

UFRRJ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ENGENHARIA AGRÍCOLA E AMBIENTAL

DISSERTAÇÃO

Fitorremediação de Solos com Resíduo do
Herbicida Diclosulam

Camila da Costa Barros de Souza

2017



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA
AGRÍCOLA E AMBIENTAL**

**FITORREMEDIAÇÃO DE SOLOS COM RESÍDUO DO HERBICIDA
DICLOSULAM**

CAMILA DA COSTA BARROS DE SOUZA

Sob a Orientação da Professora
Camila Ferreira de Pinho

e Co-orientação dos Professores/Pesquisadores
Patricia Andrea Monquero
Rogério da Silva Rubin

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola e Ambiental, Área de Concentração em Meio Ambiente.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2017

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

d 719 da Costa Barros de Souza, Camila, 1992-
f Fitorremediação de Solos com Resíduo do Herbicida
Diclosulam / Camila da Costa Barros de Souza. - 2017.
62 f.

Orientadora: Camila Ferreira de Pinho.
Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Agrícola e Ambiental, 2017.

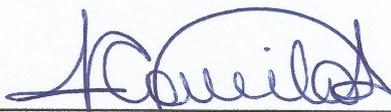
1. Carryover. 2. ALS. I. Ferreira de Pinho,
Camila, 1986-, orient. II Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Agrícola e Ambiental III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA E AMBIENTAL**

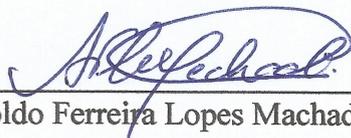
CAMILA DA COSTA BARROS DE SOUZA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola e Ambiental, área de Concentração em Meio Ambiente.

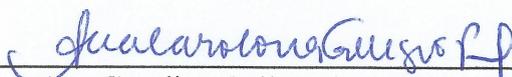
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 17/02/2017



Camila Ferreira de Pinho, Dr^a. UFRRJ
(Orientadora)



Aroldo Ferreira Lopes Machado, Dr. UFRRJ



Ana Carolina Callegario Pereira, Dr^a UniFOA



Cristina Moll Hüther, Dr^a. UFF

DEDICATÓRIA

A Deus, o Senhor da minha vida. *“Porque Dele, e por meio Dele, e para Ele são todas as coisas. A Ele, pois, a glória eternamente. Amém!”*

Romanos 11:36

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu Senhor, por minha vida. Por estar comigo me amparando, me dando força a cada momento. Por todos os momentos de dificuldades que eu O senti comigo, me fazendo uma pessoa mais forte. Por cada acordar, por cada aprendizado, pelo seu amor incondicional. Graças lhe dou!

Ao meu marido Alex, por sempre me incentivar e segurar minha mão. Por ter me dado colo e me acalmado sempre que precisei, e também ter chamado minha atenção todas as vezes que precisou. Por ter sido meu exemplo de compromisso e meu herói. Por não ter deixado faltar amor nos meus dias durante todos esses dois anos.

Aos meus pais João e Valéria, por terem me ensinado o caminho dos estudos e a paixão pelo aprendizado. Por toda preocupação e cuidado. Por terem me dado toda a base para que eu conseguisse ter chego aqui.

A minha mãe mais que irmã Jéssica, minha pagogo, minha metade, minha amiga, minha companheira. Por ser tão presente em minha vida, dividindo comigo todas as minhas dores e alegrias, desde a nossa existência. Por todo suor gasto andando no sol de Seropédica, na implantação e coleta dos experimentos.

A minha avó Lola, por ter me guardado todos os dias em oração e em amor.

Aos meus sogros Cida e Néia e ao meu cunhado Lucas, por toda palavra de incentivo e cuidado. Por todo amor e por toda oração. Por entenderem minha ausência e mesmo assim se tornarem presentes em minha vida.

As minhas amigas Letícia, Michelle, Nicole e Jac por terem me proporcionado momento de descontração e lazer. Por terem comemorado comigo cada vitória e secado minha lágrimas em cada tristeza, me fazendo dar a volta por cima.

