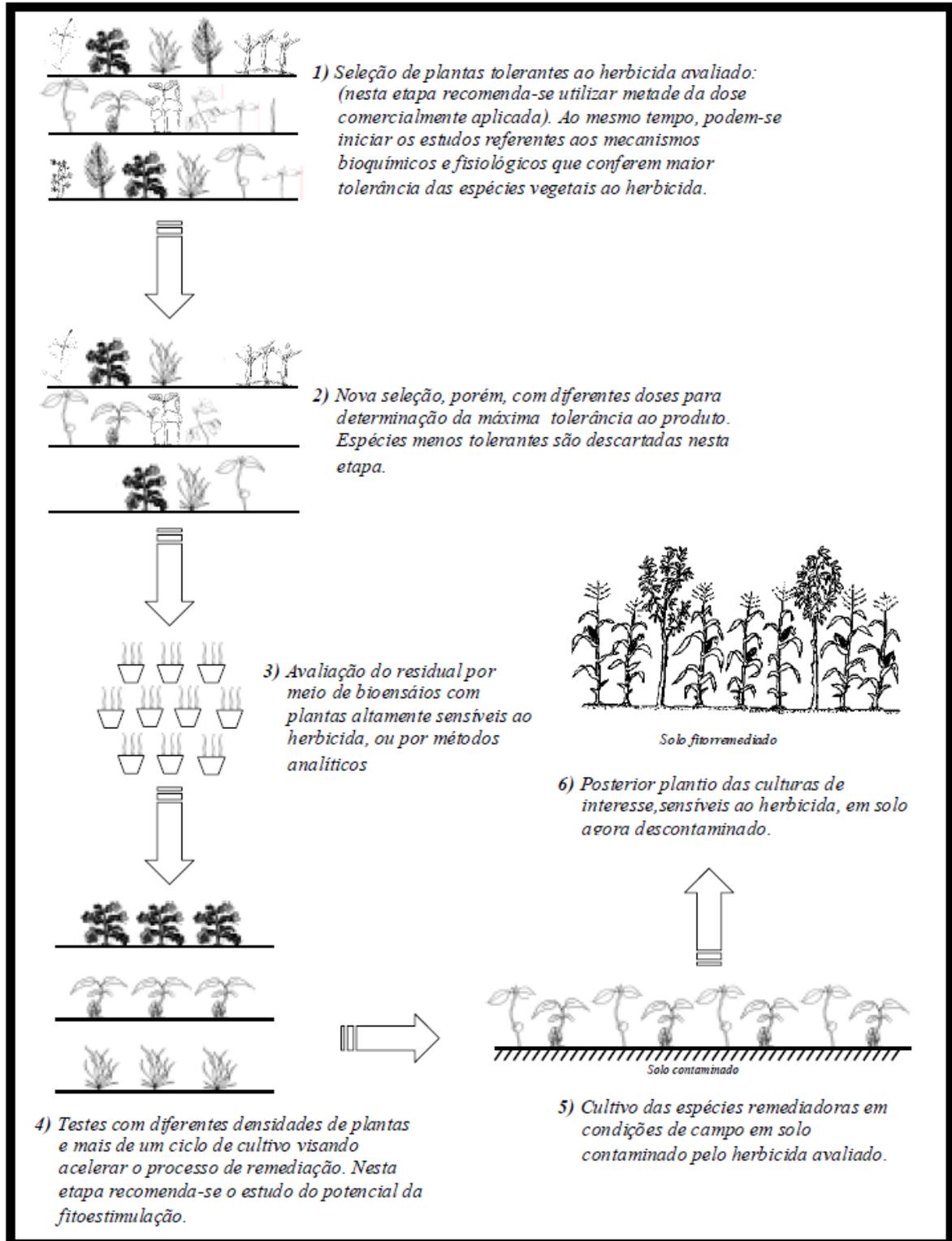


Figura 1 - Resumo das principais etapas de um esquema proposto para programa de fitorremediação de solos contaminados por herbicidas residuais. Fonte: Silva (2007).

Com bases em relatos feitos por Cunningham et al. (1996) e Vose et al. (2000), a fitorremediação apresenta elevado potencial de utilização, devido às vantagens que apresenta em relação às outras técnicas de remediação de contaminantes do solo. Entre essas potencialidades, podem ser citadas:

- menor custo em relação às técnicas tradicionalmente utilizadas e na maioria dos casos, os equipamentos e suprimentos empregados no programa de fitorremediação são os mesmos utilizados na agricultura. Logo, quando a fitorremediação é implantada em áreas agrícolas, o custo deve ser ainda menor;

- as propriedades biológicas e físicas do solo são mantidas e, não raro, até melhoradas, pois pode ocorrer a incorporação de matéria orgânica ao solo, quando não há necessidade de retirada das plantas fitorremediadoras da área contaminada; pode, conseqüentemente, ocorrer fixação de nitrogênio atmosférico, no caso da utilização de leguminosas; e também podem auxiliar na melhoria das características do solo através do controle do processo erosivo, eólico e hídrico. Nesse último caso, evitam o carreamento de contaminantes com a água e com o solo e, por conseguinte, reduzem a possibilidade de contaminação de lagos e rios;

- plantas são mais fáceis de serem monitoradas do que microrganismos, por exemplo; também são mais favoráveis, esteticamente, do que qualquer outra técnica de biorremediação e podem ser implementadas com mínimo distúrbio ambiental, evitando escavações e tráfego pesado e utilizando energia solar para realizar os processos.

Considerando esses fatores e o mais baixo custo esperado para a fitorremediação, ela pode ser usada em maior escala do que seria possível no caso de outros métodos.

A técnica da fitorremediação não é aplicável universalmente nem é um sistema perfeito. Ela oferece muitos aspectos positivos, mas também existem inconvenientes. As limitações da fitorremediação de compostos orgânicos em geral, relatadas por Cunningham et al. (1996) são: dificuldade na seleção de plantas para fitorremediação; o tempo requerido para obtenção de uma despoluição satisfatória pode ser longo; o contaminante deve estar dentro da zona de alcance do sistema radicular; elevados níveis do contaminante no solo podem impedir a introdução de plantas no sítio contaminado; pode apresentar potencial de contaminação da cadeia alimentar; existe a possibilidade de a planta fitorremediadora tornar-se planta daninha; e melhoria nas condições do solo pode ser requerida, incluindo a quelação

do contaminante para facilitar sua absorção pelas plantas, devido à quebra de pontes de ligação com partículas do solo.

Metabolização dos herbicidas

A principal exigência a ser cumprida para que uma planta seja selecionada como potencialmente fitorremediadora é que a mesma seja tolerante ao pesticida (SCRAMIN et al., 2001). A tolerância é uma característica inata, relacionada com a variabilidade genética natural de uma espécie, que é capaz de sobreviver e se reproduzir após o tratamento herbicida, mesmo sofrendo injúrias (SILVA et al., 2007). Esta seletividade deve-se ao fato de que tecidos vegetais possuem capacidade de absorver, metabolizar, compartimentalizar e/ou translocar compostos orgânicos que são posteriormente volatilizados, podendo também ser completa ou parcialmente degradados ou sofrerem transformações, originando compostos menos tóxicos, especialmente menos fitotóxicos (SCRAMIN et al., 2001). Além disso, a seletividade de herbicidas pode ser baseada não apenas em caracteres biótico, mas também nas características do produto, modo de aplicação (no tempo e no espaço), uso de antídotos e agentes de proteção e da engenharia genética (OLIVEIRA JR., 2001). Porém, deve-se ter cuidado para que posteriormente, essas espécies não se tornem de difícil controle e que apresentem outros benefícios ao solo, como é o caso dos adubos verdes (PROCÓPIO et al., 2004).

Segundo Oliveira Júnior (2001) existem pelo menos três mecanismos gerais que podem explicar o desenvolvimento da resistência/tolerância de plantas a herbicidas e influenciar o modo de ação desses compostos: a) perda de afinidade do herbicida pelo local de ação da enzima; b) metabolização ou desintoxicação do xenobiótico originando compostos menos tóxicos; c) absorção foliar e/ou translocação diferenciada do composto tóxico, fazendo com que ocorra uma redução do herbicida no local de ação. De acordo com Silva et al. (2007), para vários herbicidas, o metabolismo diferencial da molécula e a alteração do local de ação (mutações que ocorrem no DNA das células) são as principais causas da tolerância de espécies a esse tipo de composto.

O herbicida apresenta um local específico de atuação dentro da planta, onde sua ação dificulta um processo ou função particular dentro da mesma. Esse local específico às vezes é alterado e a molécula do xenobiótico torna-se incapaz de exercer sua função fitotóxica. De acordo com Betts et al. (1992), alterações de uma base nitrogenada, pode originar ou não, uma enzima com características funcionais diferente da original; e esse tipo de mutação pode provocar alteração no local de ação do herbicida. A modificação no local de ação significa que a molécula do herbicida diminui a capacidade de inibir esse ponto, devido a uma ou mais alterações nesse local (SILVA et al., 2007). O gene que codifica a enzima ALS nas espécies resistentes/tolerantes, por exemplo, pode apresentar diferentes mutações, entre elas a substituição, no centro ativo (domínio) A da ALS, da prolina 173 por uma alanina, glutamina, histidina, serina ou treosina, que conferem modificações funcionais na enzima ALS (POWLES; PRESTON, 1998). Porém existem mais quatro domínios (B, C, D e E), nos quais podem ocorrer substituições que conferem tolerância aos herbicidas inibidores da ALS (RIZZARDI et al., 2002).

A maioria das plantas degrada moléculas herbicidas, mas somente algumas espécies as degradam em velocidade suficientemente rápida para proporcionar a inativação metabólica, evitando que o composto tóxico cause danos irreversíveis a elas e conseqüentemente, sua tolerância ao produto (POWLES; PRESTON, 1998). Duas enzimas principais estão envolvidas nesse processo, sendo elas, a monoxigenases do citocromo P450 e a glutatona (HALL et al., 2001). A degradação do herbicida pode ser causada por um processo metabólico natural de desintoxicação da planta, geralmente classificados em quatro fases principais (YUAN et al., 2007): fase I, também conhecida como conversão, fase II denominada conjugação, fase III envolve a conjugação secundária seguida pelo transporte dos conjugados para compartimentos como o vacúolo e parede celular e fase IV caracterizada pela deposição do metabólito final.

Fase I - Durante essa fase do metabolismo do herbicida, as moléculas do ingrediente ativo sofrem modificações químicas, tais como oxidação, redução e hidrólise, quando grupos funcionais (OH, NH₂, COOH) são introduzidos ou gerados, tornando a molécula mais hidrofílica e, portanto, menos fitotóxicos (SIMINSZKY, 2006).

As reações de oxidação são processos que utilizam o oxigênio molecular (O₂) como reagente no metabolismo dos xenobióticos. As enzimas que usam o O₂ como

substrato são as oxigenases, oxidases e peroxidases (EARD et al., 2003). As oxigenases são enzimas multifuncionais que ativam o O_2 para o ataque eletrofílico em muitos xenobióticos e as peroxidases oxidam xenobióticos pelo uso de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (SIMINSZKY, 2006), ambas são responsáveis pela geração de espécies de oxigênio ativo que oxidam os compostos tóxicos. Já as oxidases interagem diretamente com o xenobiótico por transferirem elétrons do substrato para o O_2 (EARD et al., 2003). Os produtos dessas reações são mais polares, solúveis em água e biodegradáveis que a molécula original, pois frequentemente apresentam como substituinte na molécula, uma carboxila ou hidroxila.

As oxigenases são as enzimas mais importantes envolvidas nas reações de oxidação, mais especificamente, as monooxigenases do citocromo P450 (YUAN et al., 2007), que são heme-proteínas vinculadas a membrana plasmática, que exercem papel de mediadoras de reações de oxidação, com importante papel na detoxicação de herbicidas, outorgando resistência/tolerância às plantas (VIDAL, 2002). Na verdade, os citocromos P450 são uma grande família de enzimas que podem catalisar vários tipos de reações diferentes, mas existe algo em comum entre elas: todas as reações são de oxidação e convertem substratos lipofílicos em produtos mais hidrofílicos, pois são responsáveis pela adição de um único átomo de oxigênio em substratos hidrofóbicos (PRESTON, 2004). Segundo Carvalho et al. (2009), o grupo dos herbicidas mais sensíveis à ação P450 inclui as sulfoniluréias e algumas imidazolinonas.

Para Siminszky (2006), essa capacidade de realizar reações com um grande número de substratos é decorrente da variedade de isoenzimas do citocromo P450 e da não especificidade de cada uma das isoenzimas para um substrato único. Esta pouca especificidade provê importante flexibilidade ao metabolismo de xenobióticos (CARVALHO et al., 2009). Em plantas, bactérias e fungos, as P450s produzem muitos metabólitos secundários, incluindo reguladores de crescimento, isoprenóides e alcalóides (EARD et al., 2003).

Segundo Siminszky (2006), a resistência/tolerância de plantas mediada pela P450 pode ser caracterizada por dois fatores: 1) mutação em uma das isoenzimas que fazem parte do citocromo P450, permitindo maior conjugação e, conseqüentemente, maior metabolização das moléculas do herbicida e/ou 2) aumento na atividade das P450s já existentes.

As principais reações oxidativas são: hidroxilação, dealquilação e sulfoxidação.

A hidroxilação ocorre quando um grupo hidroxila (OH) é inserido nas moléculas alvo, resultando na formação de intermediários como catecóis, que são incorporados às vias que geram energia (PRESTON, 2004). As reações de hidroxilação são essenciais no metabolismo aeróbico de todos os agrotóxicos que contém anel aromático (VIDAL, 2002).

A dealquilação é caracterizada pela remoção oxidativa dos grupos alquila ligados à molécula do composto via átomos de nitrogênio ou oxigênio (EARD et al., 2003). É uma reação que requer a presença de oxigênio e nicotinamida-adenina-dinucleotídeo fosfato reduzido (NADPH) (ALEXANDER, 1999).

A sulfoxidação ocorre quando átomos de enxofre divalente são oxidados para sulfóxido e, algumas vezes, para sulfona (EARD et al., 2003). Vários agrotóxicos são sulfetos, tendo como constituinte da molécula a estrutura R-S-R, e por isso, a sulfoxidação é um mecanismo freqüente de degradação desses compostos no solo (ALEXANDER, 1999).

As reações de redução e hidrólise, que acompanham as reações de oxidação, também exercem importante papel na fase I do metabolismo dos pesticidas. De acordo com Melo et al. (2001), as reações de redução que ocorrem na fase I, são processos caracterizados pela adição de elétrons às moléculas dos agrotóxicos tornando-as mais biodegradáveis ou, menos tóxicas que as moléculas originais.

As reações hidrolíticas são reações podem ocorrer tanto na presença quanto na ausência de oxigênio, pois o grupo hidroxila (-OH) origina-se da água (PRESTON, 2004). A hidrólise é, geralmente, realizada por esterases e em menor dimensão, por lipases e proteases (EARD et al., 2003). A presença de grupos hidrolisáveis em um xenobiótico pode ser um fator importante na determinação de seu potencial de biodegradação (SILVA et al., 2004), pois muitas vezes, os herbicidas esterificados apresentam maior absorção e seletividade e, em contra partida, a desesterificação pode resultar na desistoxicação do fitotóxico em determinadas plantas (EARD et al., 2003).

Fase II - Para Carvalho et al. (2009), durante a Fase II, a molécula do herbicida ou do metabólito derivado da Fase I é conjugado com açúcares, aminoácidos ou com o tripeptídeo glutatona. Hall et al. (2001) define a conjugação de pesticidas como o “processo metabólico no qual um composto exógeno ou

endógeno natural está associado a um pesticida ou a seus metabólitos, facilitando a desintoxicação, a compartimentalização, o sequestro e/ou a mineralização”.

Em geral, os metabólitos originados na Fase II têm baixa ou nenhuma atividade herbicida, e podem ser armazenados em organelas celulares (PRESTON et al., 2004). A conjugação com esses compostos tende a causar uma redução na mobilidade da molécula do herbicida e conseqüente aumento na tolerância dele por uma determinada espécie (EARD et al., 2003). De acordo com Siminszky (2006) estas reações de conjugação são catalisadas pelas glutionas S-transferases (GST), que são enzimas desintoxicadoras que catalisam a conjugação de uma variedade de moléculas orgânicas endógenas e exógenas com o substrato endógeno, o glutiona reduzida (GSH). A GSH, formada pelos aminoácidos glicina, cisteína e glutamato, é o co-fator para a GST (PRESTON et al., 2004). Os conjugados do GSH são moléculas menos tóxicas, mais solúveis e, portanto, mais facilmente excretáveis que os compostos originais (TORRES et al., 2004).

O papel das GSTs e das GSHs engloba várias funções importantes. A primeira é o metabolismo de produtos secundários, incluindo as antocianinas (EARD et al., 2003). A segunda função é a regulação e o transporte de ambos os compostos endógenos e exógenos que serão compartimentalizados no vacúolo ou na parede celular (TORRES et al., 2004); e a terceira função é a proteção contra o estresse oxidativo provocado por herbicidas, poluentes do ar e ataque de patógenos (HALL et al., 2001).

Muitos compostos sofrem as reações da fase I e da fase II, enquanto outros sofrem reações de apenas uma dessas fases. Nas reações que envolvem as duas fases, compostos lipofílicos são primeiramente oxidados e, assim, um grupo funcional (normalmente um OH^-) é introduzido na molécula (SILVA, et al., 2004). Esse grupo, é então, unido por enzimas de conjugação a uma molécula polar, facilitando a excreção desses compostos (TORRES et al., 2004).

Fase III – Nessa fase os metabólitos derivados da Fase II são transportados e armazenados (compartimentalizados) em organelas de reserva, como os vacúolos, estando passíveis também de ocorrer conjugações secundárias, originado compostos não-fitotóxicos (EARD et al., 2003). Para Kissmann (1996), a compartimentalização ocorre quando a molécula é conjugada com metabólitos da planta, tornado-se inativa, ou é removida das partes metabolicamente ativas da célula e armazenada em locais inativos, como o vacúolo. O vacúolo da célula

vegetal é um ambiente dinâmico a partir do qual metabólitos podem retornar ao citoplasma, pois este mecanismo não é necessariamente uma operação de eliminação terminal (COLE, 1994).

Fase IV - Os metabólitos do processo de desintoxicação, compartimentalizados nos vacúolos, podem ser associados com os componentes da parede celular (pectina, lignina, polissacarídeos, proteínas e frações) (PRESTON et al., 2004), formando resíduos insolúveis, diminuindo assim a disponibilidade biológica dos resíduos (COLE, 1994). Este processo é mais comum em plantas adultas.

Exemplos de herbicidas que são extremamente seletivos por sofrerem desativação metabólica são as sulfoniluréias (CAREY et al., 1997) e as imidazolinonas (OLIVEIRA JR., 2001), para os quais diferenças na seletividade entre espécies tolerantes e sensíveis podem ser centenas de vezes maiores. No caso das sulfoniluréias, as espécies tolerantes conseguem rapidamente transformar os herbicidas em produtos inativos, enquanto o metabolismo é muito mais lento e em menor intensidade nas espécies sensíveis (CARVALHO et al., 2009). Para as imidazolinonas, os principais metabólitos formados nas plantas são menos tóxicos do que os compostos originais (HARTWING et al. 2008).

A seletividade destes herbicidas em algumas culturas, como soja [*Glycine max* (L) Merrill] e trigo (*Triticum aestivum* L.), é baseada principalmente na habilidade das plantas em metabolizar o herbicida rapidamente em formas não-tóxicas (MONQUEIRO et al., 2000). Do mesmo modo, várias espécies de plantas daninhas, como *Echinochloa crus-galli* (L) Beauv, *Solanum nigrum* (L) e *Sorghum halepense* (L) Pers, são naturalmente tolerantes a certos inibidores da ALS pela inativação metabólica (HUTCHISON et al., 1984). Corroborando com esses resultados, Hartwing et al. (2008), também encontraram seletividade em culturas como aveia (*Avena sativa*) e trigo (*Triticum aestivum* L.) a herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS).

A velocidade de metabolização do composto tóxico depende do ambiente, podendo variar com a espécie e estágio de desenvolvimento da planta (KISSMANN, 1996). Assim, uma mesma quantidade de herbicida aplicada a uma espécie pode tornar-se fitotóxico sob determinadas condições e não produzir nenhum dano em outras.

A absorção e/ou translocação diferenciadas são duas outras possibilidades de mecanismos que conferem tolerância às plantas. Algumas plantas têm capacidade de sequestrar os herbicidas sem que o mesmo alcance o local de ação da planta. Esses mecanismos se apresentam quando a quantidade de herbicida que atinge o local de ação é bastante reduzida, não chegando a ser suficiente para causar injúrias (EARD et al., 2003). De acordo com Christoffoleti et al. (2001), estas baixas concentrações podem ocorrer por causa da redução na retenção do herbicida pela superfície foliar, redução da absorção e/ou translocação na planta, ou pela ocorrência de fenômenos de seqüestração em organelas celulares, tais como os vacúolos ou pela ligação com constituintes lipofílicos da parede celular,

A rota primária da translocação de herbicidas depende de propriedades físico-químicas e das condições internas das plantas (CARVALHO et al., 2009). Alguns herbicidas, por exemplo, podem sofrer ionização ao entrar no simplasto, apresentando como resultado uma forma aniônica que é incapaz de voltar a penetrar a membrana celular. O herbicida na forma aniônica é “aprisionado” no citoplasma e fica confinado à translocação pelo simplasto. De forma análoga, herbicidas não iônicos que se movem livremente através da membrana celular podem sofrer transformações no apoplasto (DEVINE; VANDEN, 1991).

