

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – IF GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

FITORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO COM
IMAZAPIC

Autora: Simonny Montthiel Araújo Vasconcelo
Orientador: Dr. Adriano Jakelaitis

Rio Verde - GO
Dezembro - 2017

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – IF GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

FITORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO COM
IMAZAPIC

Autora: Simonny Montthiel Araújo Vasconcelo
Orientador: Dr. Adriano Jakelaitis

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM AGROQUÍMICA, no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – Área de concentração Agroquímica.

Rio Verde - GO
Dezembro – 2017

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

Vasconcelo, Simonny Montthiel Araújo

VV331f Fitorremediação de solo contaminado com imazapic /
Simonny Montthiel Araújo Vasconcelo; orientador
Adriano Jakelaitis; co-orientador (1) Lucas Anjos de
Souza (2) Rafael Marques Pereira Leal. -- Rio Verde,
2017.

86 p.

Dissertação (Mestrado em Agroquímica) -- Instituto
Federal Goiano, Câmpus Rio Verde, 2017.

1. Efeito residual. 2. Imidazolinonas. 3. Seleção
de plantas. 4. tolerância. 5. Fitoextração. I.
Jakelaitis, Adriano, orient. II. (1) Souza (2) Leal,

(1) Lucas Anjos (2) Rafael Marques Pereira, co-
orient. III. Título.

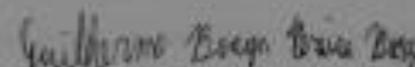
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

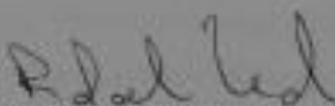
FITORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO COM IMAZAPIC

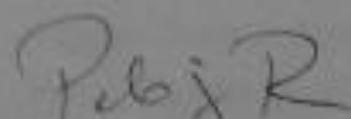
Autora: Simonny Monthiel Araújo Vasconcelo
Orientador: Adriano Jakelaitis

TITULAÇÃO: Mestre em Agroquímica – Área de concentração
Agroquímica.

APROVADA em 15 de dezembro de 2017.


Prof. Dr. Guilherme Braga Pereira/
Brás
Avaliador externo
UniRV


Prof. Dr. Rafael Marques Pereira
Leal
Avaliador interno
IF Goiano/RV


Prof. Dr. Paulo Sérgio Pereira
Avaliador interno
IF Goiano/RV


Prof. Dr. Adriano Jakelaitis
Presidente da banca
IF Goiano/RV

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas oportunidades de aprimoramento, pelo amparo diário, equilíbrio e pela força diante das adversidades da vida.

À minha família, o meu porto seguro, a qual encontro conforto e refúgio em dias de desânimo e temores. Em especial às minhas amadas mães, Elizabete Vasconcelo e Sebastiana Vasconcelo (avó), criaturas consagradas por Deus em minha jornada terrena.

Ao meu orientador, amigo e conselheiro, Adriano Jakelaitis, cuja singular humildade e humanidade são valorosos exemplos que levarei comigo ao longo da vida. Sou grata pelos inestimáveis ensinamentos de caráter científico e humanitário. Minha gratidão e reconhecimento.

Aos meus amigos, o meu centro geodésico, criaturas amadas que me deram incentivo na caminhada e tornaram os dias mais alegres e menos solitários. Alguns foram companheiros até mesmo no período de montagem experimental e avaliações de meus ensaios, independente de chuva ininterrupta ou sol ardente. Minha eterna gratidão, Leandro Spíndola, Zeca Oliveira, Suzete Fernandes, Romário Rodrigues, Vanessa Silva, Mailon Meurer, Valéria Ferreira, Anna Carolina Valadares, Wender Ferreira, Laura Reis e aos demais amigos bolsistas ICs dos Laboratório de Plantas Daninhas, Gustavo Dornelles e Gustavo Silva, pelo auxílio e bom humor que torna o nosso laboratório um ambiente sempre mais agradável.

À professora Dr.^a Cássia Alves, por disponibilizar o Laboratório de Produtos Naturais para o preparo de amostras e pelas recepções imutavelmente afetuosas.

Ao professor Dr. Alan Costa e ao seu pessoal do Laboratório de Ecofisiologia Vegetal, Luciana Minervina, Roberto Vital, Camila Vilela, Adinan Alves, por disponibilizarem tempo, auxílio, reagentes e materiais necessários.

Ao professor Dr. Paulo Sérgio Pereira, pela contribuição com as análises químicas e boa vontade.

Aos Laboratórios de Microbiologia Aplicada, Microbiologia do Solo e Laboratório de Sementes, pela estrutura e suporte técnico ofertado. Agradecimento aos professores, doutores responsáveis pelos respectivos laboratórios, Paula Fabiane, Edson Souchie e Juliana Sales.

Aos coorientadores, Dr. Rafael Leal e Dr. Lucas Anjos, pela disponibilidade, orientação, amizade, paciência e auxílio.

A todos os professores que me inspiraram e colaboraram com a minha construção diária.

Ao IF Goiano Campus Rio Verde, pelos recursos subsidiados para a realização desse estudo e pela acolhida.

À CAPES e FAPEG, pelo auxílio financeiro.

E aos demais não citados que contribuíram indiretamente para realização desse trabalho.

Sou imensamente grata!

BIOGRAFIA DO AUTOR

Simonny Montthiel Araújo Vasconcelo, nasceu em Caçu, Estado de Goiás, no dia 27 de junho de 1988. Ao concluir os estudos secundários, em 2007, foi admitida na Faculdade Objetivo de Rio Verde para formação em Direito, a qual se manteve por um ano até descobrir que não era a sua vocação.

Em 2008, continuou seus estudos em um colégio de nível técnico sucroalcooleiro em Rio Verde. Finalizado em 2009, ingressou em 2010, no curso superior de Engenharia Ambiental pela Universidade de Rio Verde. No segundo ano da faculdade, foi convidada para participação em projetos de Iniciação Científica, os quais despertaram seu interesse e motivação pela pesquisa científica e sua permanência em projetos na área de Engenharias até a conclusão do curso.

No segundo semestre de 2015, foi admitida no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, a nível de mestrado, pelo Instituto Federal Goiano Campus Rio Verde. Participou de atividades do Laboratório de Plantas Daninhas e executou seu projeto envolvendo a fitorremediação de herbicida sob a orientação do professor Adriano Jakelaitis.

ÍNDICE

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Imazapic.....	2
1.2 Fitorremediação de contaminantes orgânicos.....	5
1.3 Referências bibliográficas.....	7
2. OBJETIVOS.....	13
2.1 Objetivo Geral.....	13
2.2 Objetivos Específicos.....	13
CAPÍTULO I – Identificação de espécies tolerantes ao imazapic, para potencial uso na fitorremediação.....	14
RESUMO.....	14
1.1 Introdução.....	16
1.2 Material e métodos.....	18
1.3 Resultados.....	19
1.4 Discussão.....	36
1.5 Conclusão.....	39
1.6 Referências.....	40
CAPÍTULO II – Potencial de adubos verdes na fitorremediação de solo contaminado com imazapic.....	46
RESUMO.....	46
2.1 Introdução.....	48

2.2 Material e métodos.....	50
2.2.1 Solo.....	50
2.2.2 Experimento de fitorremediação e abordagem experimental.....	50
2.2.3 Determinação e quantificação de imazapic	51
2.2.4 Bioensaio.....	51
2.2.5 Análise estatística.....	52
2.3. Resultados.....	52
2.3.1 Parâmetros de fitotoxicidade, crescimento e de massa seca.....	52
2.3.2 Concentração de imazapic no solo e massa seca.....	55
2.3.3 Bioensaio.....	56
2.4 Discussão.....	59
2.5 Conclusão.....	63
2.6 Referências.....	63
3. CONCLUSÃO GERAL.....	71

ÍNDICES DE TABELA

Página

CAPÍTULO I

Tabela 1: Massa seca (gramas por planta) das espécies cultivadas como testemunhas da atividade do herbicida imazapic em dois solos.....36

CAPÍTULO II

Tabela 1: Valores de fitotoxicidade (%) e índice de altura das espécies *U. brizantha*, *M. pruriens* e *C. ensiformis* cultivadas em solo com diferentes doses de imazapic aos 45 dias de tratamento.....53

Tabela 2: Índices de massa seca de parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR) das espécies *U. brizantha*, *M. pruriens* e *C. ensiformis* cultivadas em solo tratado com imazapic aos 80 dias de tratamento.....55

Tabela 3: Resíduo de imazapic nos tecidos de raízes, parte aérea e no solo com e sem cultivo aos 80 dias de tratamento.....56

Tabela 4: Valores de fitotoxicidade (%), índices de altura, massa seca de parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR) em plantas de sorgo cultivadas em solo anteriormente plantado e sem cultivo aos 14 e 28 dias de tratamento.....57

ÍNDICES DE FIGURAS

Páginas

INTRODUÇÃO

Figura 1: Fórmula estrutural do imazapic.....3

CAPÍTULO I

Figura 1: Fitointoxicação (a, b) e índice de altura (c, d) aos 30 e 60 DAE, índice de massa seca da parte aérea (MSPA) (e) e de raiz (MSR) (f) em *Urochloa decumbens* em função da dose do herbicida imazapic aplicado em dois tipos de solo.....21

Figura 2: Fitointoxicação (a, b) e índice de altura (c, d) aos 30 e 60 DAE, índice de massa seca da parte aérea (MSPA) (e) e de raiz (MSR) (f) em *Urochloa brizantha* em função da dose do herbicida imazapic aplicado em dois tipos de solo.....22

Figura 3: Fitointoxicação (a, b) e índice de altura (c, d) aos 30 e 60 DAE, índice de massa seca da parte aérea (MSPA) (e) e de raiz (MSR) (f) em *Panicum maximum* em função da dose do herbicida imazapic aplicado em dois tipos de solo.....24

Figura 4: Fitointoxicação (a, b) e índice de altura (c, d) aos 30 e 60 DAE, índice de massa seca da parte aérea (MSPA) (e) e de raiz (MSR) (f) em *Urochloa ruziziensis* em função da dose do herbicida imazapic aplicado em dois tipos de solo.....25

Figura 5: Fitointoxicação (a, b) e índice de altura (c, d) aos 30 e 60 DAE, índice de massa seca da parte aérea (MSPA) (e) e de raiz (MSR) (f) em *Crambe abyssinica* em função da dose do herbicida imazapic aplicado em dois tipos de solo. S.A. (sem ajuste).....26

Figura 6: Fitointoxicação (a, b) e índice de altura (c, d) aos 30 e 60 DAE, índice de massa seca da parte aérea (MSPA) (e) e de raiz (MSR) (f) em *Crotalaria ochroleuca* em função da dose do herbicida imazapic aplicado em dois tipos de solo.....28

Figura 7: Fitointoxicação (a, b) e índice de altura (c, d) aos 30 e 60 DAE, índice de massa seca da parte aérea (MSPA) (e) e de raiz (MSR) (f) em *Crotalaria spectabilis* em função da dose do herbicida imazapic aplicado em dois tipos de solo.....29

Figura 8: Fitointoxicação (a, b) e índice de altura (c, d) aos 30 e 60 DAE, índice de massa seca da parte aérea (MSPA) (e) e de raiz (MSR) (f) em <i>Canavalia ensiformis</i> em função da dose do herbicida imazapic aplicado em dois tipos de solo.....	31
Figura 9: Fitointoxicação (a, b) e índice de altura (c, d) aos 30 e 60 DAE, índice de massa seca da parte aérea (MSPA) (e) e de raiz (MSR) (f) em <i>Helianthus annuus</i> (Girassol) em função da dose do herbicida imazapic aplicado em dois tipos de solo.....	32
Figura 10: Fitointoxicação (a, b) e índice de altura (c, d) aos 30 e 60 DAE, índice de massa seca da parte aérea (MSPA) (e) e de raiz (MSR) (f) em <i>Mucuna pruriens</i> em função da dose do herbicida imazapic aplicado em dois tipos de solo.....	34
Figura 11. Fitointoxicação (a, b) e índice de altura (c, d) aos 30 e 60 DAE, índice de massa seca da parte aérea (MSPA) (e) e de raiz (MSR) (f) em <i>Sorghum bicolor</i> em função da dose do herbicida imazapic aplicado em dois tipos de solo.....	35

CAPÍTULO II

Figura 1: Valores de fitotoxicidade (%) e índice de altura das espécies <i>U. brizantha</i> , <i>M. pruriens</i> e <i>C. ensiformis</i> cultivadas em solo com diferentes doses de imazapic aos 80 dias de tratamento.....	53
Figura 2: Fitotoxicidade aos 45 e 80 dias (a, b), índice de altura aos 45 e 80 DAE (c, d) em plantas pré-selecionadas e tratadas com o herbicida imazapic.....	54
Figura 3: Índice de massa seca da parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR) (a, b) em plantas pré-selecionadas e tratadas com o herbicida imazapic aos 80 DAE.....	55
Figura 4: Concentração de imazapic no solo, parte aérea e raiz de plantas tratadas com imazapic aos 80 DAE.....	56
Figura 5: Fitotoxicidade (a), índice de altura (b), índice de massa seca da parte aérea e de raiz (c) aos 14 e 28 DAE em plantas de sorgo cultivadas como bioindicadora do herbicida imazapic.....	58

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

HPLC	Cromatografia líquida de alta performance	
DAA	Dias após a aplicação	
DAE	Dias após a emergência	
NPK	Nitrogênio, fósforo e potássio	
MSPA	Massa seca de parte aérea	
MSR	Massa seca de raiz	
CO	Carbono orgânico	g dm ⁻³
CTC	Capacidade de troca catiônica	cmolc dm ⁻³

RESUMO

VASCONCELO, SIMONNY MONTTHIEL ARAÚJO. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, dezembro de 2017. Fitorremediação de solo contaminado com imazapic. Orientador: Dr. Adriano Jakelaitis. Coorientadores: Dr. Lucas Anjos de Souza, Dr. Rafael Marques Pereira Leal.

Entre os contaminantes orgânicos mais comuns, os herbicidas representam a maior parte do uso geral de pesticidas no mundo. Em culturas agrícolas, o uso extensivo e simultâneo de pesticidas aumenta o efeito sinérgico produzindo alteração no equilíbrio do ecossistema. Herbicidas persistentes como aqueles pertencentes ao grupo químico das imidazolinonas, podem permanecer ativos no solo por tempo superior ao ciclo da cultura a qual foi aplicado. Conseqüentemente, o efeito residual prolongado possibilita a ocorrência de fitotoxicidade em culturas sensíveis plantadas, após a aplicação desses produtos. Portanto, é relevante o desenvolvimento de estratégias para a remoção de moléculas persistentes e ionizáveis como as imidazolinonas. Diante disso, objetivou-se nesse estudo, selecionar plantas tolerantes à presença de imazapic no solo, bem como avaliar o potencial de fitorremediação das espécies selecionadas. Na primeira etapa, foram conduzidos 11 ensaios com as espécies vegetais *Sorghum bicolor*, *Crotalaria spectabilis*, *Crotalaria ochroleuca*, *Canavalia ensiformis*, *Mucuna pruriens* cv. Mucuna cinza, *Urochloa brizantha* cv. Marandú, *Urochloa decumbens*, *Panicum maximum* cv. Mombaça, *Urochloa ruziziensis*, *Helianthus annuus* e *Crambe abyssinica* semeadas em diferentes tipos de solo. Os tratamentos constaram de cinco doses de imazapic (0, 58,33, 87,5, 175 e 350 g ha⁻¹) delineados em blocos ao acaso com 4 repetições. Aos 30 e 60 dias

após a emergência foram avaliados os sintomas de fitotoxicidade e altura. Ao término desta etapa, as plantas foram coletadas para a determinação de massa seca de parte aérea e raiz. Após análise dos resultados, constatou-se que as espécies *Canavalia ensiformis*, *Mucuna pruriens* e *Urochloa brizantha*, apresentaram os menores sintomas visuais de fitotoxicidade, e influenciou as demais características avaliadas. A tolerância às crescentes doses de imazapic por essas espécies, é indicativo de seu potencial uso em programas de remediação. A capacidade de fitorremediação de *Canavalia ensiformis*, *Mucuna pruriens* e *Urochloa brizantha* expostas às doses do imazapic foi avaliada. Aos 45 e 80 dias após a emergência, foram analisados sintomas de fitotoxicidade, altura e massa seca de parte aérea e raiz e no final do experimento amostras de solo e tecido vegetal foram coletados para análise química residual. Aos 45 dias, os valores de fitotoxicidade observados no *U. brizantha* foram superiores a 63% mesmo na menor dose. A inibição da altura de *U. brizantha* foi de 58% na dose de 87,5 g ha⁻¹, enquanto em *Mucuna pruriens* a altura reduziu em 58% nas doses de 350 g ha⁻¹. Os tratamentos com imazapic não afetaram altura de *C. ensiformis* aos 45 dias. Aos 80 dias, o incremento da dose ocasionou aumento dos sintomas visuais e redução na altura das plantas. A *U. brizantha* apresentou maior sensibilidade aos tratamentos com imazapic, enquanto *C. ensiformis* os efeitos foram menos intensos. A maior inibição nos índices de massa seca foi verificada em *U. brizantha*, diferindo das demais espécies. *Mucuna pruriens* e *C. ensiformis* acumularam níveis mais elevados de imazapic nas raízes, apesar de diferenças. No tecido aéreo, a maior concentração do herbicida foi verificada em *C. ensiformis*, no entanto *U. brizantha* foi a única espécie que translocou níveis superiores ao detectado nas raízes. A exposição ao herbicida teve efeito negativo sobre o crescimento e produção de massa seca de *U. brizantha* que não apresentou recuperação das lesões com o tempo, não sendo a espécie indicada para fitorremediação de imazapic, em condições de solo semelhantes ao deste estudo. A tolerância de *C. ensiformis* mediante a maior concentração do herbicida acumulada em seus tecidos pela fitoextração, evidencia sua capacidade de absorção facilitada pela alta produção de biomassa, sendo esta espécie a mais promissora na remediação do imazapic.

PALASVRAS-CHAVE: Efeito residual, imidazolinonas, seleção de plantas, tolerância, fitoextração

ABSTRACT

VASCONCELO, SIMONNY MONTTHIEL ARAÚJO. Goiano Federal Institute - Rio Verde Campus - GO, december 2017. Phytoremediation of soil contaminated with imazapic. Advisor: Dr Adriano Jakelaitis. Co-advisors: Dr. Lucas Anjos de Souza, Dr. Rafael Marques Pereira Leal.

Among the most common organic contaminants, herbicides account for most of the general use of pesticides in the world. In agricultural crops, the extensive and simultaneous use of pesticides increases the synergistic effect by changing the ecosystem equilibrium. Persistent herbicides such as those belonging to the chemical group of imidazolinones may remain active in the soil for a longer time than the cycle of the crop to which it was applied. Consequently, the prolonged residual effect allows the occurrence of phytotoxicity in susceptible crops planted after the application of these products. Therefore, the development of strategies for the removal of persistent and ionizable molecules such as imidazolinones is relevant. So, the objective of this study was to select plants tolerant to the presence of imazapic in the soil, as well as to evaluate the phytoremediation potential of the selected species. In the first stage, 11 trials were carried out with the plant species *Sorghum bicolor*, *Crotalaria spectabilis*, *Crotalaria ochroleuca*, *Canavalia ensiformis*, *Mucuna pruriens* cv. *Mucuna gray*, *Urochloa brizantha* cv. *Marandú*, *Urochloa decumbens*, *Panicum maximum* cv. *Mombaça*, *Urochloa ruziziensis*, *Helianthus annuus* and *Crambe abyssinica* sown in different soil types. Treatments consisted of five doses of imazapic (0, 58,33, 87,5, 175 and 350 g ha⁻¹) in a randomized block design with 4 replicates. At 30 and 60 days after emergence the

symptoms of phytotoxicity and height were evaluated. At the end of this stage, the plants were collected for the dry mass determination of shoot and root. After analyzing the results, it was verified that the species *Canavalia ensiformis*, *Mucuna pruriens* and *Urochloa brizantha* presented the smallest visual symptoms of phytotoxicity, which influenced the other evaluated characteristics. Tolerance to increasing doses of imazapic by these species is indicative of their potential use in remediation programs. The phytoremediation capacity of *Canavalia ensiformis*, *Mucuna pruriens* and *Urochloa brizantha* exposed to imazapic doses was evaluated. At 45 and 80 days after emergence, symptoms of phytotoxicity, height and dry mass of shoot and root were analyzed and at the end of the experiment soil and plant tissue samples were collected for residual chemical analysis. At 45 days, the phytotoxicity values observed in *U. brizantha* were higher than 63% even at the lowest dose. The inhibition of *U. brizantha* height was 58% at 87.5 g ha⁻¹, while in *Mucuna pruriens* the height was reduced by 58% at 350 g ha⁻¹. The treatments with imazapic did not affect height of *C. ensiformis* at 45 days. At 80 days, the dose increase increased visual symptoms and reduced plant height. *U. brizantha* presented higher sensitivity to imazapic treatments, whereas for *C. ensiformis* the effects were less intense. The highest inhibition in the dry matter indices was verified in *U. brizantha*, differing from the other species. *Mucuna pruriens* and *C. ensiformis* accumulated higher levels of imazapic in the roots, despite differences. In the aerial tissue, the highest concentration of the herbicide was verified in *C. ensiformis*, however *U. brizantha* was the only species that translocated higher levels than that detected in the roots. Exposure to the herbicide had a negative effect on the growth and dry matter production of *U. brizantha* that did not show recovery of the lesions over time, so the species is not indicated for phytoremediation of imazapic in soil conditions similar to that of this study. The tolerance of *C. ensiformis* due to the greater concentration of the herbicide accumulated in its tissues by phytoextraction, evidences its absorption capacity facilitated by the high production of biomass, being this species the most promising in the remediation of imazapic.

KEY WORDS: Residual effect, imidazolinones, plant selection, tolerance, phytoextraction.

1. INTRODUÇÃO

O advento da industrialização impulsionou o aumento progressivo das atividades antrópicas associadas à expansão da urbanização e das práticas agrícolas, resultando na liberação de grandes quantidades de poluentes nos sistemas ambientais (Tripathi et al. 2015). A nível global, 25% dos solos encontram-se altamente degradados e 44% em condições moderadas de degradação, esse cenário tem sido atribuído à poluição provocada pelo uso impróprio de fertilizantes e pesticidas na agricultura moderna (FAO 2011a).

O uso de pesticidas, especialmente herbicidas, trouxe para o setor agrícola grandes vantagens em produtividade ao longo das últimas cinco décadas. No entanto, aspectos negativos provenientes de aplicações sucessivas e indiscriminadas são também reconhecidos, como toxicidade em culturas sensíveis e a outros organismos não alvos (Aktar et al. 2009; Fernandez-Cornejo et al. 2014).

Geralmente, os pesticidas são degradados pela atividade microbiana, química ou por exposição ultravioleta. Os três processos podem participar da quebra molecular de um único produto (Kerle et al. 2007). O uso intensivo e contínuo dessas moléculas afeta o equilíbrio bioquímico do solo com conseqüente redução de sua produtividade e fertilidade. Os pesticidas mais persistentes e hidrofílicos podem ser lixiviados provocando a contaminação das águas subterrâneas, enquanto aqueles hidrofóbicos e estáveis possuem a tendência em adsorver-se em partículas do solo ou na matéria orgânica, tornando-se menos biodisponíveis (USEPA 2000a; Hussain et al. 2009; Odukkathil e Vasudevan 2013).

O desenvolvimento de herbicidas com efeito residual prolongado, possibilitou o controle efetivo de plantas daninhas por um período de tempo maior, reduzindo assim o

número de aplicações. No entanto, sintomas de fitotoxicidade têm sido relatados em culturas sensíveis cultivadas após a aplicação desses herbicidas. Existe ainda o problema ambiental causado pela persistência. Dependendo das características do produto, suas moléculas podem permanecer por mais tempo no solo sem serem adsorvidas aos colóides, degradadas ou mineralizadas, aumentando os riscos de lixiviação no solo e a contaminação de águas subterrâneas (Pires et al. 2003).

As imidazolinonas contemplam uma classe de herbicida descoberta durante a década de 1970 (Oliveira 2011). No mercado de insumos agrícolas, há crescente demanda de herbicidas imidazolinonas, principalmente por estes apresentarem características como alta persistência, eficiência em baixas doses, amplo espectro de controle de plantas daninhas e baixo custo (Zhao et al. 2017). Contudo, impactos ambientais e na produção de culturas de sucessão, configuram-se problemas a serem mitigados a fim de restaurar a integridade dos sistemas ambientais, simultaneamente à aquisição de maiores ganhos em produtividade.

A poluição ambiental resultante da aplicação de pesticidas em escala global, requer o desenvolvimento de técnicas mais sustentáveis voltadas à atenuação dos impactos decorrentes. Entre as técnicas de tratamento, a fitorremediação consiste em um método biológico em que espécies vegetais e sua microbiota associada são empregadas na detoxicação de xenobióticos no ambiente (Ibrahim et al. 2013).

1.1 Imazapic

O imazapic atua no controle de plantas daninhas inibindo a enzima acetolactato sintase (ALS) que catalisa a biossíntese de três aminoácidos de cadeia ramificada, valina, leucina e isoleucina, essenciais ao crescimento celular (FAO 2013b). Essa enzima catalisa duas reações paralelas, a descarboxilação de duas moléculas de piruvato para formar 2-acetolactato na primeira fase de biossíntese de leucina e valina e a descarboxilação de uma molécula de piruvato com uma molécula de 2-cetobutirato para formar 2-aceto-2-hidroxi-butirato, o precursor de isoleucina. Três cofatores são requeridos para a atividade catalítica da enzima ALS, pirofosfato de tiamina (TPP), flavina adenina dinucleótido (FAD) e um íon metálico bivalente Mg^{2+} ou Mn^{2+} (Gaston et al. 2003; Kim et al. 2003).

As imidazolinonas controlam amplo espectro de plantas daninhas que infestam uma variedade de culturas e são eficientes em baixas doses. O imazapic é um herbicida pertencente à classe das imidazolinonas e registrado no Brasil, para o controle de plantas

daninhas nas culturas de cana-de-açúcar e amendoim. É um herbicida seletivo, recomendado para o controle em pré e pós emergência de plantas daninhas de ciclo perene e anual (Tan et al. 2005; Rodrigues e Almeida 2011; Obara 2014).

Conforme a International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) com base em suas propriedades físico-químicas, o imazapic possui caráter ácido (pKa: 3,6 a 25 °C), mobilidade intermediária (Koc: 137), alta solubilidade (2230 mg L⁻¹ a 20 °C), pressão de vapor de 0,01 MPa a 25 °C. É persistente no solo, apresentando meia-vida (DT₅₀) de 120 dias e em sistemas aquáticos é rapidamente degradado via fotólise, sendo sua meia-vida (DT₅₀) de 0,3 dias. Efeito agudo em mamíferos (DL₅₀) ocorre em doses superiores a 5000 mg kg⁻¹, em peixes e aves a DL₅₀ é maior que 100 e 2.150 mg L⁻¹, respectivamente. A intoxicação aguda em algas (CE₅₀) é verificada na dose 0,051 mg L⁻¹. O imazapic é um herbicida de baixo potencial de bioacumulação e seu principal metabólito, 2-(4,5-dihydro-4-methyl-4-(1-methylethyl)-5-oxo-1H-imidazol-2-yl)-3,5, ácido piridinocarboxílico não apresenta persistência no solo (DT₅₀: 11 dias). Sua degradação via fotólise é moderadamente rápida em meio aquoso (DT₅₀: 2,1 dias).