A minha orientadora Camila Pinho, por ter acreditado em mim até mesmo quando eu não acreditava. Por todo ensinamento e crescimento obtido nesse mestrado. Por ter me apresentado o mundo das Plantas Daninhas e Pesticidas no Ambiente.

Aos meus coorientadores Rogério Rubin e Patricia Monquero, pelas oportunidades de desenvolvimento de pesquisa na Estação Experimental e no Cena, respectivamente.

Ao grupo de pesquisa Plantas Daninhas e Pesticidas no Ambiente pela amizade, pelo companheirismo e por toda ajuda na caminhada.

As amigas Amanda, Sâmia e Jéssica, pela amizade tão especial. Por cada rizada dada na Rural. Por terem tornado tarefas que seriam exaustivas, extremamente divertidas.

Aos Pós-doutorandos Orlando e Junior por toda atenção, ajuda e ensinamento.

Ao Agrônomo Evandro e todos os funcionários da fitotecnia por toda ajuda com os experimentos.

A empresa Dow Agrosience por possibilitar a implantação e condução do experimento I dessa dissertação na sua Estação Experimental.

Ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos e a Prof^a Rosa Helena Luchese por ter disponibilizado a centrífuga refrigerada para a extração enzimática.

Ao Laboratório de Águas e aos professores Alexandre Lioi e Leonardo por terem disponibilizado o laboratório para ser realizado o procedimento de incubação das enzimas.

Ao Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas e aos professores Sônia e Leandro, por terem possibilitado a realização das análises de enzimas antioxidantes.

Ao Laboratório de Ecotoxicologia do Cena/USP, ao Prof^o Valdemar Tornisielo, ao Dr^o Kássio e ao Técnico Rodrigo, por terem possibilitado a realização do experimento III dessa dissertação, pelo apoio e ensinamento.

A prof^a Fernanda Reinert por ter possibilitado todas as análises de fluorescência da clorofila *a* nos cedendo o aparelho Handy PEA.

Ao Prof^o Marcus da Reprodução Animal por ceder nitrogênio líquido sempre que precisamos.

Aos professores Nelson Moura e Aroldo pelas correções e sugestões valiosas dadas na qualificação.

Aos professores Ana Carolina Callegario e André Marques, por terem caminhado esse caminho comigo. Por todo cuidado, ajuda e carinho me dado. Por serem meus exemplos de humanidade e caráter.

A minha psicóloga Sandra, por ter me ajudado a enxergar meu potencial e minha qualidade. Por ter me tornado mais corajosa e confiante. Por ter me dado força emocional para ter chego aqui.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e a Associação Oro-Gestão das Águas da Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba do Sul (AGEVAP) pelo apoio financeiro durante o curso.

A Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola e Ambiental pela oportunidade de crescimento pessoal e profissional, por todo apoio e ajuda.

BIOGRAFIA

Camila da Costa Barros de Souza, filha de João Carlos de Barros Filho e Valéria Thereza da Costa Barros, é natural da cidade de Pirai – RJ, nascida em 02 de janeiro de 1992. Iniciou a graduação em Engenharia Ambiental no Centro Universitário de Volta Redonda (UniFOA) em 2009, diplomando-se em 2014. Em março de 2015 ingressou no Mestrado no Curso de Pós-graduação em Engenharia Agrícola e Ambiental (PGEAAmb / UFRRJ) sob orientação da professora Dr^a. Camila Ferreira de Pinho, desenvolvendo pesquisa sobre fitorremediação de solos com resíduo do herbicida diclosulam.

RESUMO

SOUZA, Camila da Costa Barros. **Fitorremediação de solos com resíduo do herbicida diclosulam**. 2017. 73f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola e Ambiental). Instituto de Tecnologia, Departamento de Engenharia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