Em geral plantas que exibem tolerância a herbicidas móveis pelo floema por não transportá-los, também possuem a habilidade de metabolizar o herbicida absorvido para uma forma inativa, evitando a fitointoxicação (HESS, 1985 apud SILVA, 2007). A diferença de translocação do imazaquin, por exemplo, pode ser a causa das diferenças na suscetibilidade entre as espécies. Imazaquin é muito ativo no milho, mas pouco ativo em *Avena fatua*, pois ocorre paralisação da translocação em aveia uma hora após o tratamento, enquanto a translocação no milho continua por muito tempo (SILVA, 2007).

Considerações finais

O mercado de tecnologias ambientais disponível hoje é bastante amplo, sendo que uma atenção maior tem sido dispensada aos tratamentos de remediações de solos e águas subterrâneas.

Nos diferentes estudos apresentados nesse trabalho, conclui-se que medidas adotadas isoladamente são insuficientes para a minimização da contaminação do meio ambiente, assim sendo, para se obter bons resultados faz-se necessária a aplicação de duas ou mais tecnologias em associação. Nesse contexto a fitorremediação pode ser uma opção para o tratamento de áreas contaminadas por herbicidas que apresentam longa meia-vida no solo. Além disso, essa técnica é relativamente barata, comparada a outros processos de descontaminação, podendo ser aplicada em extensas áreas e tendo grande aceitação pela população.

Os resultados obtidos até agora são, entretanto, ainda incipientes para a utilização de plantas na remediação de herbicidas. Informações como densidade populacional ideal, tempo de cultivo necessário para satisfatória descontaminação do solo, comportamento fitorremediador sob condições edafoclimáticas diversas e realização de trabalhos em campo, entre outras, são fundamentais para a recomendação segura dessa prática.

Referências Bibliográficas

ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F. et al. (Eds.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 1, p. 299-352, 2000.

ALEXANDER, M. **Biodegradation and biorremediation**. 2ed. New York, 1999, 453p.

ALISTER, C.; KOGAN, M. Efficacy of imidazolinone herbicides applied to imidazolinone-resistant maize and their carryover effect on rotational crops. **Crop Protection**, v. 24, n. 4, p. 375-379, 2005.

ANDERSON, T. A.; KRUGER, E. L.; COATS, J. R. Enhanced degradation of a mixture of three herbicides in the rhizosphere of a herbicide-tolerant plant. **Chemosphere**, v. 28, p. 1551-1557, 1994.

- ANSELMO, A. L. F.; JONES, C. M. Fitorremediação de solos contaminados – O estado de arte. In: ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO, 25., 2005, Porto Alegre, RS **Anais...** Porto Alegre: PUCRS, 2005. p. 5273-5280.
- ARTHUR, E. L. et al. Degradation of an atrazine and metolachlor herbicide mixture in pesticide-contaminated soils from two agrochemical dealerships in Iowa. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 119, p. 75-90, 2000.
- BELO, A. F. et al. Efeito da umidade do solo sobre a capacidade de *Canavalia ensiformis* e *Stizolobium aterrimum* em remediar solos contaminados com herbicidas. **Planta Daninha**, v. 25, n. 2, p. 239-249, 2007.
- BENTO, F. M. et al. Bioremediation approaches for soil contaminated with diesel oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 34, supl.1, p. 65-68, 2003.
- BETTS, K. J. et al. Mechanism of inheritance of diclofop resistance in Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*). **Weed Science**. v. 40, n. 2, p.184-189, 1992.
- BURKEN, J. G.; SCHNOOR, J. L. Phytoremediation: plant uptake of atrazine and role of root exudates. **Journal Environmental Engineering**, v. 122, p. 958-963, 1996.
- CAREY, V. F.; HOAGLAND, R. E. Resistance mechanism of propanil-resistant barnyardgrass. **Pesticide Science**, v. 49, p. 333–338. 1997.
- 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, S. J. P. et al. Herbicide selectivity by differential metabolism: considerations for reducing crop damages. **Scientia Agricola**, v. 66, n. 1, p. 136-142. 2009.
- CHRISTOFFOLETI, P. J.; CORTEZ, M. G.; MONQUEIRO, P. A. Bases da resistência de plantas daninhas aos herbicidas. In: SEMINÁRIO NACIONAL SOBRE MANEJO E CONTROLE DE PLANTAS DANINHAS EM PLANTIO DIRETO, 3, Passo Fundo, 2001. **Resumos de Palestras...** Passo Fundo: Aldeia Norte, 2001. p. 39-53.
- COLE, D. J. Detoxification and activation of agrochemicals in plants. **Pesticide Science**, v. 42, n. 3, p. 209-222, 1994.

COUTINHO, H. D.; BARBOSA, A. R. Fitorremediação: considerações gerais e características de utilização. **Silva Lusitana**, Lisboa, v. 15, n. 1, p. 103-117, 2007.

CUNNINGHAM, S. D. et al. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 56, p. 55-114, 1996.

DEVINE, M. D.; VANDEN BORN, W. H. Absorption and transport in plants. In: GROVER, R.; CESSNA, A. J. (Eds.) **Environmental Chemistry of Herbicides**. Boca Raton: CRC Press, Inc., 1991. p.119-140.

EARD, L. L. V. et al. Pesticide metabolism in plants and microorganisms. **Weed Science**, v. 51, p. 472-495, 2003.

FERNANDES, M. F.; ALCÂNTARA, G. Z. **Biorremediação de Solos – Estado da Arte**. Adesol Produtos Químicos Ltda. São Paulo. Disponível em: <<http://www.ufsc.br/ccb/PDF/c2.PDF>>. Acesso em: 23 nov. 2009.

FERREIRA, L. R. et al. Seleção de espécies com potencial de remediação de solos contaminados com os herbicidas triclopyr e 2,4-D + picloram. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, vol. 25, Brasília, DF. **Anais...** Brasília: 2006. p. 228.

FERRO, A. M.; SIMS, R. C.; BUGBEE, B. Hycrest crested wheatgrass accelerates the degradation of pentachlorophenol in soil. **Journal of Environmental Quality**, v. 23, p. 272-279, 1994.

FONTANA, L. C. et al. Controle de arroz-vermelho (*Oryza sp.*) com o herbicida nicosulfuron ou a mistura formulada de imazethapyr + imazapic. **Planta Daninha**, v. 25, n. 4, p.783-790, 2007.

FRANCO, L. O.; MAIA, R. C. C.; PORTO, A. L. F. Remoção de metais pesados por quitina e quitosana isoladas de *Cunninghamella elegans*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 3, p. 243-247, 2004.

GLASS, D. J., RAPHAEL, T., BENOIT, J. International Bioremediation: Recent Developments in Established and Emerging Markets. p. 307-314. In: In Situ and On-Site Bioremediation: Volume 4. **Fourth International**. Battele Press, Columbus, Ohio. 1998.

HALL, J. C.; WICKENDEN, J. S.; YAU, K. Y. F. Biochemical conjugation of pesticides in plants and microorganisms: an overview of similarities and divergences. In: HALL, R. E.; HOAGLAND, R. E.; ZABLOTOWICZ, R. M. (Eds). **Pesticide biotransformation in plants and microorganisms: Similarities and Divergences**. Washington, DC: American Chemical Society, p. 89-118, 2001.

HARTWING, I. et al. Tolerância de trigo (*Triticum aestivum*) e aveia (*Avena sp.*) a herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS). **Planta daninha**, v. 26, n. 2, p. 361-368, 2008.

HORTIRELVA. **Macrófitas em tratamento de água**.
<http://www.hortirelva.pt/etares.htm>. Acesso em: 31 jun 2010.

JAKELAITIS, A. et al. Efeitos de herbicidas no consórcio de milho com *Brachiaria brizantha*. **Planta Daninha**, v. 23, n. 1, p. 69-78, 2005.

KISSMANN, K. G. **Resistência de plantas a herbicidas**. São Paulo: Basf Brasileira S.A., 1996. 33p.

KRAEMER, A. F. **Residual da mistura formulada dos herbicidas imazethapyr e imazapic em áreas de arroz sob diferentes manejos de solo**. 2008. 66f.
Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.

MELO, I. S. et al. **Biodegradação**. 1ed. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2001. 426 p.

MELO, I. S.; SILVA, C. M. M. S. Biorremediação de solos poluídos. In: ALMEIDA, M. R.; BORÉM, A.; SANTOS, F. R. **Biotecnologia de A a Z**. 1ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, v. 1, p. 95-125, 2003.

MILLER, R. R. **Phytoremediation**. 1996. Disponível em <http://www.gwrtac.org>.

MONQUEIRO, P. A.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; DIAS, C. T. S. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da ALS na cultura da soja (*Glycine max*). **Planta daninha**, v. 18, n. 3, p. 419-425, 2000.

MONTEIRO, R. T. R. Biodegradação de herbicidas. In: EMBRAPA – CNPMA. Workshop sobre biodegradação. **Anais...** Campinas, SP, 1996. p. 120-128.

MOREIRA, F. S. M.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLa, 2002.

NEWMAN, L. A. et al. Phytoremediation of organic contaminants: a review of phytoremediation research at the university of Washington. **Journal of Soil Contaminant**. v. 7, p. 531-542, 1998.

OLIVEIRA JÚNIOR, R.S. Seletividade de herbicidas para culturas e plantas daninhas. In: OLIVEIRA JÚNIOR, R.S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p. 291-313.

PIRES, F. R. et al. Avaliação da fitorremediação de tebuthiuron utilizando *crotalaria juncea* como planta indicadora. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 2, p. 245-250, 2008.

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

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

PIRES, F. R. et al. Inferências sobre atividade rizosférica de espécies com potencial para fitorremediação do herbicida tebuthiuron. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, p. 627-634, 2005b.

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

PIRES, N. M. et al. **Avaliação do impacto ambiental causado pelo uso de herbicidas**. Viçosa: Sociedade de Investigações Florestais (Boletim Técnico SIF, 11), 1995. 22 p.

POWLES, S. B.; PRESTON, C. Herbicide cross resistance and multiple resistance in plants. 1998. Web: <http://ipmwww.ncsu.edu/orgs/hrac/mono2.htm>>. 26p. Acesso em 31 agos. De 2010.

PRESTON, C. Herbicide resistance in weeds endowed by enhanced detoxification: complications for management. **Weed Science**, v. 52, p. 448-453, 2004.

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

PROCÓPIO, S. O. et al. Fitorremediação de solo contaminado com trifloxysulfuron-sodium por diferentes densidades populacionais de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L). DC.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 3, p. 444-449, 2006.

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.

PROCÓPIO, S.O. et al. Seleção de plantas com potencial para fitorremediação de solos contaminados com o herbicida trifloxysulfuron-sodium. **Planta Daninha**, v. 22, n. 2, p. 315-322, 2004.

QUEROL, X. et al. Immobilization of heavy metals in polluted soils by the addition of zeolitic material synthesized from coal fly ash. **Chemosphere**, v. 62, n. 2, p. 171-180, 2006.

RENNER, K. A.; SCHABENBERGER, O.; KELLS, J. J. Effect of tillage application method on corn (*Zea mays*) response to imidazolinone residues in soil. **Weed Technology**, v. 12, n. 2, p. 281-285, 1998.

RICE, P. J.; ANDERSON, T. A.; COATS, J. R. Phytoremediation of herbicide-contaminated surface water with aquatic plants. In: PHYTOREMEDIATION OF SOIL AND WATER CONTAMINANTS, Washington, 1996, DC. **ACS Symposium Series...** Washington, DC: American Chemical Society, 1997. p.133-151.

RIZZARDI, M. A. Resistência de plantas aos herbicidas inibidores da acetolactato sintase. **Planta daninha** v. 20 n. 1, p. 149-158, 2002.

SALT, D. E., SMITH, R. D., RASKIN, I. Phytoremediation. **Annual Review in Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 49, n. 1, p. 643-668, 1998.

SANTOS, J. B. et al. Atividade microbiana do solo após aplicação de herbicidas em sistemas de plantio direto e convencional. **Planta Daninha**, v. 23, n. 4, p. 683-691, 2005.

SANTOS, J. B. et al. Fitorremediação do herbicida trifloxysulfuron-sodium. **Planta Daninha**, v. 22, n. 2, p. 323-330, 2004.

SANTOS, F. M. Controle químico de arroz-vermelho na cultura do arroz irrigado. **Planta Daninha**, v. 25, n. 2, p. 405-412, 2007.

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

SANTOS, E. A. et al. Fitoestimulação como processo de descontaminação de solos com trifloxysulfuron-sodium. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 25., 2006, Brasília. **Anais...** Brasília: SBCPD, 2006. p. 142.

SCRAMIN, S.; SKORUPA, L. A.; MELO, I. S. 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. et al. **Biodegradação**, Jaguariúna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente, 2001. p. 369-371.

SILVA, A. A. et al. Aplicações seqüenciais e épocas de aplicação de herbicidas em mistura com chlorpirifos no milho e em plantas daninhas. **Planta Daninha**, v. 23, n. 3, p. 527-534, 2005.

SILVA, A. A.; SILVA, J. F. Fitorremediação de áreas contaminadas com herbicidas. In: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. (Eds). **Tópicos de manejo integrado de plantas daninhas**. Viçosa, 367 p. p. 210-239. 2007.

SILVA, C. M. M. S; FAY, E. F; MELO, L. S. Biotransformação de agrotóxicos e biorremediação. In SILVA, C. M. M. S; FAY, E. F. **Agrotóxicos ; Ambiente**. 1ed. Brasília, DF: Embrapa, v. 1, p. 145-192, 2004.

SIMINSZKY, B. Plant cytochrome P450-mediated herbicide metabolism. **Phytochemistry Reviews**. v. 5, p. 445-448, 2006.

SKLADANY, G. J.; METTING JUNIOR, F. B. Bioremediation of contaminated soil. In: METTING JUNIOR, F. B. (Ed). **Soil microbial ecology**: applications in agricultural and environmental managemet. New York: M. Dekker, p. 483-513, 1992.
SPILBORGHS, M. C. F.; CASARINI, D. C. P. Biorremediação do solo contaminado com compostos orgânicos. **Revista Meio Ambiente Industrial**, n. 12, p. 66-69, 1998.

STEELE, G. L. et al. Control of red rice (*Oryza sativa*) in imidazolinone-tolerant rice (*O. sativa*). **Weed Technology**, v. 16, n. 3, p. 627-630, 2002.

TAUK, S. M. Biodegradação de resíduos orgânicos no solo. **Revista Brasileira de Geociência**, São Paulo, v. 20, n. 1-4, p. 299-301, 1990.

TEIXEIRA, W. A.; FILHO, J. P. de L. Metais Pesados em Folhas de Espécies Lenhosas Colonizadoras de uma Área de Mineração de Ferro em Itabirito, Minas Gerais. Viçosa, MG, v. 22, n. 2, p. 381-387, 1998.

TORRES, M. C. L.; SOARES, N. F. F.; MAIA, J. F. Parâmetros cinéticos da glutathione s-transferase e sua ativação nos extratos de vegetais. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 24, n. 2, p. 243-248, 2004.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. **Introduction to Phytoremediation**. EPA/600/R-99/107. Cincinnati, Ohio, National Risk Management Research Laboratory Office of Research and Development, 2000.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. **Phytoremediation Resource Guide**. EPA/542/B-99/003. Washington, DC, Office of Solid Waste and Emergency Response Technology Innovation Office, 1999.

VIDAL, R. A.; WINKLER, L. M. Resistência de Plantas Daninhas: Seleção ou indução à mutação pelos herbicidas inibidores de acetolactato sintase (ALS). **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 12, p. 31-42, 2002.

VILLA, S. C. C. et al. Arroz tolerante a imidazolinonas: controle do arroz-vermelho, fluxo gênico e efeito residual do herbicida em culturas sucessoras não-tolerantes. **Planta Daninha**, v. 24, n. 4, p.761-768, 2006.

VIMIEIRO, G. V.; SILVA, F. V. B. Fitorremediação para tratamentos de áreas contaminadas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 24., 2007, Belo Horizonte, MG. **Anais...**Belo Horizonte: Associação Brasileira de Engenharia e Sanitária e Ambiental, 2007.

VOSE, J. M. et al. Leaf water relations and sapflow in Eastern cottonwood (*Populus deltoides* Bartr.) trees planted for phytoremediation of a groundwater pollutant. **International Journal Phytoremediation**, v. 2, p. 53-73, 2000.

YUAN, J. S; TRANEL, P. J; STEWART JR., C. N. Non-target-site herbicide resistance: a family business. **Trends in Plant Science**, v. 12, p. 6-13, 2007.

- CAPÍTULO II -

SELEÇÃO DE PLANTAS PARA FITORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO COM OS HERBICIDAS IMAZETAPIR E IMAZAPIQUE

Resumo

Para que uma determinada espécie vegetal seja implantada em um programa de fitorremediação, esta deve apresentar tolerância ao contaminante e isto é relativamente crítico para herbicidas que são originalmente desenvolvidos para eliminar plantas. O presente trabalho objetivou selecionar espécies vegetais que apresentem tolerância à presença do herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹) para que posteriormente, sejam implantadas em programas de fitorremediação em solo de várzea. O fator A constou de 15 espécies vegetais e um tratamento sem cultivo prévio de plantas; e o fator B, sete doses do herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹), variando de zero a 4000 mL ha⁻¹ aplicadas no solo antes da semeadura. Foram avaliados estatura de planta e sintomas de fitointoxicação aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias após emergência (DAE) e massa da matéria seca da parte aérea das plantas aos 60 DAE. Dentre as espécies utilizadas no estudo, *Avena strigosa*, *Secale cereale*, *Lotus corniculatus*, *Crotalaria juncea*, *Vicia sativa*, *Canavalia ensiformis*, *Stizolobium aterrimum*, *Glycine max*, *Trifolium repens*, *Trifolium pratense*, *Trifolium vesiculosum* e *Triticum aestivum* apresentaram tolerância ao herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹), pois diferiram estatisticamente da testemunha *brassica napus*, sendo assim, passíveis de serem utilizadas em programas de fitorremediação.

Palavras-chave: Impacto ambiental. Tolerância. Poluição orgânica.

Introdução

Herbicidas que possuem longa persistência no solo podem limitar a rotação de culturas (RENNER et al., 1998). Dentre esses compostos encontram-se herbicidas pertencentes ao grupo químico das imidazolinonas, que são largamente utilizados em lavouras de arroz irrigado cultivados sob o Sistema Clearfield® no Rio Grande do Sul.

O Sistema Clearfield® é uma das principais alternativas no controle do arroz vermelho (STEELE et al., 2002), planta daninha responsável por grandes perdas no potencial produtivo da cultura do arroz irrigado (AGOSTINETTO et al., 2001), reduzindo a produtividade e a qualidade do produto colhido (VILLA et al., 2006b). Esse sistema de cultivo tem como base o uso de plantas de arroz tolerantes ao princípio ativo dos herbicidas do grupo químico das imidazolinonas (CROUGHAN, 1998).

Estes herbicidas apresentam como mecanismo de ação a inibição da enzima acetolactato sintase (ALS), também conhecida como acetohidroxiácido sintase (AHAS) (VIDAL, 2002). A ALS participa da biossíntese dos aminoácidos valina, leucina e isoleucina em microrganismos e plantas. Esta enzima é o principal sítio de ação desses herbicidas, e, quando inibida, paralisa a divisão celular, reduz a síntese de proteínas, inibe a translocação de carboidratos e, conseqüentemente, reduz o crescimento das plantas (RAY, 1984).

No Brasil, em lavouras sob o Sistema Clearfield®, preconiza-se uma única aplicação da mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹) em pós-emergência, quando as plantas de arroz vermelho encontram-se no estágio de até quatro folhas (VILLA et al., 2006a).

O herbicida imazetapir possui pKas de 2,1 e 3,9 e o imazapique de 2,0; 3,9 e 11,1, o que os caracteriza como ácidos fracos (SENSEMAN, 2007). Possuem também elevada solubilidade em água, sendo que para o imazetapir a solubilidade é de 1400 mgL⁻¹ e para o imazapique é de 2200 mgL⁻¹. Esses herbicidas possuem longa persistência no solo, pois apresentam meia-vida de 60 a 90 dias e 120 dias, respectivamente (RODRIGUES; ALMEIDA, 2005). Tais características tornam esses compostos altamente influenciados pelo ambiente que os cerca. Em solos com pH ácido, argilosos ou com alto teor de matéria orgânica, esses herbicidas tendem a

permanecer adsorvidos ao solo, não estando disponíveis à absorção pelas plantas. Com o aumento da umidade do solo esses herbicidas tornam-se menos adsorvidos (AVILA et al., 2005), assim como com o aumento do pH devido a auto-calagem do solo em condições de anaerobiose (STOUGAARD et al., 1990), e, portanto, mais disponíveis para as plantas e passíveis de sofrerem lixiviação (INOUE et al., 2007).

Uma das características mais buscadas em um herbicida é que ele permaneça ativo no ambiente tempo suficiente para o controle das plantas daninhas, porém sem causar danos nas culturas que virão em sucessão (KRAEMER, 2008). Para os herbicidas do grupo químico das imidazolinonas, pesquisas mostram que sua permanência no solo causa, em arroz não tolerante, menor estande de plantas por efeito residual da associação imazetapir + imazapique, porém sem efeito na produtividade (VILLA et al., 2006). No entanto, Marchesan et al. (2007) constataram que o efeito residual desses herbicidas causaram perdas de produtividade de 19 e 30% sobre arroz suscetível. Corroborando com esses resultados, trabalhos existentes na literatura demonstraram fitointoxicação ao milho, algodão, sorgo e arroz semeados 52 semanas após a aplicação de imazetapir na cultura da soja (JOHNSON et al. 1993). Danos à cultura do sorgo em rotação com arroz Clearfield[®], também foram registrados pela presença de resíduos desses herbicidas no solo, ocasionando redução no rendimento biológico, peso de mil grãos e produtividade de grãos (PINTO et al., 2010).