Nas plantas, o imazapic é facilmente absorvido pelo sistema radicular e foliar, sendo rapidamente translocado pelo xilema e floema, acumulando-se nas regiões meristemáticas em que exerce a sua ação. Em plantas mais sensíveis, a clorose é o primeiro sintoma observado nas folhas mais jovens, seguida de paralização do crescimento, redução do sistema radicular e necrose que se expande a partir dos pontos inicialmente afetados (Tu et al. 2001; Vargas e Roman 2006). Sua fórmula estrutural é apresentada na Figura 1.

Fórmula molecular: C₁₄H₁₇N₃O₃

Nome químico: (±) -2-[4,5-dihydro-4-methyl-4-(1-methylethyl)-5-oxo-1Himidazol-2-yl]-5 methyl -3-pyridinecarboxylic acid

Nome comum: imazapic

Nome comercial: Plateau

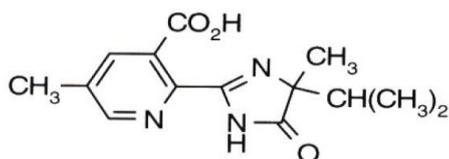


Figura 1. Fórmula estrutural do imazapic.

O imazapic por se tratar de um herbicida ionizável pode ser apresentado em duas formas quanto a sua carga líquida. Quando o pH do solo é menor que o seu PKa (3,6), seu grupo funcional ácido (-COOH) é totalmente não iônico, cuja carga líquida zero. Quando o pH do solo é maior que o pKa da molécula, imazapic está presente em um estado aniônico (-COO⁻), diminuindo a força de atração entre as suas moléculas e as cargas predominantes do solo. Desse comportamento resulta a menor sorção do herbicida e, conseqüentemente, o favorecimento da lixiviação no solo. Assim, fatores como o pH, teor de carbono orgânico e força iônica regulam sua persistência no ambiente (Ramezani et al. 2010).

A persistência consiste no período em que o herbicida permanece biologicamente ativo no solo, promovendo o controle de plantas daninhas. A persistência ou bioatividade de um herbicida depende de suas propriedades químicas, da dose aplicada, das características do solo e dos fatores climáticos envolvidos. Por isso, dados de persistência obtidos em uma determinada região não podem ser generalizados (Blanco e Oliveira 1987). O uso de herbicidas do grupo de imidazolinonas, o qual inclui o imazapic, pode causar fitotoxicidade em culturas de sucessão (Villa et al. 2006). Lesões provocadas pelo efeito residual de imazethapyr foram relatados por Moyer e Esau (1996) em plantas de canola semeadas em dois anos após a aplicação de 200 g ha⁻¹ e em batata e beterraba semeadas até três anos após a mesma aplicação.

De acordo com a USEPA (2001b), em decorrência de sua alta atividade, o imazapic é altamente persistente em corpos d'água em que não há incidência luminosa. Nessas condições, o herbicida possui efetiva potencialidade em poluir águas subterrâneas. Na prática, resíduos de imazapic foram encontrados em águas subterrâneas e superficiais (Silva et al. 2009a; Silva et al. 2011b; Zanella et al. 2012; Davis et al. 2014; Mazlan et al. 2016; Allan et al. 2017).

No Brasil, há poucos relatos sobre a persistência do imazapic nos solos. Monquero et al. (2010a) relataram sintomas de fitointoxicação com valores próximos a 50% em plantas bioindicadoras, cultivadas em solos de textura média e argilosa, aos 210 dias após a aplicação de imazapic, nas doses de 190 e 210 g ha⁻¹. Em outro estudo, sob ausência de umidade em dois tipos de solo, as doses de 122,5 e 105 g ha⁻¹ de imazapic promoveram respectivamente 80 e 70% de fitointoxicação em plantas sensíveis semeadas aos 90 DAA (Monquero et al. 2008b). Em solos de regiões de clima tropical, os estudos ainda são incipientes e requerem mais informações a fim de reduzir os riscos à produtividade das culturas e à qualidade ambiental.

1.2 Fitorremediação de contaminantes orgânicos

As plantas possuem diversos mecanismos para promover o controle de sua homeostase e tolerar o estresse oxidativo causado por compostos tóxicos, incluindo a síntese de ácidos orgânicos, peptídeos e compostos fenólicos que podem se ligar ao xenobiótico e reduzir sua toxicidade (Vázquez et al. 2009). O estresse oxidativo provoca graves danos a nível bioquímico, como peroxidação lipídica da membrana e lesão oxidativa no DNA. Como mecanismo de defesa, algumas enzimas atuam como antioxidantes ou detoxificantes conduzindo a maior tolerância das plantas mediante as perturbações do meio (Edwards et al. 2000).

O principal mecanismo de tolerância de culturas aos inibidores da ALS é a metabolização das moléculas do herbicida. As monooxigenases do citocromo P450 estão associadas com reações de oxidação das moléculas, com notória função na detoxicação da molécula (Vidal 2002). Além disso, para reduzir os efeitos do estresse oxidativo causado pela exposição a herbicidas, as plantas desenvolveram um complexo sistema de proteção composto por pigmentos envolvidos na proteção contra o estresse foto-oxidativo (carotenoides), alterações metabólicas como o acúmulo de prolina e enzimas de eliminação de espécies reativas de oxigênio (catalase, ascorbato peroxidase, superóxido dismutase) (Percival 2017). Grigoryuk et al. (2016) observaram adaptação e tolerância em plantas de milho tratadas com herbicidas cloroacetanilidas, sendo esse efeito associado a indução das enzimas catalases e peroxidases na eliminação de H₂O₂. Islam et al. (2016) verificaram que o aumento da concentração de prolina e compostos fenólicos impediram os danos oxidativos em cultivares de arroz expostas ao estresse combinado pela exposição ao herbicida 2,4-D e salinidade.

As plantas podem remover poluentes orgânicos por meio de um ou mais processos biologicamente ativos, tais como: 1) fitoextração: absorção e translocação do poluente do solo através do sistema radicular, 2) fitotransformação: transformação do poluente orgânico por via metabólica ou enzimática, 3) fitovolatilização: transformação do poluente a uma forma volátil ou gasosa, com posterior liberação na atmosfera pela transpiração; 4) rizodegradação: degradação ou mineralização do poluente por microrganismos rizosféricos, estimulados pela produção de secreções e exsudatos radiculares. Sendo a absorção e a transpiração dos compostos orgânicos dependente da hidrofobicidade do contaminante, quantificada pelo coeficiente de solubilidade octanol-água (Kow) (Rubin e Ramaswami 2001; Germaine et al. 2006; Tahir et al. 2015).

O potencial da fitorremediação depende da capacidade da planta em se desenvolver na presença de elevadas concentrações do poluente e variados níveis de sucesso tem sido relatado para o uso de plantas na remediação de herbicidas (Ahmad et al. 2012). Souto et al. (2013) observaram taxa de degradação média de 93% para os herbicidas imazapic e imazetapir determinados em solo rizoférico das espécies *Canavalia ensiformis*, *Glycine max*, *Lolium multiflorum*, *Lotus corniculatus*, *Stizolobium aterrimum*, *Vicia sativa* quantificados aos 63 dias. Ramborger et al. (2017) aos 60 dias de ensaio realizado em água, obtiveram 48% de remoção de 2,4-D com *Plectranthus neochilus*, cuja tolerância foi atribuída ao aumento de compostos fenólicos. Estudos conduzidos por Sánchez et al. (2017) determinaram 88,6 a 99,6% de remoção de atrazina do solo cultivado com as espécies *Lolium perene*, *Festuca arundinacea*, *Hordeum vulgare* e *Zea mays* aos 16 dias após aplicação. A rizodegradação por microrganismos ou enzimas vegetais, juntamente com a degradação no interior da planta foram os mecanismos propostos para explicar a remoção de atrazina dos solos.

A fitorremediação é apropriada para grandes áreas poluídas por xenobióticos moderadamente móveis. Após a absorção do contaminante pelo sistema radicular, este é translocado para a parte aérea da planta, podendo ser ativado por enzimas específicas (fase I) tais como, monooxigenases do citocromo P450 ou peroxidases, conjugado (fase II) com a glutatona por reação catalisada pela glutatona s-transferase, e incorporados (Fase III) a componentes estruturais, como paredes celulares ou isolado em vacúolos. Além desse mecanismo geral de desintoxicação, mais vias metabólicas específicas podem ser ativadas em função da natureza do poluente e da espécie de planta (Cunningham et al. 1995a; Schwitzguébel 2015).

As plantas por serem fotoautotróficas não utilizam moléculas orgânicas como fonte de carbono ou energia, e assim, não evoluíram quanto ao seu espectro de estruturas químicas para metabolizar moléculas orgânicas recalcitrantes, sendo que a metabolização de xenobióticos orgânicos se limita a sua transformação em formas hidrossolúveis. A simbiose com microrganismos rizosféricos e endofíticos favorecendo maior produção de rizosecreções, mucilagens e exsudatos. A microbiota do solo utiliza a molécula orgânica como fonte energética e de carbono resultando na produção de água, dióxido de carbono, elementos inorgânicos e incremento à biomassa celular (Burken 2003; Tripathi et al. 2015).

Embora a fitorremediação ofereça vantagens, a técnica também possui suas limitações as quais incluem a (1) contaminação por múltiplos poluentes, (2) as mudanças

climáticas que alteram a dinâmica do poluente e modifica as interações entre plantas e microrganismos do solo, (3) o tempo de tratamento necessário para redução dos níveis de toxicidade, (4) estabelecimento e manutenção das plantas no local, (5) a possibilidade de geração de subprodutos tóxicos (Dietz e Schnoor 2001; Harvey et al. 2002; Glick 2003). Assim, a avaliação da capacidade das plantas em resistirem a ambientes poluídos por compostos orgânicos é um recurso importante para a seleção das espécies a serem utilizadas de forma mais eficiente em programas de remediação (Mimmo et al. 2015).

As plantas mais tolerantes removem contaminantes orgânicos, particularmente por rizodegradação, e simultaneamente podem contribuir com outros benefícios adicionais, tais como, favorecimento da qualidade do solo, produção de biomassa e de biocombustível, além de promover o sequestro de carbono e a manutenção da biodiversidade (Abhilash et al. 2012; Lu et al. 2014). A fitorremediação em relação aos métodos convencionais de tratamentos é mais sustentável, economicamente atrativa, possui melhor aceitação pública e por representar um método de tratamento biológico, possui maior respaldo das agências reguladoras ambientais (Melo et al. 2001).

A aplicação bem-sucedida da técnica requer a seleção de plantas com traços funcionais desejáveis, com notória potencialidade em tolerar o ambiente estressor, transformar e acumular poluentes, alta taxa de transpiração, elevada produção de biomassa, rápido crescimento e estabelecimento, sistema radicular denso e profundo, alta geração de exsudatos radiculares, além de fácil propagação e controle da área (Ferro et al. 1994; Cunnighan et al. 1996b; Vose et al. 2000; Pires et al. 2003).

1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abhilash PC, Powell J, Singh HB. 2012. Plant-microbe interactions: novel applications for exploitation in multipurpose remediation technologies. *Trends Biotechnology*, 30: 416–420.
- Ahmad F, Iqbal S, Anwar S, Afzal M, Islam E, Mustafa T, Khan QM. 2012. Enhanced remediation of chlorpyrifos from soil using ryegrass (*Lolium multiflorum*) and chlorpyrifos-degrading bacterium *Bacillus pumilus* C2A1. *Journal of Hazardous Materials*, 237:110–115.
- Aktar MW, Sengupta D, Chowdhury A. 2009. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdisciplinary Toxicology*, 2(1):1-12.

- Allan HL, Van MJP, Finlayson KA, O'Brien JW, Mueller JF, Leusch, FDL. 2017. Analysis of sugarcane herbicides in marine turtle nesting areas and assessment of risk using in vitro toxicity assays. *Chemosphere*, v.185:656-664.
- Blanco HG, Oliveira DA. 1987. Persistência de herbicidas em Latossolo Vermelho Amarelo em cultura de cana-de-açúcar. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 22(7): 681-687.
- Burken JG. 2003. Uptake and Metabolism of Organic Compounds: Green-Liver Model, in *Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants* (eds McCutcheon SC and JL Schnoor JL), John Wiley e Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA.
- Cunningham SC, Berti WR, Huang JW. 1995a. Remediation of contaminated soils and sludges by green plants. In: *Bioremediation of inorganics*. HINCHEE, E.; MEANS, J.L.; BURRIS, D. (eds.). Columbus-Richland, Batelle Press, 33-54.
- Cunningham SD, Anderson TA, Schwab AP. 1996b. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. *Advances in Agronomy*, 56(1):55-114.
- Davis AM, Lewis SE, Brodie JE, Benson A. 2014. The potential benefits of herbicide regulation: a cautionary note for the Great Barrier Reef catchment area. *Sci Total Environ*. v.490:81-92.
- Dietz AC, Schoor JL. 2001. Advances in phytoremediation. *Environmental Health Perspectives*, 109:163–168.
- Edwards R, Dixon DP, Walbot V. 2000. Plant glutathione S-transferases: enzymes with multiple functions in sickness and in health. *Trends in Plant Science*, 5:193–198.
- FAO. 2011a. The state of the world's land and water resources for food and agriculture, managing systems at risk., FAO Rome.
- FAO.2013b. Pesticide residues in food 2013. Joint meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in food and the Environment and the WHO Core Assessment Group Gevena, Switzerland 17-26.
- Fernandez-Cornejo J, Nehring R, Osteen C, Wechsler S, Martin A, Vialou A. 2014. Pesticide Use in U.S. Agriculture, 21 Selected Crops, 1960-2008. EIB-124, U.S. Department of Agriculture, Economic Research Service.
- Ferro AM, Sims RC, Bugbee B. 1994. Hycrest crested wheatgrass accelerates the degradation of pentachlorophenol in soil. *Journal of environmental quality*, 23:272-279.
- Gaston S, Ribas-Carbo M, Busquets S, Berry JA, Zabalza A, Royuela M. 2003. Changes in Mitochondrial Electron Partitioning in Response to Herbicides Inhibiting

- Branched-Chain Amino Acid Biosynthesis in Soybean. *Plant Physiology*, 133:1351-1359.
- Germaine KJ, Liu X, Cabellos GG, Ryan D, Dowling DN. 2006. Bacterial endophyte-enhanced phytoremediation of the organochlorine herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *FEMS Microbiology Ecology*, 57(2):302–310.
- Glick BR. 2003. Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. *Biotechnology Advances*, 21:383–393.
- Grigoryuk IP, Lykholat UV, Rossykhina-Galycha GS, Khromykh NO, Serga OI. 2016. Effect of soil herbicides on the antioxidant system of maize vegetative organs during ontogenesis. *Annals of Agrarian Science*, 14(2):95-98.
- Harvey P, Campanella PC, Harms H, Lichtfouse E, Schffner A, Smrcek S, Werck-Reichhart D. 2002. Phytoremediation of polyaromatic hydrocarbons, anilines and phenols. *Environmental Science and Pollution Research*, 9:29–47.
- Hussain S, Sissique TSM, Arshad M, Khalid A. 2009. Impact of pesticides on soil microbial diversity, enzymes, and biochemical reactions. *Advances in Agronomy*, 102: 159-200.
- Ibrahim SI, Abdel Lateef MF, Khalifa HMS, Abdel Monem AE. 2013. Phytoremediation of atrazine-contaminated soil using *Zea mays* (maize). *Annals of Agricultural Sciences*, 58:69–75.
- Islam F, Ali B, Wang J, Farooq MA, Gill RA, Ali S, Wang D, Zhou W. 2016. Combined herbicide and saline stress differentially modulates hormonal regulation and antioxidant defense system in *Oryza sativa* cultivars. *Plant Physiology and Biochemistry*, 107:82-95.
- IUPAC. International Union of Pure Applied Chemistry. Imazapic. Disponível em: <<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/Reports/1152.htm>>. Acesso em 23 de fev. 2016.
- Kerle EA, Jenkins JJ, Vogue PA. 2007. Understanding pesticide persistence and mobility for groundwater and surface water protection. Oregon State Univ Extension Service, EM8561- E.
- Kim S, Park E, Yoons S, Choi J. 2003. An active site arginine residue in tobacco acetolactate synthase. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 24:1799- 1804.
- Lu M, Zhang ZZ. 2014. Phytoremediation of soil co-contaminated with heavy metals and decaBDE by co-planting of *Sedum alfredii* with tall fescue associated with *Bacillus cereus* JP12. *Plant Soil*, 382:89–102.

- Mazlan AN, Hussain H, Azman M, Zawawi M. 2016. Assessment of imazapic presence in surface water and groundwater in paddy field area. *Jurnal Teknologi*. 78(5):33-37.
- Melo IS, Silva CMMS, Scramin S, Spessoto A. 2001. Biodegradação. *Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente*, 369-371.
- Mimmo T, Bartucca ML, Del Buono D, Cesco S. 2015. Italian ryegrass for the phytoremediation of solutions polluted with terbuthylazine. *Chemosphere*, 119:31-36.
- Monquero PA, Silva PV, Silva HAC, Tablas DC, Orzari I. 2010a. Lixiviação e persistência dos herbicidas sulfentrazone e imazapic. *Planta Daninha*, 28(1):185-195.
- Monquero PA, Binha DP, Silva AC, Silva PV, Amaral LR. 2008b. Eficiência de herbicidas pré-emergentes após períodos de seca. *Planta Daninha*, 26(1):185-193.
- Moyer JR, Esau R. 1996. Imidazolinone herbicide effects on following rotational crops in Southern Alberta. *Weed Technol.* 10:100-106.
- Obara FEB. 2014. Atributos do solo, presença de palha e estágio de desenvolvimento da canade-açúcar na aplicação, afetando a eficácia e seletividade dos herbicidas imazapic e imazapyr. 55 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP, Piracicaba.
- Odukkathil G, Vasudevan N. 2013. Toxicity and bioremediation of pesticides in agricultural soil. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 12(4):421–444.
- Oliveira RS. Mecanismo de ação de herbicidas. In: Oliveira RS, Constantin J, Inoue MH. 2011. *Biologia e manejo de plantas daninhas*. Curitiba: Omnipax, 7:141-192.
- Percival GC. 2017. The influence of glyphosate on carotenoid pigments, reactive oxygen species scavenging enzymes and secondary stress metabolites within leaf tissue of three *Acer* species. *Urban Forestry e Urban Greening*, 24:19-25.
- Pires FR, Souza CM, Silva AA, Procópio SO, Ferreira LR. 2003. Phytoremediation of herbicide-polluted soils. *Planta daninha*, 21(2):335-341.
- Ramborger BP, Gularte CAO, Rodrigues DT, Gayer MC, Carriço MRS, Bianchini MC, Puntel RL, Denrdin ELG, Roehrs R. 2017. The phytoremediation potential of *Plectranthus neochilus* on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and the role of antioxidant capacity in herbicide tolerance. *Chemosphere*, 188:231-240.

- Ramezani MK, Oliver DP, Kookana RS, Lao W, Gill G, Preston C. 2010. Faster degradation of herbicidally-active enantiomer of imidazolinones in soils. *Chemosphere*, 79(11):1040-1045.
- Rodrigues BN, Almeida FS. 2011. Guia de herbicidas. Londrina: IAPAR, 697 p.
- Rubin E, Ramaswami A, 2001. The potential for phytoremediation of MTBE, *Water Research*, 35:1348–1353.
- Sánchez V, López-Bellido FJ, Canizares P, Rodriguez L. 2017. Assessing the phytoremediation potential of crop and grass plants for atrazine-spiked soils. *Chemosphere*, 185:119-126.
- Schwitzguébel J. 2015. Phytoremediation of soils contaminated by organic compounds: hype, hope and facts. *Journal Soils Sediments*, 16(107):1-11.
- Silva DRO, Avila LA, Agostinetto D, Magro TD, Oliveira E, Zanella R, Noldin JA. 2009a. Monitoramento de agrotóxicos em águas superficiais de regiões orizícolas no sul do Brasil. *Ciência Rural*, 39(9):2283-2389.
- Silva DRO, Avila LA, Agostinetto D, Bundt AC, Primel EG, Caldas SS. 2011b. Ocorrência de agrotóxicos em águas subterrâneas de áreas adjacentes a lavouras de arroz irrigado. *Química Nova*, 34(5):748-752.
- Souto KM, Jacques RJS, Avila LA, Machado SLO, Zanella R, Refatti JP. 2013. Biodegradation of the herbicides imazethapyr and imazapic in rhizosphere soil of six plant species. *Ciência Rural*, Santa Maria, 43(10):1790-1796.
- Tahir U, Yasmin A, Khan UH, 2015. Phytoremediation: Potential flora for synthetic dyestuff metabolism. *Journal of King Saud University*, 28(2):119-130.
- Tan S, Evans RR, Dahmer ML, Singh BK, Shaner DL, 2005. Imidazolinone tolerant crops: history, current status and future. *Pest Management Science*, 61:246–257.
- Tripathi V, Fraceto LF, Abhilash PC. 2015. Sustainable clean-up technologies for soils contaminated with multiple pollutants: Plant-microbe-pollutant and climate nexus. *Ecological Engineering*, 82:330-335.
- Tu M, Hurd C, Randall JM. 2001. *Weed Control Methods Handbook: Tools and Techniques for Use in Natural Areas*. The Nature Conservancy. Disponível em: <<http://www.invasive.org/gist/handbook.html>>. Acesso em 12 de jan. 2016.
- USEPA. 2000a. Supplementary Guidance for Conducting Health Risk Assessment of Chemical Mixtures. USEPA EPA/630/R- 00/002. Environmental Protection Agency, Risk Assessment Forum.

- USEPA. 2001b. Opp official record health effects division scientific data reviews EPA series 361. Disponível em <https://archive.epa.gov/pesticides/chemicalsearch/chemical/foia/web/pdf/129041/129041-017.pdf>. Acesso em 23 de mar. 2016.
- Vargas L, Roman ES. 2006. Resistência de plantas daninhas a herbicidas: conceitos, origem e evolução. Embrapa Trigo. ISSN 1518-6512.
- Vázquez S, Goldsbrough P, Carpena RO. 2009. Comparative analysis of the contribution of phytochelatins to cadmium and arsenic tolerance in soybean and white lupin. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47:63–67.
- Vidal RA. 2002. Ação dos herbicidas. Porto Alegre, Evangraf, 89 p.
- Villa SCC, Marchezan E, Avila LA, Massoni PFS, Telo GM, Machado SLO, Camargo ER. 2006. Arroz tolerante a imidazolinonas: controle do arroz vermelho, fluxo gênico e efeito residual do herbicida em culturas sucessoras não-tolerantes. *Planta Daninha*, 24(4): 761-768.
- Vose JM, Wayne T, Swank WT, Harvey GJ, Clinton BD, Sobek C. 2000. Leaf Water Relations and Sapflow in Eastern Cottonwood (*Populus deltoides* Bartr.) Trees Planted for Phytoremediation of a Groundwater Pollutant. *International Journal of Phytoremediation*, 2(1):53-73.
- Zanella R, Adaime MB, Peixoto SC, Friggi CA, Prestes OD, Machado SLO, Marchesan E, Avila LA, Primel EG. 2012. Herbicides Persistence in Rice Paddy Water in Southern Brazil, *Herbicides - Mechanisms and Mode of Action*, Dr. Mohammed Nagib Hasaneen (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/32727.
- Zhao B, Fu D, Yu Y, Huang C, Yan K, Li P, Shafi J, Zhu H, Wei S, Ji M. 2017. Non-target-site resistance to ALS-inhibiting herbicides in a *Sagittaria trifolia* L. population. *Pestic Biochem Physiol*. 140:79-84.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Determinar o potencial de fitorremediação de plantas cultivadas em solo contaminado com o herbicida imazapic.

2.2 Objetivos Específicos

- Identificar espécies tolerantes ao herbicida imazapic;
- Mensurar o efeito residual do imazapic em espécie sensível (*Sorghum bicolor*);
- Quantificar a fito/biodegradação do imazapic por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC).

CAPÍTULO I – Identificação de espécies tolerantes ao imazapic para potencial uso na fitorremediação

(Normas de acordo com a revista Archives of Agronomy and Soil Science)

RESUMO

O imazapic é caracterizado como um herbicida persistente, podendo afetar culturas sensíveis semeadas em sucessão, além de representar riscos de contaminação em ambientes aquáticos. O efeito residual desta molécula é dependente das características do solo, como pH, textura e teor de carbono orgânico. Portanto, é relevante o desenvolvimento de estratégias para a remoção de moléculas persistentes como as imidazolinonas. O objetivo do estudo foi de identificar espécies de plantas tolerantes ao imazapic para uso potencial em programas de remediação. Foram conduzidos onze experimentos com as espécies *Sorghum bicolor*, *Crotalaria spectabilis*, *Crotalaria ochroleuca*, *Canavalia ensiformis*, *Mucuna pruriens*, *Urochloa brizantha*, *Urochloa ruziziensis*, *Helianthus annuus* e *Crambe abyssinica*, cinco doses de imazapic (0, 58,33, 87,5, 175 e 350 g ha⁻¹) e dois tipos de solo. Os tratamentos foram delineados em blocos ao acaso com quatro repetições. As espécies foram cultivadas por 60 dias após a emergência, sendo os sintomas de fitointoxicação avaliados aos 30 e 60 dias. As plantas cultivadas em solo de textura média e com baixo teor de carbono orgânico apresentaram maiores respostas quando expostas ao solo contaminado com imazapic, em função da maior biodisponibilidade do herbicida. As espécies *Canavalia ensiformis*, *Mucuna pruriens* e *Urochloa brizantha* apresentaram menor fitointoxicação e maior produção de massa seca com o incremento das doses de imazapic. A tolerância dessas espécies ao solo tratado com imazapic é um indicador de seu potencial em fitorremediação.

Palavras-chave: solo, descontaminação, efeito tóxico, persistência.

1.1 Introdução

A rápida industrialização, urbanização e a mudança nas práticas agrícolas resultaram na crescente contaminação do solo e ecossistemas aquáticos. Entre os contaminantes orgânicos mais comuns, os herbicidas representam a maior parte do uso geral de pesticidas no mundo (Tripathi et al. 2015).

Utilizados em áreas de grande extensão, os herbicidas promovem o controle efetivo de plantas daninhas. Moléculas com longo efeito residual no solo são importantes para culturas que necessitam de um extenso período de prevenção da interferência de plantas daninhas, podendo permanecer ativos no solo, por tempo superior ao ciclo da cultura a qual foi aplicado. Conseqüentemente, o efeito residual prolongado possibilita a ocorrência de fitotoxicidade em culturas sensíveis cultivadas após a utilização desses produtos (Belo et al. 2007; Pires et al. 2008).

Além de impactos negativos sobre a produtividade de culturas sensíveis, os herbicidas podem representar riscos ecológicos sobre organismos não alvos. Efeitos fitotóxicos têm sido recentemente relatados pela exposição ao diuron (Behrens et al. 2016; Park et al. 2017), atrazine (Baxter et al. 2016), glifosato (Gomes e Juneau 2016; Schimpf et al. 2017; Souza et al. 2017) mesotrione (Piancini et al. 2015) e s-metaloclor (Mazouzi et al. 2016).

Herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS) têm sido amplamente utilizados pela elevada eficácia em baixas doses, amplo espectro de controle, baixa toxicidade para mamíferos ($DL_{50} > 5\text{g kg}^{-1}$) e seletividade (Owen et al. 2012; Dor et al. 2016). Pertencente ao grupo químico das imidazolinonas, o imazapic possui como mecanismo de ação a inibição da enzima ALS que catalisa a biossíntese de três aminoácidos de cadeia ramificada valina, leucina e isoleucina. A inibição dessa enzima promove a deficiência desses aminoácidos resultando na paralisação do crescimento, clorose e morte da planta (Deng et al. 2017; Zhao et al. 2017).