Herbicidas residuais, em alguns casos, podem afetar culturas subsequentes. Nestas situações, o uso de espécies fitorremediadoras pode ser uma alternativa na degradação destas moléculas, minimizando o risco de *carryover*. O primeiro passo para estabelecer se uma espécie pode ser utilizada como fitorremediadora, é verificar se a mesma apresenta tolerância ao produto, para posteriormente verificar o seu efeito remediador. Diante do exposto, a presente dissertação de mestrado teve por objetivo identificar espécies vegetais capazes de fitorremediar o herbicida diclosulam, elucidando o mecanismo biológico de fitorremediação empregado pelas plantas. Para isso foram realizados 3 experimentos distintos. No primeiro experimento, realizado na Estação Experimental da Empresa Dow Agrosiences, foi selecionado, dentre as espécies *Arachis pintoi*, *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens*, *Canavalia ensiformis*, *Cajanus cajan* e *Crotalaria juncea*, aquelas que apresentem tolerância ao herbicida diclosulam. No segundo experimento, realizado na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, avaliou-se a eficiência das espécies vegetais, previamente selecionadas, em remediar solo contaminado com o herbicida diclosulam, utilizando o pepino como planta bioindicadora. No terceiro experimento, realizado no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), foi verificado se o mecanismo de tolerância das duas espécies que apresentaram maior potencial fitorremediador ocorre devido aos fenômenos de absorção e/ou translocação do herbicida pela planta. As doses do herbicida diclosulam testadas no primeiro e segundo experimento foram 21, 42, 63, e 84 g ha⁻¹ + controle (sem presença do herbicida); E no terceiro experimento foram testadas as doses 42 g ha⁻¹ + controle (sem presença do herbicida). As espécies *Arachis pintoi*, *Canavalia ensiformis*, *Cajanus cajan* e *Crotalaria juncea* apresentaram tolerância ao herbicida diclosulam nas doses testadas, sendo as espécies *Canavalia ensiformis*, *Cajanus cajan* e *Crotalaria juncea* eficientes na dissipação/degradação dessas moléculas no solo, posto que as duas últimas espécies foram as que apresentaram maior efeito remediador. Utilizando o herbicida radiomarcado com ¹⁴C em sua estrutura molecular, pôde-se inferir através do balanço de massa e observação das radioimagens das espécies *Crotalaria juncea* e *Cajanus cajan* que a ação fitorremediadora exercida por essas espécies é, provavelmente, através da fitoestimulação. Ademais, existe uma barreira anatômica/metabólica de translocação do diclosulam no coleto dessas espécies, o que lhes confere tolerância à essa molécula herbicida.

Palavras-chave: *Carryover*. *Crotalaria juncea*. *Cajanus cajan*. Herbicida radiomarcado. ALS

ABSTRACT

SOUZA, Camila da Costa Barros. **Phytoremediation of soils with diclosulam herbicide residues**. 2017. 73f. Dissertation (Master Agricultural and Environmental Engineering). Institute of Technology, Engineering Department, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

Residual herbicides, in some cases, can affect subsequent crops. In these situations, The use of phytoremediation species may be an alternative in the degradation of these molecules, minimizing the carryover risks. The first step in establishing if some species can be used as a phytoremediation, is check that it has tolerance to the product, for later verify its remedial effect. Against the foregoing, The present master's thesis aimed to identify plant species capable of phytoremediation the diclosulam herbicide, elucidating the biological mechanism of phytoremediation used by plants. For this, 3 different experiments were performed. In the first experiment, conducted at the Dow Agrosiences Experiment Station, it was selected, among the species **Arachis pintoi**, **Brachiaria brizantha**, **Brachiaria decumbens**, **Canavalia ensiformis**, **Cajanus cajan** e **Crotalaria juncea**, those that shows tolerance to the diclosulam herbicide. In the second experiment, conducted in the Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, it was evaluated the efficiency of the previously selected plant species to remediate soil contaminated with the diclosulam herbicide, using cucumber as a bioindicator plant. In the third experiment, conducted at Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), it was verified if the tolerance mechanism of the two species that presented the greatest phytoremediation potential occurs due to the phenomena of absorption and / or translocation of the herbicide by the plant. The doses of diclosulam herbicide tested in the first and second experiments were 21, 42, 63, e 84 g ha⁻¹ + control (without presence of the herbicide); And in the third experiment, the doses that were tested was 42 g ha⁻¹ + control (without presence of the herbicide). The species **Arachis pintoi**, **Canavalia ensiformis**, **Cajanus cajan** e **Crotalaria juncea** showed a tolerance to the diclosulam herbicide at the doses tested, and the species **Canavalia ensiformis**, **Cajanus cajan** e **Crotalaria juncea** were efficient in the dissipation/degradation of these molecules in the soil, it is pointed out that the last two species were those that presented the greatest remedial effect. Using the ¹⁴C radiolabeled herbicide in its molecular structure, could be inferred through the mass balance and observation of the radioimagens of the species **Crotalaria juncea** e **Cajanus cajan** that the phytoremediative action performed by these species is, probably, through phytostimulation. In addition, there is an anatomic / metabolic barrier of diclosulam translocation in the collar of these species, which gives them tolerance to this herbicidal molecule.