Na busca de alternativas para minimizar o problema causado pelos herbicidas que possuem longo efeito residual no solo, tem-se estudado o uso de plantas tolerantes para a remoção ou degradação dos herbicidas no solo. Essa técnica é conhecida como fitorremediação, e seu emprego têm sido indicado em áreas contaminadas com substâncias orgânicas e inorgânicas (CUNNINGHAM et al., 1996).

Comparada com a seleção de plantas para a descontaminação de metais pesados, são complexas as limitações encontradas na seleção de espécies vegetais para a remediação de compostos herbicidas, pois estes apresentam grande diversidade molecular diante das constantes transformações a que estão sujeitos (PIRES et al., 2003a). Além disso, há o inconveniente de o contaminante (herbicida) ser desenvolvido para o controle do descontaminante, no caso, as plantas (SANTOS et al., 2006). Em vista disso, a seleção de plantas tolerantes ao princípio ativo do herbicida exige, geralmente, que seja avaliado inicialmente um número elevado de

espécies, como verificado nos trabalhos desenvolvidos com o herbicida trifloxysulfuron-sódio (PROCÓPIO et al., 2004a,b; SANTOS et al., 2004), e com o herbicida tebuthiuron (PIRES et al., 2003b,c)

A seleção de plantas que apresentem tolerância/seletividade ao pesticida é o primeiro passo na avaliação de espécies potencialmente fitorremediadoras (SALT et al., 1998). Contudo, deve-se evitar a utilização de espécies de difícil controle posterior e, se possível, selecionar espécies que promovam outros benefícios ao solo, como é o caso dos adubos verdes (CUNNINGHAM et al., 1996; PIRES et al., 2003a). Quando se obtêm uma planta capaz de reduzir a concentração de herbicidas no solo, na prática, o que se conquista é a antecipação da produção de culturas agrícolas de interesse econômico, antes impossibilitadas de serem cultivadas em determinadas áreas (ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000).

Em plantas tolerantes, parte do herbicida é absorvido, rapidamente metabolizado e inativado antes de exercer os seus efeitos fitotóxicos (OLIVEIRA JÚNIOR, 2001). No entanto, parte do herbicida chega ao local alvo da ação, levando a planta a manifestar sintomas de fitointoxicação. Quando o limiar de tolerância de uma planta é atingido, são revelados sintomas fisiológicos e metabólicos que culminam em lesões irreversíveis ou sintomas crônicos (LARCHER, 2000).

Há a necessidade de se buscar plantas cultivadas que possam servir como plantas remediadoras de solo contaminado com os herbicidas imazetapir e imazapique. Em vista do exposto, o objetivo deste trabalho foi o de selecionar espécies que apresentem tolerância à presença do herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹), para posterior utilização em programas de fitorremediação de solos contaminados com este herbicida.

Material e Métodos

O experimento foi realizado em casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia junto à Universidade Federal de Santa Maria, RS, no ano agrícola de 2009/2010; tendo sido utilizado como substrato o solo coletado do horizonte A classificado como Planossolo Hidromórfico eutrófico arênico com classe textural franco siltosa, com as seguintes características: pH água (1:1) = 6,2; teor de argila =

200 gKg⁻¹, teor de matéria orgânica = 32 gKg⁻¹, P = 16,2 mg dm⁻³, K = 180 mg dm⁻³, Ca = 5,5 cmol_c dm⁻³, Mg = 3,2 cmol_c dm⁻³, Al = 0,0 cmol_c dm⁻³ e índice SMP = 6,6.

Os tratamentos foram compostos pela combinação entre as espécies vegetais *Avena strigosa*, *Brassica napus* L., *Canavalia ensiformis*, *Crotalaria juncea*, *Glycine max*, *Lolium multiflorum*, *Lotus corniculatus*, *Raphanus sativus*, *Secale cereale*, *Stizolobium aterrimum*, *Trifolium repens*, *Trifolium pratense*, *Trifolium vesiculosum*, *Triticum aestivum*; um tratamento controle – sem cultivo prévio, e sete doses do herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹): zero, 50, 100, 300, 400, 500 e 1000 mL ha⁻¹, para as plantas mais sensíveis (*Brassica napus* L., *Trifolium repens*, *Trifolium pratense* e *Trifolium vesiculosum*) e zero, 200, 300, 400, 500, 1000 e 4000 mL ha⁻¹, para as plantas mais tolerantes (demais espécies), totalizando 476 parcelas. A escolha das espécies e das doses da mistura formulada baseou-se em ensaios preliminares de tolerância aos herbicidas realizados no ano anterior à instalação do experimento, sendo que a espécie vegetal *Brassica napus* L. foi a que apresentou maior sensibilidade quando em contato com os herbicidas utilizados e por essa razão esta espécie foi utilizada como testemunha no presente estudo.

O experimento foi conduzido em blocos ao acaso, em esquema fatorial 16x7, com quatro repetições. As unidades experimentais foram constituídas de vasos de polietileno contendo três decímetros cúbicos de solo para as espécies *Canavalia ensiformis*, *Glycine max* e *Stizolobium aterrimum*, e um decímetro cúbico de solo para as demais espécies. A aplicação dos herbicidas nas doses descritas anteriormente foi realizada 48 horas antes da semeadura das culturas, utilizando-se pipetador de precisão para adicionar as soluções com herbicidas na superfície do solo, o qual foi revolvido e após adicionado volume de água suficiente para que o solo atingisse sua capacidade de campo, permitindo assim a distribuição homogênea do herbicida em toda a unidade experimental. Os vasos foram mantidos sob irrigação diária, a fim de se conservar a umidade do solo em torno de 80% da capacidade de campo.

As características avaliadas para determinação da suscetibilidade das espécies aos herbicidas foram os sintomas de fitointoxicação, estatura de plantas e massa da matéria seca da parte aérea das plantas. Os sintomas de fitointoxicação foram avaliados visualmente, atribuindo-se notas entre zero e 100%, sendo: zero, para ausência de sintomas, a 100%, para morte de planta. A estatura das plantas foi

realizada adotando-se como base para a medição o meristema apical nas dicotiledôneas e a extremidade da folha mais alta de cada planta nas demais espécies. Ambas as avaliações foram realizadas aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias após emergência (DAE). Transcorridos 60 dias após a emergência, as espécies vegetais foram retiradas das unidades experimentais e avaliou-se a massa da matéria seca obtida por meio de pesagem do material colhido, secado em estufa de circulação forçada (70 ± 2 °C) por 72 horas.

Os dados foram testados quanto a homogeneidade da variância e a normalidade e submetidos aos procedimentos de análise da variância e regressão polinomial através do programa computacional SAS para a análise estatística e SigmaPlot® para confecção das curvas de dose resposta; sendo que as mesmas foram determinadas pelo modelo log-logístico preferencialmente utilizado nas determinações de curvas de dose-resposta de plantas daninhas a herbicidas (SEEFELDT et al., 1995), sendo que as doses estão representadas, nas figuras, em escala logaritmica.

A partir dos parâmetros das curvas, foi obtido o GR₅₀ (dose de herbicida que causa 50% de efeito biológico) e a partir deste valor foi calculado o fator de suscetibilidade (Fs), usando-se a espécie que se demonstrou mais suscetível como testemunha. O Fs foi calculado dividindo-se os valores de GR₅₀ (FT₅₀, EST₅₀, MS₅₀) de cada espécie avaliada com o GR₅₀ da espécie utilizada como testemunha (*Brassica napus*).

Resultados e Discussão

Estatura de plantas

Ao comparar o nível de tolerância das espécies testadas, observou-se que o aumento das doses causou redução da estatura de plantas, sendo que a intensidade da redução da estatura variou com a espécie testada (Figura 2A e 2B).

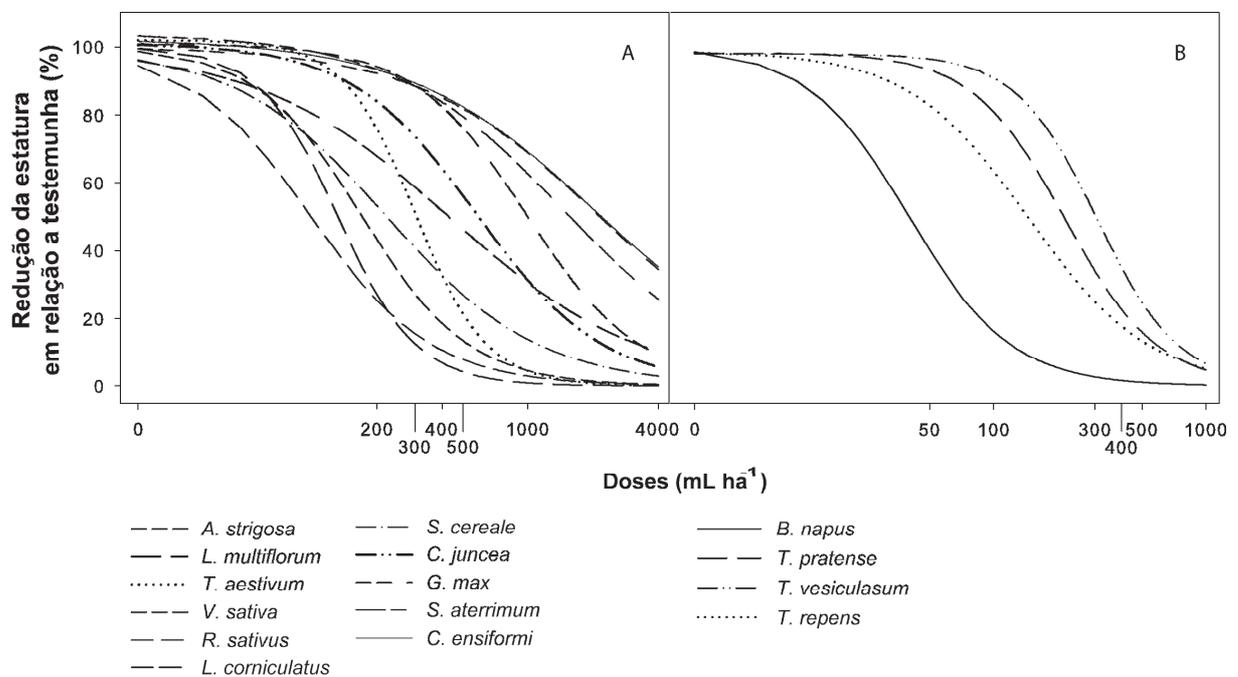


Figura 2 - Curvas de dose resposta de espécies tolerantes (A) e suscetíveis (B) a mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 e 25 g e.a. L⁻¹) avaliadas através da estatura aos 35 dias após a emergência (DAE) em relação à testemunha. Santa Maria, RS, 2010.

Não foi observada diferença significativa entre a espécie utilizada como testemunha (*Brassica napus* L.) e a espécie *Raphanus sativus*, sendo que esta apresentou 50% da redução da estatura quando submetida à dose de 99 mL ha⁻¹ da

solução herbicida (Tabela 1). De forma semelhante, Correa et al. (2010), verificaram que as espécies *Helianthus annuus* e *Raphanus sativus* foram controladas totalmente, mesmo na menor dose utilizada (0,035 kg i.a. ha⁻¹) do herbicida diclosulam, que também é um herbicida inibidor da enzima acetolactato sintase (ALS).

O efeito das doses da mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹) foi significativo ($P \leq 0,01$) sobre a estatura das demais espécies testadas, uma vez que as plantas apresentaram de 3 a 52 vezes mais tolerância, suportando doses entre 132 e 2149 mL ha⁻¹, quando comparadas com a testemunha (*Brassica napus* L.) (Tabela 1). Resultados estes que corroboram com os encontrados por Correa et al. (2010), onde as espécies *Cajanus cajan* e *Canavalis ensiformis* foram as mais tolerantes ao efeito do herbicida diclosulam.

Tabela 1- Dose do herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹) que causa 50% de redução de estatura (EST₅₀) nas espécies avaliadas aos 35 DAE e respectivos fatores de suscetibilidade (Fs) das espécies vegetais, com base na espécie mais suscetível ao herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir + imazapique. Santa Maria, RS, 2010.

Espécies	EST ₅₀	Fator de suscetibilidade (Fs)
<i>Brassica napus</i>	40	--
<i>Raphanus sativus</i>	99 ^{ns}	2,5
<i>Lolium multiflorum</i>	132*	3,3
<i>Trifolium repens</i>	171*	4,3
<i>Trifolium pratense</i>	218*	5,4
<i>Triticum aestivum</i>	301*	7,5
<i>Avena strigosa</i>	147*	3,7
<i>Trifolium visiculosum</i>	309*	7,7
<i>Secale cereale</i>	297*	7,4
<i>Lotus corniculatus</i>	433*	10,8
<i>Vicia sativa</i>	989*	24,7
<i>Stizolobium aterrimum</i>	1465*	36,6
<i>Glycine max</i>	2149*	53,7
<i>Crotalaria juncea</i>	583*	14,6
<i>Canavalia ensiformis</i>	2091*	52,2

^{ns} Valor de GR₅₀ não difere da testemunha suscetível (*Brassica napus*) pela sobreposição dos intervalos de confiança dos valores em 95% de probabilidade;

* Valor de GR₅₀ difere da testemunha suscetível (*Brassica napus*) pela não sobreposição dos intervalos de confiança dos valores em 95% de probabilidade.

Sintomas de fitointoxicação

Semelhante aos resultados observados na avaliação da estatura das plantas foi possível observar um aumento proporcional nos sintomas de fitointoxicação nas plantas testadas com o aumento da dose da mistura de herbicida utilizada, sendo que a intensidade desses sintomas variou com a espécie avaliada (Figura 3A e 3B).

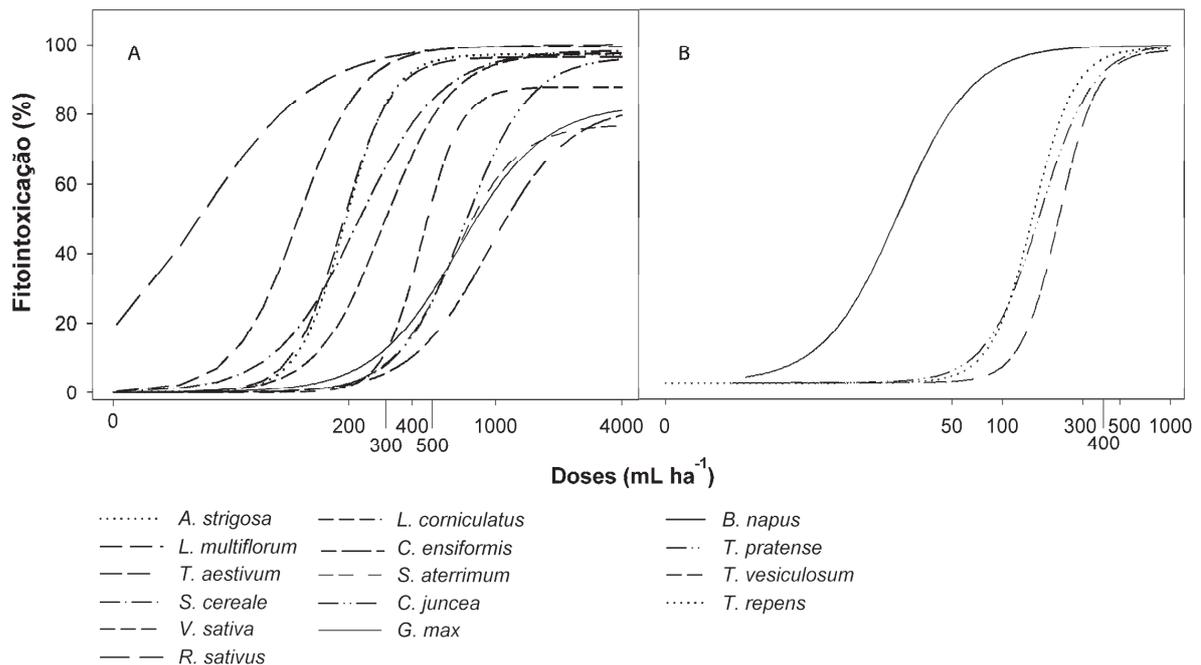


Figura 3 - Curvas de dose resposta de espécies resistentes (A) e suscetíveis (B) ao herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 e 25 g e.a. L⁻¹) avaliadas visualmente a partir da fitointoxicação aos 35 dias após a emergência (DAE). Santa Maria, RS, 2010.

As espécies que apresentaram maiores sintomas de fitointoxicação quando submetidas às doses da mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 + 25 g.i.a L⁻¹) foram *Lolium multiflorum* e *Raphanus sativus*, não diferindo da planta utilizada como testemunha, pois as doses que causaram 50% de fitointoxicação nessas espécies foram 115 e 39 mL ha⁻¹, respectivamente. As demais espécies apresentaram entre 6 e 39 vezes mais tolerância, pois demonstraram seletividade quando submetidas as doses que variaram entre 152 a 933 mL ha⁻¹, quando comparados com a testemunha (*Brassica napus* L.) (Tabela 2).

Os dados expostos estão de acordo com Carmo et. al. (2008), onde foram encontradas respostas semelhantes quanto a fitointoxicação obtidas com as espécies *Zea mays*, *Eleusine coracana*, *Brachiaria brizantha*, *Pennisetum glaucum*, *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria ruziziensis*, *Brachiaria humidicola*, *Pennisetum glaucum*, *Brachiaria brizantha*, *Sorghum bicolor* x *Sorghum sudanense*, *Panicum*

maximum, *Panicum maximum* e *Panicum maximum* que apresentaram tolerância à atividade residual no solo do herbicida picloran, podendo estas espécies ser inseridas inicialmente para avaliação em programas de fitorremediação desse herbicida.

Tabela 2 - Dose do herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir +imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹) que causa 50% de fitointoxicação (FT₅₀) nas espécies avaliadas aos 35 DAE e respectivos fatores de suscetibilidade (Fs) das espécies vegetais. Santa Maria, RS, 2010.

Espécies	FT ₅₀	Fator de suscetibilidade (Fs)
<i>Brassica napus</i>	24	--
<i>Raphanus sativus</i>	39 ^{ns}	1,6
<i>Lolium multiflorum</i>	115 ^{ns}	4,8
<i>Trifolium repens</i>	152*	6,3
<i>Trifolium pratense</i>	168*	7,0
<i>Triticum aestivum</i>	186*	7,7
<i>Avena strigosa</i>	191*	7,9
<i>Trifolium visiculosum</i>	218*	9,1
<i>Secale cereale</i>	222*	9,2
<i>Lotus corniculatus</i>	294*	12,2
<i>Vicia sativa</i>	447*	18,6
<i>Stizolobium aterrimum</i>	626*	26,0
<i>Glycine max</i>	666*	27,7
<i>Crotalaria juncea</i>	711*	29,5
<i>Canavalia ensiformis</i>	933*	38,7

^{ns} Valor de GR₅₀ não difere da testemunha suscetível (*Brassica napus*) pela sobreposição dos intervalos de confiança dos valores em 95% de probabilidade;

*Valor de GR₅₀ difere da testemunha suscetível (*Brassica napus*) pela não sobreposição dos intervalos de confiança dos valores em 95% de probabilidade.

Massa da matéria seca da parte aérea

Quando comparados os níveis de tolerância das espécies estudadas com a espécie vegetal utilizada como testemunha, *Brassica napus* L. é possível observar o efeito significativo das doses da mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹) sobre a redução da biomassa das mesmas, porém, a intensidade desse efeito é dependente da espécie vegetal analisada (Figura 4A e 4B).

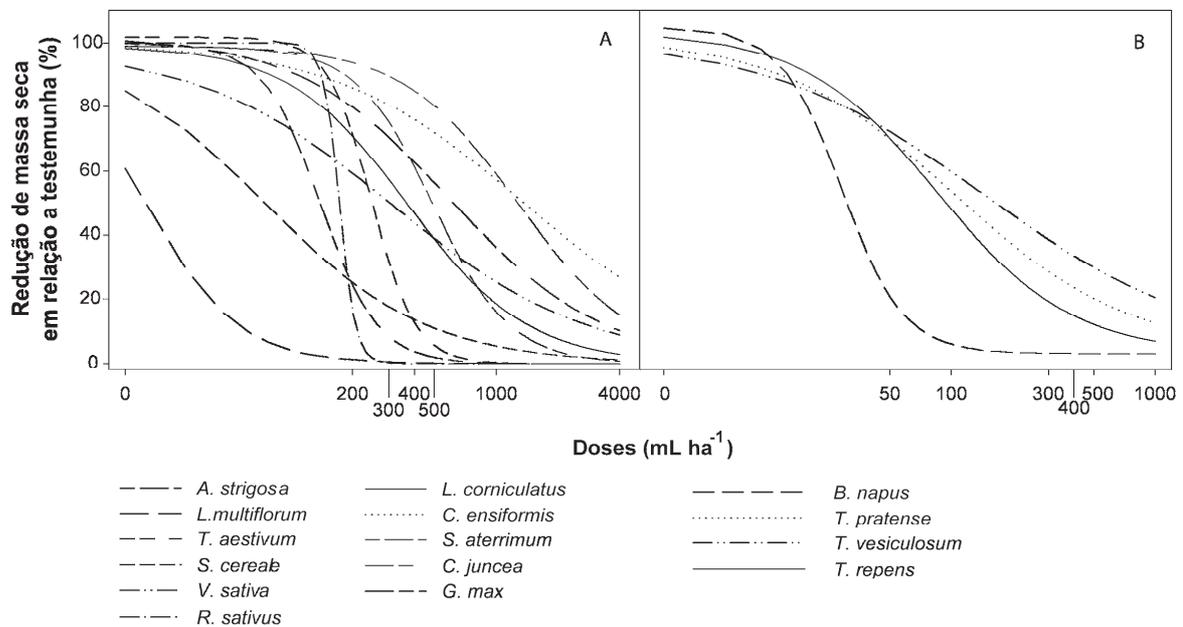


Figura 4 - Curvas de dose resposta de espécies resistentes (A) e suscetíveis (B) ao herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 e 25 g e.a. L⁻¹) avaliadas através da redução de massa da matéria seca aos 60 dias após a emergência (DAE). Santa Maria, RS, 2010.