O imazapic é caracterizado como um herbicida persistente, podendo afetar culturas sensíveis semeadas em sucessão. Dan et al. (2011) relataram redução no acúmulo de massa seca da parte aérea e no rendimento de grãos no milho semeado aos 120 dias após a aplicação (DAA) de 100 g ha^{-1} de imazethapyr, em solo de textura argilosa. Silva et al. (1999) verificaram que no dobro da dose recomendada, o imazethapyr causou inibição no crescimento do sorgo semeado aos 120 DAA, com redução no acúmulo de massa seca da parte aérea de 32,71 e 65,40% nas respectivas doses de 100 e 200 g ha^{-1} .

De onze culturas testadas, nove apresentaram decréscimo na massa seca da parte aérea aos 300 DAA com a mistura de imazapir e imazethapyr na dose de 114 g ha⁻¹ (Alister e Kogan 2005). A mistura de imazethapyr e imazapic na dose de 200 g ha⁻¹ ocasionou reduções da massa seca da parte aérea de 78, 95, 98 e 100% respectivamente para as plantas de milho, pepino, rabanete e tomate aos 1.100 DAA (Sousa et al. 2012). Além do impacto sobre a produtividade em culturas de sucessão ou rotação, os herbicidas do grupo químico das imidazolinonas foram relatados em amostras de águas subterrâneas (Batagglin et al. 2000; Börjesson et al. 2004; Silva et al. 2011; Martini et al. 2012).

Portanto, é relevante o desenvolvimento de estratégias para a remoção de moléculas persistentes como as imidazolinonas. Um potencial processo para remover contaminantes é a fitorremediação. A técnica baseia-se no uso de plantas e microrganismos associados para remediar solos, sedimentos, águas superficiais e subterrâneas contaminadas por metais e compostos orgânicos. Neste processo, poluentes orgânicos podem ser absorvidos, metabolizados ou degradados por enzimas e incorporados ao tecido vegetal (Shi et al. 2012; Rodrigues-Hernandez et al. 2017).

Quando comparada aos métodos de tratamento convencionais, a fitorremediação proporciona menor impacto ambiental, além de ser economicamente viável. A técnica funciona de forma eficaz para contaminantes orgânicos presentes em concentrações relativamente baixas e seu desempenho é otimizado quando combinado com outras tecnologias (Montpetit e Lachapelle 2017).

A eficiência da fitorremediação requer a seleção criteriosa das espécies de plantas a serem utilizadas. As características ideais para a seleção dependem da capacidade de tolerância às concentrações relevantes do contaminante a ser remediado, bem como a presença de cocontaminantes, do crescimento rápido e alta produção de biomassa, desenvolvimento em solos pobres em nutrientes, da existência de raízes profundas e densas, do tempo necessário para a limpeza adequada do solo e das metas de remediação (Balseiro-Romero et al. 2017; Gerhardt et al. 2017). Com base do exposto, o objetivo deste estudo foi identificar espécies vegetais tolerantes ao imazapic, para potencial aplicação em programas de remediação.

1.2 Material e métodos

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação climatizada localizada no Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde. As unidades experimentais foram constituídas por vasos de polietileno com capacidade para 6 dm³ preenchidos com dois tipos de solo (textura média e argilosa) coletado da área do Campus sem histórico de aplicação de herbicidas. O substrato seco ao ar foi submetido ao processo de peneiramento e amostras foram coletadas para serem analisadas física e quimicamente. As principais características dos solos foram: Solo A (63% de areia, 5% de silte, 32% de argila, textura franco argilo-arenosa (média), 15,4 g dm⁻³ de CO, V de 32%, CTC de 7,1 cmolc dm⁻³, pH (CaCl₂) de 5,3); Solo B (50% de areia, 10% de silte, 40% de argila, textura argilosa, 26,8g dm⁻³ de CO, V de 50,7%, CTC de 7,69 cmolc dm⁻³ e pH (CaCl₂) de 5,2).

A seleção das espécies tolerantes baseou-se no método proposto por Madalão et al. (2013a). As espécies foram selecionadas com base em informações obtidas na literatura de plantas previamente testadas quanto ao seu potencial em tolerar herbicidas pertencentes ao grupo químico das imidazolinonas, assim como foram avaliadas outras importantes espécies reconhecidas por seu valor agrícola e econômico.

Foram conduzidos onze experimentos com as espécies vegetais *Sorghum bicolor* (sorgo), *Crotalaria spectabilis* (crotalária), *Crotalaria ochroleuca* (crotalária), *Canavalia ensiformis* (feijão-de-porco), *Mucuna pruriens* cv. Mucuna cinza (mucuna), *Urochloa brizantha* cv. Marandu (braquiarião), *Urochloa decumbens* (capim-braquiária), *Panicum maximum* cv. Mombaça (colonião), *Urochloa ruziziensis* (capim-ruziensis), *Helianthus annuus* (girassol) e *Crambe abyssinica* (crambe). Sementes adquiridas da BRSEEDS Produção e Comércio de Sementes Ltda. Os tratamentos constaram de cinco doses de imazapic (0, 58,33 (1/3 da dose recomendada), 87,5 (1/2 dose comercial), 175 (dose comercial) e 350 g ha⁻¹ (2x a dose comercial) delineados em blocos ao acaso com 4 repetições. Os experimentos foram realizados em dois momentos, sendo de março a maio de 2016 (Solo B) e de setembro a novembro de 2016 (Solo A).

Ao término da semeadura das espécies, o imazapic foi aplicado em pré-emergência, utilizando um pulverizador de precisão, pressurizado com gás carbônico (CO₂). O volume de aplicação foi de 250 L ha⁻¹. Após 10 dias de emergência das plântulas, foi realizado o desbaste deixando três plantas por vaso. A irrigação diária foi realizada a fim de manter a umidade do substrato e o suprimento hídrico da cultura.

Aos 30 e 60 dias após a emergência (DAE) foram avaliados os sintomas de fitointoxicação (%) e a altura de plantas (cm). A fitotoxicidade foi determinada por avaliação visual, utilizando escala percentual entre 0 (sem lesão) a 100% (morte completa da planta), conforme o proposto por SBCPD (1995). A medição da altura foi analisada por escala graduada, tendo como referência o meristema apical para as dicotiledôneas e a última folha expandida para as monocotiledôneas.

Transcorridos 60 dias após a emergência, as espécies foram retiradas das unidades experimentais, procedendo-se a separação da parte aérea e do sistema radicular, sendo o material vegetal encaminhado para estufa de secagem com circulação de ar forçado a 70 °C por 72 h, seguido de pesagem para a determinação da massa seca.

As médias referentes à altura de plantas e as massas secas da parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR) obtidas pela testemunha de cada espécie (dose zero), dentro de cada dose foram transformadas, atribuindo-se índice igual a 1.

Os resultados para cada tipo de solo foram submetidos à análise de variância, ao nível de 5% de significância e à análise de regressão. A escolha dos modelos baseou-se na significância dos parâmetros, resposta biológica e nos valores de R^2 . Posteriormente, os modelos definidos para cada tipo de solo foram submetidos à análise de identidade de modelos e igualdade de parâmetros.

1.3 Resultados

Urochloa decumbens

Aos 30 DAE, observou-se em cada solo, que a fitointoxicação do herbicida para *U. decumbens* foi distinta, sendo que no solo A esse efeito foi mais evidenciado com o aumento das doses, representando acréscimos de 0,20 e 0,15% nas plantas cultivadas no solo A e B, respectivamente (Figura 1a). A partir dos 60 DAE, no solo B, não se observou fitointoxicação significativa do herbicida, enquanto no solo A, com o aumento da dose o sintoma aumentou 0,24% para cada $g\ ha^{-1}$ do herbicida aplicado, atingindo 81% de fitointoxicação nas plantas de *U. decumbens* na dose de $350\ g\ ha^{-1}$ (Figura 1b).

Este comportamento demonstrou que o herbicida permaneceu mais disponível para as plantas, refletindo na resposta em relação à altura verificada aos 30 DAE, cuja redução foi de 0,1% com o aumento da dose do herbicida, independentemente do tipo de solo que *U. decumbens* foi cultivada (Figura 1c). Aos 60 DAE não foi observado efeito do herbicida sobre a altura das plantas cultivadas no solo B, enquanto no solo A

decréscimos lineares foram observados, atingindo reduções de 30 e 65% desta variável nas doses de 175 e 350 g ha⁻¹, respectivamente, se comparado à testemunha (Figura 1d).

Aos 60 DAE, com o acréscimo das doses verificaram reduções lineares na MSPA e MSR nas plantas cultivadas em ambos os solos (Figura 1e, f). Para a MSPA, os decréscimos lineares representaram 0,25% e 0,14% para cada g ha⁻¹ do herbicida aplicado nos solos A e B, respectivamente. A MSR das plantas cultivadas no solo B, apresentou decréscimo linear de 0,11% para cada g ha⁻¹ do herbicida aplicado, enquanto os efeitos na MSR das plantas cultivadas no solo A, foram mais representativos e sua resposta ajustada ao modelo logístico, com redução de 50% da MSR na dose de 53 g ha⁻¹ e ausência na produção destas nas doses próximas a 350 g ha⁻¹.

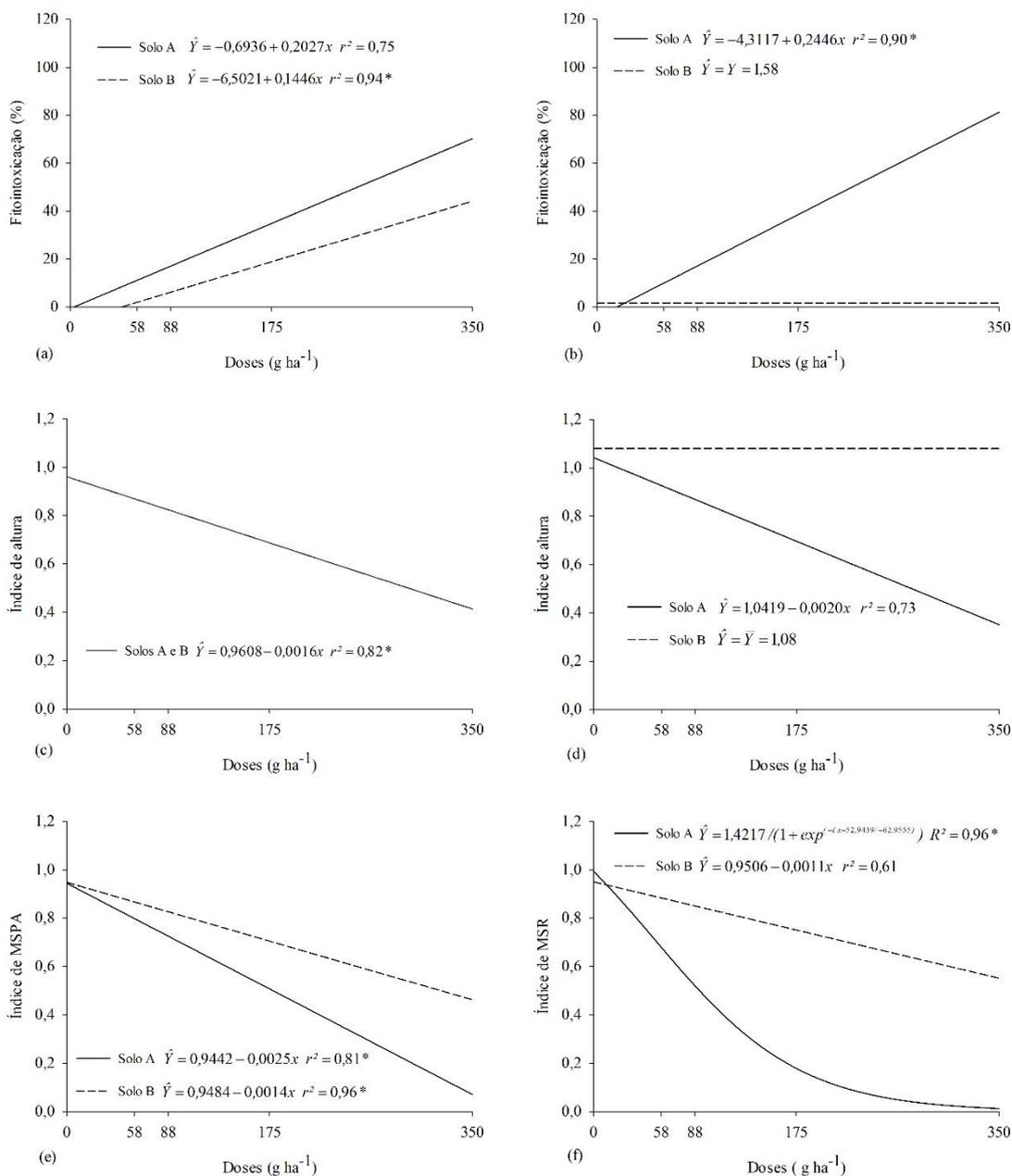


Figura 1. Fitointoxicação (a, b) e índice de altura (c, d) aos 30 e 60 DAE, índice de massa seca da parte aérea (MSPA) (e) e de raiz (MSR) (f) em *Urochloa decumbens*, em função da dose do herbicida imazapic aplicado em dois tipos de solo.

Urochloa brizantha

As plantas de *Urochloa brizantha* cultivadas em ambos os tipos de solo, apresentaram baixos níveis de fitointoxicação quando expostas às doses de imazapic em avaliações feitas aos 30 e 60 DAE. Para as plantas cultivadas no solo B, não foram observados efeitos de doses aos 30 DAE, apresentado fitointoxicação média de 1,25%; enquanto no solo A, foram observados aumentos lineares de 0,06% para cada g ha⁻¹ do herbicida aplicado, atingindo 26% quando expostas a maior dose do herbicida (Figura 2a). Aos 60 DAE, com o aumento das doses, a fitointoxicação aumentou 0,05% para cada g ha⁻¹ do herbicida aplicado, independentemente do tipo de solo que *U. brizantha* foi cultivado (Figura 2b).

A altura das plantas não foi influenciada pelas doses de imazapic quando *U. brizantha* foi cultivada no solo B. Todavia, no solo A aos 30 DAE, notaram efeitos significativos sendo a resposta ajustada ao modelo logístico com redução nesta variável de 16 e 43%, respectivamente, nas doses de 58 e 350 g ha⁻¹ (Figura 2c). Aos 60 DAE, houve decréscimos lineares de 0,12% na altura de plantas para cada g ha⁻¹ do herbicida aplicado, apresentando redução de 32% na dose de 350 g ha⁻¹ em relação a dose zero (Figura 2d).

Semelhantemente à altura de plantas de *U. brizantha* cultivada no solo B, não foram observados efeitos entre as doses para a MSPA (Figura 2e) e a MSR (Figura 2f). No entanto, com o acréscimo da dose aplicada no solo A, observaram reduções lineares de 0,19 e 0,18% no acúmulo de MSPA e MSR de *U. brizantha*, respectivamente, para cada g ha⁻¹ do herbicida aplicado.

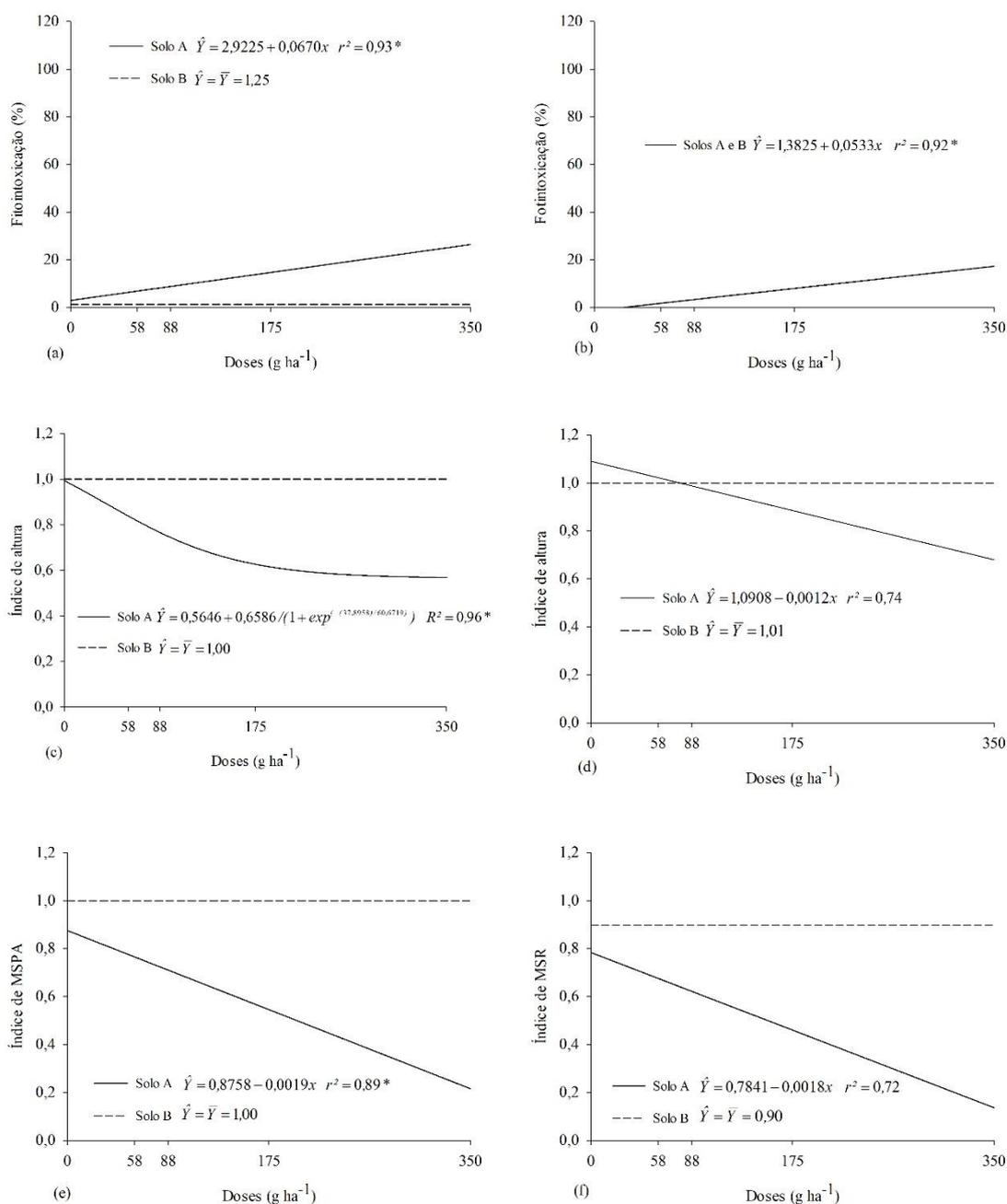


Figura 2. Fito-intoxicação (a, b) e índice de altura (c, d) aos 30 e 60 DAE, índice de massa seca da parte aérea (MSPA) (e) e de raiz (MSR) (f) em *Urochloa brizantha* em função da dose do herbicida imazapic aplicado em dois tipos de solo.

Panicum maximum

Independentemente do tipo de solo que as planta de *Panicum maximum* foram cultivadas, foram observados aumentos lineares nos valores de fitointoxicação quando as mesmas foram expostas as doses de imazapic. Para cada g ha⁻¹ do herbicida aplicado, os sintomas aumentaram em 0,29 e 0,26% nas avaliações realizadas aos 30 (Figura 3a) e 60

DAE (Figura 3b), respectivamente. Comparado à testemunha, os aumentos da fitointoxicação representaram 99 e 89% na dose de 350 g ha⁻¹, em avaliações realizadas aos 30 e 60 DAE, respectivamente. Estes sintomas contribuíram na redução linear do porte da planta em 0,27%, em média, aos 30 (Figura 3c) e 60 DAE (Figura 3d) para cada g ha⁻¹ do herbicida aplicado.

Para a MSPA de *P. maximum*, observaram-se reduções lineares de 0,25 e 0,29% respectivamente, nos solos A e B com o aumento das doses de imazapic (Figura 3e). No entanto, para cada g ha⁻¹ aplicado do herbicida, em ambos tipos de solo, a MSR apresentou decréscimo linear de 0,27% (Figura 3f).

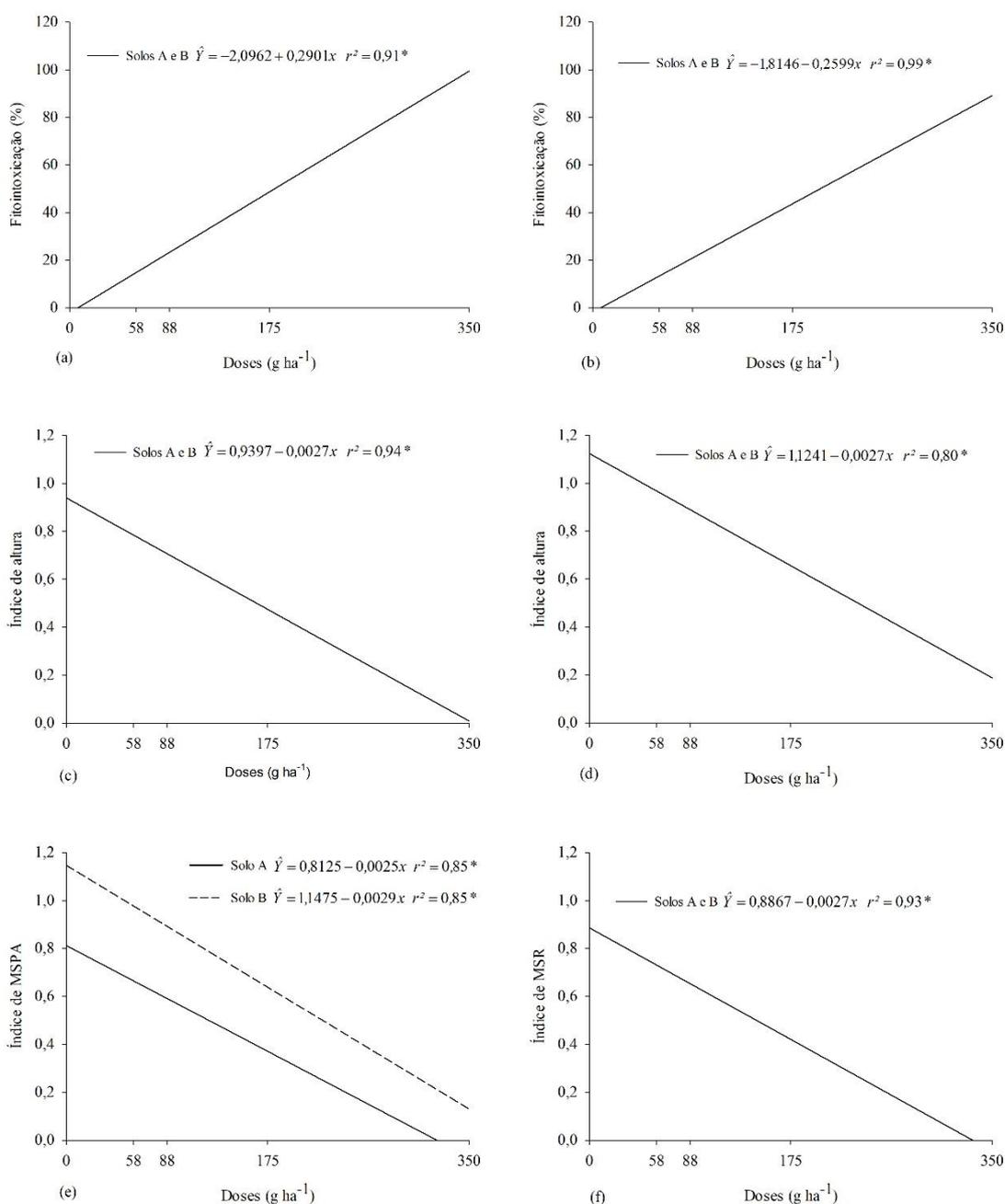
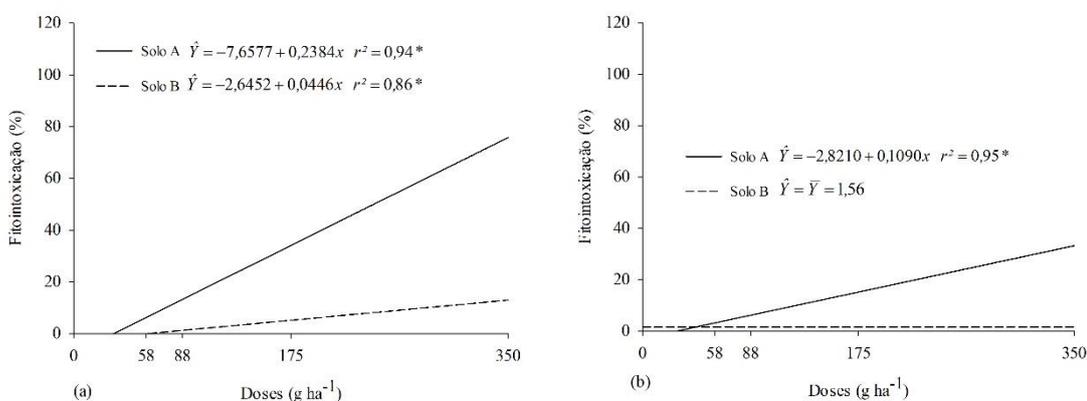


Figura 3. Fitointoxicação (a, b) e índice de altura (c, d) aos 30 e 60 DAE, índice de massa seca da parte aérea (MSPA) (e) e de raiz (MSR) (f) em *Panicum maximum*, em função da dose do herbicida imazapic aplicado em dois tipos de solo.

Urochloa ruziziensis

Aos 30 DAE, as plantas de *Urochloa ruziziensis* (Figura 4a) apresentaram maior fitointoxicação quando cultivadas no solo A e baixos níveis de injúrias no solo B. Para cada aumento de dose aplicada (g ha^{-1} de herbicida aplicado) observou-se acréscimos da fitointoxicação de 0,24% e 0,045% nas plantas cultivadas nos solos A e B, respectivamente. Aos 60 DAE, no solo A, a fitointoxicação de *U. ruziziensis* foi reduzida em 0,11% para g ha^{-1} de herbicida aplicado e não foi verificado, no solo B, efeitos entre doses nas plantas cultivadas e a fitointoxicação média foi de 1,56% (Figura 4b).

Reduções lineares na altura das plantas de *U. ruziziensis* foram observadas em avaliações realizadas aos 30 e aos 60 DAE, em ambos os tipos de solos. Aos 30 DAE, para cada g ha^{-1} de herbicida aplicado houve reduções de 0,18 e 0,10% nas plantas cultivadas nos solos A e B, respectivamente, e caracterizou reduções de 76 e 13% nas plantas submetidas a maior dose (350 g ha^{-1}) do herbicida, comparativamente à testemunha (Figura 4c). Da mesma forma, o declínio no porte da planta aos 60 DAE, foi de 0,17 e 0,07% para cada g ha^{-1} de herbicida aplicado nos solos A e B, respectivamente (Figura 4d). Reduções lineares foram observadas para a produção de MSPA nas plantas de *U. ruziziensis* com 0,24 e 0,11% e para a MSR de 0,23 e 0,19%, quando as plantas foram cultivadas nos solos A e B, respectivamente (Figura 4e, f).