Key words: Carryover; **Crotalaria juncea**; **Cajanus cajan**; Radiolabeled herbicide; ALS

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Destino dos herbicidas aplicados na agricultura. Fonte: Adaptado de Appleby e Dawson (1994).	2
Figura 2. Estrutura química do diclosulam. Fonte: Senseman et al., 2007.	6
Figura 3. Via metabólica de degradação aeróbica do diclosulam no solo. Fonte: Adaptado de Yoder et al. (2000)......	6
Figura 4. Mecanismo de tolerância em célula de planta para poluentes orgânicos. Fonte: Adaptado de Pilon-Smith (2005)......	13
Figura 5. Transporte e processos metabólicos de poluente orgânico na célula vegetal. Fonte: Dietz e Schnoor (2001)......	14
Figura 6. Coleta das plantas (A); Preparo do filme de raio-x (B).	19
Figura 7. Intensidade de fluorescência da clorofila <i>a</i> obtida para a espécie <i>Arachis pintoi</i> , aos 15 DAS (A) e 45 DAS(B). Parâmetros do Teste JIP obtidos da mesma espécie submetida a diferentes doses do herbicida diclosulam, expresso em relação aos valores do tratamento controle (valor transformado para 1), aos 15 DAS (C) e aos 45 DAS (D)......	24
Figura 8. Intensidade de fluorescência da clorofila <i>a</i> obtida para a espécie <i>Crotalaria juncea</i> , aos 15 DAS (A) e 45 DAS(B). Parâmetros do Teste JIP obtidos da mesma espécie submetida a diferentes doses do herbicida diclosulam, expresso em relação aos valores do tratamento controle (valor transformado para 1), aos 15 DAS (C) e aos 45 DAS (D)......	26
Figura 9. Intensidade de fluorescência da clorofila <i>a</i> obtida para a espécie <i>Canavalia ensiformis</i> , aos 15 DAS (A) e 45 DAS(B). Parâmetros do Teste JIP obtidos da mesma espécie submetida a diferentes doses do herbicida diclosulam, expresso em relação aos valores do tratamento controle (valor transformado para 1), aos 15 DAS (C) e aos 45 DAS (D)......	28
Figura 10. Intensidade de fluorescência da clorofila <i>a</i> obtida para a espécie <i>Cajanus cajan</i> , aos 15 DAS (A) e 45 DAS(B). Parâmetros do Teste JIP obtidos da mesma espécie submetida a diferentes doses do herbicida diclosulam, expresso em relação aos valores do tratamento controle (valor transformado para 1), aos 15 DAS (C) e aos 45 DAS (D)......	30
Figura 11. Intensidade de fluorescência da clorofila <i>a</i> obtida para a espécie <i>Brachiaria decumbens</i> , aos 15 DAS (A) e 45 DAS(B). Parâmetros do Teste JIP obtidos da mesma espécie submetida a diferentes doses do herbicida diclosulam, expresso em relação aos valores do tratamento controle (valor transformado para 1), aos 15 DAS (C) e aos 45 DAS (D). *Não foi possível realizar a fluorescência dos tratamentos de 84 g ha ⁻¹ aos 15 DAS, pois as folhas ainda estavam muito pequenas para prender os cliques do aparelho HanyPEA.	32