Quanto ao acúmulo de biomassa apresentado pelas espécies vegetais testadas, verificou-se que as espécies *Lolium multiflorum* e *Secale cereale* não diferiam significativamente da espécie utilizada como testemunha, apresentando redução de 50% de massa da matéria seca quando utilizados apenas 20 e 75

mL ha⁻¹, respectivamente, da mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹) (Tabela 3).

Tabela 3 - Dose do herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹) que causa 50% de redução na massa da matéria seca (MS₅₀) nas espécies avaliadas aos 35 DAE e respectivos fatores de suscetibilidade (Fs) das espécies vegetais, com base na espécie mais suscetível ao herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir+imazapique. Santa Maria, RS, 2010.

Espécies	MS ₅₀	Fator de suscetibilidade(Fs)
<i>Brassica napus</i>	29	--
<i>Raphanus sativus</i>	173*	5,9
<i>Lolium multiflorum</i>	20 ^{ns}	0,7
<i>Trifolium repens</i>	85*	2,9
<i>Trifolium pratense</i>	104*	3,5
<i>Triticum aestivum</i>	247*	8,5
<i>Avena strigosa</i>	139*	4,8
<i>Trifolium visiculosum</i>	146*	5,0
<i>Secale cereale</i>	75 ^{ns}	2,6
<i>Lotus corniculatus</i>	370*	12,7
<i>Vicia sativa</i>	312*	10,7
<i>Stizolobium aterrimum</i>	1289*	44,1
<i>Glycine Max</i>	588*	20,1
<i>Crotalaria juncea</i>	494*	16,9
<i>Canavalia ensiformis</i>	1358*	46,4

^{ns} Valor de GR₅₀ não difere da testemunha suscetível (*Brassica napus* L.) pela sobreposição dos intervalos de confiança dos valores em 95% de probabilidade;

* Valor de GR₅₀ difere da testemunha suscetível (*Brassica napus* L.) pela não sobreposição dos intervalos de confiança dos valores em 95% de probabilidade.

A maioria das plantas degrada moléculas herbicidas, mas somente algumas espécies as degradam em velocidade suficientemente rápida para proporcionar a inativação metabólica, evitando que o composto tóxico cause danos irreversíveis a elas e conseqüentemente, sua tolerância ao produto (POWLES; PRESTON, 1998).

As espécies de plantas tolerantes aos herbicidas do grupo químico das imidazolinonas e sulfoniluréias geralmente apresentam aumento no metabolismo do herbicida ou metabolismo diferencial em relação às suscetíveis (VARGAS et al., 1999). Desse modo, acredita-se que as espécies acima citadas lançam mão dos mecanismos mais comuns de tolerância das culturas aos herbicidas inibidores da síntese da enzima acetolactato sintase (ALS), que são a capacidade da planta em metabolizar rapidamente a molécula herbicida em formas não-tóxicas (SWEESTER et al., 1982) ou a inativação metabólica, mecanismo de resistência correspondente a alteração do gene responsável pela codificação da ALS, caracterizando-se como perda da afinidade do herbicida pelo local de ação da enzima (COLE, 1994).

Devido à sua natureza sedentária, as plantas dependem muito dos mecanismos bioquímicos de defesa. Em geral, as enzimas que realizam as reações de defesa são constitutivas, ou seja, elas estão presentes e em funcionamento na planta em circunstâncias normais (COLE, 1994).

Os herbicidas são, geralmente, lipofílicos, e o metabolismo inicial da molécula serve para reforçar tanto a reatividade quanto a polaridade da molécula, tornando-a mais hidrofílica e portanto mais passível de degradação. Estas reações são comumente provocadas por mecanismos oxidativos, por exemplo, hidroxilação, oxidação de enxofre ou desalquilação seguidos por conjugação com constituintes naturais da planta (VIDAL, 2002). Por exemplo, a introdução de um grupo hidroxila na molécula permite a conjugação das moléculas do pesticidas com açúcares para formar éter glicosil. Herbicidas modificados desta forma tornam-se menos fitotóxicos, embora haja alguns casos notáveis em que o resultado seja a ativação (COLE, 1994).

No presente trabalho, foi possível observar níveis diferentes de tolerância para a maioria das espécies testadas, estando esses resultados, de acordo com trabalhos de pesquisa que indicam que tanto as plantas daninhas como as cultivadas apresentam variabilidade no grau de tolerância a determinados herbicidas (VARGAS; FLECK, 1999; FONTANA et al., 2007). O critério utilizado para a determinação da tolerância das espécies testadas foi a diferença significativa que estas apresentaram em relação a testemunha (*Brassica napus* L.)

Cabe ressaltar que as espécies *Vicia sativa*, *Canavalia ensiformis*, *Stizolobium aterrimum* e *Glycine max* são as espécies que toleraram as maiores doses da mistura herbicida utilizada, pois estas, na grande maioria dos resultados,

suportaram doses acima do recomendado (1000 mL ha^{-1}) da mistura formulada de imazetapir+imazapique ($75 + 25 \text{ g e.a. L}^{-1}$) para a cultura do arroz irrigado. Corroborando com o exposto, Silva e Bueno (2000) verificaram que *Stizolobium aterrimum* foi tolerante aos herbicidas alachlor, imazaquin e pendimenthalin. Da mesma forma, Santos et al. (2004b) e Procópio et al. (2005a,b, 2006, 2007) também encontraram resultados semelhantes com as espécies *Canavalia ensiformis* e *Stizolobium aterrimum* para o herbicidas picloram e trifloxysulfuron sódio. Em trabalho realizado por Baerg e Barrett (1996), os quais estudaram a tolerância da espécie *Vigna sinensis* ao herbicida imazetapir, essa desintoxicação é realizada através da conjugação das moléculas do herbicida com moléculas de glicose, sendo que esta reação é, possivelmente, catalizada pela ação do citocromo P450 monooxigenase.

Cole (1994) afirma que a resistência apresentada pela cultura da soja (*Glycine max*) a imidazolinonas é conferida por mudanças estruturais na molécula do herbicida, tais como a hidroxilação do grupo etil no anel peridina na molécula do imazetapir ou a hidroxilação do carbono amina seguido da abertura do anel em moléculas de imazaquim. As rotas do metabolismo diferencial destes dois herbicidas na cultura da soja são exemplos típicos de oxidação, clivagem do anel e reações de conjugação metabólica nos mecanismos de desintoxicação do herbicida (TECLE et al., 1993).

Em experimentos em áreas com cultivo de arroz irrigado, Martini (2010) constatou que após a colheita do arroz, a quantidade presente da mistura formulada de imazetapir + imazapique ($75 + 25 \text{ g e.a. L}^{-1}$) encontrada no solo variou de 190 a 500 mL ha^{-1} . Isso nos permite inferir que todas as espécies que suportaram as doses entre esses dois extremos possuem capacidade de serem utilizadas em programas de fitorremediação de solos contaminados com esses herbicidas, já que um dos pré-requisitos para as plantas serem usadas como fitorremediadoras é que sejam tolerantes a concentrações de herbicidas encontradas a campo (CUNNINGHAM et al., 1996).

Conclusão

As espécies vegetais hibernais *Avena strigosa*, *Secale cereale*, *Lotus corniculatus*, *Vicia sativa*, *Trifolium repens*, *Trifolium pratense*, *Trifolium vesiculosum*, *Triticum aestivum* e as espécies estivais *Canavalia ensiformis*, *Crotalaria juncea*, *Stizolobium aterrimum* e *Glycine max*, apresentaram tolerância aceitável quando cultivadas em solo que recebeu doses da mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹). Diante disso, essas espécies após serem testadas quanto ao seu potencial remediador, poderão ser inicialmente inseridas em programas de fitorremediação de solo contaminado com essa mistura herbicida.

Referências bibliográficas

ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F. et al. (Eds.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 1, p. 299-352, 2000.

AGOSTINETTO, D. et al. Arroz-vermelho: ecofisiologia e estratégias de manejo. **Ciência Rural**, v. 31, n. 2, p. 341-349, 2001.

AVILA, L. A.; SENSEMAN, S. A.; ULLMAN, J. L.; LEE, D. J.; MCCAULEY, G.; CHANDLER, J.; KRUTZ, L. Efeito da umidade do solo na sorção e disponibilidade de imazetapir em três solos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 4.; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 26.; 2005, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria: UFSM, 2005. p. 190-193.

BAERG, R. J; BARRETT, M. The Basis of Imazethapyr Tolerance in Cowpea (*Vigna sinensis*). **Weed Science**, v. 44, n. 4, p. 769-775, 1996.

CARVALHO, S. J. P. et al. Herbicide selectivity by differential metabolism: considerations for reducing crop damages. **Scientia Agricola**, v. 66, n. 1, p. 136-142. 2009.

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.

COLE, D. J. Detoxification and activation of agrochemicals in plants. **Pesticide Science**, v. 42, n. 3, p. 209-222, 1994.

CORREA, M. et al. Seleção de plantas com potencial para remediação de solos contaminados pelo herbicida diclosulam. I. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 27., 2010, Ribeirão Preto. **Resumos...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, 2010. p. 3368-3371.

CROUGHAN, T. P. Herbicide resistant rice. In: **United States Patent** [5,773,704], 1998. Disponível em: <<http://patFs.uspto.gov/netacgi/nph-Parser?Sect1=PTO1&Sect2=HITOFF&d=PALL&p=1&u=/netahtml/srchnum.htm&r=1&f=G&l=50&s1=5,773,704.WKU.&OS=PN/5,773,704&RS=PN/5,773,74/>>. Acesso em: 23 jun. 2010.

CUNNINGHAM, S. D. et al. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 56, p. 55-114, 1996.

DEVINE, M. D.; VANDEN BORN, W. H. Absorption and transport in plants. In: GROVER, R.; CESSNA, A. J. (Eds.) **Environmental Chemistry of Herbicides**. Boca Raton: CRC Press, Inc., 1991. p. 119-140.

EARD, L. L. V. et al. Pesticide metabolism in plants and microorganisms. **Weed Science**, v. 51, p. 472-495, 2003.

FONTANA, L. C. et al. Controle de arroz-vermelho (*Oryza sp.*) com o herbicida nicosulfuron ou a mistura formulada de imazethapyr + imazapic. **Planta Daninha**, v. 25, n. 4, p.783-790, 2007.

HUTCHISON, J. M.; SHAPIRO, R.; SWEESTER, P. B. Metabolism of chlorsulfuron by tolerant broadleaves. **Pesticide Biochemistry Physiology**, Duluth, v. 22, p. 243-247, 1984.

INOUE, N. H. et al. Potencial de lixiviação de imazapic e isoxaflutole em colunas de solo. **Planta Daninha**, v. 25, n. 3, p. 547-555, 2007.

JOHNSON, D. H et al. Nicosulfuron, primisulfuron, imazethapyr, and DPX—PE350 injury to succeeding crops. **Weed Technology**, v. 7, p. 641–644, 1993.

KRAEMER, A. F. **Residual da mistura formulada dos herbicidas imazethapyr e imazapic em áreas de arroz sob diferentes manejos de solo.** 2008. 66f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal.** São Carlos: Rima, 2000. 531 p.

MARTINI, L. F. **Transporte de agrotóxicos e uso de água em diferentes manejos de irrigação de arroz.** 2010. 108f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria.

OLIVEIRA JÚNIOR, R. S. Seletividade de herbicidas para culturas e plantas daninhas. In: OLIVEIRA JÚNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo.** Guaíba: Agropecuária, 2001. p. 291-313.

PINTO, J. J. O. et al. Atividade residual de imazethapyr + imazapic para sorgo granífero (*sorghum bicolor*) semeado em rotação com o arroz irrigado. **Planta Daninha**, Viçosa - MG, v. 27, n. especial, p. 1015 - 1024, 2009.

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

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

PIRES, F. R. et al. Seleção de plantas com potencial para fitorremediação de tebuthiuron. **Planta Daninha**, v. 21, p. 451-458, 2003c.

PROCÓPIO, S. O. et al. Seleção de plantas com potencial para fitorremediação de solos contaminados com o herbicida trifloxysulfuron–sodium. **Planta Daninha**, v. 22, n. 2, p. 315–322, 2004.

PROCÓPIO, S. O. et al. Potencial de espécies vegetais para a remediação do herbicida trifloxysulfuron-sodium. **Planta Daninha**, v. 23, n. 1, p. 9-16, 2005a.

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, 2005b.

PROCÓPIO, S. O. et al. Fitorremediação de solo contaminado com trifloxysulfuron sódio por diferentes densidades populacionais de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L). DC.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 3, p. 444-449, 2006.

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

RENNER, K. A.; SCHABENBERGER, O.; KELLS, J. J. Effect of tillage application method on corn (*Zea mays*) response to imidazolinone residues in soil. **Weed Technology**, v. 12, n. 2, p. 281-285, 1998.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de Herbicidas**. 5 ed. Londrina, 2005.

SALT, D. E., SMITH, R. D., RASKIN, I. Phytoremediation. **Annual Review in Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 49, n. 1, p. 643-668, 1998.

SANTOS, J. B. et al. Fitorremediação do herbicida trifloxysulfuron-sodium. **Planta Daninha**, v. 22, n. 2, p. 323-330, 2004.

SCRAMIN, S.; SKORUPA, L. A.; MELO, I. S. 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. et al. **Biodegradação**, Jaguariúna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente, 2001. p. 369-371.

SEEFELDT, S. S; JENSEN, J. E; FUERST, P. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships. **Weed Technology**, Champaign, v. 9, n. 2, p. 218-225, 1995.

SENSEMAN, S. A. (Ed.). **Herbicide handbook**. 9 ed. Lawrence: Weed Science Society of America, 2007.

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: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, 2000. p. 375.

STEELE, G. L. et al. Control of redrice (*Oryza sativa*) in imidazolinone-tolerant rice (*Oryza sativa*). **Weed Technology**, v. 16, n. 3, p. 627-630, 2002.

STOUGAARD, R. N.; SHEA, P. J.; MARTIN, A. R. Effect of soil type and pH on adsorption, mobility and efficacy of imazaquin and imazethapyr. **Weed Science**, v. 36, n. 1, p. 67-73, 1990.

SWEESTER, P. B.; SCHOW, G. S.; HUTCHISON, J. M. Metabolism of chlorsulfuron by plants: biological basis for selectivity of a new herbicide for cereals. **Pesticide Biochemistry Physiology**, Duluth, v. 17, p. 18-23, 1982.

TECLE, B.; DA CUNHA, A.; SHANER, D. L. Differential routes of metabolism of imidazolinones: basis for soybean (*Glycine max*) selectivity. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 46, p. 120-130, 1993.

VARGAS, L. et al. **Resistência de plantas daninhas a herbicidas**. Viçosa, MG. 1999. 131 p.

VARGAS, L.; FLECK, N. G. Seletividade de herbicidas do grupo químico das ariloxifenoxipropionatos a cereais de inverno. **Planta Daninha**, v. 17, n. 1, p. 41-51, 1999.

VIDAL, R. A.; WINKLER, L. M. Resistência de Plantas Daninhas: Seleção ou indução à mutação pelos herbicidas inibidores de acetolactato sintase (ALS). **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 12, p. 31-42, 2002.

VILLA, S. C. C. et al. Arroz tolerante a imidazolinonas: controle do arroz-vermelho, fluxo gênico e efeito residual do herbicida em culturas sucessoras não-tolerantes. **Planta Daninha**, v. 24, n. 4, p. 761-768, 2006a.

VILLA, S. C. C. et al. Controle de arroz-vermelho em dois genótipos de arroz (*Oryza sativa*) tolerantes a herbicidas do grupo das imidazolinonas. **Planta Daninha**, v. 24, n. 3, p. 549-555, 2006b.

RAY, T. B. Site of action of chlorsulfuron inhibitor of valine and isoleucine biosynthesis in plants. **Plant Physiology**, Los Angeles, v. 75, p. 827-831, 1984.

YUAN, J. S.; TRANEL, P. J.; STEWART JR., C. N. Non-target-site herbicide resistance: a family business. **Trends in Plant Science**, v. 12, p. 6-13, 2000.

- CAPÍTULO III –

ESPÉCIES VEGETAIS FITORREMEIADORAS DE SOLO CONTAMINADO COM OS HERBICIDAS IMAZETAPIR E IMAZAPIQUE

Resumo

O uso de plantas para descontaminar água e solo contaminados com poluentes orgânicos e inorgânicos é uma tecnologia promissora para a agricultura sustentável. Em vista do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de espécies vegetais na remediação do solo contaminado com o herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹), utilizando a cultivar de arroz irrigado IRGA 417 como planta bioindicadora. Os tratamentos foram compostos pela combinação entre 15 espécies vegetais e sete doses da mistura herbicida utilizada: zero, 50, 100, 300, 400, 500 e 1000 mL ha⁻¹, para as plantas mais sensíveis (*Brassica napus* L., *Trifolium repens*, *Trifolium pratense* e *Trifolium vesiculosum*) e zero, 200, 300, 400, 500, 1000 e 4000 mL ha⁻¹ para as demais espécies. Após o cultivo das espécies vegetais foram avaliados, nas plantas de arroz irrigado, a estatura de plantas e sintomas de fitointoxicação aos 7, 14, 21 e 28 dias após a emergência, e massa da matéria seca da parte aos 28 dias após a emergência. As espécies hibernais *Brassica napus*, *Lolium multiflorum*, *Vicia sativa*, *Raphanus sativus*, *Trifolium pratense*, *Trifolium vesiculosum*, *Triticum aestivum* e as espécies estivais *Crotalaria juncea*, *Canavalia ensiformis*, *Glycine max* e *Stizolobium aterrimum* foram eficientes na redução do efeito do herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹) sobre as plantas de arroz irrigado não tolerantes cultivadas em sucessão.

Palavras-chave: Agricultura sustentável. Biorremediação. Meio ambiente.

Introdução

Compostos que têm alta persistência no solo possuem maior potencial de contaminação do ambiente (MELO et al., 2001). Herbicidas do grupo químico das imidazolinonas podem apresentar residual no solo por até dois anos (RENNER et al., 1998) e, dependendo da cultura sucessora, causar fitointoxicação (BALL et al., 2003). Sua permanência no solo depende de fatores como pH, matéria orgânica, textura, umidade do solo (LOUX; REESE, 1993), mineralogia, retenção de água e atividade dos microorganismos do solo (WITT; FLINT, 1997). A utilização de culturas de inverno como pastagens, na rotação lavoura/pecuária, ou a escolha de cultivares de arroz não tolerante ao princípio ativo desses compostos podem ser prejudicadas pela presença desse tipo de herbicida no solo.

Na busca de alternativas que minimizem esse problema, tem-se difundido o uso de plantas tolerantes para a remoção desses contaminantes do solo. Estudos metabólicos demonstraram a capacidade das plantas em extrair e metabolizar uma série de poluentes orgânicos encontrados no solo e na água, incluindo resíduos de munição (TNT), fenóis policlorados (PCBs) e uma vasta gama de agroquímicos, tais como herbicidas, fungicidas e inseticidas (CUNNINGHAM et al., 1996; SALT et al., 1998; PIRES et al., 2003a,b,c; PROCÓPIO et al., 2005a,b). Esse processo, conhecido por Fitorremediação é uma tecnologia que utiliza espécies vegetais para extrair, conter, imobilizar ou degradar contaminantes do solo e da água, tornando-os menos tóxicos e, especialmente, menos fitotóxicos (SALT et al., 1998).

Diferentes características encontradas nas plantas são importantes para que a fitorremediação aconteça satisfatoriamente. Em geral, crescimento rápido, elevada produção de biomassa, alta competitividade e vigor, e tolerância ao contaminante, são características favoráveis para plantas que serão utilizadas no processo de fitorremediação (LAMEGO; VIDAL, 2007). Em essência, a espécie vegetal ideal para remediar um solo contaminado por herbicidas seria uma planta com alta produção de biomassa, que tanto pode tolerar como acumular o produto. Dessa forma, a escolha de plantas que apresentem tolerância/seletividade ao herbicida é o primeiro passo na seleção de espécies potencialmente fitorremediadoras (FERRO et al.,

1994; PERKOVICH et al., 1996; CUNNINGHAM et al., 1996; NEWMAN et al., 1998; ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000; VOSE et al., 2000, PIRES et al., 2003a).

O emprego da remediação do solo e água por meio da utilização de espécies vegetais engloba eficiência na descontaminação, simplicidade na execução, pouco tempo demandado pelo processo e menor custo (PIRES et al., 2003a); apresentando como principal consequência a redução da mobilidade e disponibilidade da molécula contaminante (CUNNINGHAM et al., 1996).

A captação direta do contaminante é essencialmente limitada pela disponibilidade do composto alvo e pelos mecanismos de extração do mesmo (MELO; SILVA, 2003). As plantas podem extrair substâncias químicas do solo em três fases distintas: vapor, líquida e sólida. Com algumas poucas exceções - hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e herbicidas na fase de vapor - o movimento de orgânicos no interior das plantas ocorre através da fase líquida (SALT et al., 1998).

A fitorremediação pode ser classificada em cinco tipos, levando em consideração processos fisiológicos das plantas (CUNNINGHAM et al., 1996; WILSON et al., 2000), sendo eles: a fitoextração, que consiste no uso de plantas acumuladoras para remover metais ou compostos orgânicos do solo ou água, concentrando-os nos órgão de reserva ou metabolizando-os; a fitodegradação, onde as plantas podem degradar poluentes orgânicos diretamente por suas próprias atividades enzimáticas. Pode ser citado também a rizofiltração, processo pelo qual as planta utilizam suas raízes para absorver, principalmente metais pesados, de águas e efluentes aquosos; a fitoestabilização, que consiste no uso de plantas para diminuir a biodisponibilidade dos poluentes no ambiente; e a fitovolatilização, que é caracterizado pelo uso de plantas com capacidade de remover os poluentes em suspensão no ar.