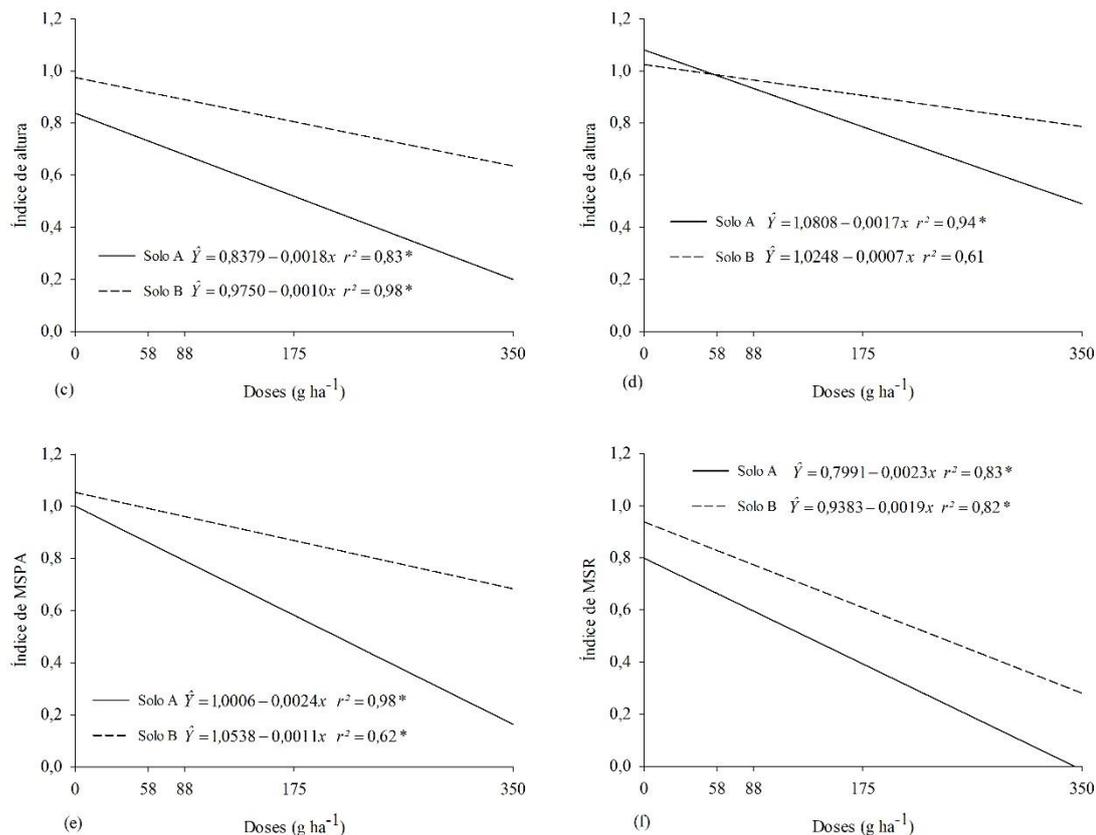


Figura 4. Fitointoxicação (a, b) e índice de altura (c, d) aos 30 e 60 DAE, índice de massa seca da parte aérea (MSPA) (e) e de raiz (MSR) (f) em *Urochloa ruziziensis* em função da dose do herbicida imazapic aplicado em dois tipos de solo.

Crambe abyssinica

As plantas de *Crambe abyssinica* mostraram-se altamente suscetíveis ao aumento das doses de imazapic, independentemente do tipo de solo. Todavia, no solo A os resultados de fitointoxicação se ajustaram a modelos exponenciais crescentes e a morte da planta (100% de fitointoxicação) foi observado a partir de doses inferiores a 58 g ha⁻¹ em ambas as épocas de avaliação. Para o solo B, aos 30 DAE (Figura 5a), aproximadamente 100% de fitointoxicação foi observado a partir da dose de 87 g ha⁻¹; porém, não houve ajuste na equação de regressão. Para o solo B, aos 60 DAE (Figura 5b), foi ajustado o modelo exponencial crescente para explicar a fitointoxicação e a morte da planta foi observada no modelo a partir da dose 217 g ha⁻¹.

Modelos exponenciais decrescentes se ajustaram aos resultados do índice de altura (Figura 5c, d), MSPA (Figura 5e) e MSR (Figura 5f) das plantas de crambe expostas as doses de imazapic em avaliações feitas aos 30 e aos 60 DAE, em ambos os tipos de solos. Especificamente no solo A, os sintomas foram mais acentuados e 100% de redução nestas

variáveis (altura, MSPA e MSR) foram observadas em doses abaixo de 100 g ha⁻¹ do imazapic, enquanto no solo B, o mesmo nível de intoxicação foi observado em doses acima de 175 g ha⁻¹ do herbicida.

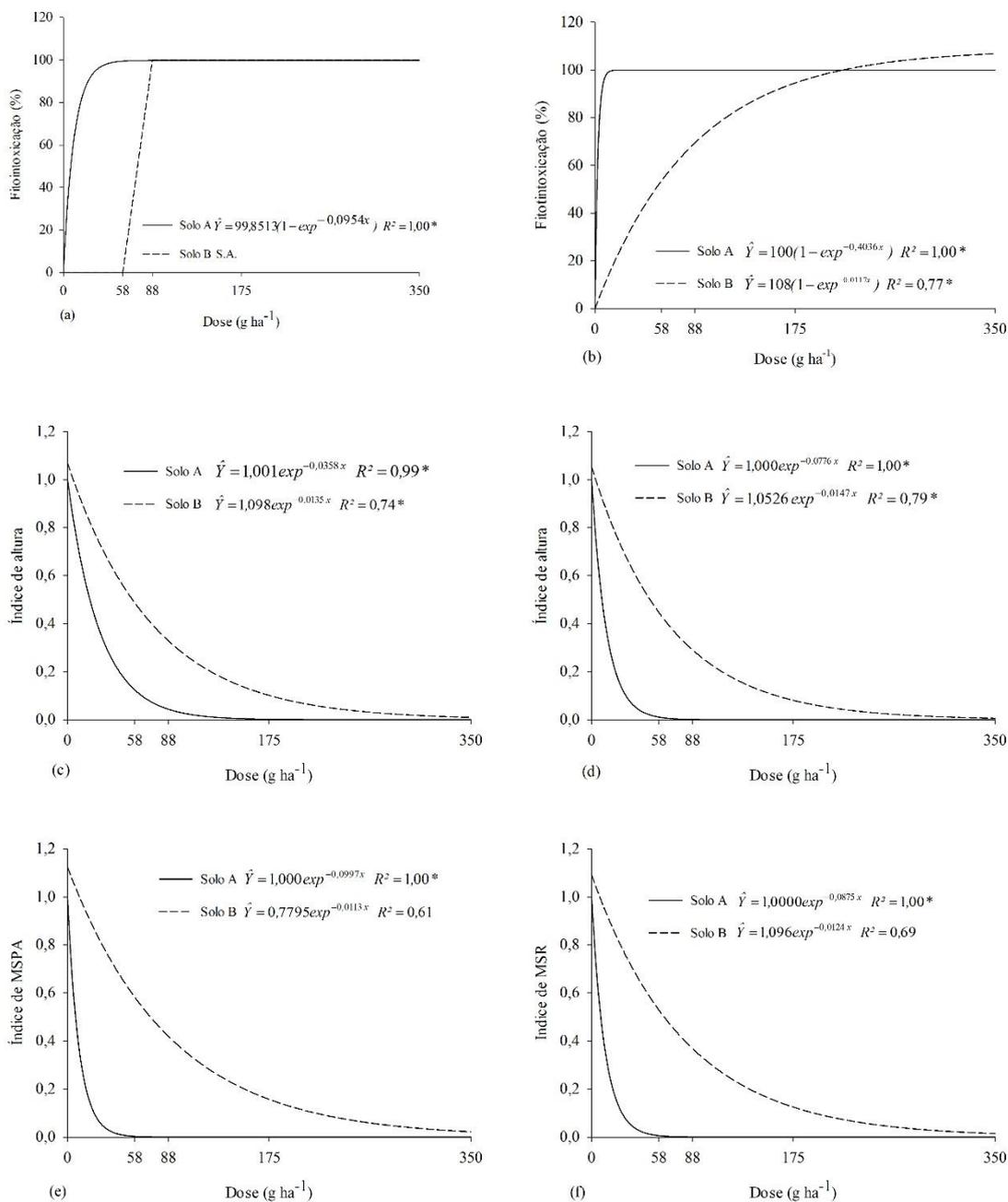
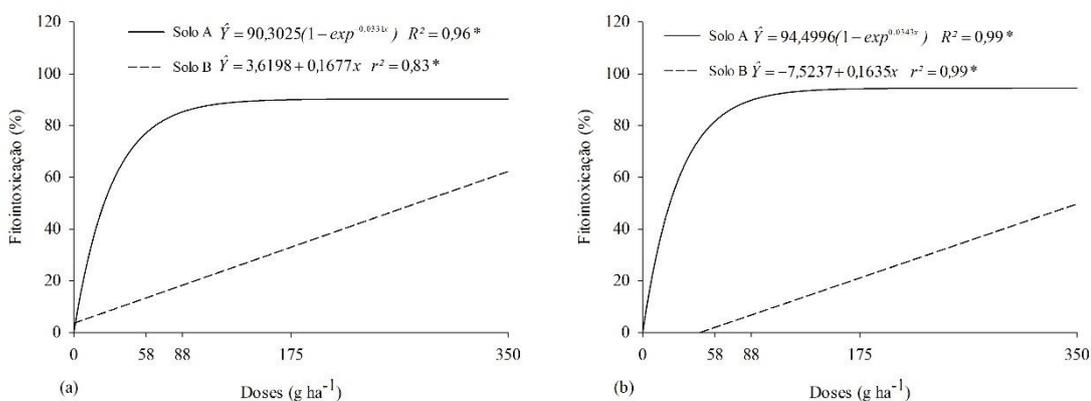


Figura 5. Fitointoxicação (a, b) e índice de altura (c, d) aos 30 e 60 DAE, índice de massa seca da parte aérea (MSPA) (e) e de raiz (MSR) (f) em *Crambe abyssinica* em função da dose do herbicida imazapic aplicado em dois tipos de solo. S.A. (sem ajuste)

Crotalaria ochroleuca

A fitointoxicação de *Crotalaria ochroleuca* cultivada no solo A e avaliada aos 30 e aos 60 DAE, ajustou-se aos modelos exponenciais crescentes, manifestando maior sensibilidade ao imazapic, quando comparada às plantas cultivadas no solo B, em que os resultados foram explicados por modelos lineares crescentes (Figura 6a, b). Valores de fitointoxicação superiores a 80%, foram verificados em doses acima de 70 g ha⁻¹ em plantas cultivadas no solo A, independentemente da época de avaliação. Maiores níveis de tolerância foram observados no cultivo de plantas no solo B, em que independentemente da época avaliada, a fitointoxicação foi de 0,16% para cada g ha⁻¹ do herbicida aplicado. O incremento da dose de imazapic ocasionou fitointoxicação de 62 e 50% na dose de 350 g ha⁻¹ aos 30 e 60 DAE, respectivamente, se comparado à testemunha.

O comportamento referente aos sintomas observados para a variável fitointoxicação corroboram com aquele observado para a altura de plantas de *Crotalaria ochroleuca* avaliada aos 30 (Figura 6c) e 60 DAE (Figura 6d), bem como para a MSPA (Figura 6e) e MSR (Figura 6f), cujos valores foram explicados por modelos exponenciais decrescentes em solo A, e semelhantemente, para as plantas cultivadas em solo B por modelos lineares decrescentes. Reduções superiores a 80% para as variáveis índice de altura, MSPA e MSR foram observadas em doses abaixo de 175 g ha⁻¹ nas plantas de *Crotalaria ochroleuca* cultivadas no solo A. Para o solo B, os efeitos para as mesmas variáveis foram atenuados e as reduções para cada g ha⁻¹ do imazapic aplicado foram de 0,23 e 0,21% aos 30 e 60 DAE, para a altura de plantas, 0,23 e 0,16% para a MSPA e MSR, respetivamente. Comparado à testemunha que não recebeu a aplicação do herbicida, as reduções foram de 75 e 65% para a altura, 78 e 62% para a MSPA e MSR quando as plantas receberam à dose mais elevada (350 g ha⁻¹) do herbicida.



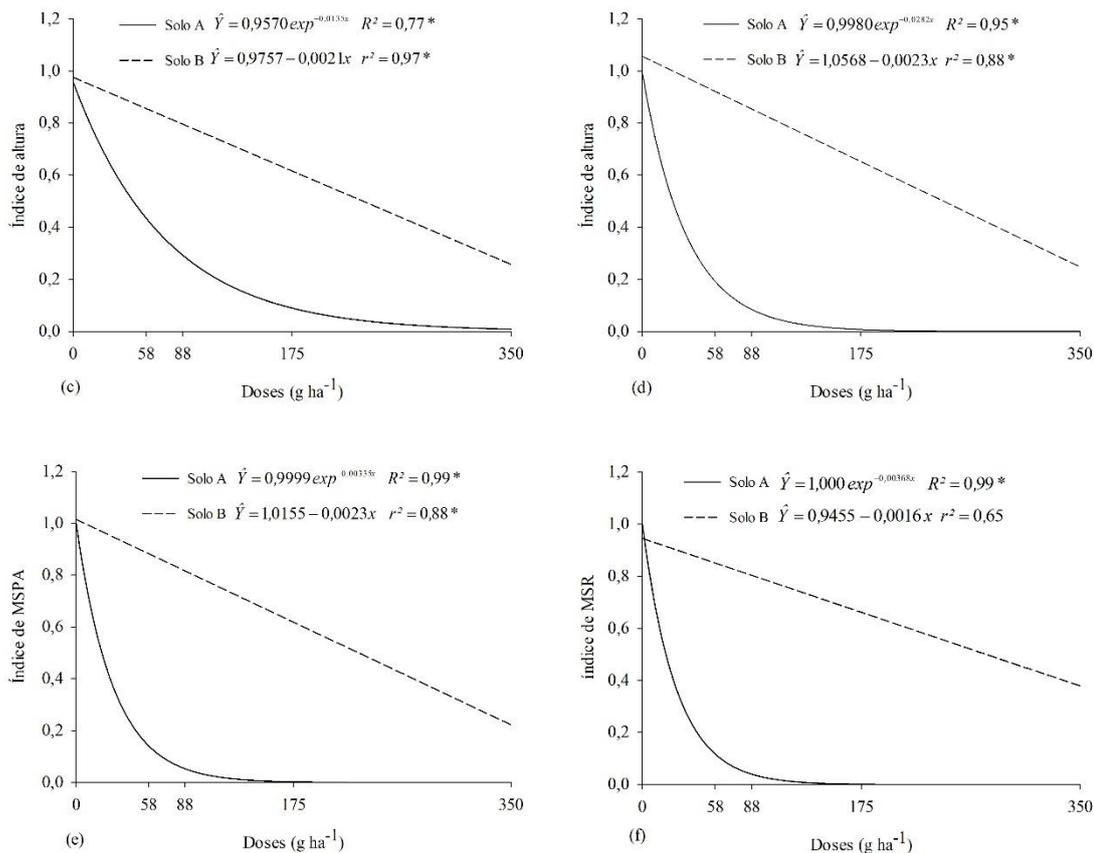


Figura 6. Fitointoxicação (a, b) e índice de altura (c, d) aos 30 e 60 DAE, índice de massa seca da parte aérea (MSPA) (e) e de raiz (MSR) (f) em *Crotalaria ochroleuca* em função da dose do herbicida imazapic aplicado em dois tipos de solo.

Crotalaria spectabilis

Crotalaria spectabilis mostrou-se mais tolerante ao imazapic do que a *C. ochroleuca*. Os sintomas de fitointoxicação de *C. spectabilis* foram ajustados aos modelos lineares crescentes para as avaliações realizadas aos 30 e 60 DAE, em ambos os tipos de solo. Aos 30 DAE, para cada g ha⁻¹ do imazapic aplicado a fitointoxicação das plantas aumentaram 0,15 e 0,07% nos solos A e B, respectivamente (Figura 7a), e aos 60 DAE de 0,11 e 0,06% nos solos A e B (Figura 7b). A fitointoxicação média foi de 40% no solo A e de 20% no solo B, em ambas as épocas avaliadas, na maior dose aplicada do herbicida (350 g ha⁻¹) em comparação à testemunha.

Fitointoxicação média abaixo de 20% verificada na maior dose do herbicida aplicado no solo B, não refletiu em efeitos significativos para as doses sobre as variáveis altura, MSPA e MSR de plantas de *C. spectabilis* cultivadas no solo B. Acima de 20%, conforme observado no solo A, a fitointoxicação refletiu em efeitos significativos com

reduções nas variáveis altura, MSPA e MSR de plantas de *C. spectabilis* com o aumento das doses aplicadas de imazapic. Para a variável índice de altura, o aumento da dose promoveu decréscimo linear de 0,10% no cultivo das plantas para cada g ha^{-1} do herbicida aplicado no solo A aos 30 DAE (Figura 7c). Aos 60 DAE para essa mesma característica, o modelo logístico foi o que melhor se ajustou, e a dose de 339 g ha^{-1} reduziu em 50% o porte de plantas (Figura 7d). Para cada g ha^{-1} de imazapic aplicada no solo A, as reduções lineares da MSPA foi de 0,20% e da MSR foi de 0,23% (Figura 7e, f).

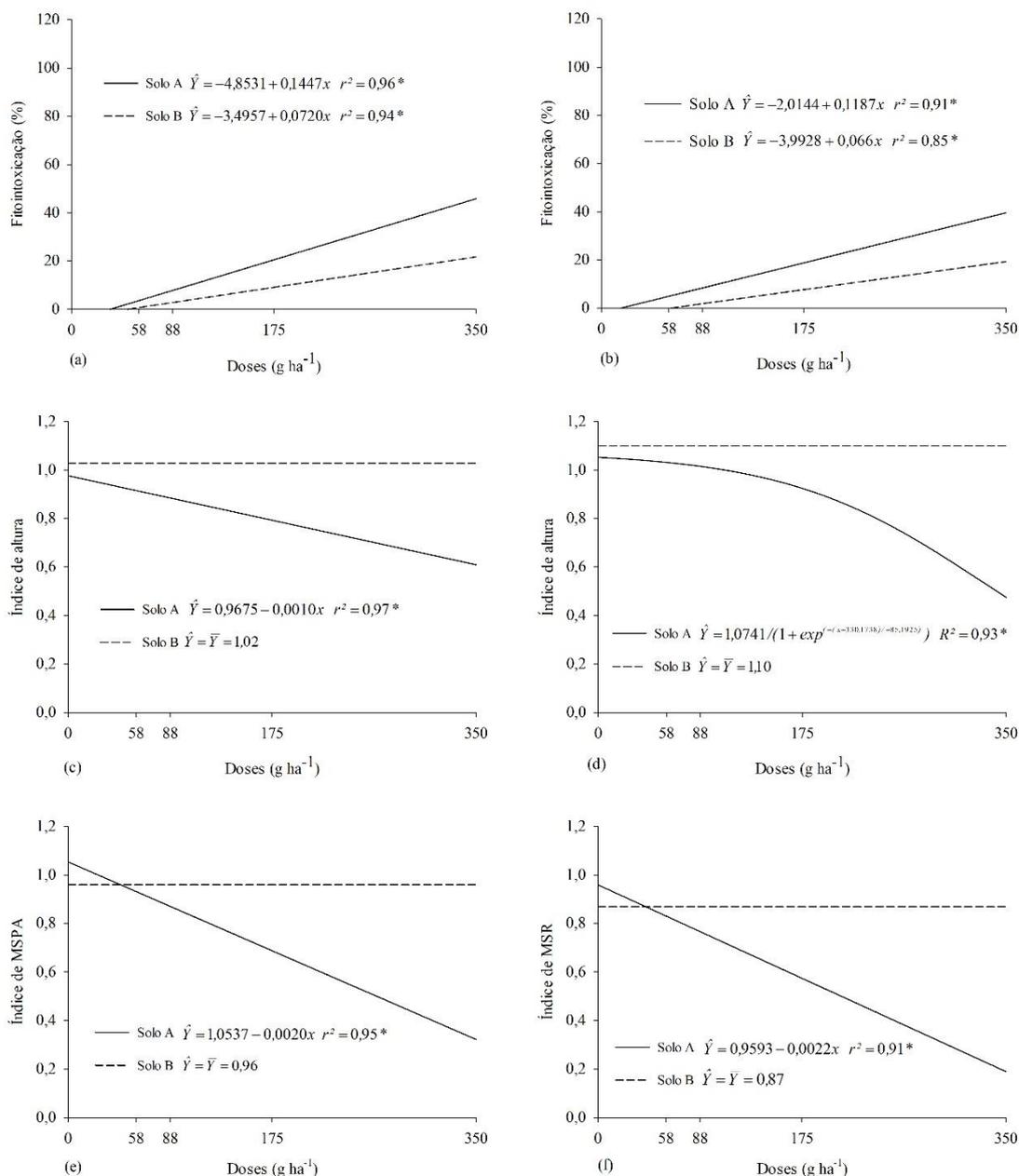
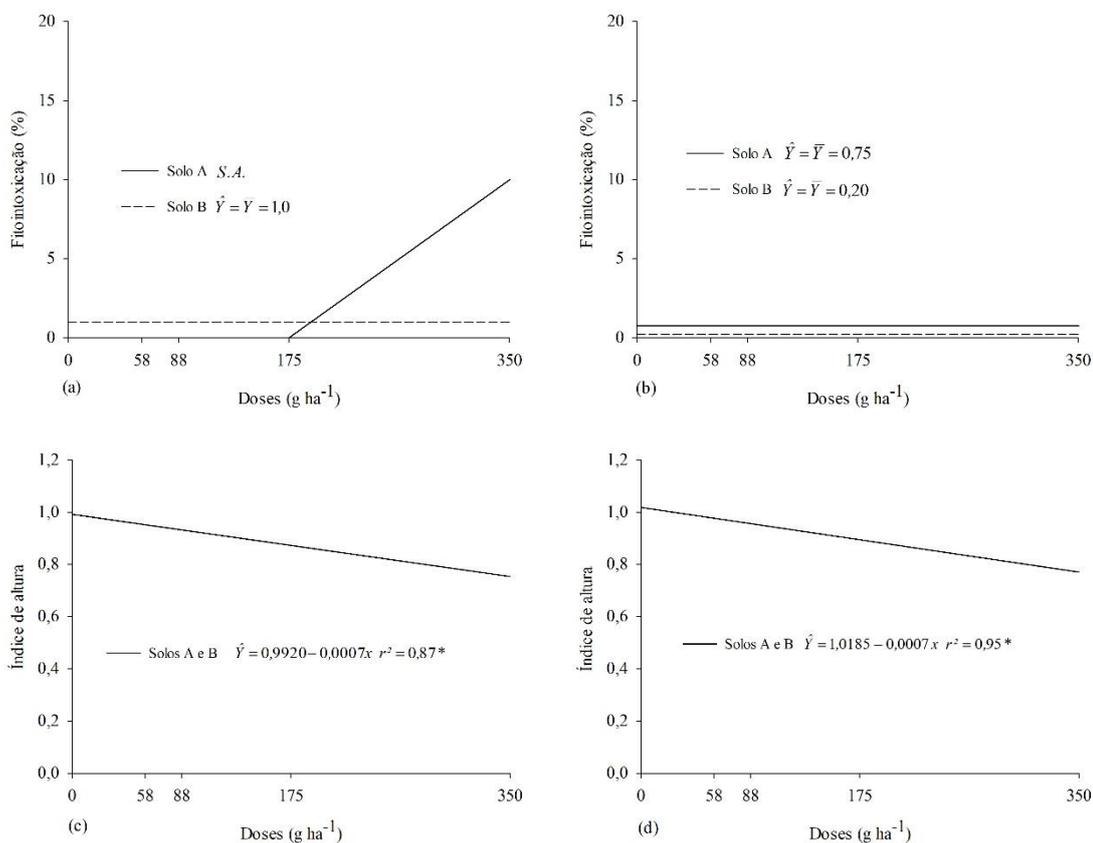


Figura 7. Fito-intoxicação (a, b) e índice de altura (c, d) aos 30 e 60 DAE, índice de massa seca da parte aérea (MSPA) (e) e de raiz (MSR) (f) em *Crotalaria spectabilis* em função da dose do herbicida imazapic aplicado em dois tipos de solo.

Canavalia ensiformes

Baixos níveis de fitointoxicação foram observados em *C. ensiformes*. Aos 30 DAE (Figura 8a) as plantas cultivadas no solo A demonstraram, na maior dose, fitointoxicação média de 10%; e nos demais ensaios os níveis de injúria foram insignificantes, permanecendo entre 0,20 a 1,0%. Esta tendência refletiu na resposta das demais variáveis, como por exemplo na altura de plantas, que apresentaram decréscimos lineares de 0,07% para cada g ha^{-1} do herbicida aplicado em ambas as épocas e independentemente do tipo de solo que as plantas de *C. ensiformes* foram cultivadas (Figura 8c, d). A produção de MSPA (Figura 8e) foi explicada por modelo linear decrescente que representou ambos os tipos de solo e apresentou pouca variação em função das doses, com queda unitária de 0,08%. A MSR (Figura 8f) não foi influenciada pelas doses do herbicida, enquanto no solo A verificou redução linear de 0,13% para cada g ha^{-1} do herbicida aplicado.



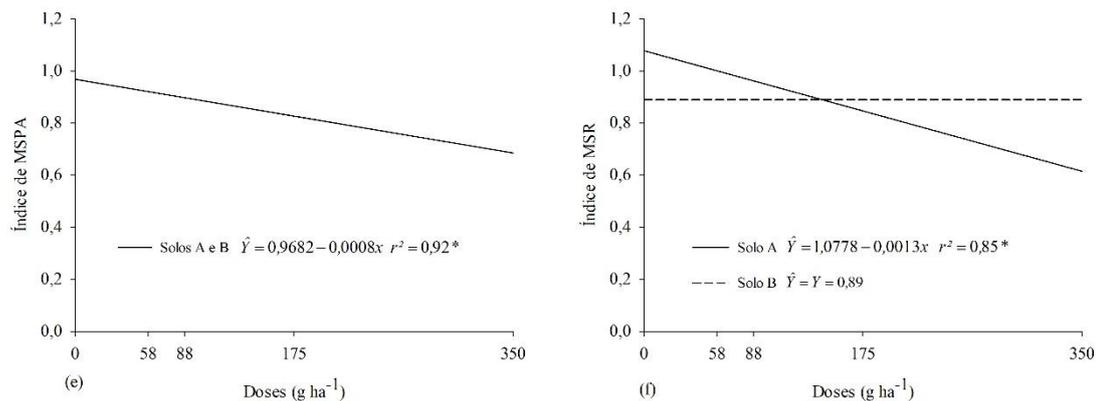


Figura 8. Fitointoxicação (a, b) e índice de altura (c, d) aos 30 e 60 DAE, índice de massa seca da parte aérea (MSPA) (e) e de raiz (MSR) (f) em *Canavalia ensiformis* em função da dose do herbicida imazapic aplicado em dois tipos de solo.

Helianthus annuus

As plantas de girassol apresentaram os maiores valores de fitointoxicação quando cultivadas no solo A independentemente da época avaliada. Aos 30 e 60 DAE, as doses que promoveram 50% dos sintomas de fitointoxicação no cultivo no solo A foram de 112 e 118 g ha⁻¹ do herbicida aplicado e a partir da dose de 176 g ha⁻¹ as plantas testadas apresentaram tendência de estabilização dos efeitos, e os valores foram próximos a 100%. As plantas cultivadas no solo B, foram mais tolerantes a ação do imazapic. Neste solo, o aumento das doses ocasionou acréscimos lineares de 0,03% e os maiores valores de fitointoxicação foram inferiores a 10% em avaliações feitas aos 30 DAE (Figura 9a). Aos 60 DAE, a aplicação da dose máxima de 350 g ha⁻¹ promoveu fitointoxicação em torno de 20% (Figura 9b).