Figura 12. Intensidade de fluorescência da clorofila <i>a</i> obtida para a espécie <i>Brachiaria brizantha</i> , aos 15 DAS (A) e 45 DAS (B). Parâmetros do Teste JIP obtidos da mesma espécie submetida a diferentes doses do herbicida diclosulam, expresso em relação aos valores do tratamento controle (valor transformado para 1), aos 15 DAS (C) e aos 45 DAS (D). *Não foi possível realizar a fluorescência dos tratamentos de 84 g ha ⁻¹ aos 15 DAS, pois as folhas ainda estavam muito pequenas para prender os cliques do aparelho HanyPEA.	34
Figura 13. Intensidade de fluorescência da clorofila <i>a</i> obtida para o pepino em sucessão a <i>A. pintoi</i> , aos 15 DAS (A) e 45 DAS (B). Parâmetros do Teste JIP obtidos da mesma planta submetida a diferentes doses do herbicida diclosulam, expresso em relação aos valores do tratamento controle (valor transformado para 1), aos 15 DAS (C) e aos 45 DAS (D).....	38
Figura 14. Intensidade de fluorescência da clorofila <i>a</i> obtida para o pepino em sucessão a <i>C. ensiformis</i> , aos 15 DAS (A) e 30 DAS (B). Parâmetros do Teste JIP obtidos da mesma planta submetida a diferentes doses do herbicida diclosulam, expresso em relação aos valores do tratamento controle (valor transformado para 1), aos 15 DAS (C) e aos 30 DAS (D).....	39
Figura 15. Intensidade de fluorescência da clorofila <i>a</i> obtida para o pepino em sucessão a <i>C. cajan</i> , aos 15 DAS (A) e 30 DAS (B). Parâmetros do Teste JIP obtidos da mesma planta submetida a diferentes doses do herbicida diclosulam, expresso em relação aos valores do tratamento controle (valor transformado para 1), aos 15 DAS (C) e aos 45 DAS (D).....	41
Figura 16. Intensidade de fluorescência da clorofila <i>a</i> obtida para o pepino em sucessão a <i>C. juncea</i> , aos 15 DAS (A) e 30 DAS (B). Parâmetros do Teste JIP obtidos da mesma planta submetida a diferentes doses do herbicida diclosulam, expresso em relação aos valores do tratamento controle (valor transformado para 1), aos 15 DAS (C) e aos 30 DAS (D).....	42
Figura 17. Nodulação da espécie <i>A. pintoi</i> observada no experimento.....	44
Figura 18. Radioimagem indicando a absorção e translocação do diclosulam na <i>C.cajan</i> aos 7 DAE (A) e 14 DAE (C). Correspondentes imagens digitais da <i>C.cajan</i> aos 7 DAE (B) e 14 DAE (D).....	46
Figura 19. Radioimagem indicando a absorção e translocação do diclosulam na <i>C.juncea</i> aos 7 DAE (A) e 14 DAE (C). Correspondentes imagens digitais da <i>C.juncea</i> aos 7 DAE (B) e 14 DAE (D).	48