Antes da implantação de programas de fitorremediação, as características físico-químicas do solo e do contaminante devem ser conhecidas, bem como sua distribuição na área (PIRES et al., 2003a). Qualquer fator que venha a interferir negativamente no desempenho das plantas fitorremediadoras deve ser controlado ou minimizado, para favorecer sua atuação descontaminante.

O custo reduzido quando comparado aos demais métodos de descontaminação e a opção de tratamento natural *in situ* (LAMEGO; VIDAL, 2007), bem como a capacidade de fitorremediar mais de um poluente no mesmo local e a

ampla aceitação por parte da população (tecnologia verde) (CUNNINGHAM et al., 1996), estão entre as principais vantagens do processo de fitorremediação. Todavia, esta técnica também apresenta muitas limitações, tais como: dificuldade na seleção de plantas; aplica-se a solos com contaminação superficial e águas rasas; o tempo requerido para obtenção de uma despoluição satisfatória pode ser longo (PIRES et al., 2003a); requer climas amenos; o contaminante deve estar dentro da zona de alcance do sistema radicular das plantas; não se aplica a compostos altamente hidrofóbicos; elevados níveis do contaminante no solo podem impedir a introdução de plantas no sítio contaminado (ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000); pode apresentar potencial de contaminação da cadeia alimentar; há a possibilidade de complexação de alguns contaminantes com os exudatos e estes serem transportados pela água; existe a possibilidade de a planta fitorremediadora tornar-se planta daninha; e há grande dificuldade de se tratar uma mistura de compostos e herbicidas (CUNNINGHAM et al., 1996).

As plantas apresentam maneiras específicas para a remoção, imobilização ou transformação de poluentes específicos. Com isso é necessário que mais estudos nessa área sejam realizados para assim, melhor conhecermos a capacidade fitorremediadoras das plantas. Dado o pouco conhecimento acerca do assunto, a fitorremediação ainda é cercada por obstáculos, tornando sua aplicação e utilização mais eficiente à medida que pesquisas vão sendo desenvolvidas.

Em vista do exposto, objetivou-se neste trabalho avaliar o potencial de espécies vegetais cultivadas na fitorremediação do solo contaminado com o herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹), utilizando arroz não tolerante como planta indicadora.

Material e Métodos

O experimento foi realizado em casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia junto à Universidade Federal de Santa Maria, RS, no ano agrícola de 2009/2010; tendo sido utilizado como substrato o solo coletado do horizonte A classificado como Planossolo Hidromórfico eutrófico arênico com classe textural franco siltosa, com as seguintes características: pH água (1:1) = 6,2; teor de argila =

200 gKg⁻¹, teor de matéria orgânica = 32 gKg⁻¹, P = 16,2 mg dm⁻³, K = 180 mg dm⁻³, Ca = 5,5 cmol_c dm⁻³, Mg = 3,2 cmol_c dm⁻³, Al = 0,0 cmol_c dm⁻³ e índice SMP = 6,6.

Os tratamentos foram compostos pela combinação entre fatores, sendo o Fator A as espécies vegetais *Avena strigosa*, *Lolium multiflorum*, *Brassica napus* L., *Secale cereale*, *Lotus corniculatus*, *Crotalaria juncea*, *Vicia sativa*, *Canavalia ensiformis*, *Stizolobium aterrimum*, *Raphanus sativus*, *Glycine max*, *Trifolium repens*, *Trifolium pratense*, *Trifolium vesiculosum*, *Triticum aestivum*, semeadas anteriormente à cultura do arroz (*Oryza sativa* L.); mais um tratamento controle – sem cultivo prévio, e o Fator B sete doses do herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹): zero, 50, 100, 300, 400, 500 e 1000 mL ha⁻¹, para as plantas mais sensíveis (*Brassica napus* L., *Trifolium repens*, *Trifolium pratense* e *Trifolium vesiculosum*) e zero, 200, 300, 400, 500, 1000 e 4000 mL ha⁻¹, para as plantas mais tolerantes (demais espécies), totalizando 476 parcelas. A escolha das espécies e das doses da mistura formulada baseou-se em ensaios preliminares de tolerância a este herbicida.

O experimento foi conduzido em blocos ao acaso, em esquema fatorial 16x7, com quatro repetições. As unidades experimentais foram constituídas de vasos de polietileno contendo três decímetros cúbicos de solo para as espécies *Canavalia ensiformis*, *Crotalaria juncea*, *Glycine max* e *Stizolobium aterrimum*, e um decímetro cúbico de solo para as demais espécies. A aplicação dos herbicidas nas doses descritas anteriormente foi realizada 48 horas antes da semeadura das culturas, utilizando-se pipetador de precisão para adicionar as soluções com herbicidas na superfície do solo, o qual foi revolvido e após adicionado volume de água suficiente para que o solo atingisse sua capacidade de campo, permitindo assim a distribuição homogênea do herbicida em toda a unidade experimental. Os vasos foram mantidos sob irrigação diária, a fim de se conservar a umidade do solo em torno de 80% da capacidade de campo.

Após 60 dias da semeadura, as espécies vegetais foram cortadas na altura do coleto, não tendo sido efetuada a retirada das raízes do solo. Após sete dias, foi realizada a semeadura da cultivar de arroz não tolerante ao princípio ativo do herbicida utilizado, IRGA 417, como planta teste, com o intuito de avaliar a capacidade fitorremediadora das espécies anteriormente cultivadas em solo contaminado. Após a emergência das plantas de arroz, efetuou-se desbaste, deixando-se quatro plantas por vaso.

As características avaliadas para determinação do potencial fitorremediador das plantas anteriormente testadas ao herbicida foram fitointoxicação, estatura e massa da matéria seca da parte aérea das plantas de arroz. Os sintomas de fitointoxicação foram avaliados visualmente, comparando-se com a testemunha e atribuindo-se notas de acordo com a aparência da parte aérea de cada espécie, utilizando escala variando de 0 a 100%, para ausência de sintomas até a morte de planta, respectivamente. A estatura das plantas foi avaliada medindo-se a extremidade das folhas mais altas das plantas. Ambas as avaliações foram feitas aos 14, 21 e 28 dias após emergência (DAE). Aos 60 DAE, as plantas foram cortadas rente ao solo para determinação de massa da matéria seca da parte aérea, obtida por meio de pesagem do material colhido, secado em estufa de circulação forçada (70 ± 2 °C) por 72 horas.

Os dados foram analisados quanto a homogeneidade da variância e normalidade, sendo submetidos aos procedimentos de análise da variância e regressão polinomial, através do programa computacional SAS, para a análise estatística, e SigmaPlot[®] para confecção das curvas de dose resposta, sendo que as mesmas foram determinadas pelo modelo log-logístico preferencialmente utilizado nas determinações de curvas de dose-resposta de plantas daninhas a herbicidas (SEEFELDT et al., 1995).

A partir dos parâmetros das curvas, foi obtido o GR_{50} (dose de herbicida que causa 50% de efeito biológico) e, de acordo com seu valor foi calculado o fator de remediação (FRem), usando os tratamentos sem cultivo como testemunha. O FRem foi calculado dividindo-se os valores de GR_{50} (FT_{50} , EST_{50} , MS_{50}) das plantas de arroz irrigado, cultivado em solo com resíduo de herbicida que recebeu espécie vegetal, com aquele obtido em área que não recebeu espécie vegetal durante a rotação/sucessão e que também tinha resíduo do herbicida.

Resultados e Discussão

Através da análise das curvas de dose resposta das espécies estudadas constatou-se efeito significativo ($P \leq 0,05$) sobre o residual da mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 e 25 g e.a. L^{-1}) na estatura de plantas, fitointoxicação e

massa da matéria seca da parte aérea das plantas de arroz não tolerante, IRGA 417, semeadas em sucessão às espécies *Avena strigosa*, *Lolium multiflorum*, *Brassica napus* L., *Secale cereale*, *Lotus corniculatus*, *Crotalaria juncea*, *Vicia sativa*, *Canavalia ensiformis*, *Stizolobium aterrimum*, *Raphanus sativus*, *Glycine max*, *Trifolium repens*, *Trifolium pratense*, *Trifolium vesiculosum*, *Triticum aestivum*, e, também, quando não houve cultivo anterior (testemunha). Para esses tratamentos, o aumento das doses resultou em plantas de menor estatura (Figura 5) e massa da matéria seca (Figura 7) e plantas com maior fitointoxicação (Figura 6), sendo que a intensidade desses efeitos variou com a espécie testada.

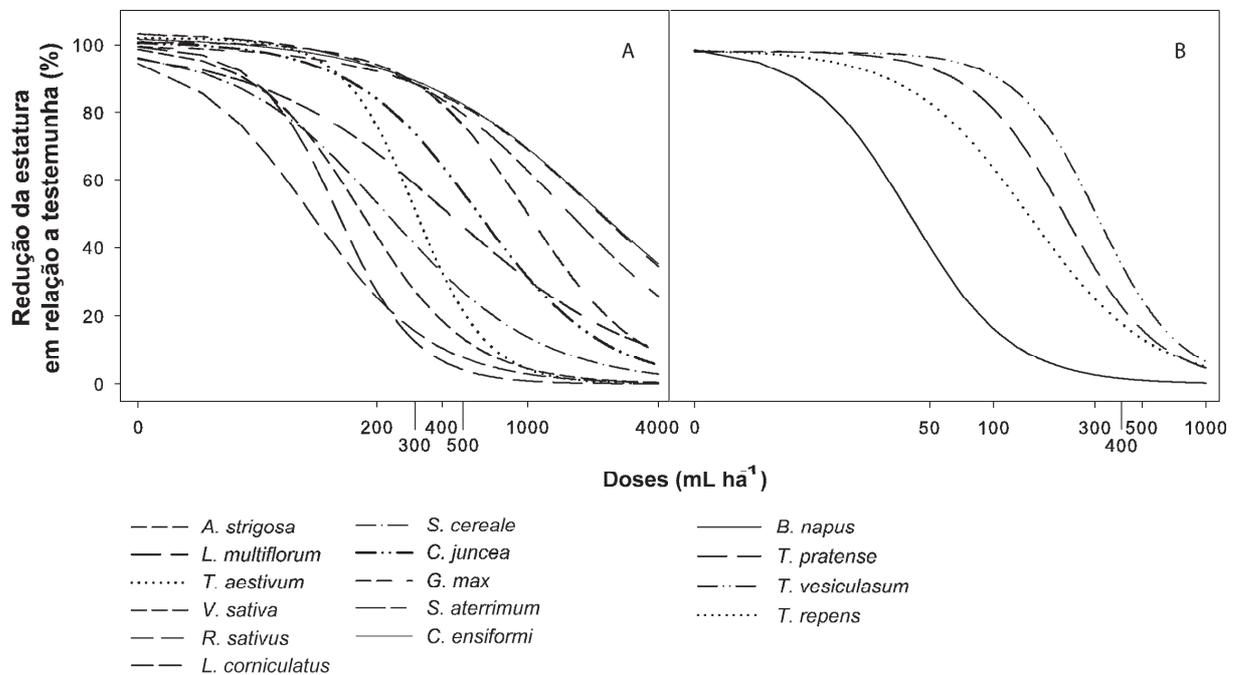


Figura 5 - Curvas de dose resposta de espécies resistentes (A) e suscetíveis (B) a mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 e 25 g e.a. L⁻¹) avaliadas através da redução da estatura de plantas de arroz não tolerantes (IRGA 417) aos 21 dias após a emergência (DAE), em relação à testemunha. Santa Maria, RS, 2010.

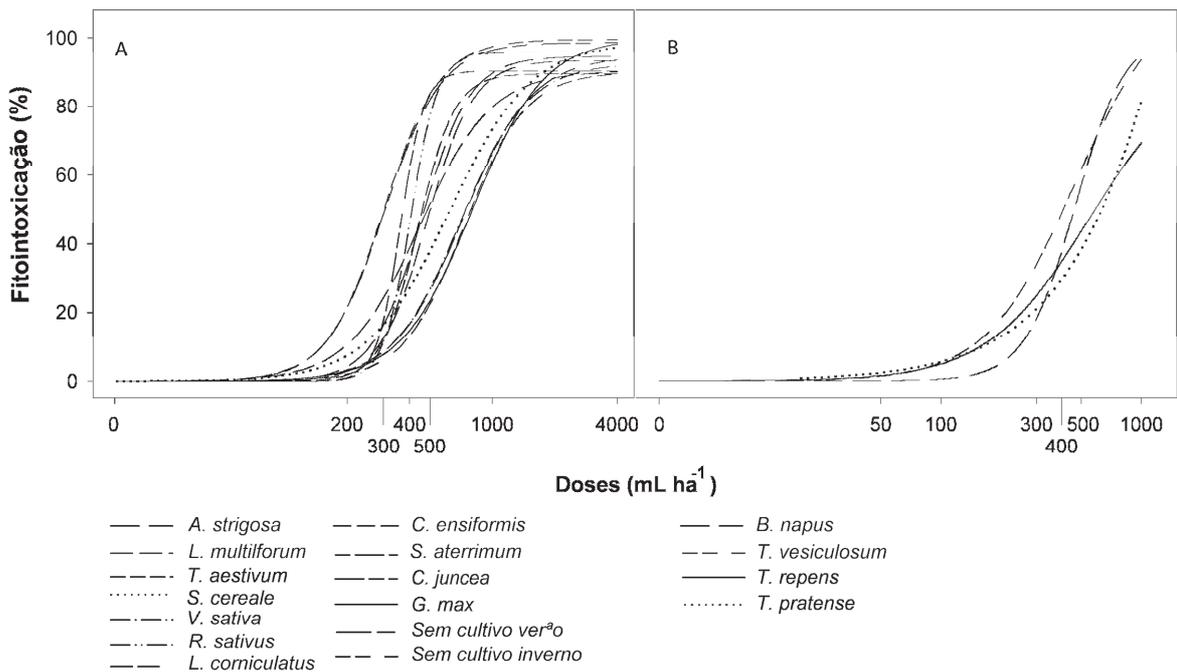


Figura 6 - Curvas de dose resposta de espécies resistentes (A) e suscetíveis (B) a mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 e 25 g e.a. L⁻¹) avaliadas através da fitointoxicação de plantas de arroz não tolerantes (IRGA 417) aos 21 dias após a emergência (DAE). Santa Maria, RS, 2010.

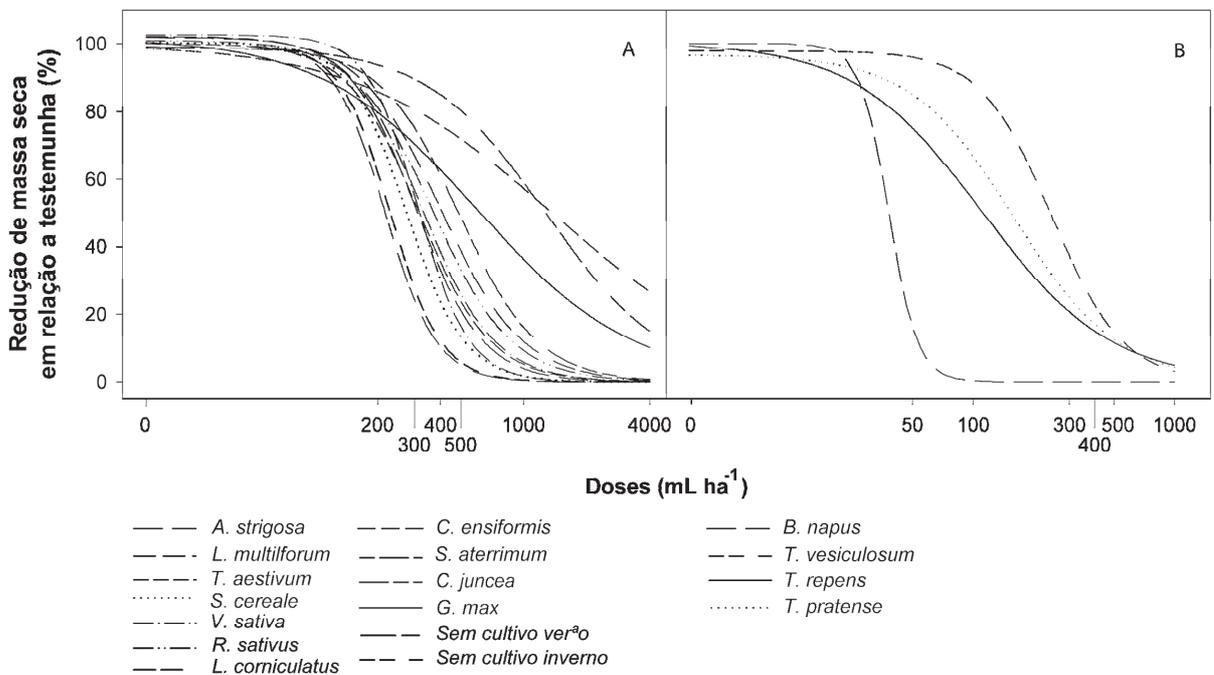


Figura 7 - Curvas de dose resposta de espécies resistentes (A) e suscetíveis (B) a mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 e 25 g e.a. L⁻¹) avaliadas

através da massa da matéria seca de plantas de arroz não tolerantes (IRGA 417) aos 60 dias após a emergência (DAE). Santa Maria, RS, 2010.

A partir dos parâmetros das curvas de dose resposta, (Figuras 5, 6 e 7), pode-se calcular a dose da mistura herbicida que causou 50% na redução da estatura (EST_{50}) e massa da matéria seca (MS_{50}) da parte aérea e 50% de fitointoxicação (FT_{50}) nas plantas de arroz não tolerante quando comparadas com a testemunha (sem cultivo prévio) (Tabela 4). A partir destes cálculos, é possível inferir que quanto maior é o valor de GR_{50} , maior é o potencial remediador (FRem) da espécie estudada.

Como para cada variável dependente analisada destacam-se diferentes espécies, foram avaliados os resultados do fator de remediação para cada espécie na variável dependente massa da matéria seca (MS_{50}). Usou-se essa variável como base porque, dentre as três variáveis analisadas, a produção de grãos na cultura do arroz está relacionada com a produção de matéria seca, através da produção biológica e do índice de colheita (IC) (YOSHIDA, 1981).

Os valores estimados de GR_{50} para massa da matéria seca demonstram que, as espécies hibernais *Brassica napus*, *Lolium multiflorum*, *Vicia sativa*, *Trifolium pratense*, *Trifolium vesiculosum* e *Triticum aestivum* apresentam potencial fitorremediador do solo, pois os valores observados de GR_{50} foram maiores do que os obtidos no tratamento sem cultivo prévio no inverno (testemunha), demonstrando o efeito dessas espécies na diminuição do residual do herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹). Da mesma forma, as espécies estivais *Crotalaria juncea*, *Canavalia ensiformis*, *Stizolobium aterrimum* e *Glycine max*, demonstraram potencial fitorremediador da mistura herbicida utilizada, pois foram observados valores de GR_{50} para massa da matéria seca superiores a testemunha (sem cultivo no verão). Já as espécies *Avena strigosa*, *Lotus corniculatus* e *Secale cereale* não diferiram significativamente do tratamento utilizado como testemunha (solo sem cultivo prévio no inverno).

Resultados semelhantes foram encontrados por Procópio et al. (2005a) onde a espécie *Vicia sativa*, exposta ao tratamento com o herbicida trifloxysulfuron-sódio, apesar de não ter proporcionado biomassa seca da parte aérea das plantas de feijão igual à de *Stizolobium aterrimum* e *Canavalia ensiformes*, foi superior aos demais

tratamentos. Estudos realizados por Burken e Schnoor (1996) indicaram que a espécie *Populus deltoides* nigra DN34, foi capaz de absorver a maior parte do herbicida atrazina aplicado, sem efeitos adversos detectáveis às árvores da espécie testada.

Os resultados observados no presente estudo também corroboram com os resultados encontrados por Correa et al. (2010) que afirma que as espécies *Canavalia ensiformis*, *Cajanus cajan* e *Stizolobium aterrimum* são plantas com potencial de fitorremediar áreas tratadas com o herbicida diclosulam. Para Procópio et al. (2005a), o cultivo prévio de *Stizolobium aterrimum*, em qualquer das densidades populacionais avaliadas, evitou redução de biomassa seca da parte aérea das plantas de feijão, proporcionada pela presença do herbicida trifloxysulfuron-sódio no solo cultivado.

Tabela 4 - Efeito do cultivo de espécies vegetais no período de entressafra na dose de herbicida que causa 50% de fitointoxicação (FT₅₀), 50% de redução de estatura de plantas (EST₅₀) aos 21 DAE e 50% de redução de massa da matéria seca da parte aérea (MS₅₀) aos 60 DAE de plantas de arroz irrigado não tolerante, IRGA 417. E respectivos fatores de remedição (FRem). Santa Maria, RS. 2010.