De forma análoga, as maiores reduções no porte das plantas foram verificadas no solo A em ambas as épocas avaliadas. Aos 30 e 60 DAE (Figura 9c, d), as doses de imazapic que promoveram 50% da resposta na altura de plantas foram de 118 e 111 g ha⁻¹, com fitointoxicação próxima a 100% na dose 174 g ha⁻¹ aos 60 DAE. Já no solo B, aos 30 DAE o incremento das doses ocasionou redução linear de 0,07% em relação à testemunha, chegando a 23,29% de decréscimo na altura na maior dose testada. Houve aos 60 DAE com redução de 69% na altura, na maior dose em relação à testemunha e decréscimos lineares de 0,17% para cada g ha⁻¹ de herbicida aplicado.

O acréscimo das doses de imazapic reduziu o acúmulo de MSPA e MSR nas plantas e as doses de 96 e 66 g ha⁻¹ foram suficientes para inibir em 50% os valores destas variáveis, respectivamente, quando as plantas foram cultivadas no solo A. Para o solo B,

o modelo linear foi o que melhor explicou o resultado para a produção de MSPA (Figura 9e), chegando a 62% de inibição na dose de 350 g ha⁻¹. Para o solo B, o modelo exponencial explicou o efeito de doses para a MSR (Figura 9f), estimando-se inibição superior a 65% a partir da dose de 175 g ha⁻¹.

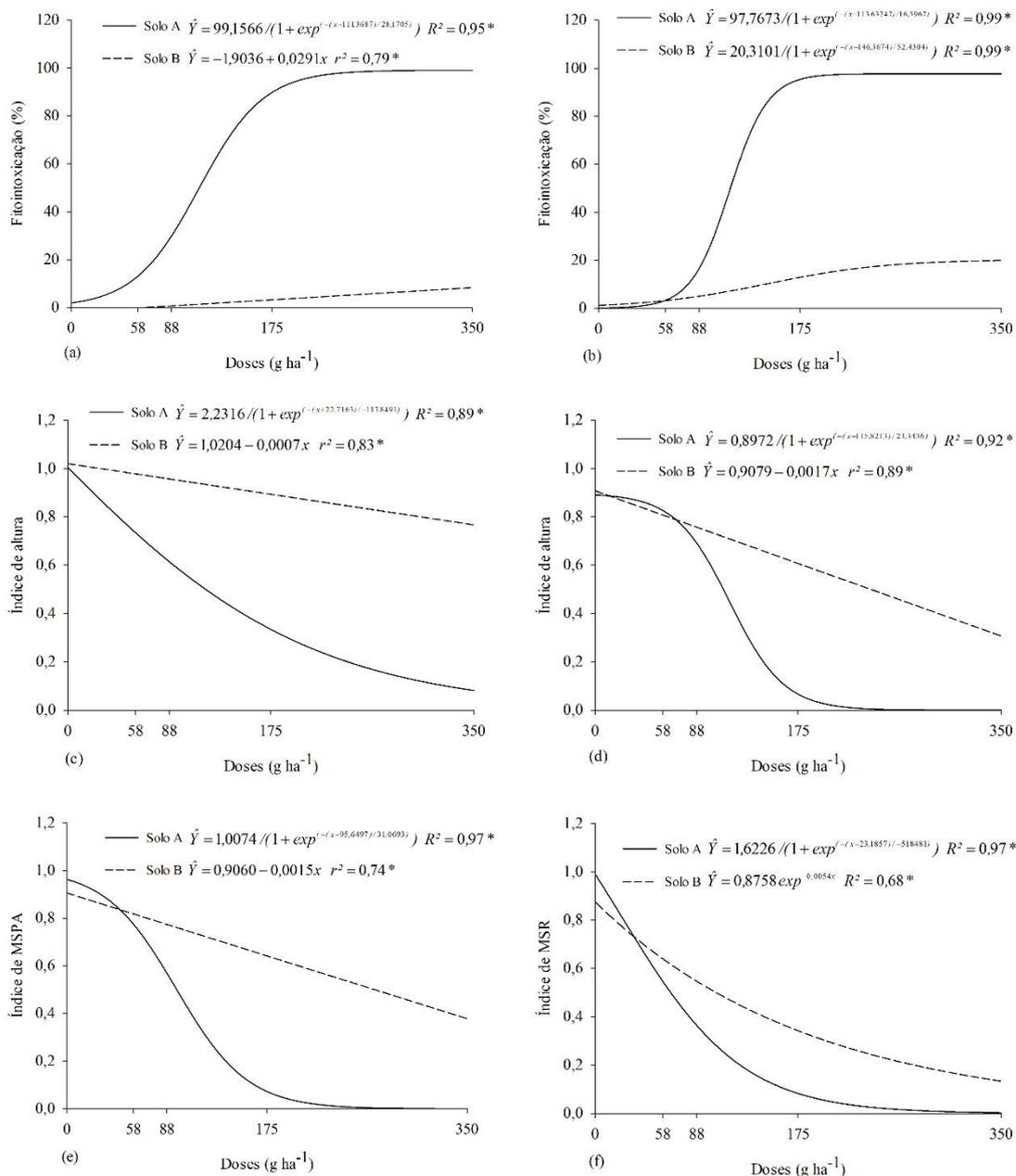
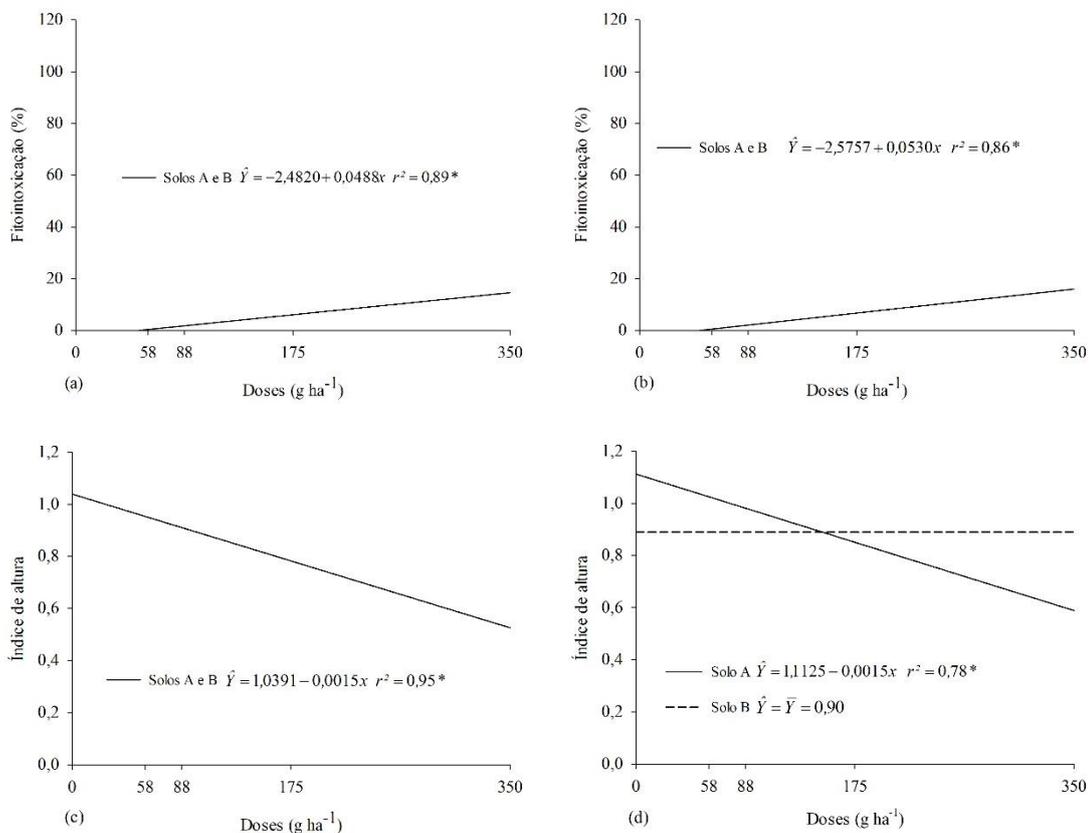


Figura 9. Fitointoxicação (a, b) e índice de altura (c, d) aos 30 e 60 DAE, índice de massa seca da parte aérea (MSPA) (e) e de raiz (MSR) (f) *Helianthus annuus* (girassol) em função da dose do herbicida imazapic aplicado em dois tipos de solo.

Mucuna pruriens

Baixos níveis de fitointoxicação foram observados para *Mucuna pruriens* em função das doses crescentes de imazapic. Aos 30 (Figura 10a) e 60 DAE (Figura 10b), foram observados incrementos lineares médios de 0,05% para cada g ha^{-1} do herbicida aplicado e os valores na dose máxima aplicada (350 g ha^{-1}) foram inferiores a 20%, independentemente do tipo de solo que as plantas foram cultivadas. Semelhantemente, houve pequena variação na altura de plantas e foi verificado decréscimo linear de 0,15% na altura aos 30 DAE (Figura 10c) em ambos os tipos de solo e de 0,07% aos 60 DAE (Figura 10d) no solo A para cada g ha^{-1} de herbicida aplicado. No solo B, não houve efeitos significativos em relação as doses e o índice de altura foi semelhante ao observado para a testemunha.

A MSPA se ajustou ao modelo de regressão linear para o solo A, com decréscimo estimado de 0,07% em comparação à testemunha e máxima inibição de 22% na maior dose testada (Figura 10e). Neste solo, o modelo logístico foi o que melhor explicou a MSR em plantas de *Mucuna pruriens*, que apresentou valores próximos de 30% de inibição até a dose estimada de 88 g ha^{-1} permanecendo constante até a dose de 350 g ha^{-1} (Figura 10f). Não foram observados efeitos das doses sobre a MSPA e MSR das plantas cultivadas no solo B, sendo os valores estatisticamente semelhantes à testemunha.



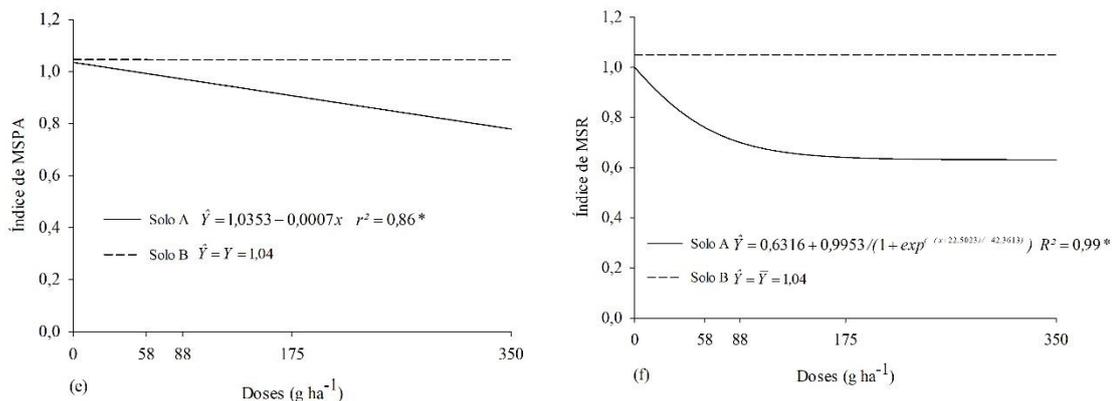


Figura 10. Fitointoxicação (a, b) e índice de altura (c, d) aos 30 e 60 DAE, índice de massa seca da parte aérea (MSPA) (e) e de raiz (MSR) (f) em *Mucuna pruriens* em função da dose do herbicida imazapic aplicado em dois tipos de solo.

Sorghum bicolor

S. bicolor mostrou-se suscetível ao aumento das doses do herbicida imazapic quando cultivado em ambos os tipos de solo. Os sintomas de fitointoxicação no solo A, foram mais intensos em relação ao solo B e são explicados por modelos logísticos, em que as doses de 120 e 97 g ha⁻¹ representaram 50% dos valores na variável resposta para avaliações aos 30 (Figura 11a) e 60 DAE (Figura 11b), respectivamente, com sintomas de fitointoxicação acima de 70% em doses superiores a 175 g ha⁻¹. No solo B, houve efeito linear crescente com o aumento das doses de imazapic, em ambas as épocas de avaliação com incremento de 0,27% para cada g ha⁻¹ de herbicida aplicado.

Aos 30 DAE, foi verificado que o porte das plantas de sorgo apresentou redução linear quando submetidas as doses de imazapic, com perdas unitárias de 0,2% não diferindo quanto ao tipo de solo cultivado (Figura 11c). Aos 60 DAE, foi observado que as plantas cultivadas no solo A mostraram-se mais suscetíveis, apresentando 50% da inibição da altura na dose de 110 g ha⁻¹, enquanto no solo B foi de 159 g ha⁻¹ (Figura 11d).

O modelo logístico também descreveu satisfatoriamente a relação entre as doses de imazapic e as variáveis MSPA e MSR das plantas cultivadas no solo A. Neste substrato, as doses 53 e 36 g ha⁻¹ promoveram a redução de 50% na produção de MSPA (Figura 11e) e MSR (Figura 11f), respectivamente, com reduções nestas variáveis próximas a 100% nas doses acima de 175 g ha⁻¹ de imazapic, indicando morte total da planta. No solo B, foram observadas reduções lineares com o aumento das doses, com redução unitária (g ha⁻¹ de herbicida aplicado) de 0,24% na MSPA e MSR.

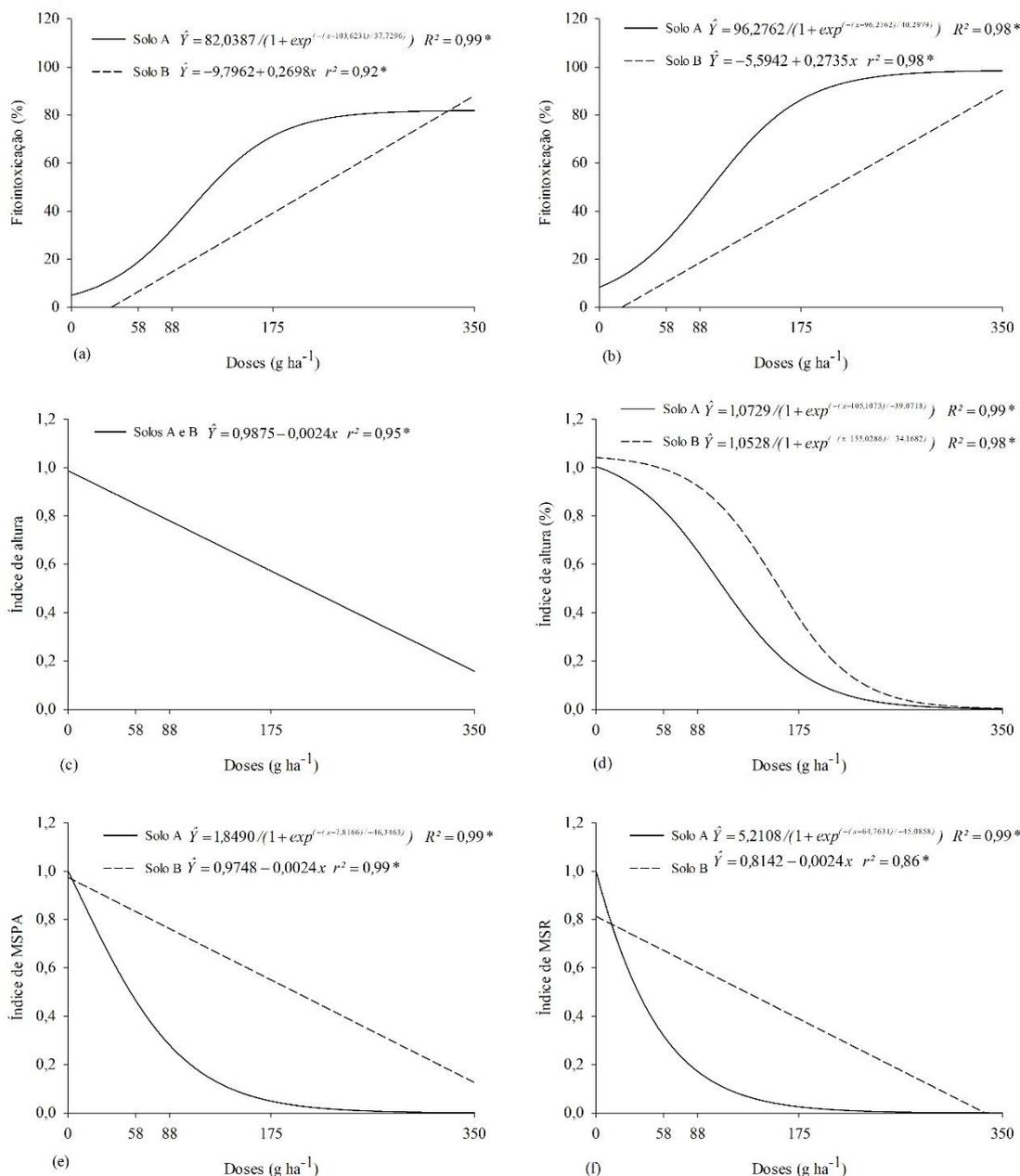


Figura 11. Fitointoxicação (a, b) e índice de altura (c, d) aos 30 e 60 DAE, índice de massa seca da parte aérea (MSPA) (e) e de raiz (MSR) (f) em *Sorghum bicolor* em função da dose do herbicida imazapic aplicado em dois tipos de solo.

Considerando o cultivo no solo A ao promover efeitos significativos do imazapic nas espécies avaliadas, verificam-se as maiores produções de massa seca em plantas de *Mucuna pruriens*, *Urochloa ruziziensis*, *Urochloa brizantha* e *Canavalia ensiformis* quando cultivadas como testemunha (Tabela 1). Entre essas espécies, *Urochloa ruziziensis* apresentou maiores danos com o incremento das doses. Comparativamente, foi observado em *Mucuna pruriens*, *Canavalia ensiformes* e *Urochloa brizantha* os

menores efeitos de fitointoxicação, e influenciou o maior acúmulo de massa seca da parte aérea e raiz, critérios utilizados neste estudo para a identificação das espécies mais tolerantes ao imazapic.

Tabela 1. Massa seca (gramas por planta) das espécies cultivadas como testemunhas da atividade do herbicida imazapic em dois solos

Espécies Avaliadas	Solo A	Solo B
<i>Urochloa decumbens</i>	18,51	28,01
<i>Urochloa brizantha</i>	23,46	21,44
<i>Panicum maximum</i>	19,85	23,11
<i>Urochloa ruziziensis</i>	26,28	39,11
<i>Crambe abyssinica</i>	7,83	14,00
<i>Crotalaria ochroleuca</i>	8,86	17,35
<i>Crotalaria spectabilis</i>	7,47	13,48
<i>Canavalia ensiformis</i>	23,42	33,49
<i>Helianthus annuus</i>	16,64	27,38
<i>Mucuna pruriens</i>	33,51	18,35
<i>Sorghum bicolor</i>	21,75	39,58

1.4 Discussão

As espécies *Canavalia ensiformis*, *Mucuna pruriens* e *Urochloa brizantha* apresentaram maior tolerância ao incremento das doses de imazapic. A tolerância atribuída a essas espécies está relacionada a sua capacidade de metabolizar ou estimular a microbiota do solo por meio da liberação de exsudatos radiculares (Spohn et al. 2013). Uma vez absorvido, o herbicida pode ter se degradado após transformações metabólicas ou enzimáticas ou ainda compartimentalizado em tecidos. Diferentes mecanismos físicos, moleculares e fisiológicos estão envolvidos na tolerância a herbicidas (Tan et al. 2005; Schwitzguébel 2015).

O imazapic é rapidamente absorvido pelas plantas. Mais de 70% do produto aplicado foi observado por Newsom et al. (1993) em espécies tolerantes nas primeiras quatro horas após o tratamento. No entanto, não há relatos específicos sobre o metabolismo do imazapic. De modo geral, a metabolização de imidazolinonas é mediada por monooxigenases do citocromo P450 por oxidação e hidroxilação do anel piridina, resultando no aumento da polaridade da molécula e redução de sua fitotoxicidade, seguida de conjugação com carboidratos. Contudo, poucos genes associados ao metabolismo desses herbicidas foram identificados (Siminsky 2006; Kaspar et al. 2011; Saika et al. 2014; Zhao et al. 2017).

Em estudo sobre metabolismo de imazamox em duas cultivares de trigo, Rojano-Delgado et al. (2015a) observaram que a cultivar sensível foi incapaz de metabolizar o herbicida, translocando-o das folhas para a raiz. Na cultivar tolerante, o metabolismo ocorreu rapidamente na maior dose testada de 200 g ha⁻¹ e os metabólitos translocados ao sistema radicular. Em trabalho semelhante, Jiménez et al. (2016a) constataram que o metabolismo de imazamox, em duas cultivares de trigo, foi maior na dose mais elevada (80 g ha⁻¹) sugerindo que a detoxicação é um processo induzível, regulado por genes-chave de enzimas detoxicantes.

Tecele et al. (2003) determinaram rotas diferenciais no metabolismo de imazaquin e imazethapyr na tolerância da soja. Observaram rápida absorção e translocação em até 72 horas após o tratamento, sendo que a via metabólica de imazaquin envolveu ciclização do nitrogênio amidazolinil e do grupo carboxílico, seguida de rápida degradação dos metabólitos. Enquanto o imazethapyr foi hidroxilado no substituinte 5-etil do anel de piridina, seguido de O-glicosilação. Estes são exemplos típicos de oxidação, clivagem do anel e conjugação cuja distinção na rota metabólica é justificada pela diferença na lipofilicidade que determinam a disponibilidade desses dois herbicidas para atuação de diferentes enzimas antioxidantes.

Leguminosas como *Canavalia ensiformis* e *Mucuna pruriens* têm demonstrado características de tolerância e adaptação a diferentes condições de estresses abióticos, com potencialidades para imobilizar e acumular metais pesados (Boechat et al. 2016; Nam et al. 2016) e degradar compostos orgânicos (Rojano-Delgado et al. 2012b; Madalão et al. 2017b). A espécie *Urochloa brizantha* é citada como interessante remediadora de herbicidas em função de sua alta densidade radicular e por atuar como barreira hidráulica ao promover um fluxo ascendente de água, reduzindo a lixiviação da molécula (Cunha et al. 2010; Braga et al. 2016).

As espécies que apresentaram os melhores resultados quanto a tolerância ao tratamento com imazapic tiveram elevada produção de biomassa quando cultivadas como testemunha (Tabela 1). Florido et al. (2014) verificaram alto potencial de acumulação de imazaquin em folhas de *Mucuna cinerea*, enquanto *Canavalia ensiformis* acumulou a maior concentração na raiz. Observou-se ainda, correlação positiva do aumento da absorção desse herbicida com a maior produção de matéria seca em *C. ensiformis*. Marcacci et al. (2006) relatam a importância da seleção dessas espécies com alta produção de biomassa e tolerância ao composto alvo a ser removido, como requisitos para eficiência da fitorremediação.

A atividade microbiana é a principal via de degradação de compostos orgânicos. A redução dos efeitos tóxicos nas espécies tolerantes pode também ser atribuída ao maior potencial de fitoestimulação da microbiota associada às suas raízes. Galon et al. (2014), atribuem a tolerância das espécies *L. multiflorum* e *V. sativa* tratadas com a mistura de imazapyr e imazapic à fitoestimulação e rizodegradação dessas plantas. Como fator limitante, Souto et al. (2013a) relatam que aplicações sucessivas de imidazolinonas podem afetar a degradação microbiana e aumentar a persistência da molécula no solo com danos à cultura em sucessão. No entanto, Chun-guang et al. (2016) observaram que o incremento de imazamox promoveu o enriquecimento de cepas altamente adaptáveis à utilização do herbicida como fonte de carbono.

Com efeitos menos intensos àqueles observados nas demais espécies, a redução de massa seca e altura em *C. ensiformis*, *Mucuna pruriens* e *Urochloa brizantha* foi ocasionada nas maiores doses quando cultivadas no solo A. Resultados semelhantes foram observados por Jiménez et al. (2015b) em cultivares de trigo tratados com o herbicida imazamox. Nesse estudo, atribuiu-se a tolerância e a recuperação da clorofila ao metabolismo do herbicida, restituição de proteínas no cloroplasto, exclusão do herbicida do cloroplasto, além de possível substituição de aminoácido no sítio de ação.

Os resultados apresentados mostram distintas respostas das espécies avaliadas quando expostas às doses de imazapic. A tolerância das espécies às doses testadas deve-se às características intrínsecas, sendo que cada espécie responde de forma diferente aos efeitos da molécula. A paralisação do crescimento da planta é uma das características que demonstra sensibilidade aos herbicidas imidazolinonas. A redução na altura, o decréscimo na produção de biomassa seca e mortalidade em espécies menos tolerantes com o aumento de dose de misturas formuladas de imidazolinonas tem sido relatado (Galon et al. 2014; Santos et al. 2014; Souto et al. 2015b).

As espécies mais afetadas pelo imazapic apresentaram sintomas iniciais de intoxicação, como clorose e necrose foliar em baixas doses. García-Carijo et al. (2012) verificaram redução da atividade da enzima ALS ao tratamento com imazamox, indicando que o herbicida é transportado principalmente para áreas em crescimento em que exerce a sua ação. Estudos conduzidos por Shim et al. (2003) observaram que plantas jovens possuem atividades da ALS mais sensíveis aos herbicidas. Esses efeitos negativos são descritos como sintomas típicos de plantas tratadas com herbicidas imidazolinonas, sendo os primeiros efeitos observados nos tecidos meristemáticos em que ocorre alta biossíntese de valina, leucina e isoleucina (Zhou et al. 2007).

De modo geral, as espécies mais suscetíveis apresentaram efeitos negativos em todas as características avaliadas. Na investigação dos efeitos residuais de imazapic em plantas de milho, Su et al. (2017) verificaram que a concentração de 25 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de ingrediente ativo foi o suficiente para afetar negativamente o comprimento e massa seca de raiz, parte aérea e massa seca total. Matocha et al. (2003) observaram redução na altura do algodoeiro na dose de 210 g ha^{-1} e para o sorgo à taxa de 140 a 210 g ha^{-1} de imazapic no ano seguinte da aplicação. Balabanova et al. (2016) constataram em plantas de girassol tratadas com 40 g ha^{-1} de imazamox redução do crescimento, clorose, deformações em folhas jovens e manchas necróticas aos 7 DAE, seguida de redução dos efeitos aos 14 DAE. Redução no nível de clorofila, lesões foliares e retardamento da maturação em plantas de feijão foram promovidos pela aplicação de 53 g ha^{-1} imazethapyr em estudos conduzidos por Troy et al. (2005).

Neste estudo, o efeito das doses de imazapic nas plantas tratadas foi diretamente influenciado pelo conteúdo de carbono orgânico do substrato, considerando que o experimento foi conduzido nos mesmos níveis de pH (5,25). O alto teor de carbono orgânico (26,8 g dm^{-3}) verificados no solo B, resultou na redução da disponibilidade do herbicida para a fitoextração. Em solos alcalinos, com baixo teor de carbono orgânico foi relatado pouca ou nenhuma sorção de herbicidas imidazolinonas (Genari et al. 1998). O aumento da sorção de imazaquin em solo alcalino alterado com resíduo orgânico foi constatado por López-Cabeza et al. (2017).