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Mecanismos biológicos de fitorremediação. Fonte: Procópio et al.(2005); Peuke e Rennenberg (2005); Rice et al. (1997).	10
Tabela 2. Atributos físicos e químicos do solo utilizado no experimento II.	16
Tabela 3. Atributos físicos e químicos do solo utilizado no experimento III.	17
Tabela 4. Atributos físicos e químicos do solo utilizado no experimento III.	18
Tabela 5. Principais parâmetros do Teste JIP (Adaptada de: STRASSER et al., 2004 e YUSUF et al., 2010).	21
Tabela 6. Massa seca da parte aérea (MSA), massa seca das raízes (MSR) e altura de plantas (AP) da espécie <i>Arachis pintoii</i> sob doses do herbicida diclosulam.	23
Tabela 7. Intensidades de fluorescência da clorofila <i>a</i> nos passos O (Fo), J (FJ), I (FI) e P (FM) obtidas aos 15 e 45 DAS da espécie <i>A. pintoii</i> submetida as doses do herbicida diclosulam.	24
Tabela 8. Parâmetros da fluorescência transiente da clorofila <i>a</i> obtidos aos 15 DAS e 45 DAS da espécie <i>A. pintoii</i> submetida as doses do herbicida diclosulam.	24
Tabela 9. Parâmetros da fluorescência transiente da clorofila <i>a</i> obtidos aos 15 DAS e 45 DAS da espécie <i>C. juncea</i> submetida as doses do herbicida diclosulam.	25
Tabela 10. Intensidades de fluorescência da clorofila <i>a</i> nos passos O (Fo), J (FJ), I (FI) e P (FM) obtidas aos 15 e 45 DAS da espécie <i>C. juncea</i> submetida as doses do herbicida diclosulam.	26
Tabela 11. Parâmetros da fluorescência transiente da clorofila <i>a</i> obtidos aos 15 DAS e 45 DAS da espécie <i>C. juncea</i> submetida as doses do herbicida diclosulam.	26
Tabela 12. Massa seca da parte aérea (MSA), massa seca das raízes (MSR) e altura de planta (AP) da espécie <i>Canavalia ensiformes</i> sob doses do herbicida diclosulam.	27
Tabela 13. Intensidades de fluorescência da clorofila <i>a</i> nos passos O (Fo), J (FJ), I (FI) e P (FM) obtidas aos 15 e 45 DAS da espécie <i>C. ensiformis</i> submetida as doses do herbicida diclosulam.	28
Tabela 14. Parâmetros da Fluorescência transiente da clorofila <i>a</i> obtidos aos 15 DAS e 45 DAS da espécie <i>C. ensiformis</i> submetida as doses do herbicida diclosulam.	28
Tabela 15. Massa seca da parte aérea (MSA), massa seca das raízes (MSR) e altura de planta (AP) da espécie <i>Cajanus cajan</i> sob doses do herbicida diclosulam.	29
Tabela 16. Intensidades de fluorescência da clorofila <i>a</i> nos passos O (Fo), J (FJ), I (FI) e P (FM) obtidas aos 15 e 45 DAS da espécie <i>C. cajan</i> submetida as doses do herbicida diclosulam.	30

Tabela 17. Parâmetros da Fluorescência transiente da clorofila <i>a</i> obtidos aos 15 DAS e 45 DAS da espécie <i>C. cajan</i> submetida as doses do herbicida diclosulam.....	30
Tabela 18. Massa seca da parte aérea (MSA), massa seca das raízes (MSR) e altura de planta (AP) da espécie <i>B. decumbens</i> sob doses do herbicida diclosulam.....	31
Tabela 19. Massa seca da parte aérea (MSA), massa seca das raízes (MSR) e altura de planta (AP) da espécie <i>B. brizantha</i> sob doses do herbicida diclosulam.....	31
Tabela 20. Intensidades de fluorescência da clorofila <i>a</i> nos passos O (Fo), J (FJ), I (FI) e P (FM) obtidas aos 15 e 45 DAS da espécie <i>B. decumbens</i> submetida as doses do herbicida diclosulam.....	32
Tabela 21. Parâmetros da Fluorescência transiente da clorofila <i>a</i> obtidos aos 15 DAS e 45 DAS da espécie <i>B. decumbens</i> submetida as doses do herbicida diclosulam.....	33
Tabela 22. Intensidades de fluorescência da clorofila <i>a</i> nos passos O (Fo), J (FJ), I (FI) e P (FM) obtidas aos 15 e 45 DAS da espécie <i>B. brizantha</i> submetida as doses do herbicida diclosulam.....	34
Tabela 23. Parâmetros da Fluorescência transiente da clorofila <i>a</i> obtidos aos 15 DAS e 45 DAS da espécie <i>B. brizantha</i> submetida as doses do herbicida diclosulam.....	35
Tabela 24. Massa seca da parte aérea (g) da bioindicadora (pepino) em sucessão às espécies fitorremediadoras sob doses do herbicida diclosulam.....	37
Tabela 25. Massa seca de raiz (g) da bioindicadora (pepino) em sucessão às espécies fitorremediadoras sob doses do herbicida diclosulam.....	37
Tabela 26. Altura de planta (cm) da bioindicadora (pepino) em sucessão às espécies fitorremediadoras sob doses do herbicida diclosulam.....	37
Tabela 27. Intensidades de fluorescência da clorofila <i>a</i> nos passos O (Fo), J (FJ), I (FI) e P (FM) obtidas aos 15 e 30 DAS do pepino em sucessão a <i>A. pintoi</i> , submetido as doses do diclosulam.....	38
Tabela 28. Parâmetros da Fluorescência transiente da clorofila <i>a</i> obtidos aos 15 DAS e 30 DAS do pepino em sucessão a <i>A. pintoi</i> submetida as doses do herbicida diclosulam.....	39
Tabela 29. Intensidades de fluorescência da clorofila <i>a</i> nos passos O (Fo), J (FJ), I (FI) e P (FM) obtidas aos 15 e 30 DAS do pepino em sucessão a <i>C. ensiformis</i> , submetido as doses do diclosulam.....	40
Tabela 30. Parâmetros da Fluorescência transiente da clorofila <i>a</i> obtidos aos 15 DAS e 30 DAS do pepino em sucessão a <i>C. ensiformis</i> submetida as doses do herbicida diclosulam.....	40
Tabela 31. Parâmetros da Fluorescência transiente da clorofila <i>a</i> obtidos aos 15 DAS e 30 DAS do pepino em sucessão a <i>C. cajan</i> submetida as doses do herbicida diclosulam.....	41