Espécies	FT ₅₀	FRem ¹	EST ₅₀	FRem	MS ₅₀	FRem
Hibernais						
Após o cultivo de espécies hibernais						
Sem planta inverno	300		467*		231*	
<i>Raphanus sativus</i>	440*	1,1	489 ^{ns}	1,0	317*	1,4
<i>Triticum aestivum</i>	447*	1,1	624*	1,3	313*	1,4
<i>Lolium multiflorum</i>	457*	1,2	700*	1,5	307*	1,3
<i>Avena strigosa</i>	460*	1,5	594*	1,3	246 ^{ns}	1,1
<i>Trifolium vesiculosum</i>	486*	1,2	625*	1,3	401*	1,7
<i>Lotus corniculatus</i>	468*	1,5	553 ^{ns}	1,2	38 ^{ns}	0,2
<i>Brassica napus</i>	621*	1,6	738*	1,6	275*	1,2
<i>Secale cereale</i>	699*	1,8	714*	1,5	161 ^{ns}	0,7
<i>Trifolium pratense</i>	702*	1,8	961*	2,1	327*	1,4
<i>Vicia sativa</i>	542*	1,8	667 ^{ns}	1,4	311*	1,3
Estivais						
Após o cultivo de espécies estivais						
Sem planta verão	302		254		218	
<i>Crotalaria juncea</i>	361*	1,2	427*	1,7	494*	2,3
<i>Stizolobium aterrimum</i>	722*	2,4	1125*	4,4	1289*	5,9
<i>Canavalia ensiformis</i>	732*	2,4	1220*	4,8	1358*	6,2
<i>Glycine max</i>	803*	2,7	1142*	4,5	598*	2,7

¹FRem = O fator de remedição foi calculado dividindo-se os valores de GR₅₀ (FT₅₀, EST₅₀ e MS₅₀) do arroz irrigado, cultivado em solo com resíduo de herbicida que recebeu a espécie vegetal com aquele obtido em área que não recebeu espécie vegetal durante a rotação e que também tinha resíduo de herbicida.

^{ns} Valor de GR₅₀ não difere da testemunha suscetível (canola) pela sobreposição dos intervalos de confiança dos valores em 95% de probabilidade;

* Valor de GR₅₀ difere da testemunha suscetível (canola) pela não sobreposição dos intervalos de confiança dos valores em 95% de probabilidade.

Os valores de MS₅₀ variaram entre 275 e 1358 mL ha⁻¹, demonstrando que a dose necessária para causar 50% de redução da massa da matéria seca nas

plantas de arroz, foi de uma a seis vezes superior quando comparados com solo sem cultivo anterior.

De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, foi possível observar que a presença de espécies vegetais causa impacto positivo na dissipação de moléculas herbicidas no solo, em comparação com solos sem vegetação. Kruger et al. (1997), observou menor quantidade do herbicida atrazina extraível de solos vegetados com *Kochia scoparia*, quando comparado com solos não cultivados.

Segundo Spilborghs e Casarini (1998), áreas contendo plantas apresentam uma biodegradabilidade mais acelerada e completa quando comparadas com áreas não vegetadas, devido à expansão da população ativa dos microrganismos no solo (rizosfera) que se utilizam da fração “exudata” das raízes (rizodeposição) como fonte de alimento. Esses materiais oriundos da rizodeposição das plantas estimulam transformações cometabólicas, assim sendo, muitos contaminantes são degradados via estimulação da microbiota pela presença desses materiais. Também de acordo com Spilborghs e Casarini (1998), o aumento da biodegradabilidade das moléculas herbicidas pode acontecer porque algumas plantas possuem a habilidade de produzir enzimas que transformam metabolicamente os contaminantes orgânicos, contribuindo para a oxidação mais rápida dos mesmos pelos microrganismos presentes no solo.

Segundo Pires et al. (2003a), a utilização da fitorremediação é baseada na seletividade, natural ou desenvolvida, que algumas espécies exibem a determinados tipos de compostos ou mecanismos de ação. Em vista do exposto, pode-se inferir que os resultados obtidos no presente trabalho podem ser explicados pela capacidade que as plantas estudadas possuem em metabolizar (fitodegradação) o herbicida em questão até compostos não-tóxicos (ou menos tóxicos) à planta e ao ambiente, ou simplesmente possuem a habilidade de compartimentalizar as moléculas do agrotóxico. Como a massa vegetal das plantas anteriormente cultivadas foi retirada, junto pode ter sido retirado o herbicida que estava compartimentalizado em algum órgão de reserva, permitindo assim o desenvolvimento normal das plantas de arroz. Salte et al. (1998), afirma que a maioria dos orgânicos parece sofrer algum grau de transformação nas células das plantas antes de serem isolados em vacúolos ou ligarem-se a estruturas celulares insolúveis, como a lignina.

Outra possibilidade é a fitoestimulação, na qual há o estímulo à atividade microbiana, promovido pela liberação de exsudatos radiculares, que atuam degradando o composto no solo, o que caracteriza, em algumas plantas, a aptidão rizosférica para a biorremediação de compostos tóxicos (ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000; SCRAMIN et al., 2001). Alguns estudos indicam que *Stizolobium aterrimum* e *Canavalia ensiformis* são eficientes na descontaminação de áreas tratadas com os herbicidas trifloxysulfuron-sódio e tebuthiuron e que o provável mecanismo envolvido na descontaminação é a interação da fitoestimulação e fitodegradação (PROCÓPIO et al. 2005a). Em outro trabalho, a permanência ou retirada da parte aérea das plantas de *C. ensiformis* e *S. aterrimum* da área contaminada com trifloxysulfuron-sódio, após o período de remediação, não interferiu no desenvolvimento posterior de plantas de feijão, indicando que o produto pode estar sendo degradado internamente nos tecidos (fitodegradação) ou inativado por outros mecanismos rizosféricos, sendo, provavelmente, a fitoestimulação da microbiota associada à rizosfera (PROCÓPIO et al., 2006).

Para certas características das plantas e condições ambientais, a absorção radicular de xenobióticos da água está diretamente relacionada ao logaritmo do coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}) do composto. De acordo com Briggs et al. (1982), o fluxo transpiratório, fundamental para promover o carreamento do químico absorvido para a parte aérea das plantas, levando à fitodegradação, é maior quando o Log K_{ow} do pesticida varia de 0,5 a 3,0, sendo maior a absorção quando o valor de Log K_{ow} é igual a 2,1. Os resultados obtidos neste trabalho não estão de acordo, pois tanto o imazetapir quanto o imazapique possuem valores de K_{ow} distantes de 2,1 e mesmo assim suas moléculas foram absorvidas e metabolizadas e/ou compartimentalizadas pelas plantas em estudo.

Conclusões

As espécies hibernais *Brassica napus*, *Lolium multiflorum*, *Vicia sativa*, *Raphanus sativus*, *Trifolium pratense*, *Trifolium vesiculosum*, *Triticum aestivum* e das espécies estivais *Crotalaria juncea*, *Canavalia ensiformis*, *Glycine max* e *Stizolobium aterrimum*, cultivadas em vasos, são capazes de reduzir o efeito da

mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹) sobre as plantas de arroz não tolerantes à esses herbicidas, em comparação com o solo não cultivado.

Mesmo sendo apresentada este elenco de espécies consideradas fitorremediadoras, deve-se preconizar o uso preferencial das espécies vegetais *Glycine max* e *Lolium multiflorum* por serem estas adaptadas a solos de ambientes hidromórficos, característica essa encontrada em solos de várzea. Além disto, faz-se necessário estudar o efeito dessas espécies em descontaminar solos em nível de campo e verificar se elas são suficientemente eficientes na redução do residual do herbicida a ponto de evitar a redução de produtividade do arroz irrigado.

O uso da fitorremediação poderá resultar em maior segurança do cultivo do arroz não tolerante em áreas onde esse herbicida tenha sido aplicado. Além disso, o cultivo das espécies consideradas remediadoras citadas acima, após a aplicação desta mistura formulada, contribuirá para a redução do risco de ocorrência de impactos ambientais adversos, como a contaminação de recursos hídricos subterrâneos, porém esses resultados precisam ser testados também em nível de campo.

Referências bibliográficas

ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F. et al. (Eds.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 1, p. 299-352, 2000.

BALL, D. A.; YENISH, J. P.; ALBY, T. Effect of imazanox soil persistence on dryland rotational crops. **Weed Technology**, v. 17, n. 1, p. 161-165, 2003.

BRIGSS, G. G.; BROMILOW, R. H; EVANS, A. A. Relationship between lipphilicity and root uptake and translocation of non-ionized chemicals by barley. **Pesticide Science**, v. 13, p. 495-504, 1982.

BURKEN, J. G.; SCHNOOR, J. L. Phytoremediation: plant uptake of atrazina and role of root exudates. **Journal Environmental Engineering**, v. 122, p. 958-963, 1996.

CORREA, M. et al. Seleção de plantas com potencial para remediação de solos contaminados pelo herbicida diclosulam. I. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 27., 2010, Ribeirão Preto. **Resumos...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, 2010. p. 3368-3371.

CUNNINGHAM, S. D. et al. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 56, p. 55-114, 1996.

FERRO, A. M.; SIMS, R. C.; BUGBEE, B. Hycrest crested wheatgrass accelerates the degradation of pentachlorophenol in soil. **Journal of Environmental Quality**, v. 23, p. 272-279, 1994.

KRUGER, E. L. et al. Atrazina degradation in pesticide-contaminated soils: phytoremediation potential. In: PHYTOREMEDIATION OF SOIL AND WATER CONTAMINANTS, 1997, Washington, DC. **Symposium Series...** Washington, DC: American Chemical Society, 1997. p. 54-64.

LAMEGO, F. P.; VIDAL, R.A. Fitorremediação: plantas como agentes de despoluição?. **Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 17, 2007.

LOUX, M. M.; REESE, K. D. Effect of soil pH on adsorption and persistence of imazaquin. **Weed Science**, v. 40, n. 3, 1993.

MELO, I. S. et al. **Biodegradação**. 1ed. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2001. 426 p.

MELO, I. S.; SILVA, C. M. M. S. Biorremediação de solos poluídos. In: ALMEIDA, M. R.; BORÉM, A.; SANTOS, F. R. **Biotecnologia de A a Z**. 1ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, v. 1, p. 95-125, 2003.

NEWMAN, L. A. et al. Phytoremediation of organic contaminants: a review of phytoremediation research at the university of Washington. **Journal of Soil Contaminant**. v. 7, p. 531-542, 1998.

PERKOVICH, B. S. et al. Enhanced mineralization of [14C] atrazine in *K. scoparia* rhizosferic soil from a pesticide contaminated site. **Pesticide Science**, v. 46, p. 391-396, 1996.

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

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

PIRES, F. R. et al. Seleção de plantas com potencial para fitorremediação de tebuthiuron. **Planta Daninha**, v. 21, p. 451-458, 2003c.

PROCÓPIO, S. O. et al. Potencial de espécies vegetais para a remediação do herbicida trifloxysulfuron-sodium. **Planta Daninha**, v. 23, n. 1, p. 9-16, 2005a.

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, 2005b.

PROCÓPIO, S. O. et al. Fitorremediação de solo contaminado com trifloxysulfuron-sodium por diferentes densidades populacionais de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L). DC.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 3, p. 444-449, 2006.

RENNER, K. A.; SCHABENBERGER, O.; KELLS, J. J. Effect of tillage application method on corn (*Zea mays*) response to imidazolinone residues in soil. **Weed Technology**, v. 12, n. 2, p.281-285, 1998.

SALT, D. E., SMITH, R. D., RASKIN, I. Phytoremediation. **Annual Review in Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 49, n. 1, p. 643-668, 1998.

SANTOS, J. B. et al. Fitorremediação do herbicida trifloxysulfuron-sodium . **Planta Daninha**, v. 22, n. 2, p. 323-330, 2004.

SCRAMIN, S.; SKORUPA, L. A.; MELO, I. S. 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. et al. **Biodegradação**, Jaguariúna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente, 2001. p. 369-371.

SEEFELDT, S. S; JENSEN, J. E; FUERST, P. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships. **Weed Technology**, Champaign, v. 9, n. 2, p. 218-225, 1995.

SPILBORGH, M.C.F.; CASARINI, D.C.P. Biorremediação do solo contaminado com compostos orgânicos. **Revista Meio Ambiente Industrial**, n. 12, p. 66-69, 1998.

VOSE, J.M. et al. Leaf water relations and sapflow in Eastern cottonwood (*Populus deltoides* Bartr.) trees planted for phytoremediation of a groundwater pollutant. **International Journal Phytoremediation**, v. 2, p. 53-73, 2000.

WILSON, P. C.; WHITWELL, T.; KLAINÉ, S. J. Phytotoxicity, uptake, and distribution of ¹⁴C-simazine in *Acorus gramineus* and *Pontederia cordata*. **Weed Science**, Champaign, v. 48, p. 701-709, 2000.

WITT, W. W.; FLINT, J. F. Microbial degradation of imazaquin and imazethapyr. **Weed Science**, v. 45, p. 586-591, 1997.

YOSHIDA, S. **Fundamentals of rice crop science**. Manila, The International Rice Research Institute, 1981. 269p.

- CAPÍTULO IV -

ATIVIDADE RIZOSFÉRICA DE ESPÉCIES VEGETAIS FITORREMEIADORAS DE SOLO CONTAMINADO COM OS HERBICIDAS IMAZETAPIR E IMAZAPIQUE

Resumo

A fitoestimulação basea-se na liberação de rizodeposições que estimulam a atividade microbiana responsável pela degradação de compostos orgânicos no solo, caracterizando, em algumas plantas, a aptidão rizosférica para a biorremediação de compostos tóxicos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do solo rizosférico de seis espécies vegetais com potencial para fitorremediação na degradação do herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹). Foi analisado o solo rizosférico das espécies *Canavalia ensiformis*, *Glycine max*, *Lolium multiflorum*, *Lotus corniculatus*, *Stizolobium aterrimum* e *Vicia sativa*; e de uma testemunha (sem planta), com a presença do herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹), nas doses de 0, 250, 500, 1000 e 4000 mL ha⁻¹. A taxa de liberação de C-CO₂, foi quantificada semanalmente até os 65 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT) e a detecção e quantificação dos herbicidas imazetapir e imazapique foi realizado por LC-MS-MS. A maior atividade metabólica, evidenciada pelo desprendimento de CO₂, observada em solo vegetado com as espécies vegetais *Lotus corniculatus*, *Lolium multiflorum*, *Vicia sativa*, *Canavalia ensiformis*, *Stizolobium aterrimum* e *Glycine max*, permiti inferir que estas espécies podem influenciar a atividade da microbiota presente na rizosfera das mesmas, resultando na mineralização dos herbicidas imazetapir e imazapique.

Palavras-chave: Ambiente. Biorremediação. Rizodeposição.

Introdução

Em solos cultivados com determinadas espécies de plantas, tem sido observada uma redução mais rápida dos contaminantes, em comparação com solos cultivados com outras espécies ou em solos sem cultivo (SANTOS et al., 2009). O desaparecimento de xenobióticos em solos cultivados tem sido, geralmente, atribuído a degradação microbiana na rizosfera das plantas, zona das raízes influenciada por grande número de espécies de microrganismos, devido à exsudação de nutrientes das plantas, tais como aminoácidos e polissacarídeos (ARTHUR et al., 2000).

A rizosfera é um ecossistema capaz de promover crescimento microbiano altamente especializado, suportando populações até 100 vezes maiores do que as comumente encontradas em ambientes isentos de raízes (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Por essa razão, este ambiente pode ser um ótimo sítio de degradação de compostos orgânicos indesejáveis, graças à comunidade microbiana associada (fungos, bactérias e actinomicetos), que podem em alguns casos, utilizar os contaminantes como fonte de carbono primário e nutrientes (PIRES et al., 2005b).

Muitos microrganismos são capazes de transformar parcialmente os compostos químicos sem que este forneça energia para o organismo degradador (ALEXANDER, 1999). O processo denominado co-metabolismo é muito importante para a biorremediação, porque compostos de alto peso molecular, extremamente recalcitrantes, que não são utilizados diretamente pelos microrganismos são provavelmente degradados através desse processo (TAKAKI et al., 2008).

A ação desses organismos associados às raízes das plantas, acelerando a degradação de compostos no solo, é conhecida como fitoestimulação e constitui-se um dos principais mecanismos de fitorremediação de herbicidas no solo (CUNNINGHAM et al., 1996; ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000). A fitoestimulação baseia-se na rizodeposição de uma infinidade de compostos orgânicos, que auxiliam os microrganismos na degradação de poluentes, principalmente porque esses compostos estimulam a atividade metabólica da microbiota existente no entorno das raízes, bem como sua multiplicação.

Vários fatores afetam os microrganismos associados à rizosfera, podendo, também, afetar o processo de fitorremediação. Dentre estes, podem ser citados os

seguintes: características do solo, como teor de argila e matéria orgânica, pH, disponibilidade de elementos, conteúdo de água e aeração (TAUK, 1990); e características das plantas, como espécie, vigor, profundidade do sistema radicular, número e tamanho de raízes, quantidade de exsudados, materiais solúveis, mucigel, mucilagem e células mortas produzidas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A capacidade de modificação do pH na região rizosférica tem grande importância no processo de rizodegradação, influenciado pela eliminação de prótons e, principalmente, pelos exsudados radiculares, absorção de nutrientes pelo sistema radicular e processos como a fixação biológica do N_2 pela simbiose entre leguminosas e diazotróficos do solo (HOUOT et al., 2000). Modificações nos valores de pH podem tornar a remediação dos herbicidas mais acelerada (HOUT et al., 2000).

A biodegradação de um herbicida no solo também é função de características como concentração, composição química e biodegradabilidade do composto, bem como propriedades físico químicas do contaminante (pH, condutividade elétrica, solubilidade em água, ponto de ebulição), e da capacidade adsortiva do solo (MESSIAS; SILVA, 2008). Quando um herbicida é adsorvido aos colóides do solo de tal maneira que sua concentração, em meio aquoso, torna-se reduzida, esta baixa concentração pode não induzir os microrganismos a produzirem enzimas degradativas (SOUZA et al., 1999).

Embora os agrotóxicos possam ter efeito negativo na população microbiana, estudos mostram que bactérias podem resistir, e até mesmo proliferar, na presença de agrotóxicos em elevadas concentrações, maiores que as taxas aplicadas no campo (MARTESSON, 1992). Para esse tipo de estudo, a taxa de evolução de CO_2 do solo tem sido utilizada como índice da atividade microbiana (SOUZA et al., 1999), bem como a biomassa microbiana (STENBERG, 1999), quociente metabólico (qCO_2) (ANDERSON; DOMSCH, 1985 apud SANTOS, 2005), porcentagem de colonização das raízes por fungos micorrízicos e número e atividade de nódulos na fixação de N_2 , no caso de leguminosas (PAUL; HAO, 1999).

Vários trabalhos demonstram a contribuição das plantas na estimulação, por meio da atividade microbiana associada às raízes destas, na degradação de muitos herbicidas, em especial atrazina, metalachlor e trifloxysulfuron-sódio (ANDERSON et al., 1994; PERKOVICH et al., 1996; BURKEN; SCHNOOR, 1996; SANTOS et al., 2007).

O processo de degradação de herbicidas pertencentes ao grupo químico das imidazolinonas, grupo ao qual pertencem os herbicidas imazetapir e imazapique, é caracterizado por ser lento, porém contínuo (MANGELS, 1991). Esses herbicidas contam com a degradação microbiana (GOETZ et al., 1990) e a decomposição fotolítica (ALISTER; KOGAN) como principais mecanismos de dissipação. Tanto o imazetapir quanto o imazapique sofrem limitada biodegradação sob condições anaeróbicas (SENSEMAN, 2007).

Quando as condições ambientais favorecem o desenvolvimento dos microrganismos e a biodisponibilidade dos herbicidas, a degradação das imidazolinonas aumenta. Para Flint e Witt (1997), a degradação microbiana de herbicidas como o imazetapir e do imazaquim é limitada pelas baixas temperaturas e baixos teores de umidade.

A possibilidade de que as raízes das plantas aumentem a degradação microbiana de moléculas xenobióticas abre novos caminhos na resolução de problemas relacionados à contaminação ambiental, pelo uso da vegetação e sua microbiota associada. O nível de degradação de um xenobiótico depende muito das características do produto, do microrganismo envolvido e do ambiente. Esse conjunto de fatores determina os produtos formados, tornando-se de grande importância na biorremediação/fitorremediação, que idealmente busca atingir a mineralização para eliminar os efeitos residuais do produto em potencial.

Em vista do exposto, este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do solo rizosférico de seis espécies vegetais com potencial para fitorremediação na degradação do herbicida composto pela mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹).

Material e Métodos

A primeira etapa do experimento foi realizada em casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia junto à Universidade Federal de Santa Maria, RS, no ano agrícola de 2010. No período compreendido entre os meses de março a maio foram cultivadas as espécies estivais *Canavalia ensiformis*, *Glycine max* e *Stizolobium aterrimum* em vasos contendo 3 dm³ de solo de várzea livre de herbicida. Sendo este previamente corrigido em relação à acidez e teor de nutrientes de acordo com recomendações para a cultura da soja. Os mesmos procedimentos foram realizados com as espécies hibernais *Lolium multiflorum*, *Lotus corniculatus* e *Vicia sativa*, cultivadas no período compreendido entre os meses de junho a agosto do mesmo ano. Cinquenta e cinco dias após a emergência, as plantas inteiras foram retiradas dos vasos e as amostras do solo aderido às raízes (solo rizosférico) foram coletadas para a aplicação dos tratamentos. Simultaneamente, as amostras de solo mantidas sob as mesmas condições, mas sem cultivo (solo não-rizosférico), foram coletadas como controle.

A segunda etapa do experimento realizou-se no Laboratório de Herbologia Professor Loreno Covolo pertencente a Universidade Federal de Santa Maria, no ano de 2010. Essa etapa foi dividida em dois momentos (experimentos), de acordo com a época de cultivo das espécies testadas.