As características do solo, o comportamento da molécula, o tempo de remediação e os mecanismos envolvidos na tolerância de plantas são fatores que devem ser considerados no processo de seleção de espécies promissoras à fitorremediação. Nesse estudo, as espécies *C. ensiformes*, *Mucuna pruriens* e *Urochloa brizantha* apresentaram alta tolerância ao imazapic, contudo, análises experimentais adicionais, como bioensaio e a quantificação residual por métodos analíticos são instrumentos para a confirmação da efetiva remoção do herbicida por essas espécies.

1.5 Conclusão

As espécies *Canavalia ensiformes*, *Mucuna pruriens* e *Urochloa brizantha* apresentaram maior tolerância às doses de imazapic, com os menores efeitos negativos até a maior dose. A tolerância vegetal ao solo contaminado é indicador de seu potencial fitorremediador do herbicida.

1.6 Referências

- Alister C, Kogan M. 2005. Efficacy of imidazolinone herbicides applied to imidazolinone-resistant maize and their carryover effect on rotational crops. *Crop Protec.* 24(4):375-379.
- Behrens D, Rouxel J, Burgeot T, Akcha F. 2016. Comparative embryotoxicity and genotoxicity of the herbicide diuron and its metabolites in early life stages of *Crassostrea gigas*: Implication of reactive oxygen species production. *Aquat Toxicol.* 175:249-59.
- Balabanova DA, Paunov M, Goltsev V, Cuypers A, Vangronsveld J, Vassilev A. 2016. Photosynthetic Performance of the Imidazolinone Resistant Sunflower Exposed to Single and Combined Treatment by the Herbicide Imazamox and an Amino Acid Extract. *Front Plant Sci.* 7:1-10.
- Balseiro-Romero M, Gkorezis P, Kidd PS, Hamme JV, Wevenz N, Monterroso C, Vangronsveld J. 2017. Use of plant growth promoting bacterial strains to improve *Cytisus striatus* and *Lupinus luteus* development for potential application in phytoremediation. *Science of The Total Environment.* 581:678-688.
- Battaglin WA, Furlong ET, Burkhardt MR, Peter CJ. 2000. Occurrence of sulfonylurea, sulfonamide, imidazolinone, and other herbicides in rivers, reservoirs and ground water in the Midwestern United States, 1998. *Sci. Total Environ.* 248:123–133.
- Baxter L, Brain RA, Lissemore L, Solomon KR, Hanson ML, Prosser RS. 2016 Influence of light, nutrients, and temperature on the toxicity of atrazine to the algal species *Raphidocelis subcapitata*: Implications for the risk assessment of herbicides. *Ecotoxicol Environ Saf.* 132: 250-259.
- Belo AF, Santos EA, Santos JB, Ferreira LR, Silva AA, Cecon PR, Silva LL. 2007. Phytoremediation of soil fertilized with organic compound and contaminated with trifloxysulfuron– sodium. *Planta Daninha*, 25(2):251-258.
- Boechat CL, Giovanella P, Amorim MB, Camargo FAO. 2016. Metal-resistant rhizobacteria isolates improve *Mucuna deeringiana* phytoextraction capacity in multi-metal contaminated soils from a gold mining área. *Environ Sci Pollut Res.* DOI: 10.1007/s11356-016-8103-1
- Börjesson E, Torstensson L, Stenström J. 2004. The fate of imazapyr in a Swedish railway embankment. *Pest Manag Sci.* 60(6):544-549.

- Braga RR, Santos JRA, Zanuncio JC, Serrão JE. 2016. Effect of growing *Brachiria brizantha* on phytoremediation of picloram under different pH environments. *Ecological Engineering*, 94:102–106.
- Cunha FF, Ramos MM, Alencar CAB, Martins CE, Cóser AC, Oliveira RA. 2010. Sistema radicular de seis gramíneas irrigadas em diferentes adubações nitrogenadas e manejos. *Acta Sci. Agron.* 32 (2):351–357.
- Chun-guang L, Xin G, Yang L, Hong-Gang L, Wei-min Z, Gui G, Feng-Shan Y, 2016. Imazamox microbial degradation by common clinical bacteria: *Acinetobacter baumannii* IB5 isolated from black soil in China shows high potency. *Journal of Integrative Agriculture*, 15(8):1798–1807.
- Dan HA, Barroso ALL, Dan LGM, Procópio SO, Oliveira JR RS, Simon GA, Munhoz DM, 2011. Effect of the residual activity of herbicides applied in post-emergence soybean on pearl millet grown in succession. *Planta daninha*, 29(3):663-671.
- Deng W, Yang Q, Zhang Y, Jiao H, Mei Y, Li. X, Zheng M. 2017. Cross-resistance patterns to acetolactate synthase (ALS)-inhibiting herbicides of flaxweed (*Descurainia sophia* L.) conferred by different combinations of ALS isozymes with a Pro-197-Thr mutation or a novel Trp-574-Leu mutation. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 136:41-45.
- Dor E, Smirnov E, Galili S, Guy A, Hershenhorn J. 2016. Characterization of the Novel Tomato Mutant HRT, Resistant to Acetolactate Synthase–Inhibiting Herbicides. *Weed Science*, 64(2):348-360.
- Florido FG, Monquero PA, Dias AC, Tornisielo VL. 2014. The absorption and translocation of imazaquin in green manures. *Acta Scientiarum*, 36(3):291-300.
- Galon L, Lima AM, Guimarães S, Belarmino JG, Burg GM, Concenço G, Bastiani MO, Beutler AN, Zandona RR, Radünz AL. 2014. Potential of plant species for bioremediation of soils applied with imidazolinone herbicides. *Planta Daninha*, 32(4):719-726.
- Garcia-Carijo A, Palma F, Iribarne C, Lluch C, Tejera NA. 2012. Alterations induced by imazamox on acetohydroxyacid synthase activity of common bean (*Phaseolus vulgaris*) depend on leaf position. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 104(1):72-76.
- Gennari M, Nègre M, Vindrola D. 1998. Adsorption of the herbicides imazapyr, imazethapyr and imazaquin on soils and humic acids. *J. Environ. Sci. Health, Part B.* 33:547–567.

- Gerhardt KE, Gerwing PD, Greenberg BM. 2017. Opinion: Taking phytoremediation from proven technology to accepted practice. *Plant Science*, 256:170-185.
- Gomes MP, Juneau P. 2016. Oxidative stress in duckweed (*gomes* induced by glyphosate: Is the mitochondrial electron transport chain a target of this herbicide? *Environmental Pollution*, 218:402-409.
- Jiménez F, Rojano-Delgado AM, Fernández PT, Rodríguez-Suárez C, Atienza SG, Prado R. 2016a. Physiological, biochemical and molecular characterization of an induced mutation conferring imidazolinone resistance in wheat. *Physiol Plant*. 158(1):2-10.
- Jiménez F, Fernández P, Rojano-Delgado AM, Alcántara R, Prado R. 2015b. Resistance to imazamox in Clearfield soft wheat (*Triticum aestivum* L.). *Crop Protection*, 78:15-19.
- Kaspar M, Grondona M, Leon A, Zambell A. 2011. Selection of a Sunflower Line with Multiple Herbicide Tolerance That Is Reversed by the P450 Inhibitor Malathion. *Weed Science*, 59(2):232-237.
- López-Cabeza R, Gámiz B, Cornejo J, Celis R. 2017. Behavior of the enantiomers of the herbicide imazaquin in agricultural soils under different application regimes. *Geoderma*, 293:64-72.
- Maazouzi C, Coureau C, Piscart C, Saplaïroles M, Baran N, Marmonier P. 2016. Individual and joint toxicity of the herbicide S-metolachlor and a metabolite, deethylatrazine on aquatic crustaceans difference between ecological groups. *Chemosphere*, 165:118-125.
- Madalão JC, Pires FR, Cargnelutti Filho AN, Favaro A, Chagas K, Araújo RS, Procópio SO, Bonomo R. 2013a. Susceptibilidade de espécies de plantas com potencial de fitorremediação do herbicida sulfentrazone. *Revista Ceres*, 60(1):111-121.
- Madalão JC, Souza MF, Silva AA, Silva DV, Jakelaitis A, Pereira GAM. 2017b. Action of *Canavalia ensiformis* in remediation of contaminated soil with sulfentrazone. *Soil and Plant Nutrition*, 76(2):292-299.
- Marcacci S, Raveton M, Ravanel P, Scwitzguébel JP. 2006. Conjugation of atrazine in vetiver (*Chrysopogon zizanioides* Nash) grown in hydroponics. *Environmental and Experimental Botany*, 56(2):205-215.
- Martini LFD, Caldas S, Bolzan CM, Bundt AC, Primel EG, Avila LA. 2012. Risco de contaminação das águas de superfície e subterrâneas por agrotóxicos recomendados para a cultura do arroz irrigado. *Ciência Rural*, 42(10):1715-1721.

- Matocha MA, Grichar WJ, Senseman SA, Gerngross CA, Brecke BJ, Vencill WK. 2003. The Persistence of Imazapic in Peanut (*Arachis hypogaea*) Crop Rotations. *Weed Technology*, 17(2):325-329.
- Montpetit E, Lachapelle E. 2017. New environmental technology uptake and bias toward the status quo: The case of phytoremediation. *Environmental Technology e Innovation*, 7:102-109.
- Nam IH, Roh SB, Park MJ, Chon CM, Kim MC, Jeong SW, Song H, Yoon MH, 2016. Immobilization of heavy metal contaminated mine wastes using *Canavalia ensiformis* extract. *Catena*, 136:53-58.
- Newsom J, Shaw DR, Hubbard T FJ. 1993. Absorption, Translocation, and Metabolism of AC 263,222 in Peanut (*Arachis hypogaea*), Soybean (*Glycine max*), and Selected Weeds. *Weed Science*, 41(4):523-527.
- Owen MJ, Goggin DE, Powles S. 2012. Identification of resistance to either paraquat or ALS-inhibiting herbicides in two Western. *Pest Manag Sci*. 68(5):757-763.
- Park J, Brown MT, Depuydt S, Kim JK, Won DS, Han T. 2017. Comparing the acute sensitivity of growth and photosynthetic endpoints in three *Lemna* species exposed to four herbicides. *Environ Pollut*. 220:818-827.
- Piancini LDS, Guilonsk IC, Assis HCS, Cestari MM. 2015. Mesotrione herbicide promotes biochemical changes and DNA damage in two fish species. *Toxicology Reports*, 2:1157-1163.
- Pires FR, Procópio SO, Santos JB, Dias RR. 2008. Evaluating of the tebuthiuron phytoremediation utilizing *crotalaria juncea* as indicating plant. *Rev. Ciên. Agron*. 39(2):245-250.
- Rodriguez-Hernandez MC, García de la-Cruz RF, Leyva E, Navarro-Tovar G. 2017. *Typha latifolia* as potential phytoremediator of 2,4-dichlorophenol: Analysis of tolerance, uptake and possible transformation processes. *Chemosphere*, 173:190-198.
- Rojano-Delgado AM, Priego-Capote F, Castro MDL, Prado D. 2015a. Mechanism of imazamox resistance of the Clearfield® wheat cultivar for better weed control. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(2):639-648.
- Rojano-Delgado AM, Hipolito HC, Prado RP, Castro MDL, Franco AR, Antonio RF. 2012b. Limited uptake, translocation and enhanced metabolic degradation contribute to glyphosate tolerance in *Mucuna pruriens* var. *utilis* plants. *Phytochemistry*, 73:34-41.

- Saika H, Taguchi-Shiobara F, Nonaka S, Nishizawa-Yokoi A, Iwakami S, Hori K, Matsumoto T, Tanaka T, Itoh T, Yano M, Kaku K, Shimizu T, Toki S. 2014. A Novel Rice Cytochrome P450 Gene, CYP72A31, Confers Tolerance to Acetolactate Synthase-Inhibiting Herbicides in Rice and Arabidopsis. *Plant Physiol.* 166(3):1232-1240.
- Santos LO, Pinto JJO, Piveta LB, Noldin JA, Galon L, Concenço G. 2014. Carryover effect of imidazolinone herbicides for crops following rice. *Am. J. Plant Sci.* 5(8):1049-1058.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS – SBCPD. 1995. Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas. Londrina. 42 p.
- Schimpf MG, Milesi MM, Ingaramo PI, Luque EH, Varayoud J. 2017. Neonatal exposure to a glyphosate based herbicide alters the development of the rat uterus. *Toxicology*, 376: 2-14.
- Schwitzguébel JP. 2017. Phytoremediation of soils contaminated by organic compounds: hype, hope and facts. *Journal of Soils and Sediments*, 17(5):1492–1502.
- Shi X, Leng H, Hu H, Duan H, Sun H, Chen H. 2012. Removal of 2,4-dichlorophenol in hydroponic solution by four *Salix matsudana* clones. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 86:125-131.
- Shim SI, Lee BM, Ryu EI, Kang BH. 2003. Response of leaf acetolactate synthase from different leaf positions and seedling ages to sulfonylurea herbicide. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 75:39-46.
- Silva DRO, Avila LA, Agostinetti D, Bundt AC, Primel EG, Caldas SS. 2011. Ocorrência de agrotóxicos em águas subterrâneas de áreas adjacentes a lavouras de arroz irrigado. *Quím. Nova*, 34(5):748-752.
- Silva AA, Oliveira RS, Costa ER, Ferreira LR. 1999. Efeito residual no solo dos herbicidas imazamox e imazethapyr para as culturas de milho e sorgo. *Planta Daninha*, 17(3):345-354.
- Siminszky B. 2006. Plant cytochrome P450-mediated herbicide metabolismo. *Phytochemistry Reviews*, 5:445-458.
- Sousa CP, Bacarin MA, Pinto JJO. 2012. Growth of residual herbicide (imazethapyr+imazapic) bio-indicators sown in rotation with Clearfield® rice. *Planta daninha*, 30(1):105-111.

- Souto KM, Jacques RJS, Avila LA, Machado SLO, Zanella R, Refatti JP. 2013a. Biodegradation of the herbicides imazethapyr and imazapic in rhizosphere soil of six plant species. *Ciência Rural*, Santa Maria, 43(10):1790-1796.
- Souto KM, Avila LA, Cassol GV, Machado SLO, Marchesan E. 2015b. Phytoremediation of lowland soil contaminated with a formulated mixture of Imazethapyr and Imazapic. *Revista Ciência Agronômica*, 46(1):185-192.
- Souza JS, Kizys MM, Conceição RR, Glebocki G, Romano RM, Ortega-Carvalho TM, Giannocco G, da Silva ID, da Silva MRD, Romano MA, Chiamolera MI. 2017. Perinatal exposure to glyphosate-based herbicide alters the thyrotrophic axis and causes thyroid hormone homeostasis imbalance in male rats. *Toxicology*. 377:25-37.
- Spohn M, Ermak A, Kuzykov Y. 2013. Microbial gross organic phosphorus mineralization can be stimulated by root exudates -A ³³P isotopic dilution study. *Soil Biol. Biochem.* 65(1): 254–263.
- Su W, Sun LL, Wu RH, Ma YH, Wang HL, Xu HL, Yan ZL, Lu CT. 2017. Effect of imazapic residues on photosynthetic traits and chlorophyll fluorescence of maize seedlings. *Photosynthetica*, 55(2):294-300.
- Tan S, Evans RR, Dahmer ML, Singh BK, Shaner DL, 2005. Imidazolinone tolerant crops: history, current status and future. *Pest Management Science*, 61:246–257.
- Teclé B, Cunha A, Shaner DL. 1993. Differential Routes of Metabolism of Imidazolinones: Basis for Soybean (*Glycine max*) Selectivity. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 46(2): 120-130.
- Tripathi V, Fraceto LF, Abhilash PC. 2015. Sustainable clean-up technologies for soils contaminated with multiple pollutants: Plant-microbe-pollutant and climate nexus. *Ecological Engineering*, 82:330-335.
- Zhao B, Fu D, Yu Y, Huang C, Yan K, Li P, Shafi J, Zhu H, Wei S, Ji M. 2017. Non-target-site resistance to ALS-inhibiting herbicides in a *Sagittaria trifolia* L. population. *Pestic Biochem Physiol.* 140:79-84.
- Zhou Q, Liu W, Zhang Y, Liu KK. 2007. Action mechanisms of acetolactate synthase-inhibiting herbicides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 89(2):89-96.

CAPÍTULO II - Potencial de adubos verdes na fitorremediação de solo contaminado com imazapic

(Normas de acordo com a revista Archives of Agronomy and Soil Science)

RESUMO

A tolerância de *Canavalia ensiformis*, *Mucuna pruriens* e *Urochloa brizantha* ao imazapic é reconhecida. O experimento foi conduzido em casa de vegetação climatizada e foi dividido em duas etapas: na primeira, testou-se a fitorremediação e na segunda, o efeito residual de imazapic foi avaliado em planta bioindicadora. Os tratamentos foram compostos pela combinação das espécies *C. ensiformis*, *M. pruriens* e *U. brizantha* mais um tratamento sem cultivo e quatro doses de imazapic (0, 87,5, 175 e 350 g ha⁻¹). O delineamento foi em blocos ao acaso com 4 repetições em esquema fatorial 4 x 4. Aos 45 e 80 dias após a emergência, foram analisados sintomas de fitotoxicidade, altura e massa seca. No final do experimento, amostras de solo e tecido vegetal foram coletados para análise química do resíduo. Amostras de solo de cada parcela foram coletadas para estimar o efeito residual do imazapic no *Sorghum bicolor*, utilizado como espécie bioindicadora. Aos 14 e 28 dias após a emergência, foram analisados os sintomas de fitotoxicidade, altura e a massa seca da parte aérea e raiz foi determinada ao término do experimento. A *U. brizantha* apresentou maior sensibilidade aos tratamentos com imazapic, enquanto *C. ensiformis* os efeitos foram menos intensos. A maior inibição nos índices de massa seca foi verificada em *U. brizantha*, diferindo das demais espécies. *M. pruriens* e *C. ensiformis* acumularam níveis mais elevados de imazapic nas raízes, apesar de diferenças entre essas espécies. Na parte aérea, a maior concentração do herbicida foi verificada em *C. ensiformis*. Contudo, *U. brizantha* foi a única espécie que translocou níveis superiores ao detectado nas raízes. As plantas bioindicadoras apresentaram redução

no crescimento e na produção de massa seca com o aumento das doses de imazapic. No solo sem cultivo prévio, o *Sorghum bicolor* apresentou maior crescimento e produção de massa seca e pode ser atribuído ao efeito alelopático reconhecido para essas espécies, considerando que a concentração de imazapic não diferiu entre o solo cultivado e o sem plantas. A exposição ao herbicida teve efeito negativo sobre o crescimento e produção de massa seca de *U. brizantha* que não apresentou recuperação das lesões com o tempo, não sendo a espécie indicada para uso na fitorremediação em condições de solo semelhantes ao deste estudo. A tolerância de *C. ensiformis* mediante a maior concentração do herbicida acumulada em seus tecidos pela fitoextração, evidencia sua capacidade de absorção facilitada pela alta produção de massa seca, sendo esta espécie a mais promissora na fitorremediação do imazapic.

Palavras-chave: Fitotoxicidade, tolerância, fitoextração, acumulação.

2.1 Introdução

Os pesticidas são amplamente utilizados na agricultura moderna, a fim de promover o manejo de pragas, doenças e plantas daninhas reduzindo perdas na produtividade de culturas. A persistência desses produtos é dependente das características físico-químicas da molécula, do solo e das características climáticas. Essas interações regulam seu destino no ambiente, podendo ocasionar a contaminação em outras matrizes, como em corpos hídricos, resultando na intoxicação de organismos não alvos (Parween et al. 2018; Ramborger et al. 2017).

As imidazolinonas são um grupo químico de herbicida com crescente demanda no mercado de insumos agrícolas mundial, principalmente por apresentarem características de alta persistência, amplo espectro de controle de plantas daninhas, alta atividade em baixas doses e baixa toxicidade em mamíferos ($DL_{50} > 5 \text{ g kg}^{-1}$). Pertencente a esse grupo químico, o imazapic possui como mecanismo de ação a inibição da enzima acetolactato sintase responsável pela biossíntese de aminoácidos de cadeia ramificada, valina, leucina e isoleucina (Rodrigues e Almeida 2011; Zhao et al. 2017).

O imazapic possui alta solubilidade em água e constante de dissociação de ácido (pKa) de 3,6 características que favorecem sua lixiviação (Yavari et al. 2017). Na prática, resíduos de imazapic já foram encontrados em águas subterrâneas e superficiais (Silva et al. 2011; Zanella et al. 2012; Davis et al. 2014; Mazlan et al. 2016; Allan et al. 2017), bem como foram observadas alterações metabólicas e no processo oxidativo em espécies de peixes como *Cyprinus carpio* quando exposta por 90 dias à dose $20,9 \mu\text{g L}^{-1}$ de imazapic (Moraes et al. 2011). Alterações bioquímicas e efeitos neurotóxicos em populações de *Rhamdia quelen* expostas por 96h à dose de $4,88 \mu\text{g L}^{-1}$ de imazapic e imazapyr foram relatadas por Golombieski et al. (2016).

O baixo pH do solo, o alto teor de matéria orgânica e a baixa umidade do solo são responsáveis pela persistência dos herbicidas imidazolinonas. Estudos conduzidos por Alister e Kogan (2005) em campo experimental verificaram que a mistura de imazapic e imazapyr na dose de 228 g ha^{-1} promoveu redução significativa no rendimento do azevém e cevada aos 300 dias após a aplicação. Assim, a elevada atividade das imidazolinonas associada a sensibilidade de certas culturas são indicadores de riscos de intoxicação em culturas rotacionadas (Alister e Kogan 2005; Kemmerich et al. 2015).

O destino dos pesticidas no solo está relacionado à vegetação. Poluentes orgânicos geralmente são removidos mais rapidamente em solos cultivados do que em solo em

pousio. Nesse sentido, o papel das plantas inclui a degradação, adsorção, volatilização e acumulação de poluentes, além do estímulo à atividade rizosférica do solo (Sánchez et al. 2017).

Espécies vegetais previamente selecionadas em função de sua tolerância, alta produção de biomassa, resistência às mudanças climáticas e fácil estabelecimento são empregadas na fitorremediação para a remoção de contaminantes inorgânicos, metais pesados e compostos orgânicos, incluindo os pesticidas, baseando-se em vários mecanismos internos e sua interação com microrganismos endofíticos e rizosféricos (Mitton et al. 2016a; Luo et al. 2017).

Estudos recentes demonstram resultados satisfatórios com o emprego da fitorremediação. Qu et al. (2017) relataram remoção de 91% de atrazina em sedimentos com as espécies *Potamogeton crispus* e *Myriophyllum spicatum* aos 45 dias de exposição. Sánchez et al. (2017) observaram redução na faixa de 88,6-99,6% de atrazina em solo cultivado com *Lolium perene*, *Festuca arundinacea*, *Hordeum vulgare* e *Zea mays* aos 16 DAA. A espécie *Plectranthus neochilus* reduziu 99,7% de 2,4-D em água aos 10 dias de experimento conduzido por Rodriguez-Hernandez et al. (2017). Cerca de 96,1 e 99,8% respectivamente de tebuconazole e imazalil foram removidos de solução hidropônica por *Phragmites australis* aos 24 dias de exposição (Lv et al. 2017). Wang et al. (2017) verificaram redução de 68% de lactofen pela espécie *Lemna minor* aos 5 dias de experimento. Redução de 62% de ametrina no solo rizosférico de *Lolium multiflorum* aos 10 DAA foi relatada por Liu et al. (2017). Há poucos trabalhos conduzidos com plantas objetivando a remoção de imidazolinonas do solo, sendo estes limitados à avaliação dos efeitos tóxicos indiretos, baseada em índices de fitointoxicação visual e aspectos biométricos (Souto et al. 2013a; Galon et al. 2014; Souto et al. 2015b).

Ainda não são bem compreendidos os mecanismos envolvidos na remoção de moléculas orgânicas por plantas. Considerando as vantagens dessa técnica como menor impacto ambiental, baixo custo e facilidades na implementação, pesquisas voltadas ao entendimento dos diversos fatores envolvidos no processo de fitorremediação de poluentes orgânicos e persistentes são requeridos para a efetividade da técnica e ampliação de seu uso (Lv et al. 2017; Montpetit e Lachapelle 2017). Nesse contexto, objetivou-se testar o potencial fitorremediador das espécies *C. ensiformis*, *M. pruriens* e *U. brizantha* às doses crescentes de imazapic.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Solo

O solo utilizado neste estudo foi coletado de uma região de área agrícola de Rio Verde-GO. As principais características físico-químicas apresentadas foram: 34% de argila, 2% de silte, 64% de areia, $7,5 \text{ g dm}^{-3}$ de CO, V de 50%, CTC $3,34 \text{ cmolc dm}^{-3}$ e pH (CaCl₂) 5,3. O solo seco ao ar passou por peneira de 2 mm para remoção de material grosseiro. As unidades experimentais foram constituídas de vasos de polietileno de capacidade de 6 dm^3 . Foi realizado o preenchimento vasos com o solo, procedendo-se a pesagem para a padronização. Após a preparação, os vasos foram umedecidos e o herbicida imazapic (Plateau) foi aplicado com um pulverizador pressurizado com CO₂, com vazão de 320 L ha^{-1} . No início da aplicação, a umidade relativa do ar, temperatura e velocidade do vento foram de 69,6%, 27°C e 1 m s^{-1} , respectivamente.

2.2.2 Experimento de fitorremediação

O experimento foi dividido em duas etapas: na primeira, testou-se a fitorremediação e na segunda, o efeito residual de imazapic foi avaliado em planta bioindicadora (Madalão et al. 2012). O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com quatro repetições. Os tratamentos foram distribuídos em esquema fatorial 4 x 4; o primeiro nível foi composto pelas espécies tolerantes ao imazapic, *C. ensiformis*, *M. pruriens* e *U. brizantha* mais um tratamento sem cultivo. O segundo fator foram as doses de herbicida: 0; 87,5 (1/3 da dose comercial); 175 (dose comercial) e 350 g ha^{-1} (2x a dose comercial).

As espécies testadas no experimento de fitorremediação foram semeadas aos 7 dias após a aplicação de imazapic, deixando-se 3 plantas por vaso após a emergência. Os vasos sem cultivo foram utilizados para mediar a taxa de atenuação natural do herbicida. Procedeu-se irrigação diária para a manutenção da umidade no substrato e aplicações a cada 15 dias de fertilizante comercial contendo 13-05-13 de NPK, respectivamente.

As espécies foram cultivadas durante 80 dias após a emergência (DAE). Os efeitos do imazapic foram avaliados aos 45 e 80 DAE pelos sintomas de fitointoxicação visual e altura de plantas. A fitotoxicidade foi determinada por avaliação visual, utilizando-se escala percentual entre 0 (sem lesão) a 100% (morte completa da planta), conforme o proposto por SBCPD (1995). A medição da altura foi analisada por escala graduada, tendo

como referência o meristema apical para as dicotiledôneas e a última folha mais expandida para *U. brizantha*.

Aos 80 DAE, as espécies foram retiradas das unidades experimentais, procedendo-se a separação da parte aérea e sistema radicular, sendo o material vegetal encaminhado para estufa de secagem com circulação de ar forçado a 70 °C por 72 h, seguido de pesagem para a determinação da massa seca.