O primeiro experimento foi realizado nos meses de maio a julho, onde as amostras de solo rizosférico das espécies estivais foram peneiradas em peneira de 2,0 mm de abertura de malha, secas à sombra por 24 horas, pesadas (100g) e, acondicionadas em frascos de vidro. Logo após, uma solução de imazetapir+imazapique, na concentração de 75 + 25 g e.a. L⁻¹ do produto técnico foi adicionada em diferentes doses (tratamentos), utilizando-se pipetador de precisão. Foi feita a aplicação de água necessária para alcançar o mesmo teor de umidade para todos os tratamentos (80% da capacidade de campo do solo). O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (4 x 5), contendo três repetições. Os tratamentos foram compostos pela combinação de amostras de solo rizosférico das três espécies vegetais em questão: *Canavalia ensiformis*, *Glycine max* e *Stizolobium aterrimum*, mais amostra de solo não-

rizosférico; e de cinco doses da mistura formulada de imazetapir+imazapique: zero, 250, 500, 1000, 4000 mL ha⁻¹, totalizando 60 parcelas.

O segundo experimento foi conduzido da mesma forma que o primeiro, porém no período compreendido entre os meses de agosto a outubro e com o solo rizosférico das espécies hibernais avaliadas: *Lolium multiflorum*, *Lotus corniculatus* e *Vicia sativa*.

Os frascos foram equipados com aparato de captura de CO₂, composto por um copo plástico de 50 mL com 20 mL de NaOH (hidróxido de sódio) 0,5 molar (M), fechados hermeticamente e incubados em triplicata, a temperatura ambiente no laboratório (20 a 25°C). Durante um período de 63 dias, semanalmente os frascos eram abertos, a solução de NaOH recebia um mL de BaCl₂ (cloreto de bário) 1 M e era titulada com HCl (ácido clorídrico) 1,0 M, utilizando fenolftaleína como indicador. A solução de HCl foi padronizada com tris, conforme Tedesco et al. (1995). Dois frascos foram incubados sem solo, sendo estes utilizados como prova em branco. A produção de C-CO₂ foi expressa em mg por kg de solo seco.

A produção de C-CO₂ foi quantificada através da fórmula de Stotzky (1965):

$$\text{C-CO}_2 \text{ (mg kg}^{-1} \text{ de solo)} = (\text{B-T}) \times \text{eq} \times \text{M} \times 10$$

onde B é o volume (em mL) da solução de HCl gasto para titular a prova em branco (frasco respirométrico sem solo); T é o volume (em mL) da solução de HCl gasto para titular os tratamentos; eq é o equivalente-grama do C, que é 6; M é a molaridade da solução padronizada de HCl e 10 é o fator de conversão para kilograma de solo.

Ao final do período de incubação, as referidas amostras de solo foram acondicionadas em sacos de papel e encaminhadas ao Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas (LARP-UFSM), onde foi realizada a detecção e a quantificação, utilizando-se cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (LC-MS-MS), dos herbicidas imazetapir e imazapique ainda existentes nas amostras de solo rizosférico das plantas estudadas. A técnica de LC-MS-MS é uma importante ferramenta analítica para a análise de pequenas moléculas em diversas matrizes biológicas. Os benefícios deste acoplamento são decorrentes da combinação do alto poder de separação da cromatografia líquida com a seletividade e sensibilidade da espectrometria de massa.

Os dados foram analisados quanto a homogeneidade da variância e normalidade, sendo submetidos aos procedimentos de análise da variância e regressão polinomial, através do programa computacional SAS, para a análise estatística, e SigmaPlot[®], para confecção das equações de regressão referentes a taxa de evolução de C-CO₂.

Resultados e Discussão

Com base na avaliação da taxa de liberação do C-CO₂ do solo, observou-se que 63 dias de incubação foram suficientes para uma boa estimativa do total acumulado de C-CO₂, uma vez que neste intervalo de tempo, a liberação do total de gases apresentou tendência de estabilização, independente da concentração aplicada da mistura herbicida. Observou-se o efeito do solo rizosférico na taxa de evolução acumulada de C-CO₂, de acordo com a concentração utilizada da mistura herbicida para as espécies hibernais (Figura 8) e estivais (Figura 9).

Observou-se comportamento crescente para os valores de acúmulo de CO₂ com o aumento da concentração herbicida aplicada ao longo do período de incubação das amostras de solo. O comportamento polinomial quadrático das curvas de evolução, que mostra um decréscimo na produção de CO₂ na dose de 4000 mL ha⁻¹ da mistura herbicida utilizada, pode ser explicado pelo fato de que, nesta dose, houve efeito tóxico sobre os microrganismos existentes no solo rizosférico, comprometendo a atividade degradadora e/ou provavelmente provocando a morte destes.

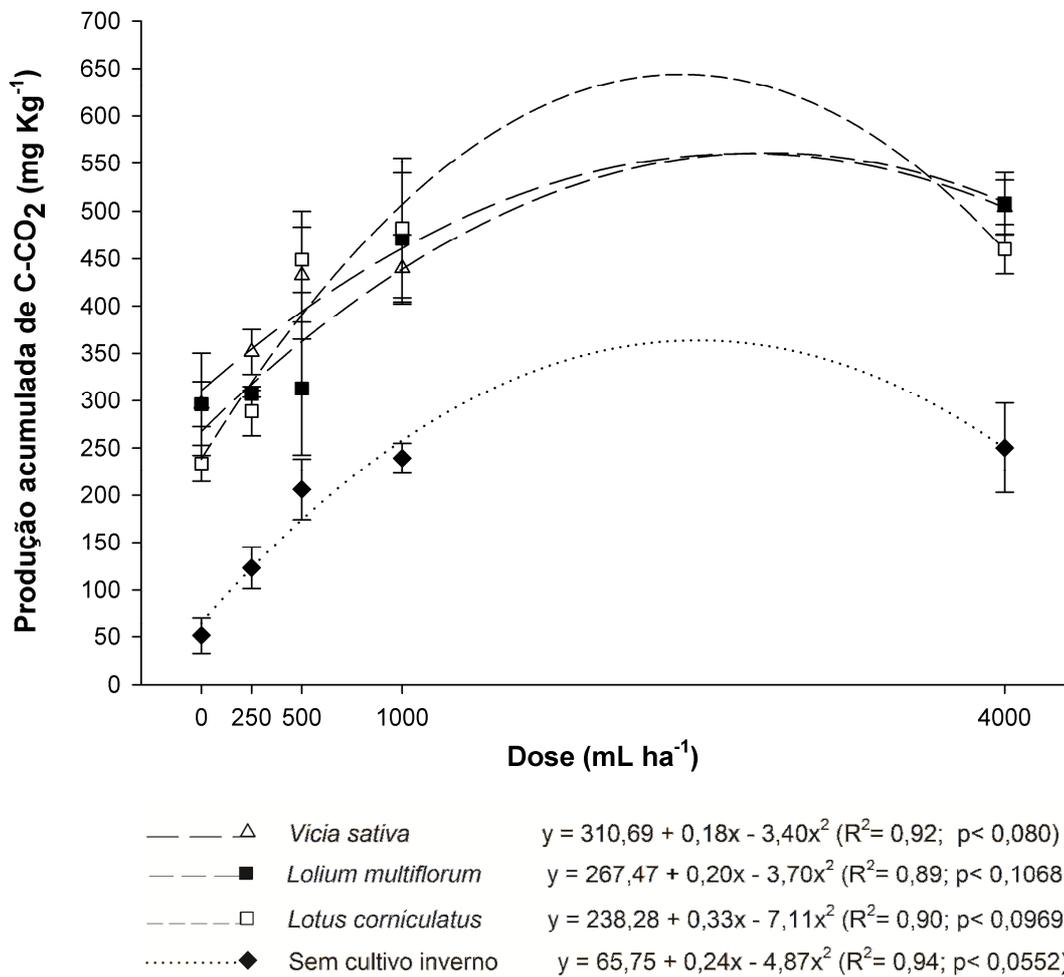


Figura 8 - Produção acumulada de CO₂ em solo rizosférico das espécies hibernais após 63 de incubação em função da dose correspondente a mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹). Santa Maria, RS. 2010.

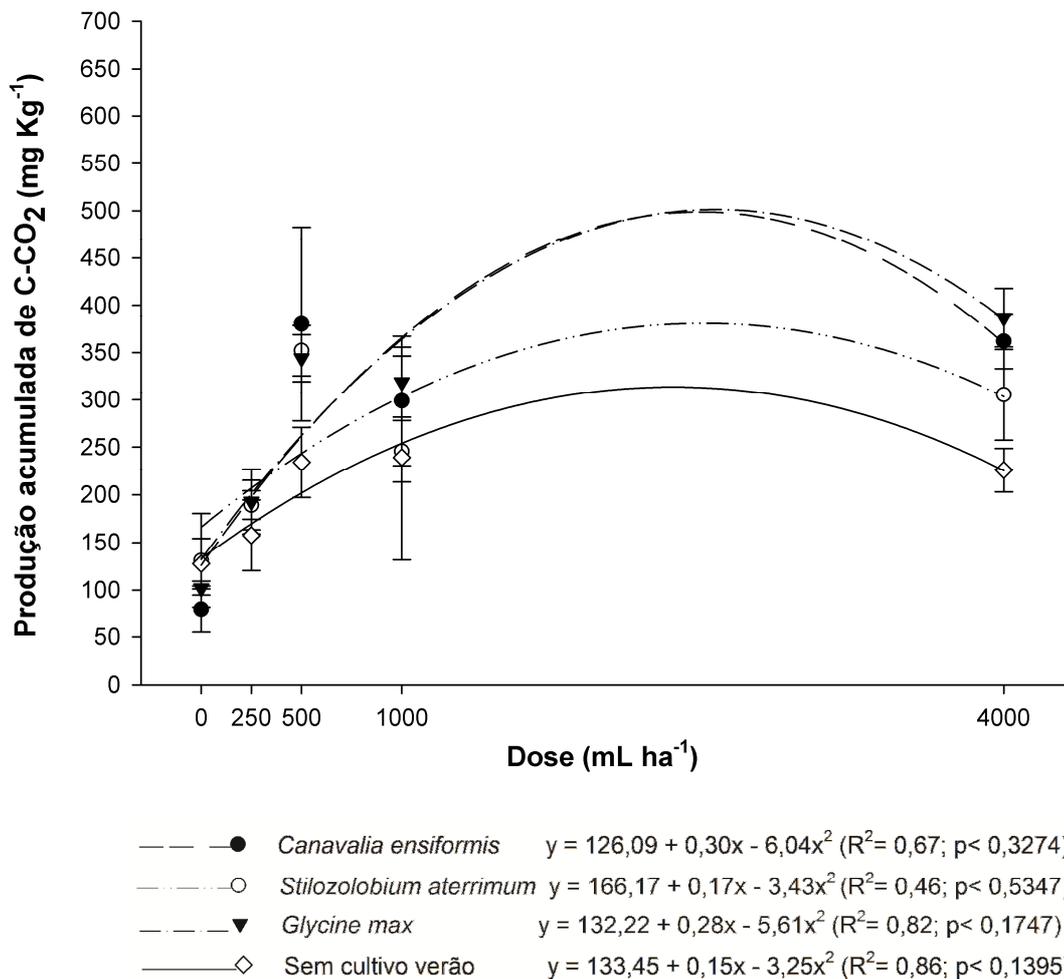


Figura 9 - Produção acumulada de CO₂ em solo rizosférico das espécies estivais após 63 de incubação em função da dose correspondente a mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹). Santa Maria, RS. 2010.

O maior acúmulo de CO₂ foi observado no solo rizosférico das espécies hibernais *Lotus corniculatus*, *Lolium multiflorum* e *Vicia sativa*, independente da dose herbicida aplicada, sendo que estas não diferiram significativamente entre si. A menor atividade metabólica, evidenciada pelo desprendimento de CO₂, foi verificada no solo não cultivado independente da dose da mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹) adicionada (Figura 8).

Para as espécies estivais, as maiores taxas de liberação de CO₂ acumulado foram observadas nas espécies *Glycine max*, *Canavalia ensiformis* e *Stizolobium aterrimum*, não havendo diferença significativa entre elas (Figura 9). Da mesma forma que observado para as espécies hibernais, o solo não cultivado apresentou o menor acúmulo de CO₂, evidenciando menor atividade metabólica nesse solo.

É provável que a maior atividade observada no solo cultivado e posteriormente contaminado com herbicida, em comparação com o solo sem cultivo prévio, se deva à maior população de microrganismos e maior concentração de carbono na região das raízes, devido habilidade que, provavelmente, estas plantas possuem em secretar uma vasta gama de moléculas de alto e baixo peso molecular na rizosfera, um processo chamado rizodeposição, que segundo Marriell et al. (2005), resulta na proliferação de microrganismos dentro da raiz (endorrizosfera), sobre a raiz (rizoplano) e ao redor da raiz (ectorrizosfera), conferido à rizosfera características químicas, físicas e biológicas diferentes das do solo livre de raízes (não rizosférico).

Pires et al. (2005) observaram que o solo rizosférico tratado com tebuthiuron apresentou maior desprendimento de CO₂, se comparado ao solo não vegetado, sendo este fato atribuído à fitoestimulação da microbiota associada à rizosfera. Acredita-se que a degradação dos herbicidas imazetapir e imazapique, em solo vegetado, seja beneficiada pelo efeito rizosférico. Vários trabalhos relatam o benefício da vegetação na atividade microbiana (SANTOS et al. 2006; 2007).

Considerando-se a complexidade do sistema radicular no solo, quanto à possibilidade de interações com microrganismos e à variedade de compostos presentes, várias são as possibilidades de quebra de compostos xenobióticos, bem como a degradação de compostos endógenos do solo, como materiais húmicos e compostos orgânicos, por meio da rizodegradação, mecanismo que contribui, de maneira integrada, à fitoestimulação (SANTOS et al. 2007). Nesse sentido, a variedade de compostos, bem como o estágio fenológico e a idade da planta, podem garantir maior sucesso no processo de descontaminação (SANTOS et al. 2010).

A taxa de liberação de C-CO₂ observada refere-se a quantidade de CO₂ liberado pela microbiota do solo quando esta degrada componentes presentes no mesmo. Esta "respiração do solo" consiste em um indicador sensível da decomposição de resíduos, volume de carbono orgânico metabolizado e perturbações no ecossistema do solo (PAUL et al., 1999).

Cabe ressaltar que esta liberação de C-CO₂, pode ser proveniente não só da mineralização das moléculas da mistura formulada de imazetapir+imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹) aplicada no solo, mas também da mineralização da matéria orgânica presente no mesmo, bem como dos próprios compostos liberados pelas raízes das plantas (rizodeposição) ou dos compostos adjuvantes existentes da formulação da mistura herbicida utilizada. Além das moléculas herbicidas, ocorre também a decomposição da fração húmica do solo, que pode ser desfavorável para muitos processos físico-químicos, tais como agregação, capacidade de troca de cátions e retenção de água (TÓTOLA; CHAER, 2002). Assim, altas taxas de respiração microbiana podem indicar tanto uma perturbação ecológica quanto um ecossistema com alto nível de produtividade.

A alta taxa de mineralização dos herbicidas, bem como a alta taxa de liberação de C-CO₂ acumulado, deve-se ao fato de que as condições em que o experimento foi realizado foram as mais favoráveis possíveis (umidade e temperatura), originando um ambiente propício para que a atividade microbiana fosse otimizada, independente da fonte de energia utilizada.

Na tentativa de superar este problema, a detecção e a quantificação dos herbicidas imazetapir e imazapique foi realizada utilizando-se LC-MS-MS. Os resultados mostram que não houve diferença significativa entre os valores recuperados das moléculas de imazetapir, tanto para as espécies hibernais (Figura 10A) como para as espécies estivais (Figura 10B), bem como para as moléculas de imazapique (Figura 11A e B) observando-se elevada mineralização dos herbicidas adicionados ao solo rizosférico, independente se o solo foi ou não cultivado (Tabela 5 e 6).

Não foi encontrada diferença significativa entre os tratamentos porque a análise de LC-MS-MS só foi realizada quando a produção de C-CO₂ estava estabilizada, ou seja, quando todos os compostos passíveis de serem utilizados como substrato, como material húmico, materiais provenientes da rizodeposição das plantas e as moléculas dos herbicidas, já teriam sido degradados. Sendo assim, qualquer diferença que poderia haver entre os tratamentos foi eliminada pelo tempo de incubação.

A produção de C-CO₂ revelou que na dose de 4000 ml ha⁻¹ ocorreu proporcionalmente menor mineralização em comparação com as doses menores. Porém, os resultados da cromatografia revelam que os ingredientes ativos dos

herbicidas utilizados foram degradados quase que em sua totalidade (média de 94% de mineralização). Isto indica que as diferenças observadas na respirometria devem-se a mineralização diferenciada dos adjuvantes, que demonstraram efeito inibidor da atividade microbiana na concentração de 4000 ml ha⁻¹ da mistura formulada de imazetapir+imazapique.

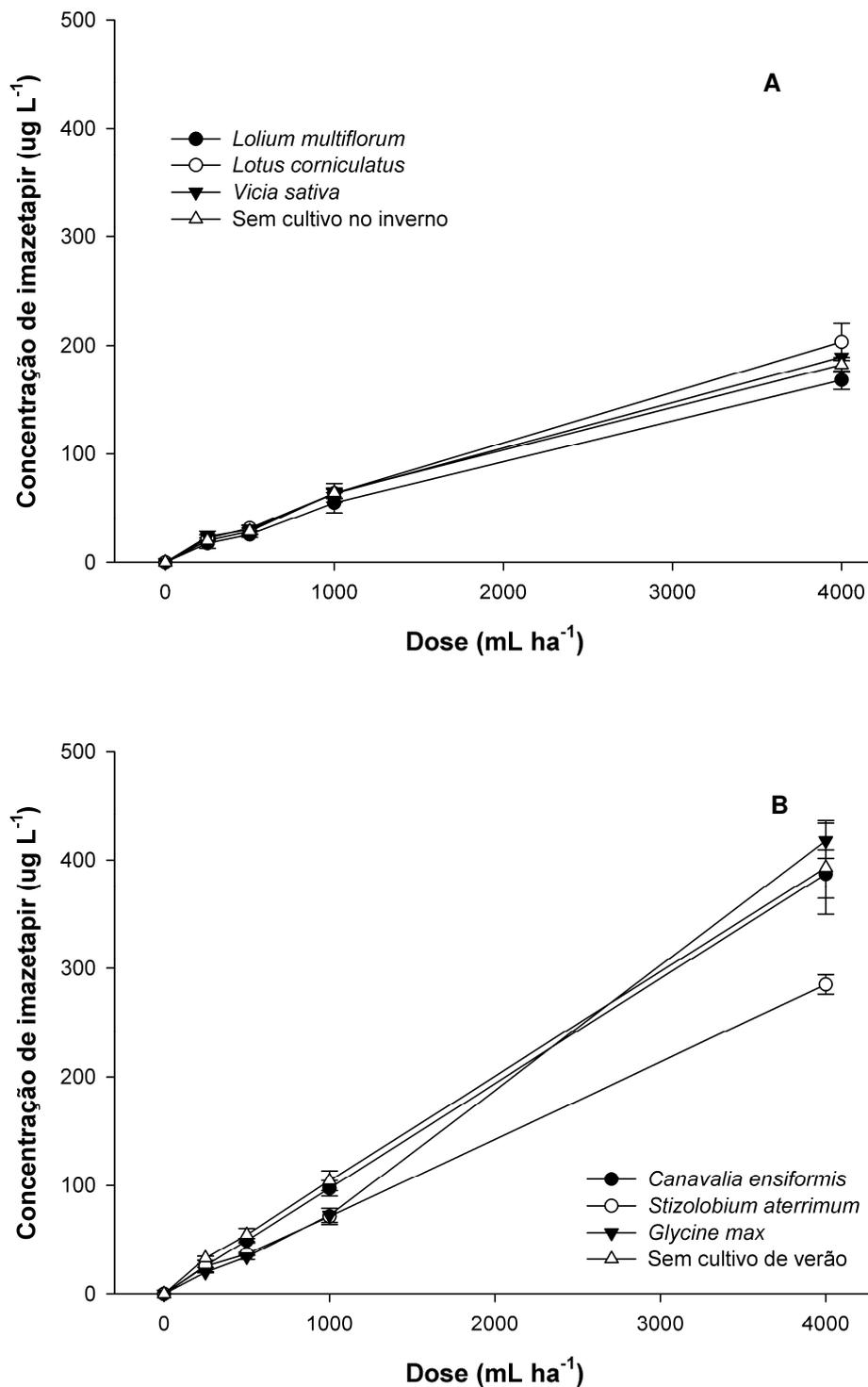


Figura 10 - Concentração do herbicida imazetapir encontrado em solo rizosférico das espécies hibernais *Lolium multiflorum*, *Lotus corniculatus*, *Vicia sativa* e solo sem cultivo no inverno (A) e das espécies estivais *Canavalia ensiformis*, *Stizolobium aterrimum*, *Glycine max* e sem cultivo no verão (B), após 63 DAT de incubação. Santa Maria, RS. 2010.