2.2.3 Determinação e quantificação de imazapic

Ao final do experimento foram coletadas amostras foliares e de raízes que foram lavadas para a completa remoção de partículas de solo. O solo (50 g) foi coletado a profundidade de 0-15 cm utilizando-se um trado. As amostras de material vegetal e de solo foram armazenadas sob refrigeração -20 °C. Posteriormente, as amostras vegetais foram secas em estufa a 70°C durante 48 horas e moídas para a determinação analítica (García-Carijo et al. 2012).

As concentrações de imazapic foram obtidas conforme o método proposto por Gonçalves (2013) com modificações. Foram pesados 5 g de solo e 1 g de tecido vegetal adicionando-se 10 mL de acetonitrila. Em seguida as amostras foram sonicadas por 30 minutos para facilitar a dissolução e centrifugadas a 3400 rpm durante 10 minutos. O sobrenadante coletado foi evaporado e o sedimento redissolvido com 500 µl de acetonitrila, aplicando novamente ultrassom durante 5 minutos. Os extratos foram filtrados com membranas de nylon de 0,45 µm e então transferidos para frascos volumétricos.

A concentração de imazapic no solo e extratos vegetais, foi analisada utilizando sistema de cromatografia líquida de alta performance com detector de Ultravioleta (HPLC-UV). A coluna cromatográfica utilizada foi SUPERLCOSIL™ LC-18 (250 x 4,6mm, 5 µm). A taxa de fluxo foi de 1,0 mL.min⁻¹, com volume de injeção de 10 µL. A fase móvel foi composta de A: água com ácido acético 0,1% e B: acetonitrila com o seguinte programa de gradiente: 0-4,5 min (50% A e 80% B); 4,5-5 min (80% A e 50% B); 5-8 min (50% B). A detecção UV foi realizada a 254 nm para o imazapic e as concentrações expressas em mg g⁻¹.

2.2.4 Bioensaio

Um total de 300 g de solo de cada parcela, foi pesado e colocado em copos plásticos para estimar o efeito residual de imazapic em plantas sensíveis. Foi empregado

o *Sorghum bicolor* como espécie bioindicadora, cultivando-se três plantas por parcela. O efeito fitotóxico de imazapic foi avaliado aos 14 e 28 dias após a emergência pelo índice de intoxicação visual (SBCPD 1995) e altura de plantas. Aos 28 dias, as plantas bioindicadoras foram coletadas e parte aérea e raiz foram secas separadamente em estufa a 70 °C durante 72 horas para a determinação da massa seca.

2.2.5 Análise estatística

As médias obtidas pela testemunha de cada espécie, dentro de cada dose foram consideradas para a transformação dos dados de massa seca e altura, atribuindo-se índice igual a 1. As variáveis foram submetidas a análise de variância (ANOVA) e a comparação de médias foi realizada pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico Assistat. Os dados do fator doses foram submetidos a análise de regressão e os modelos definidos para cada variável basearam-se na significância dos parâmetros e nos valores de R^2 , sendo os gráficos ajustados pelo programa SigmaPlot 13.0.

2.3 Resultados

2.3.1 Parâmetros de fitotoxicidade, crescimento e de massa seca

Os parâmetros avaliados nas plantas testadas aos 45 e 80 dias após a emergência (DAE), são apresentados nas Tabelas 1 e 2. A interação foi significativa entre as espécies e doses de imazapic para as variáveis fitotoxicidade e índice de altura avaliadas aos 45 DAE. *U. brizantha* apresentou maior sensibilidade a presença de imazapic, diferindo das demais espécies a partir da dose de 87,5 g ha⁻¹. Os valores de fitotoxicidade observados em *U. brizantha* aumentaram com o incremento das doses, sendo esse efeito explicado pelo modelo exponencial. A menor dose aplicada ocasionou sintomas superiores a 63%. Os efeitos visuais foram menos pronunciados nas espécies *C. ensiformis* e *M. pruriens* que não apresentaram diferença nos sintomas com as doses testadas. Os efeitos visuais de toxicidade verificados nessas espécies foram inferiores a 40% no tratamento com 350 g ha⁻¹ (Figura 2a).

A maior redução na altura ocorreu no *U. brizantha* nas doses de 87,5 e 350 g ha⁻¹, diferindo das demais espécies. A inibição da altura foi de 58% na concentração de 87,5 g ha⁻¹ chegando a 96% na dose de 350 g ha⁻¹, enquanto em *M. pruriens*, não houve diferenças entre as doses no solo com herbicida, sendo a altura inibida em 49 e 58% nas

doses de 175 e 350 g ha⁻¹, respectivamente. O modelo exponencial foi o que melhor se ajustou aos dados de índice de altura para as espécies *U. brizantha* e *M. pruriens*. Os tratamentos com imazapic não afetaram a altura de *C. ensiformis* aos 45 dias, não havendo diferença entre as doses testadas (Figura 2c).

Não houve efeito da interação entre os fatores estudados para as variáveis fitotoxicidade e índice de altura aos 80 DAE (Figura 1). Todavia, verificou-se significância das doses de imazapic sobre essas características (Figura 2b, d). O incremento da dose ocasionou aumento linear dos sintomas visuais e redução na altura das plantas. Para os dois parâmetros, a *U. brizantha* apresentou maior sensibilidade aos tratamentos com imazapic, enquanto em *C. ensiformis* os efeitos foram menos intensos. No entanto, observou-se recuperação das plantas em relação a avaliação inicial, sendo os valores de fitotoxicidade de 32% na dose de 350 g ha⁻¹. Nesta mesma dose, a inibição na altura foi de 37,8%.

Tabela 1. Valores de fitotoxicidade (%) e índice de altura das espécies *U. brizantha*, *M. pruriens* e *C. ensiformis* cultivadas em solo com diferentes doses de imazapic, aos 45 dias de tratamento

Espécies	Doses de imazapic (g ha ⁻¹)				Doses de imazapic (g ha ⁻¹)			
	0	87,5	175	350	0	87,5	175	350
	Fitotoxicidade (%)				Índice de Altura			
<i>U. Brizantha</i>	0,00 a	65,42 a	58,33 a	79,58 a	1,00 a	0,34 c	0,25 b	0,15 c
<i>M. pruriens</i>	0,00 a	12,92 b	9,58 b	42,50 b	1,00 a	0,67 b	0,49 b	0,43 b
<i>C. ensiformis</i>	0,00 a	12,50 b	17,08 b	37,08 b	1,00 a	1,03 a	1,07 a	1,05 a

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

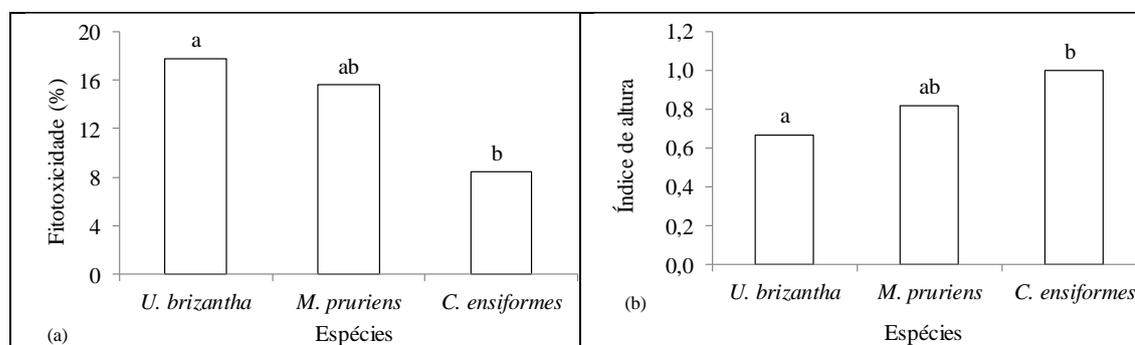


Figura 1. Valores de fitotoxicidade (%) e índice de altura das espécies *U. brizantha*, *M. pruriens* e *C. ensiformis* cultivadas em solo com diferentes doses de imazapic aos 80 dias.

de tratamento. *Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Houve interação entre as espécies e doses sobre as variáveis índice de massa seca de parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) (Figura 3a, b). A maior inibição nos índices de massa seca foi verificada no *U. brizantha*, diferindo das demais espécies nos tratamentos com o herbicida. Na dose de 175g ha⁻¹ ocorreu redução de 86,4% da parte aérea do *U. brizantha*, cuja resposta seguiu a mesma tendência verificada para o índice MSR. O aumento das doses de imazapic inibiu em menor extensão a produção de massa seca nas duas espécies de leguminosas, não havendo diferença entre essas espécies independentemente da dose aplicada.

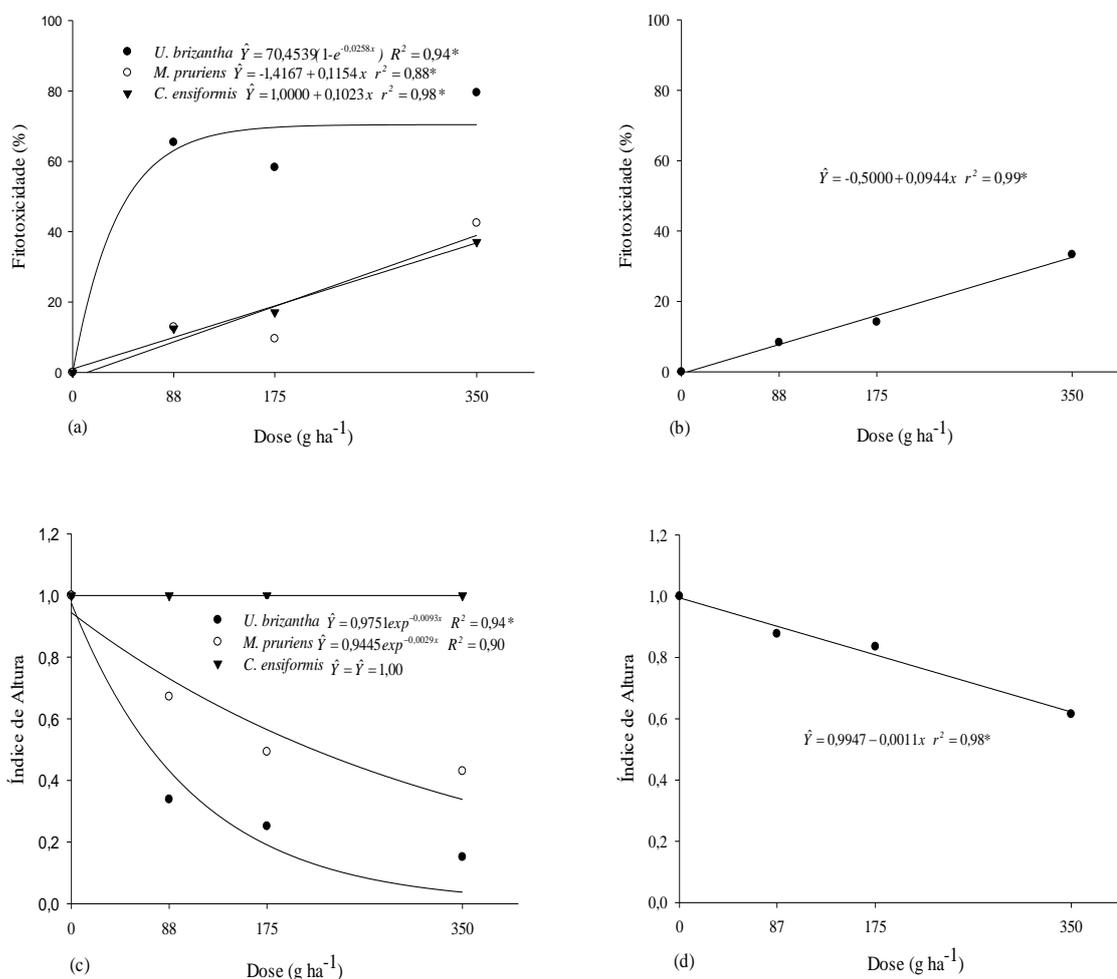


Figura 2. Fitotoxicidade aos 45 e 80 dias (a, b), índice de altura aos 45 e 80 DAE (c, d) em plantas pré-selecionadas e tratadas com o herbicida imazapic.

A dose de 350 g ha⁻¹ promoveu em *Mucuna pruriens* a redução de 37,57 e 45,96% sobre os índices MSPA e MSR, enquanto em *C. ensiformis* as taxas de inibição foram de 43,78 e 58,76%.

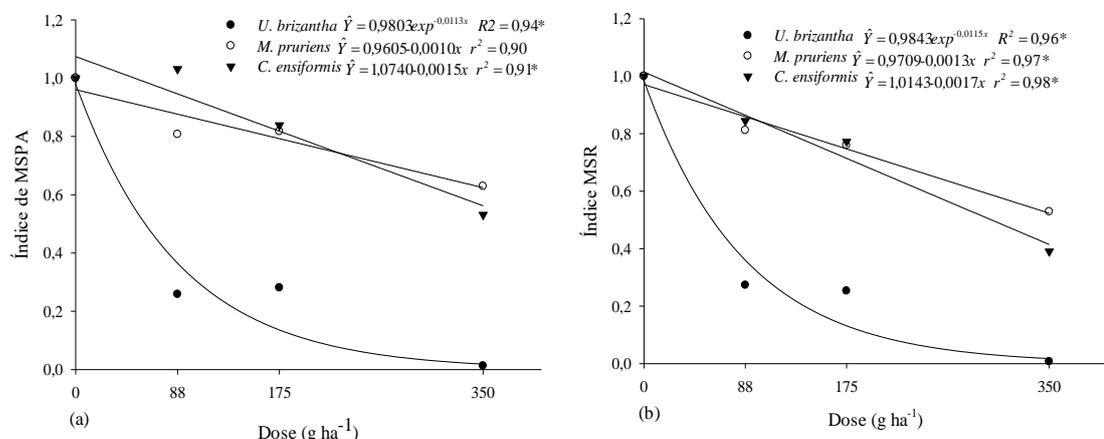


Figura 3. Índice de massa seca da parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR) (a, b) em plantas pré-selecionadas e tratadas com o herbicida imazapic aos 80 DAE.

Tabela 2. Índices de massa seca de parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR) das espécies *U. brizantha*, *M. pruriens* e *C. ensiformis* cultivadas em solo tratado com imazapic aos 80 dias de tratamento

Espécies	Doses de imazapic (g ha ⁻¹)				Doses de imazapic (g ha ⁻¹)			
	0	87,5	175	350	0	87,5	175	350
	Índice de MSPA				Índice de MSR			
<i>U. brizantha</i>	1,00 a	0,26 b	0,28 b	0,01 b	1,00 a	0,27 b	0,25 b	0,01 b
<i>M. pruriens</i>	1,00 a	0,81 a	0,82 a	0,63 a	1,00 a	0,81 a	0,76 a	0,53 a
<i>C. ensiformis</i>	1,00 a	1,03 a	0,84 a	0,53 a	1,00 a	0,84 a	0,77 a	0,39 a

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.3.2 Concentração de imazapic no solo e massa seca

As concentrações de imazapic presente no solo e massa seca são apresentadas na Tabela 3. Não houve efeito significativo da interação entre as espécies e as doses sobre a concentração de imazapic na parte aérea, nas raízes e solo aos 80 dias. Todavia, verificou-se significância ($p \leq 0,05$) das doses de imazapic sobre esses parâmetros. A regressão para a análise do imazapic nos tecidos vegetais ajustou-se ao modelo quadrático (Figura 4). A inclinação da curva foi reduzida no solo com as doses mais elevadas do herbicida. *M. pruriens* e *C. ensiformis* acumularam maiores concentrações de imazapic nas raízes, porém com diferenças. Na parte aérea, a maior concentração do herbicida foi verificada

em *C. ensiformis*, Contudo *U. brizantha* foi a única espécie que translocou para a parte aérea níveis superiores ao detectado nas raízes.

Tabela 3. Resíduo de imazapic nos tecidos de raízes, parte aérea e no solo com e sem cultivo aos 80 dias de tratamento

Tratamentos	Concentração (mg g ⁻¹)		
	Solo ^{NS}	Raiz *	Parte aérea*
<i>Urochloa Brizantha</i>	0,0002 a	0,0028 b	0,0075 ab
<i>Mucuna pruriens</i>	0,0001 a	0,0064 b	0,0021 b
<i>Canavalia ensiformes</i>	0,0015 a	0,0381 a	0,0101 a
Solo sem cultivo	0,0002 a	-----	-----

*Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS: Não significativo.

No solo, o aumento da dose ocasionou o aumento linear da concentração de imazapic, no entanto em níveis muito inferiores ao encontrado na parte aérea e raiz. Não houve diferença entre o solo cultivado e o solo não plantado.

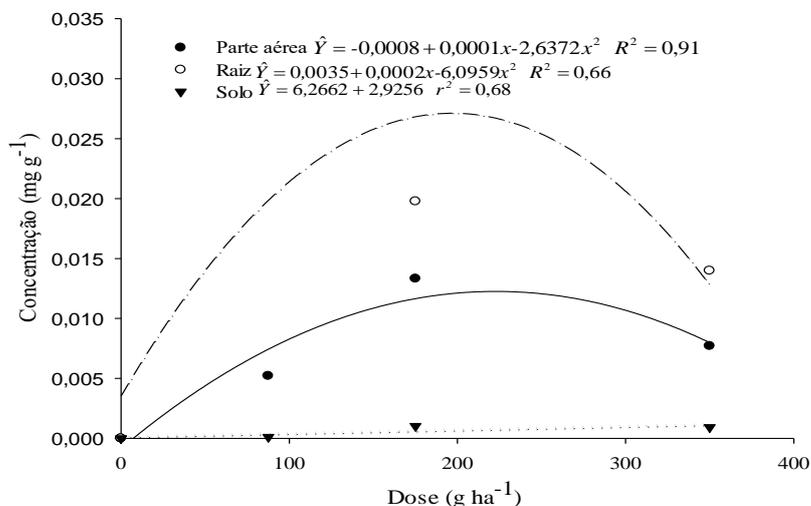


Figura 4. Concentração de imazapic no solo, parte aérea e raiz de plantas tratadas com imazapic aos 80 DAE.

2.3.3 Bioensaio

Os parâmetros avaliados nas plantas bioindicadoras aos 14 e 28 dias após a emergência (DAE) são apresentados na Tabela 4. Não houve interação entre os fatores espécies e doses de imazapic sobre as variáveis fitotoxicidade e índice de altura aos 14 DAE em plantas de sorgo semeadas em sucessão às espécies *U. brizantha*, *M. pruriens* e *C. ensiformis*, assim, como no solo sem cultivo. No entanto, houve efeito de dose sobre

esses parâmetros ($p \leq 0,05$), que foram afetados com o aumento de dose. A fitotoxicidade não diferiu quanto ao tipo de cultivo. Os sintomas visuais foram de 39,31% na dose de 175 g ha⁻¹, chegando a 76,26% na maior dose de imazapic (Figura 5a). O solo sem cultivo prévio promoveu maior altura nas plantas bioindicadoras, diferindo dos solos cultivados que não apresentaram diferença entre as espécies. As doses de 175 e 350 g ha⁻¹ ocasionaram inibição de 36,46 e 75,09% na altura do sorgo (Figura 5b).

A interação de espécies com a dose de imazapic não foi significativa para a variáveis fitotoxicidade, índice de altura e massa seca de parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) aos 28 DAE. Os efeitos visuais não apresentaram diferença entre os tipos de espécies e o solo não cultivado. Contudo, observou-se significância ($p \leq 0,05$) da dose sobre esse parâmetro. O aumento da dose resultou em valores de toxicidade inferiores ao verificado na avaliação aos 14 DAE. As doses de 175 e 350 g ha⁻¹ promoveram 35,62 e 72,13% dos sintomas visuais de toxicidade nas plantas de sorgo (Figura 5a).

O solo sem cultivo prévio promoveu plantas de maior porte, diferindo do solo cultivado que não apresentou diferença entre as espécies testadas. Conforme observado, a exposição ao imazapic afetou negativamente o crescimento das plantas bioindicadoras, no entanto em menor extensão em relação a avaliação inicial. O incremento da dose ocasionou inibição linear na altura de 10,54; 29,42 e 66,60% nas respectivas doses de 87,5; 175 e 350 g ha⁻¹ (Figura 5b).

Tabela 4. Valores de fitotoxicidade (%), índices de altura, massa seca de parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR) em plantas de sorgo cultivadas em solo anteriormente plantado e sem cultivo aos 14 e 28 dias de tratamento

Tratamentos	Fitotoxicidade (%)		Índice de Altura		MSPA	MSR
	14 DAE	28 DAE	14 DAE	28 DAE	28 DAE	
<i>Urochloa Brizantha</i>	32,94 a	33,75 a	0,60 b	0,64 b	0,73 ab	0,66 ab
<i>Mucuna pruriens</i>	36,42 a	34,00 a	0,62 b	0,72 b	0,58 bc	0,61 b
<i>Canavalia ensiformes</i>	40,43 a	35,46 a	0,60 b	0,62 b	0,52 c	0,60 b
Solo sem cultivo	28,83 a	21,03 a	0,91 a	1,02 a	0,83 a	0,88 a

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A produção de massa seca na parte aérea foi superior no solo sem cultivo, enquanto o solo com *U. brizantha* não diferiu do solo com *Mucuna pruriens* e do solo não cultivado. O solo cultivado com *C. ensiformis* apresentou plantas com menor índice MSPA. O índice MSR foi superior no solo sem cultivo, enquanto que no solo com

Mucuna pruriens e *C. ensiformis* houve maior inibição na massa seca de raiz em relação ao cultivo com *U. brizantha*, não havendo diferença entre as duas espécies. O aumento das doses de imazapic promoveu redução linear na massa de raiz e parte aérea do sorgo independente do tipo de cultivo anterior (Figura 5c). A redução da massa seca da parte aérea estava na faixa de 19,93-74,57%, enquanto a massa seca da raiz entre 15,80-77,90%.

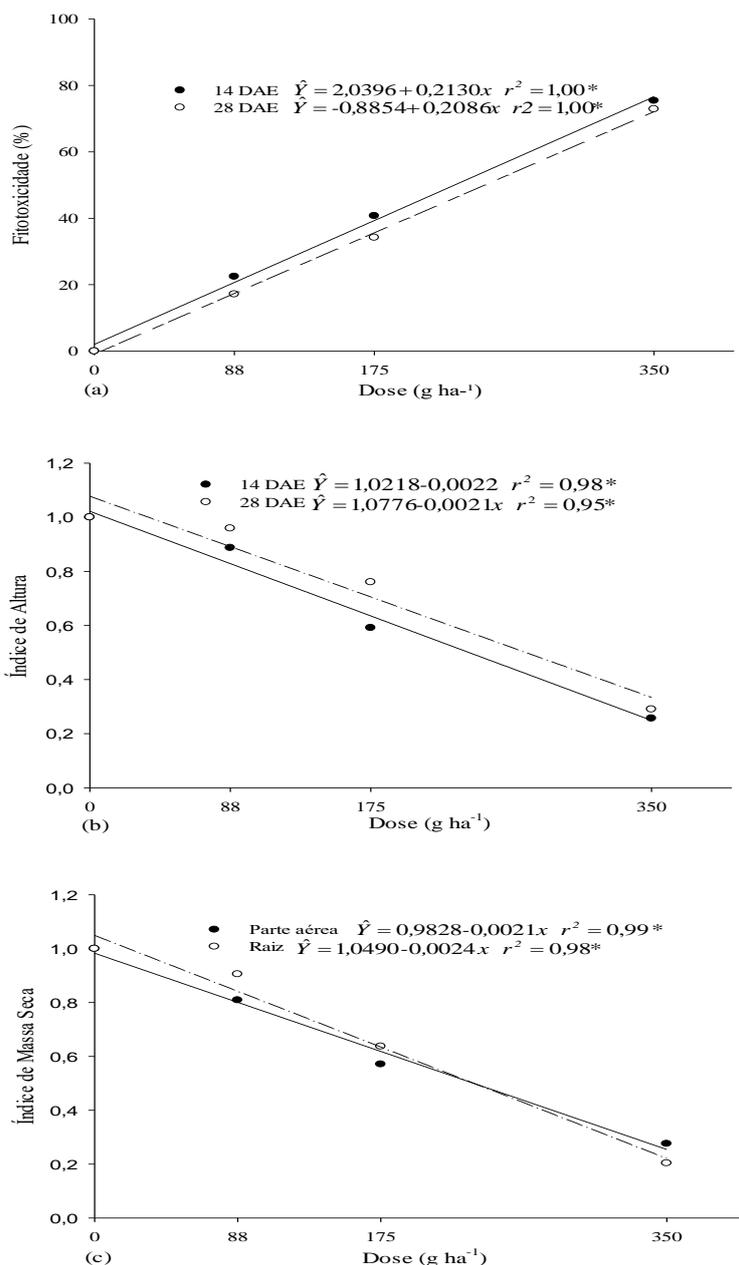


Figura 5. Fitotoxicidade (a), índice de altura (b), índice de massa seca da parte aérea e de raiz (c) aos 14 e 28 DAE em plantas de sorgo cultivadas como bioindicadora do herbicida imazapic.

2.4 Discussão

Os efeitos apresentados pela exposição ao imazapic sobre os parâmetros de fitotoxicidade, altura de planta e massa seca variaram em função das espécies e doses testadas. *U. brizantha* foi a mais suscetível às doses do herbicida em relação às demais espécies. As menores doses ocasionaram sintomas mais graves de fitotoxicidade, inibição do crescimento e redução de massa seca. A concentração do imazapic na parte aérea do *U. brizantha* foi superior ao detectado nas raízes, evidenciando a maior translocação nessa espécie e consequentemente a ocorrência de maior atividade herbicida. Contrariamente, as espécies *C. ensiformis* e *M. pruriens* foram mais tolerantes ao incremento das doses aplicadas. O fato dos tratamentos com imazapic não afetarem o crescimento de *C. ensiformis* aos 45 e 80 dias, está relacionado à capacidade desta espécie em absorver o herbicida sem sofrer danos. Além disso, *C. ensiformis* forma associações simbióticas com bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares (AMF), que aumentam sua capacidade para tolerar deficiências nutricionais, hídricas, bem como a fitotoxicidade de metais pesados e poluentes orgânicos (Santana et al. 2015).

A tolerância de *C. ensiformis* a diversas condições de estresse biótico é bem documentada. A resistência dessa espécie ao herbicida glifosato foi atribuída a redução da translocação resultante de alteração do transporte na via simplástica (Cruz-Hipólito et al. 2009). Balliana et al. (2017) relataram acúmulo de compostos fenólicos nas folhas, além do desenvolvimento de aerênquima no córtex radicular de *C. ensiformis* tratada com óleo diesel, que permitiu o transporte de oxigênio das folhas para as raízes, reduzindo o estresse causado pela falta de oxigênio e favorecimento do metabolismo aeróbio. A acumulação de hidrocarbonetos alifáticos nas raízes de *C. ensiformis* foi relatado por Ramires e Dussan (2014).

A redução da biomassa da parte aérea e de raiz foi menos pronunciada em *Mucuna pruriens* com o incremento das doses de imazapic. Essa espécie tem sido empregada com sucesso na fitorremediação de metais pesados, contudo há poucas informações sobre sua tolerância a compostos orgânicos. Sua resistência ao glifosato foi atribuída a menor absorção foliar, baixa translocação para os tecidos meristemáticos e rápida degradação (Rojano-Delgado et al. 2012a).