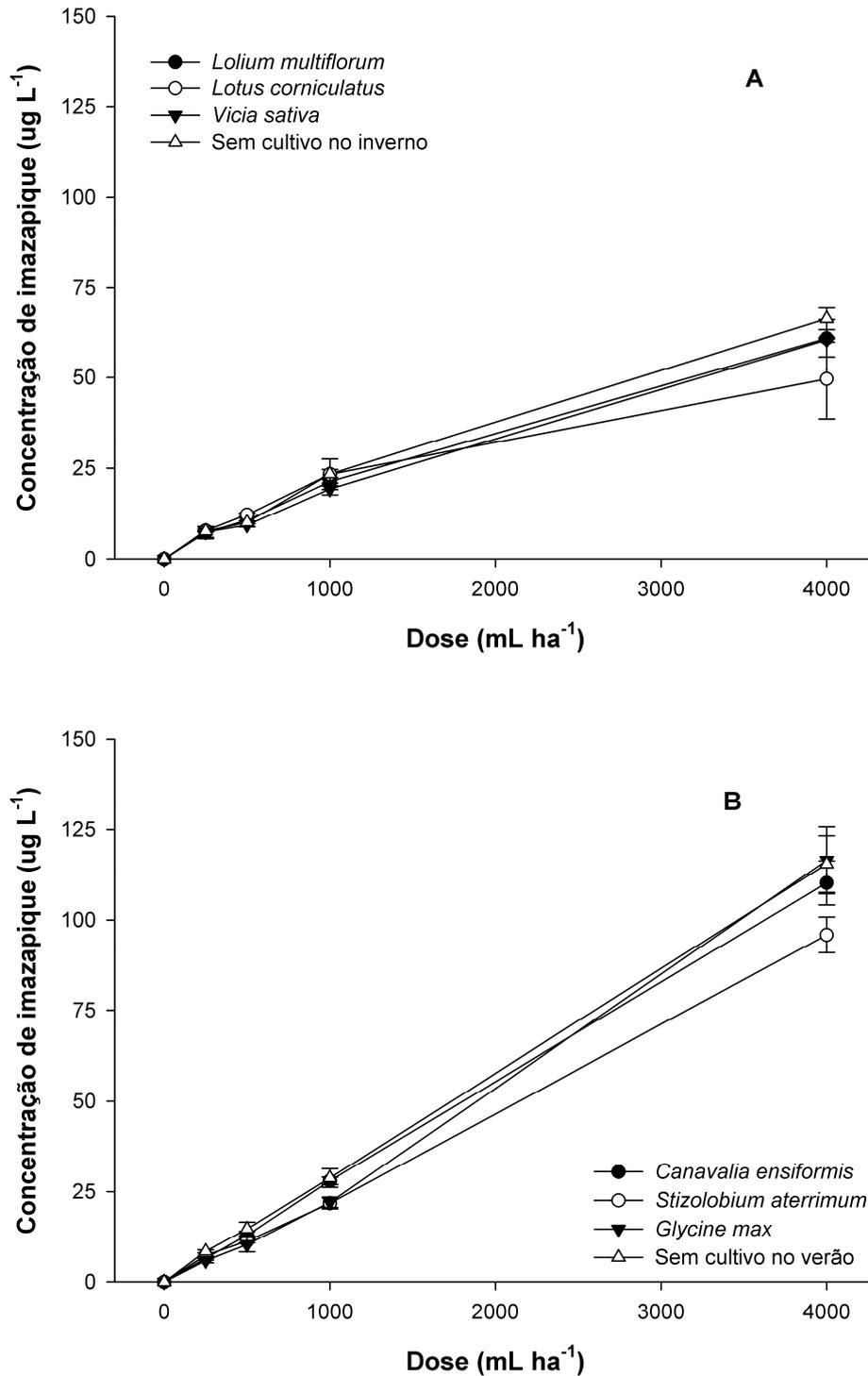


Figura 11- Concentração do herbicida imazapicque encontrado em solo rizosférico das espécies hibernais *Lolium multiflorum*, *Lotus corniculatus*, *Vicia sativa* e solo sem cultivo no inverno (A) e das espécies estivais *Canavalia ensiformis*, *Stizolobium aterrimum*, *Glycine max* e sem cultivo no verão (B), após 63 DAT de incubação. Santa Maria, RS. 2010.

Tabela 5 - Quantidade dos herbicidas imazapir e imazapique aplicados, recuperados por LC-MS-MS, transformados e % de mineralização aos 63 DAT em função da dose do herbicida e da cultura hiberna utilizada. Santa Maria, RS. 2010.

Cultura	Doses mL ha ⁻¹	Imazetapir				Imazapique			
		Aplicado ----- ug/Litro -----	Recuperado ----- ug/Litro -----	Mineralizado ----- ug/Litro -----	Mineralização %	Aplicado ----- ug/Litro -----	Recuperado ----- ug/Litro -----	Mineralizado ----- ug/Litro -----	Mineralização %
<i>Lolium multiflorum</i>	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	250	331,34	17,49	313,85	94,79 ± 4,52	110,5	7,26	103,19	93,42 ± 1,31
	500	662,68	25,52	645,67	92,57 ± 0,29	220,9	10,72	210,18	95,14 ± 0,73
	1000	1325,36	55,03	1270,33	92,64 ± 0,48	441,8	21,31	420,48	95,17 ± 0,23
	4000	5301,44	168,27	5133,17	92,69 ± 0,37	1767,2	60,88	1706,27	96,55 ± 0,26
<i>Lotus corniculatus</i>	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	250	331,34	22,05	309,29	94,02 ± 0,12	110,5	7,86	102,59	92,88 ± 0,33
	500	662,68	31,22	631,46	96,57 ± 2,97	220,9	12,24	208,84	94,54 ± 0,18
	1000	1325,36	63,67	1261,69	94,51 ± 0,43	441,8	23,29	418,50	94,72 ± 0,27
	4000	5301,44	203,50	5097,94	92,11 ± 0,27	1767,2	49,61	1717,54	97,19 ± 2,39
<i>Vicia sativa</i>	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	250	331,34	23,51	307,83	92,34 ± 1,43	110,5	7,48	102,97	93,22 ± 1,21
	500	662,68	30,16	632,52	94,46 ± 0,20	220,9	9,39	211,46	95,72 ± 0,26
	1000	1325,36	63,43	1261,93	94,60 ± 0,49	441,8	20,10	422,50	95,63 ± 0,32
	4000	5301,44	189,60	5175,04	94,62 ± 0,15	1767,2	60,44	1726,86	97,71 ± 1,97
Sem cultivo no inverno	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	250	331,34	19,96	318,03	90,10 ± 0,50	110,5	7,70	105,32	95,35 ± 4,02
	500	662,68	28,46	634,22	91,77 ± 0,81	220,9	10,12	210,66	95,36 ± 0,18
	1000	1325,36	64,2	1282,56	92,11 ± 0,61	441,8	23,34	426,23	96,47 ± 3,11
	4000	5301,44	182,53	5118,91	92,58 ± 0,72	1767,2	66,32	1700,83	96,24 ± 0,15

Tabela 6 - Quantidade dos herbicidas imazapir e imazapir aplicados, recuperados por LC-MS-MS, transformados e % de mineralização aos 63 DAT em função da dose do herbicida e da cultura estival utilizada. Santa Maria, RS. 2010.

Cultura	Doses mL ha ⁻¹	Imazetapir				Imazapir			
		Aplicado	Recuperado	Mineralizado	Mineralização	Aplicado	Recuperado	Mineralizado	Mineralização
		----- ug/Litro -----		----- % -----		----- ug/Litro -----		----- % -----	
<i>Canavalia ensiformis</i>	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	250	331,34	25,88	314,09	94,79 ± 4,52	110,5	6,55	106,08	96,04 ± 3,44
	500	662,68	49,19	613,49	92,57 ± 0,29	220,9	12,93	208,51	94,39 ± 0,05
	1000	1325,36	97,48	1227,88	92,64 ± 0,48	441,8	27,97	413,82	93,66 ± 0,20
	4000	5301,44	387,20	4914,24	92,69 ± 0,37	1767,2	110,27	1656,88	93,76 ± 0,31
<i>Glycine max</i>	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	250	331,34	19,80	311,54	94,02 ± 0,12	110,5	5,88	104,57	94,67 ± 0,50
	500	662,68	34,02	640,00	96,57 ± 2,97	220,9	10,33	216,36	97,94 ± 2,90
	1000	1325,36	72,66	1252,70	94,51 ± 0,43	441,8	22,05	419,74	95,00 ± 0,29
	4000	5301,44	417,77	4883,67	92,11 ± 0,27	1767,2	116,53	1650,62	93,40 ± 0,46
<i>Stizolobium aterrimum</i>	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	250	331,34	25,35	305,99	92,34 ± 1,43	110,5	7,33	103,12	93,36 ± 0,54
	500	662,68	36,70	625,98	94,46 ± 0,20	220,9	11,28	209,85	95,00 ± 2,90
	1000	1325,36	71,50	1253,86	94,60 ± 0,49	441,8	21,78	420,01	95,06 ± 0,31
	4000	5301,44	285,07	5016,37	94,62 ± 0,15	1767,2	95,89	1671,26	94,57 ± 0,25
Sem cultivo no verão	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	250	331,34	32,80	298,54	90,10 ± 0,50	110,5	8,43	102,02	92,37 ± 0,35
	500	662,68	54,48	608,20	91,77 ± 0,81	220,9	14,65	206,16	93,33 ± 1,09
	1000	1325,36	104,55	1220,81	92,11 ± 0,61	441,8	28,78	413,01	93,48 ± 0,52
	4000	5301,44	393,17	4908,27	92,58 ± 0,72	1767,2	115,50	1651,65	93,46 ± 0,39

Conclusão

Os resultados deste trabalho sugerem que os herbicidas imazetapir e imazapique foram preferencialmente utilizados como substrato em comparação com outros componentes da formulação (adjuvantes), devido a elevada mineralização evidenciada pelos resultados obtidos na análise de LC-MS-MS, observados em solo vegetado com as espécies vegetais *Lotus corniculatus*, *Lolium multiflorum*, *Vicia sativa*, *Canavalia ensiformis*, *Stizolobium aterrimum* e *Glycine max*, bem como no solo onde não houve cultivo de espécies vegetais.

Referências bibliográficas

ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F. et al. (Eds.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 1, p. 299-352, 2000.

ALISTER, C.; KOGAN, M. Efficacy of imidazolinone herbicides applied to imidazolinone-resistant maize and their carryover effect on rotational crops. **Crop Protection**, v. 24, n. 4, p. 375-379, 2005.

ANDERSON, T. A.; KRUGER, E. L.; COATS, J. R. Enhanced degradation of a mixture of three herbicides in the rhizosphere of a herbicide-tolerant plant. **Chemosphere**, v. 28, p. 1551-1557, 1994.

ARTHUR, E. L. et al. Degradation of an atrazine and metolachlor herbicide mixture in pesticide-contaminated soils from two agrochemical dealerships in Iowa. **Water Air Soil Poll.**, v. 119, n. 1, p. 75-90, 2000.

CUNNINGHAM, S. D. et al. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 56, p. 55-114, 1996.

DUA, M. et al. Biotechnology and bioremediation: successes and limitations. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 59, n. 2-3, p. 143-152, 2002.

GOETZ, A.; LAVY, T.; GBUR, E. Degradation and field persistence of imazethapyr. **Weed Science**, v. 38, n. 2, p. 421-428, 1990.

HOUOT, S. et al. Dependence of accelerated degradation of atrazine on soil pH in French and Canadian soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 32, p. 615-625, 2000.

MANGELS, G. Behavior of the imidazolinone herbicides in soil – A review of the literature. In: SHANER, D. L., O'CONNOR, S. L. (Eds.). **The imidazolinone herbicides**, Boca Roton: CRC Press, 1991. p.191-209.

MARRIEL, I. E. et al. . Aplicação da Técnica Eletroforese em Gel de Gradiente Desnaturante (DGGE) na Caracterização de Microrganismos Dominantes na Rizosfera de Plantas Cultivadas em Solo Ácido. Minas Gerais: Embrapa Milho e Sorgo (**Circular Técnica**, 72), 2005, 8p

MELO, I. S.; SILVA, C. M. M. S. Biorremediação de solos poluídos. In: ALMEIDA, M. R.; BORÉM, A.; SANTOS, F. R. **Biotechnology de A a Z**. 1ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, v. 1, p. 95-125, 2003.

MOREIRA, F.S.M.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2006.

NASCIMENTO, C. W. A.; BIONDI, C. M. Fitorremediação de solos contaminados por metais pesados. In: FIGUEIREDO, M. V. B. et al. **Microrganismos e agrobiodiversidade: o novo desafio para a agricultura** (Eds). Guaíba: Agrolivros, 2008, 568p.

PAUL, E. A. et al. Evolution of CO₂ and soil carbon dynamics in biologically managed, row-crop agroecosystems. **Applied Soil Ecology**, v. 11, n. 1, p. 53-65, 1999.

PIRES, F. R. et al. Inferências sobre atividade rizosférica de espécies com potencial para fitorremediação do herbicida tebuthiuron. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 29, n. 4, p. 627-634, 2005.

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, E. A. **Microrganismos do solo no manejo integrado de plantas daninhas**. 2009. 47f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Fitotecnia. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SANTOS, E. A. Atividade rizosférica de solo tratado com herbicida durante processo de remediação por *Stizolobium aterrimum*. **Pesquisa Agropecuária tropical**, v. 40, n. 1, p. 1-7, 2010.

SANTOS, J. B. et al. Action of two herbicides on the microbial activity of soil cultivated with common bean (*Phaseolus vulgaris*) in conventional-till and no-till systems. **Weed Research**, v. 46, n. 4, p. 284-289, 2006.

SANTOS, J. B. et al. Biodegradation of glyphosate in rhizospheric soil cultivated with *Glycine max*, *Canavalia ensiformis* e *Stizolobium aterrimum*. **Planta Daninha**, v. 27, n. 4, p. 781-787, 2009.

SOUZA, A. P. et al. Respiração microbiana do solo sob doses de glyphosate e de imazapyr. **Planta Daninha**, v. 17, n. 3, p. 387-398, 1999.

STOTZKY, G. Microbial Respiration. In: BLACK, C. A. (ed.). **Methods in Soil Analysis**. Madison: ASSA, 1965. p. 1550-1572.

TAKAKI, G. M. C; OKADA, K.; NASCIMENTO, A. E. Contaminação do solo e decomposição de xenobióticos. In: FIGUEIREDO, M.V.B. et al. **Microrganismos e Agrobiodiversidade: o novo desafio para a agricultura**. Guaíba: Agrolivros, 2008. 568p.

TAUK, S. M. Biodegradação de resíduos orgânicos no solo. **Revista Brasileira de Geociência**, São Paulo, v. 20, n. 1-4, p. 299-301, 1990.

TEDESCO, M. J. et al. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. 2 ed. Porto Alegre: Departamento de Solos da UFRGS, 1995. 174p.

TÓTOLA, M. R.; CHAER, G. M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: ALVAREZ V., V. H. et al. (Eds.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002. v. 2. p. 195-276.

WALKER, A. Herbicide persistence in soil. **Weed Science**, n. 3, p. 1-18, 1987.

CONCLUSÕES FINAIS

Nos diferentes estudos apresentados neste trabalho de dissertação, sujere-se que medidas adotadas isoladamente são insuficientes para a minimização da contaminação do ambiente, assim sendo, para se obter bons resultados faz-se necessária a aplicação de duas ou mais tecnologias em associação. Nesse contexto a fitorremediação é uma das opções para o tratamento eficiente de áreas contaminadas por herbicidas que apresentam longa meia-vida no solo. Além disso, essa técnica é relativamente barata, comparada a outros processos de descontaminação, podendo ser aplicada em extensas áreas e tendo grande aceitação pela população.

As plantas de arroz, IRGA 417, desenvolveram-se normalmente em solo com residual da mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹), quando este foi submetido ao cultivo prévio das espécies hibernais *Brassica napus*, *Lolium multiflorum*, *Vicia sativa*, *Raphanus sativus*, *Trifolium pratense*, *Trifolium vesiculosum*, *Triticum aestivum* e das espécies estivais *Crotalaria juncea*, *Canavalia ensiformis*, *Glycine max* e *Stizolobium aterrimum*, pois estas possuem capacidade fitorremediadora deste produto, porém, deve-se preconizar o uso preferencial das espécies vegetais *Glycine max* e *Lolium multiflorum* por serem estas adaptadas a solos de ambientes hidromórficos, característica esta encontrada em solos de várzea.

A associação planta/microrganismo das espécies testadas influencia a degradação da mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹), pois a maior atividade metabólica, evidenciada pelo desprendimento de CO₂, observada nas maiores doses dos herbicida imazetapir e imazapique em solo vegetado, sugere que esses compostos foram utilizados como substrato, evidenciando que a rizodeposição das espécies vegetais *Lotus corniculatus*, *Lolium multiflorum*, *Vicia sativa*, *Canavalia ensiformis*, *Stizolobium aterrimum* e *Glycine max* pode influenciar a atividade da microbiota presente na rizosfera das mesmas, porém os resultados foram inconclusivos devido ao tempo de incubação dos tratamentos.

O uso da fitorremediação poderá resultar em maior segurança do cultivo do arroz não tolerante em áreas onde a mistura formulada de imazetapir + imazapique (75 + 25 g e.a. L⁻¹) tenha sido aplicada. Além disso, o cultivo dessas espécies após a

aplicação desse herbicida contribuirá para a redução do risco de ocorrência de impactos ambientais adversos, como a contaminação de recursos hídricos subterrâneos.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Para trabalhos futuros, sugere-se repetir os experimentos de tolerância e potencial fitorremediador da mistura formulada de imazetapir+imazapique á nível de campo com as espécies que apresentaram as melhores respostas, possibilitando assim a interação de agentes externos, tais como umidade e temperatura.

Sugere-se também trabalhar com herbicidas que não sejam inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS) ou que possuam outros modos de ação.

Quanto à possibilidade de espécies vegetais influenciarem na atividade da microbiota presente na rizosfera das mesmas, o ideal para este tipo de estudo, utilizando-se LC-MS-MS, seria a retirada da amostra de solo na metade do tempo de incubação, para que pudessemos observar diferença significativa entre os tratamentos. Também seria interessante a identificação desses microrganismos.

.

.

ANEXOS

Anexo A - Relação de plantas daninhas, distribuídas por família e espécie, citadas durante o texto. Santa Maria, RS. 2010.

(continua)

Nome científico	Nome comum	Família
<i>Avena fatua</i>	Aveia comum	Poacea
<i>Avena strigosa</i>	Aveia preta	Poacea
<i>Brassica napus</i>	Canola	Brassicaceae
<i>Brachiaria brizantha</i>	Braquiária, Capim marandu	Poacea
<i>Brachiaria decumbens</i>	Braquiária, Capim-braquiária	Poacea
<i>Brachiaria humidicola</i>	Braquiária, Capim-agulha	Poacea
<i>Brachiaria ruziziensis</i>	Braquiária, Braquiária-peluda	Poacea
<i>Cajanus cajan</i>	Feijão guandu	Fabaceae
<i>Calopogonium mucunoides</i>	Rabo de iguana, Falso oro	Fabaceae
<i>Canavalia ensiformes</i>	Feijão-de-porco	Fabaceae
<i>Chamaesyce hirta</i>	Erva-de-santa-luzia	Euphorbiaceae
<i>Chamaesyce hyssopifolia</i>	Erva andorinha	Euphorbiaceae
<i>Commelina benghalensis</i>	Trapoeiraba	Commelinaceae
<i>Crotalaria juncea</i>	Crotalária	Fabaceae
<i>Crotalaria spectabilis</i>	Crotalária	Fabaceae
<i>Cynodon dactylon</i>	Gramma-seda	Poaceae
<i>Cyperus rotundus</i>	Tiririca	Cyperaceae
<i>Digitaria horizontalis</i>	Capim-colchão	Poacea
<i>Dolichus lablab</i>	Lab-lab	Fabaceae
<i>Echinochloa crus-galli</i>	Capim-arroz	Poaceae
<i>Eleusine coracana</i>	Capim-pé-de-galinha	Poacea
<i>Euphorbia heterophylla</i>	Amendoim-bravo, leiteiro	Euphorbiaceae
<i>Glycine Max</i>	Soja	Fabaceae
<i>Helianthus annuus</i>	Girassol	Asteraceae
<i>Kochia scoparia</i>	Cipreste de verão	Chenopodiaceae
<i>Lolium multiflorum</i>	Azevém	Poaceae
<i>Lotus corniculatus</i>	Cornichão	Fabaceae
<i>Lupinus albus</i>	Tremoço-branco	Fabaceae

Anexo A - Relação de plantas daninhas, distribuídas por família e espécie, citadas durante o texto. Santa Maria, RS. 2010.

(conclusão)

Nome científico	Nome comum	Família
<i>Panicum maximum</i>	Capim-monbaça	Poacea
<i>Pennisitum glaucum</i>	Milheto	Poacea
<i>Populus deltoides nigra</i>	Álamo	Salicaceae
<i>Raphanus sativus</i>	Nabo-forageiro	Fabacea
<i>Secale cereale</i>	Centeio	Poaceae
<i>Solanum nigrum</i>	Maria-pretinha	Solanaceae
<i>Sorghum bicolor</i>	Sorgo-forageiro	Poaceae
<i>Sorghum halepense</i>	Sorgo-de-alepo	Poaceae
<i>Sorghum sudanense</i> ,	Sorgo-sudão	Poaceae
<i>Stizolobium aterrimum</i>	Mucuna-preta	Fabaceae
<i>Stylosantes guianensis</i>	Estilozantes Mineirão	Fabaceae
<i>Trifolium pratense</i>	Trevo vermelho	Fabaceae
<i>Trifolium repens</i>	Trevo branco	Fabaceae
<i>Trifolium vesiculosum</i>	Trevo vesiculoso	Fabaceae
<i>Triticum aestivum</i>	Trigo	Poaceae
<i>Vicia sativa</i>	Ervilhaca	Fabaceae
<i>Vigna sinensis</i>	Feijão-de-corda	Fabaceae
<i>Zea mays</i>	Milho	Poaceae

Anexo B - Propriedades físico-químicas dos agrotóxicos utilizados nos presentes estudos. Fonte: Sensaman (2007).

	Imazetapir	Imazapique
Peso molec. (g mol ⁻¹)	289,3	275,3
Solub. em água (mg L ⁻¹)	1400	2200
Kow	11 (pH 5);	0,16 (pH 5);
	31 (pH 7);	0,01 (pH 7);
	16 (pH 9)	0,002 (pH 9)
Koc	52	206
PKa	2,1 e 3,9	2,0; 3,9 e 11,1
PV (mPa)	< 0,013	< 0,013
Meia vida (dias)	60-90	120