A resistência metabólica envolve a presença de enzimas como as monooxigenase do citocromo P450, glutationa s-transferase (GST) e glicosiltransferase (Ibrahim et al. 2013; Mei et al. 2017). Kaya e Doganlar (2016) relataram aumento na atividade de GST

em plantas de tabaco expostas ao imazapic. O aumento da atividade GST pode ser explicado pela desintoxicação xenobiótica mediada por essa enzima. O citocromo P450 e as glutatona-S-transferases (GST) constituem dois dos maiores grupos de famílias de enzimas que são responsáveis pela desintoxicação de moléculas exógenas nas plantas. Suas atividades diferem com a espécie de planta em relação ao metabolismo e especificidade do substrato, que é uma das razões para a seletividade dos herbicidas (Belford et al. 2004).

Todas as espécies absorveram e acumularam imazapic nos seus tecidos. O imazapic pode ser absorvido pelas raízes, translocado para a parte aérea ou ainda compartimentalizado em células da raiz. A translocação em cada tecido vegetal é dependente das características da planta, como morfologia, concentração de lipídios, taxa de transpiração (Mitton et al. 2018b). A acumulação de imazapic no tecido vegetal envolve o mecanismo de armadilha iônica (Trapp e McFarlane 1995). Em condições normais há uma diferença de pH entre a parede celular (pH 5-6) e o citoplasma (pH 7-7,5). Na parede celular, ácidos fracos podem não se dissociar o suficiente para difundir com facilidade pela membrana plasmática. Contudo, após a difusão a dissociação do ácido aumenta por causa do maior pH no citoplasma e o herbicida é acumulado no interior da célula (Ellis e Shanner 1988).

As diferenças nos processos fisiológicos, bioquímicos, incluindo as defesas antioxidantes, podem promover absorção, translocação diferencial, degradação ou conjugação subsequente (Verkleij et al. 2009; Mitton et al. 2018b). As concentrações do herbicida nas raízes e parte aérea de *C. ensiformis* excederam aos valores determinados na *M. pruriens* e no *U. brizantha*. Resultados semelhantes foram relatados por Florido et al. (2014) em que a maior concentração de imazaquin foi acumulada nas raízes de *C. ensiformis*, embora a translocação tenha ocorrido em menor extensão na parte aérea. Em nosso estudo, *M. pruriens* e *C. ensiformis* acumularam níveis mais elevados de imazapic na raiz do que no tecido aéreo, embora tenha sido observado diferença entre essas espécies. As raízes de *M. pruriens* e *C. ensiformis* acumularam resíduos de imazapic 3x superior à parte aérea, enquanto a translocação para os tecidos aéreo no *U. brizantha* foi nessa mesma proporção superior às demais espécies.

A resposta diferencial ao imazapic entre essas plantas, pode ser atribuída ao metabolismo aumentado em compostos menos tóxicos mediada pelo citocromo P450 responsável por alterar padrões de translocação (Dominguéz-Mendes et al. 2017). Hatami et al. (2016) não verificaram diferenças na taxa de absorção e na translocação entre

biótipos resistente e sensível, contudo o metabolismo diferencial justificou o mecanismo de resistência à herbicidas entre as duas populações. Newson et al. (1993) verificaram maior absorção de imazapic no amendoim, menor translocação e rápido metabolismo em relação as espécies mais sensíveis. Confirmando que a tolerância está relacionada a capacidade da planta em rapidamente metabolizar o herbicida ao estado inativo. Em outro estudo, não foi relatado diferença no metabolismo de imazetapyr entre dois biótipos de *Phaseolus vulgaris*, atribuindo a tolerância à absorção e translocação diferencial. O biótipo mais afetado pelo herbicida, absorveu e transloucou 1,4 e 1,3 de vezes, respectivamente em relação a cultivar tolerante (Bauer et al. 1995)

Na dose de 350 g ha⁻¹, a menor concentração de imazapic foi determinada nas raízes e na parte aérea das plantas, sugerindo a ocorrência do metabolismo mais efetivo nessa concentração regulado pela alta atividade de enzimas antioxidantes. Estudos metabólicos com imazamox em cultivares tolerantes de trigo constataram maior metabolismo nas doses mais elevadas do herbicida (Rojano-Delgado et al. 2015b; Jimenez et al. 2016).

Conforme os resultados, não houve diferença entre o solo cultivado e não cultivado quanto a presença de imazapic aos 80 dias. A ausência do herbicida no solo sem cultivo, pode ser atribuída à sua lixiviação com água de irrigação para a camada mais profunda fora do alcance de coleta. Mitton et al. (2016a) verificaram maior concentração do endosulfan em solo cultivado do que em solo sem cultivo, demonstrando que a presença de plantas pode impedir a perda do herbicida pelo processo de lixiviação, porque as raízes aumentam a estabilidade do solo e reduzem a percolação da água através da absorção radicular. Contrariamente, nesse mesmo estudo a ausência do herbicida em solo sem plantas foi relacionada a sua percolação com a água de irrigação. Em outro estudo, foi relatado maior lixiviação mesmo na menor concentração de picloram em profundidades superiores a 30 cm do solo sem cultivo, enquanto o cultivo prévio com *U. brizantha* a lixiviação foi reduzida (Braga et al. 2016).

No solo não cultivado, as plantas de sorgo não foram afetadas em relação aos demais cultivos, evidenciando que o imazapic de fato não estava biodisponível na porção de solo coletada para o bioensaio. Embora a lixiviação do herbicida seja o fator que melhor explique esse comportamento, a contribuição da degradação microbiana não é descartada. Fang et al. (2001) relataram maior taxa de mineralização de atrazina em solo sem cultivo, sugerindo que fontes exógenas de C e N liberadas por plantas poderiam ter sido utilizadas preferencialmente por microrganismos degradadores, inibindo a

degradação da atrazina nos solos plantados. Ramborger et al. (2017) relataram que a espécie *P. neochilus* não foi efetiva na fitorremediação do solo contaminado com 2,4-D em relação ao controle sem cultivo, atribuindo a degradação do herbicida à ação microbiana otimizada pelas características do solo. No entanto, os resultados contrastam com outros trabalhos em que o solo cultivado aumentou entre 20-97% a degradação de atrazina com *Lolium perene*, *Festuca arundinacea*, *Hordeum vulgare* e *Zea mays* em relação a solo sem planta aos 60 dias (Merini et al. 2009; Ibrahim et al. 2013; Sánchez et al. 2017); o cultivo misto de colza e alfafa mostrou reduzir em 89,84% a concentração de pentaclorofenol no solo (Hechmi et al. 2014). A degradação de simazina foi atribuído à maior biomassa microbiana (1460 $\mu\text{g g}^{-1}$ solo) no solo rizosférico de *K. scoparia*, do que no solo não rizosférico (980 $\mu\text{g g}^{-1}$ solo) (Singh et al. 2004). Anderson et al. (1996) observaram que microrganismos de solo não cultivado demonstraram capacidade de degradar atrazine, metolachlor e trifluralin, mas não na mesma magnitude do solo rizosférico.

O efeito residual do imazapic sobre o crescimento das plantas de sorgo não diferiu com o cultivo prévio, independentemente da espécie, enquanto a produção de biomassa variou em função das espécies anteriormente cultivadas. Alister e Kogan (2005) verificaram efeito de transição do imazapic na dose de 119,7 g ha^{-1} sobre o crescimento e rendimento de grãos em plantas de azevém e cevada aos 140 e 300 dias após a aplicação. Em outro estudo, York et al. (2000) relataram que a aplicação de imazapic na cultura de amendoim resultou em lesões, atraso na maturidade e redução no rendimento em plantas de algodão, após um ano da aplicação. Matocha et al. (2003) relataram reduções na altura do algodão para imazapic aplicado em 140 e 210 g ha^{-1} no ano anterior. No entanto, considerando que a concentração de imazapic não diferiu entre o solo cultivado e o sem plantas e este último não afetou negativamente o crescimento de plantas bioindicadoras, evidenciando a ocorrência de outro fator que ocasionou a inibição do sorgo no solo com o cultivo prévio.

A redução da altura e da biomassa em plantas bioindicadoras no solo, anteriormente cultivado, pode estar mais relacionada ao efeito alelopático reconhecido para essas espécies. Estudos adicionais devem ser realizados para essa confirmação. Parte do herbicida e outros produtos químicos podem ser exsudados das raízes inibindo plantas receptoras. Vários trabalhos relatam o potencial alelopático de *M. pruriens* (Fujii et al. 1991; Fujii 2003; Nishihara et al. 2005; Appiah et al. 2015; Marchiosi et al. 2016), *C. ensiformis* (Caamal-Maldonado et al. 2001; Mendes e Rezende 2014) e *U. brizantha*

(Senarathne et al. 2010; Kato-Noguchi et al. 2014; Kobayashi e Kato-Noguchi 2015; Carvalho et al. 2016) na inibição do crescimento de outras espécies de plantas. Contudo, a redução na biomassa de plantas daninhas e aumento do rendimento de culturas comerciais foram relatados pelo consórcio com as espécies de leguminosas (Varret et al. 2017).

Os resultados mostraram a presença de imazapic no tecido vegetal, os metabólitos não foram averiguados na análise química. Nesse sentido, apenas o potencial de fitoextração e acumulação do herbicida foi abordado neste estudo. No entanto, *C. ensiformis*, *M. pruriens* e *U. brizantha* apresentaram diferentes mecanismos antioxidantes envolvidos na resposta ao imazapic (dados não mostrados). A existência de respostas antioxidantes pode ser usada como critério de tolerância de agrotóxicos em plantas com o propósito de fitorremediação (Mitton et al. 2018b).

2.5 Conclusão

C. ensiformis e *M. pruriens* tem comportamentos distintos quanto a absorção e translocação do imazapic em relação à espécie *U. brizantha*. No solo sem cultivo prévio, o *Sorghum bicolor* apresentou maior crescimento e produção de massa seca e pode ser atribuído ao efeito alelopático reconhecido para as espécies testadas. A exposição ao herbicida teve efeito negativo no crescimento e produção de biomassa de *U. brizantha* que não apresentou recuperação das lesões com o tempo, não sendo a espécie indicada para a fitorremediação do imazapic em condições de solo semelhantes ao deste estudo. A tolerância de *C. ensiformis* mediante a maior concentração do herbicida acumulada em seus tecidos pela fitoextração, evidencia sua capacidade de absorção facilitada pela alta produção de biomassa, sendo esta espécie a mais promissora na remediação do imazapic.

2.6 Referências

- Alister C, Kogan M, 2005. Efficacy of imidazolinone herbicides applied to imidazolinone-resistant maize and their carryover effect on rotational crops. Crop Protec. 24(4):375-379.
- Allan HL, van MJP, Finlayson KA, O'Brien JW, Mueller JF, Leusch FDL. 2017. Analysis of sugarcane herbicides in marine turtle nesting areas and assessment of risk using in vitro toxicity assays. Chemosphere, 185:656-664.

- Anderson TA, Kruger EL, Coats JR. 1996. Enhanced degradation of a mixture of three herbicides in the rhizosphere of a herbicide-tolerant plant. *Chemosphere*, 28(8):1551-1557.
- Appiah KS, Amoatey C, Fujii Y. 2015. Allelopathic activities of selected *Mucuna pruriens* on the germination and initial growth of lettuce. *International Journal of Basic and Applied Science*, 4(4):475-581.
- Balliana AG, Moura BB, Inckot RC, Bona C. 2017. Development of *Canavalia ensiformis* in soil contaminated with diesel oil. *Environ Sci Pollut Res Int*. 24(1):979-986.
- Bauer TA, Renner D, James D, Kelly DJ. 1995. Pinto Bean (*Phaseolus vulgaris*) Varietal Tolerance to Imazethapyr. *Weed Science*, 43:417-424.
- Belford EJ, Dörfler U, Stampfl A, Schröder P. 2004. Microsomal detoxification enzymes in yam bean [*Pachyrhizus erosus* (L.) urban]. *Z Naturforsch C*. 59(9-10):693-700.
- Braga RR, Santos JRA, Zanuncio JC, Serrão JE. 2016. Effect of growing *Brachiria brizantha* on phytoremediation of picloram under different pH environments. *Ecological Engineering*. 94:102–106.
- Caamal-Maldonado JA, Osornio JJJ, Barragán AT, Anaya AL. 2001. The Use of Allelopathic Legume Cover and Mulch Species for Weed Control in Cropping Systems. *Agronomy Journal*, 93(1):27-36.
- Carvalho AC, Salvador JP, Pereira TM, Ferreira PHA, Lira JC, Veiga TAM. 2016. Fluorescence of Chlorophyll a for Discovering Inhibitors of Photosynthesis in Plant Extracts. *American Journal of Plant Sciences*, 7:1545-1554.
- Cruz-Hipólito H, Osuna MD, Heredia A, Ruiz-Santaella JP, Prado R. 2009. Non-target mechanism involved in glyphosate tolerance found in *Canavalia ensiformis* plants. *J. Agric. Food Chem*. 57:4844–4848.
- Davis AM, Lewis SE, Brodie JE, Benson A. 2014. The potential benefits of herbicide regulation: a cautionary note for the Great Barrier Reef catchment area. *Sci Total Environ*. 490:81-92.
- Domingues-Mendez RD, Cruz RA, Rojano-Delgado A, Fernandez-Moreno P, Aponte R, Prado R. 2017. Multiple mechanisms are involved in new imazamox-resistant varieties of durum and soft wheat. *Front Plant Sci*. 7:14839.

- Fang C, Radosevich M, Fuhrmann JJ. 2001. Atrazine and phenanthrene degradation in grass rhizosphere soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(4-5):671-678.
- Florido FG, Monquero PA, Dias AC, Tornisielo VL. 2014. The absorption and translocation of imazaquin in green manures. *Acta Scientiarum*, 36(3):291-300.
- Fujii Y. 2003. Allelopathy in the natural and agricultural ecosystems and isolation of potent allelochemicals from Velvet bean (*Mucuna pruriens*) and Hairy vetch (*Vicia vilosa*). *Biol Sci Space*.17(1):6-13.
- Fujii Y, Shibuya T, Usami Y. 1991. Allelopathic Effect of *Mucuna pruriens* on the Appearance of Weeds. *Weed Research in Japan*, 36:43-49. (In Japanese with English Summary)
- Galon L, Lima AM, Guimarães S, Belarmino JG, Burg GM, Concenço G, Bastiani MO, Beutler AN, Zandona RR, Radünz AL. 2014. Potential of plant species for bioremediation of soils applied with imidazolinone herbicides. *Planta Daninha*, 32(4):719-726.
- García-Carijo A, Palma F, Iribarne C, Lluch C, Tejera N A. 2012. Alterations induced by imazamox on acetohydroxyacid synthase activity of common bean (*Phaseolus vulgaris*) depend on leaf position. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 104:72–76.
- Golombieski JI, Sutili FJ, Salbego J, Seben D, Gressler LT, da Cunha JA, Gressler LT, Zanell R, Vaucher RA, Marchesan E, Baldisserotto B. 2016. Imazapyr + imazapic herbicide determines acute toxicity in silver catfish *Rhamdia quelen*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 128:91-99.
- Gonçalves FF, Matos FS, Zanella R. 2013. Determination of herbicide residues in rice paddy water by Solid Phase Extraction and High Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection. *Scientia Chromatographica*, 5(2):89-100.
- Hatami ZM, Gherekhloo J, Rojano-Delgado AM, Osuna MD, Alcántara R, Fernández P, Sadeghipour HR, Prado R. 2016. Multiple Mechanisms Increase Levels of Resistance in *Rapistrum rugosum* to ALS Herbicides. *Front Plant Sci.*, 7:169.
- Hechmi N, Aissa NB, Abdenaceur H, Jedidi N. 2014. Phytoremediation efficiency of a pcp-contaminated soil using four plant species as mono- and mixed cultures. *Int J Phytoremediation*. 16(7-12):1241-56.

- Ibrahim SI, Lateef A, Khalifa HMS, Abdel Monem AE. 2013. Phytoremediation of atrazine-contaminated soil using *Zea mays* (maize). *Annals of Agricultural Sciences*, 58:69-75.
- Jiménez F, Rojano-Delgado A, Fernández PT, Rodríguez-Suárez C, Atienza SG, Prado R. 2016. Physiological, biochemical and molecular characterization of an induced mutation conferring imidazolinone resistance in wheat. *Physiologia Plantarum*, 158(1):2-10.
-
- Kaya A, Doganlar ZB. 2016. Exogenous jasmonic acid induces stress tolerance in tobacco (*Nicotiana tabacum*) exposed to imazapic. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 124:470-479.
- Kato-Noguchi H, Kobayashi A, Ohno O, Kimura F, Fujii Y, Suenaga K. 2014. Phytotoxic substances with allelopathic activity may be central to the strong invasive potential of *Brachiaria brizantha*. *Journal of Plant Physiology*, 171(7):525-530.
- Kemmerich M, Bernardi G, Adaime MB, Zanella R, Prestes OD. 2015. A simple and efficient method for imidazolinone herbicides determination in soil by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1412:82-89.
- Kobayashi A, Kato-Noguchi H. 2015. Phytotoxic substance with allelopathic activity in *Brachiaria decumbens*. *Natural Product Communications*, 10(5):761-763.
- Liu Y, Ma LY, Lu YC, Jiang SS, Wu HJ, Yang H. 2017. Comprehensive analysis of degradation and accumulation of ametryn in soils and in wheat, maize, ryegrass and alfalfa plants. *Ecotoxicol Environ Saf.* 140:264-270.
- Luo J, Qi S, Peng L, Xie X. 2017. Enhanced phytoremediation capacity of a mixed-species plantation of *Eucalyptus globulus* and Chickpeas. *Journal of Geochemical Exploration*, 182:201-205.
- Lv T, Carvalho PN, Casas ME, Bollmann UE, Arias CA, Brix H, Bester K. 2017. Enantioselective uptake, translocation and degradation of the chiral pesticides tebuconazole and imazalil by *Phragmites australis*. *Environ Pollut.* 229:362-370.
- Madalão JC, Pires FR, Chagas K, Cargnelutti Filho A, Procópio SO. 2012. Uso de leguminosas na fitorremediação de solo contaminado com sulfentrazone. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 42(4):390-396.

- Marchiosi R, Bido GS, Bohm PAF, Soares AR, Silva HA, Ferro AP, Ferrase ML, Ferrase-Filho O. 2016. Photosynthetic response of soybean to L-DOPA and aqueous extracts of velvet bean. *Plant Growth Regulation*, 80(2):171–182.
- Matocha MA, Grichar WJ, Senseman SA, Gerngross CA, Brecke BJ, Vencill WK. 2003. The Persistence of Imazapic in Peanut (*Arachis hypogaea*) Crop Rotations. *Weed Technology*, 17(2):325-329.
- Mazlan AN, Hussain H, Azman M, Zawawi M. 2016. Assessment of imazapic presence in surface water and groundwater in paddy field area. *Jurnal Teknologi*, 78(5):33-37.
- Mei Y, Si C, Liu M, Qiu L, Zheng M. 2017. Investigation of resistance levels and mechanisms to nicosulfuron conferred by non-target-site mechanisms in large crabgrass (*Digitaria sanguinalis* L.) from China. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 141:84-89.
- Mendes ID, Rezende MOO. 2014. Assessment of the allelopathic effect of leaf and seed extracts of *Canavalia ensiformis* as postemergent bioherbicides: A green alternative for sustainable agriculture. *Journal of Environmental Science and Health*, 49(5):374-380.
- Merini LJ, Bobillo C, Cuadrado V, Corach D, Giulietti AM. 2009. Phytoremediation potential of the novel atrazine tolerant *Lolium multiflorum* and studies on the mechanisms involve. *Environmental Pollution*, 157(11):3059-3063.
- Mitton FM, Gonzalez M, Monserrat M, Miglioranza KSB. 2016a. Potential use of edible crops in the phytoremediation of endosulfan residues in soil. *Chemosphere*, 148:300-306.
- Mitton FM, Gonzalez M, Monserrat JM, Miglioranza KSB. 2018b. DDTs-induced antioxidant responses in plants and their influence on phytoremediation process. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147:151-156.
- Montpetit E, Lachapelle E. 2017. New environmental technology uptake and bias toward the status quo: The case of phytoremediation. *Environmental Technology e Innovation*, 7:102-109.
- Moraes BS, Clasen B, Loro VL, Pretto A, Toni C, de Avila LA, Marchesan E, Machado SL, Zanella R, Reimche GB, 2011. Toxicological responses of *Cyprinus carpio* after exposure to a commercial herbicide containing imazethapyr and imazapic. *Ecotoxicol Environ Saf.* 74(3):328-35.

- Newsom J, Shaw DR, Hubbard T FJ. 1993. Absorption, Translocation, and Metabolism of AC 263,222 in Peanut (*Arachis hypogaea*), Soybean (*Glycine max*), and selected Weeds. *Weed Science*, 41(4):523-527.
- Nishihara E, Parvez MM, Araya H, Kawashima S, Fujii Y. 2005. L-3-(3,4-Dihydroxyphenyl) alanine (L-DOPA), an allelochemical exuded from velvetbean (*Mucuna pruriens*) roots. *Plant Growth Regulation*, 45(2):113–120.
- Parween T, Bhandari P, Sharma R, Jan S, Siddiqui ZH, Patanjali PK. 2018. Bioremediation: A Sustainable Tool to Prevent Pesticide Pollution. In: Oves M., Zain Khan M., M.I. Ismail I. (eds) *Modern Age Environmental Problems and their Remediation*. Springer, Cham. Doi. org/10.1007/978-3-319-64501-8_12.
- Qu M, Li H, Li N, Liu G, Zhao J, Hua Y, Zhu D. 2017. Distribution of atrazine and its phytoremediation by submerged macrophytes in lake sediments. *Chemosphere*, 186: 1515-1522.
- Ramborger BP, Ortis GCA, Rodrigues DT, Gayer MC, Sigal CMR, Bianchini MC, Puntel RL, Denardin ELG, Roehrs R. 2017. The phytoremediation potential of *Plectranthus neochilus* 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and the role of antioxidant capacity in herbicide tolerance. *Chemosphere*, 188:231-240.
- Ramirez D, Dussan J. 2014. Landfarmed oil sludge as a carbon source for *Canavalia ensiformis* during phytoremediation. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 11(5):1197-1206.
- Rodrigues BN, Almeida FS. 2011. *Guia de herbicidas*. Londrina: IAPAR, 697 p.
- Rodriguez-Hernandez MC, García De la-Cruz RF, Leyva E, Navarro-Tovar G. 2017. *Typha latifolia* as potential phytoremediator of 2,4-dichlorophenol: Analysis of tolerance, uptake and possible transformation processes. *Chemosphere*, 173:190-198.
- Rojano-Delgado A, Cruz-Hipolito H, Prado R, Castro MDL, Franco AR. 2012a. Limited uptake, translocation and enhanced metabolic degradation contribute to glyphosate tolerance in *Mucuna pruriens* var. *utilis* plants. *Phytochemistry*, 73:34-41.
- Rojano-Delgado AM, Priego-Capote F, Castro MDL, Prado D. 2015b. Mechanism of imazamox resistance of the Clearfield® wheat cultivar for better weed control. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(2):639-648.
- Sánchez V, López-Bellido FJ, Cañizares P, Rodríguez L. 2017. Assessing the phytoremediation potential of crop and grass plants for atrazine-spiked soils. *Chemosphere*, 185:119-126.

- Santana NA, Ferreira PAA, Soriani HH, Brunetto G, Nicoloso FT, Antonioli ZI, Jacques RJS. 2015. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and vermicompost on copper phytoremediation in a sandy soil. *Applied Soil Ecology*, 96:172-182.
- Senarathne SHS, Dissanavaka DNM, Vidhana Arach LP. 2010. Allelopathic potential of *Brachiaria brizantha* and *B. milliformis* on seed germination of selected bioassay species. *Park. J. Weed Sci. Res.* 16(2):207-216.
- Silva DRO, Avila LA de, Agostinetto D, Bundt AC, Primel EG, Caldas S. 2011. Ocorrência de agrotóxicos em águas subterrâneas de áreas adjacentes a lavouras de arroz irrigado. *Química Nova*, 34(5):748-752.
- Singh N, Megharaj M, Kookana RS, Naidu R, Sethunathan N. 2004. Atrazine and simazine degradation in Pennisetum rhizosphere. *Chemosphere*, 56(3):257-263.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS – SBCPD. 1995. Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas. Londrina. 42 p.
- Souto KM, Jacques RJS, Avila LA, Machado SLO, Zanella R, Refatti JP. 2013a. Biodegradation of the herbicides imazethapyr and imazapic in rhizosphere soil of six plant species. *Ciência Rural*, Santa Maria, 43(10):1790-1796.
- Souto KM, Avila LA, Cassol GV, Machado SLO, Marchesan E. 2015b. Phytoremediation of lowland soil contaminated with a formulated mixture of Imazethapyr and Imazapic. *Revista Ciência Agronômica*, 46(1):185-192.
- Trapp S, McFarlane JC. 1995. Plant contamination: modeling and simulation of organic chemical processes. Lewis Publishers, Boca Raton.
- Verret V, Gardarin A, Pelzer E, Mediène S, Makowski D, Morison MV. 2017. Can legume companion plants control weeds without decreasing crop yield? A meta-analysis. *Field Crops Research*, 204:158-168.
- Verkleij JAC, Goldhirsh AGG, Antosiewicz DM, Schwitzguébel JP, Schröder P. 2009. Dualities in plant tolerance to pollutants and their uptake and translocation to the upper plant parts. *Environmental and Experimental Botany*, 67(1):10-22.
- Zanella R, Adaime MB, Peixoto SC, Friggi CA, Prestes OD, Machado SLO, Marchesan E, Avila LA, Primel EG. 2012. Herbicides Persistence in Rice Paddy Water in Southern Brazil, *Herbicides - Mechanisms and Mode of Action*, Dr. Mohammed Nagib Hasaneen (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/32727.

- Zhao B, Fu D, Yu Y, Huang C, Yan K, Li P, Shafi J, Zhu H, Wei S, Ji M. 2017. Non-target-site resistance to ALS-inhibiting herbicides in a *Sagittaria trifolia* L. population. *Pestic Biochem Physiol.* 140:79-84.
- Wang F, Yi X, Qu H, Chen L, Liu D, Wang P, Zhou Z. 2017. Enantioselective accumulation, metabolism and phytoremediation of lactofen by aquatic macrophyte *Lemna minor*. *Ecotoxicol Environ Saf.* 143:186-192.
- Yavari S, Malakahmad A, Sapari NB, Yavari S. 2017. Synthesis optimization of oil palm empty fruit bunch and rice husk biochars for removal of imazapic and imazapyr herbicides. *J Environ Manage.* 193:201-210.
- York AC, Jordan DL, Batts RB, Culpepper S. 2000. Cotton Response to Imazapic and Imazethapyr Applied to a Preceding Peanut Crop. *The Journal of Cotton Science*, 4:210-216.

CONCLUSÃO GERAL

As características do solo, sobretudo, o teor de carbono orgânico foi o parâmetro mais importante a influenciar a biodisponibilidade de imazapic e seus efeitos nas espécies testadas. *Canavalia ensiformis*, *Mucuna pruriens* e *U. brizantha* apresentaram maior tolerância às doses crescentes de imazapic em ambos os solos.

U. brizantha apresentou maior translocação para a parte aérea que refletiu em graves sintomas fitotóxicos sobre seu crescimento e produção de massa seca, resposta que a torna imprópria para a aplicação na remediação de imazapic em condições de solo com baixo teor de carbono orgânico. A maior fitoextração e acumulação nos tecidos radiculares de *Canavalia ensiformis* associadas a alta produção de biomassa são requisitos que a tornam a melhor candidata a fitorremediação de imazapic, seguida de *Mucuna pruriens* que acumulou menos herbicida, todavia foi pouco afetada pelos tratamentos.