Tabela 32. Parâmetros da Fluorescência transiente da clorofila <i>a</i> obtidos aos 15 DAS e 30 DAS do pepino em sucessão a <i>C. cajan</i> submetida as doses do herbicida diclosulam.....	41
Tabela 33. Intensidades de fluorescência da clorofila <i>a</i> nos passos O (Fo), J (FJ), I (FI) e P (FM) obtidas aos 15 e 30 DAS do pepino em sucessão a <i>C. juncea</i> , submetido as doses do diclosulam.....	43
Tabela 34. Parâmetros da Fluorescência transiente da clorofila <i>a</i> obtidos aos 15 DAS e 30 DAS do pepino em sucessão a <i>C. juncea</i> submetida as doses do herbicida diclosulam.....	43
Tabela 35. Translocação do herbicida diclosulam no interior da espécie <i>C. cajan</i> aos 7 e 14 DAE.....	47
Tabela 36. Radioatividade recuperada do diclosulam, aos 7 e 14 DAE da espécie <i>C. cajan</i>	47
Tabela 37. Translocação do herbicida diclosulam na <i>C. juncea</i> aos 7 e 14 DAE.....	48
Tabela 38. Radioatividade recuperada do diclosulam nas duas épocas de avaliação da <i>C. juncea</i> , aos 7 e 14 DAE.....	48

LISTA DE ABREVIACOES E SÍMBOLOS

ABC	ATP-binding cassette;
ALS	Enzima Acetolactato Sintase;
AP	Altura de Planta;
ATP	Trifosfato de adenosina;
CENA	Centro de Energia Nuclear na Agricultura;
Cyt <i>b₆f</i>	Complexo citocromo <i>b₆f</i> ;
CO ₂	Dióxido de carbono;
C _s	Concentração do herbicida sorvido no solo;
C _w	Concentração do herbicida presente na solução do solo em equilíbrio;
DAS	Dias após a sementeira;
DAE	Dias após a emergência;
EI	Experimento I;
EII	Experimento II;
EIII	Experimento III;
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária;
ESALQ	Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz;
F _d	Ferredoxina;
FSI	Fotossistema I;
FSII	Fotossistema II;
GSH	Glutathiona reduzida;
GST	GSH-S-transferase;
i.a.	Ingrediente ativo;
K _d	Coefficiente de sorção;
K _H	Constante da Lei de Henry;
K _{oc}	Coefficiente de sorção normalizado para o teor de carbono orgânico no solo;
K _{ow}	Coefficiente de partição octanol-gua;
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento;
MSA	Massa Seca da Parte Aérea;
MSR	Massa Seca de Raiz;
NH ₂	Grupos funcionais amina;
NS	Não significativo;
OH	Grupo funcional hidroxila;
PC	Plastocianina;
pK _a	Capacidade de dissociação eletrolítica;
pH	Potencial Hidrogeniônico;
PPI	Pré-plantio incorporado;
PV	Pressão de vapor;
Q _A	Quinona A;
R ²	Coefficiente de determinação;
S	Solubidade;
SBCS	Sociedade Brasileira de Ciência do Solo;
SPA	Secretaria de Política Agrícola;
USEPA	United States Environmental Protection Agency;
USP	Universidade de São Paulo.

SUMARIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
3	MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1	Experimento I.....	16
3.2	Experimento II.....	17
3.3	Experimento III	18
3.3.1	Análise qualitativa: Autorradiografia	19
3.3.2	Análise quantitativa: Oxidação e balanço de massa	20
3.4	Determinações.....	20
3.5	Estatística	22
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	23
4.1	Experimento I.....	23
4.2	Experimento II.....	36
4.3	Experimento III	46
4.3.1	<i>Cajanus cajan</i>	46
4.3.2	<i>Crotalaria juncea</i>	47
5	CONCLUSÕES	50
6	RECOMENDAÇÕES PARA ESTUDOS FUTUROS	51
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

1 INTRODUÇÃO

O crescimento populacional e consequente aumento da demanda de alimentos nos últimos anos tem levado à abertura de novas fronteiras agrícolas e à intensificação do uso do solo e de pesticidas (MANCUSO et al., 2011). A importância dos pesticidas para o sistema agrícola é indiscutível, uma vez que eles constituem parte dos insumos básicos que sustentam a produção de alimentos em grande escala. No entanto, é fundamental que eles sejam adequadamente utilizados para que seja preservada a qualidade final do produto colhido, assim como os recursos naturais que sustentam a sua produção, como solo e água (OLIVEIRA JR. e REGITANO, 2009).

Entre as classes de pesticidas destacam-se os herbicidas pela sua ampla utilização no manejo de plantas daninhas em áreas agrícolas (MANCUSO et al., 2011). Vários herbicidas são aplicados diretamente no solo, como os herbicidas pré-emergentes, dentre eles o diclosulam. Este herbicida atua na inibição da enzima acetolactato sintase (ALS) e de acordo com Dan e colaboradores (2011), quando aplicado na soja, pode causar injúrias em culturas subsequentes, como o milho, devido a sua atividade residual.

A capacidade do composto em apresentar atividade residual é devido a persistência do herbicida no ambiente, prevenindo o desenvolvimento das plantas daninhas de uma determinada área por um período maior de tempo. Por outro lado, herbicidas com bioatividade muito prolongada podem causar injúrias à espécies sensíveis cultivadas em sucessão. Ademais, herbicidas de longa persistência no solo apresentam grandes riscos de contaminação do ambiente, seja por lixiviação, volatilização ou escoamento superficial (DAN et al., 2012).

Diante disso, cresce o interesse pela utilização da fitorremediação em um contexto de produção agrícola. Esta técnica envolve o cultivo de plantas com o intuito de descontaminar áreas onde xenobióticos estão presentes, como herbicidas com longo efeito residual no solo, e assim reduzir a persistência destes, minimizando os danos aos cultivos subsequentes, ao solo e aos lençóis freáticos (D'ANTONINO et al., 2009). Além disso, a utilização da fitorremediação na agricultura possibilita reduzir o tempo de liberação da área para o plantio de espécies vegetais não-tolerantes aos compostos persistentes (PROCÓPIO et al., 2008; SOUTO et al., 2015).

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo identificar as espécies vegetais capazes de fitorremediar o herbicida diclosulam e também, identificar o mecanismo biológico de fitorremediação empregado por elas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As plantas daninhas são configuradas como toda e qualquer planta que ocorre onde não é desejada, isto é, elas são definidas de acordo com a indesejabilidade da sua ocorrência em relação a uma atitude humana (OLIVEIRA e BRIGHENTI, 2011). Dessa forma, em sistemas agrícolas, elas são alvo de controle, pois podem interferir nas plantas cultivadas diretamente, através da liberação de compostos alelopáticos e/ou competição por água, luz e nutrientes, ou ainda, interferir indiretamente nas plantas cultivadas, hospedando pragas, interferindo na colheita ou na qualidade do produto agrícola (MONQUERO et al., 2013). Diante do aumento da demanda populacional por fibras e alimentos, a necessidade de se realizar um controle eficaz das plantas daninhas cresce a cada dia, e concomitantemente, cresce também o uso de herbicidas.

Do total de herbicidas aplicados em campos agrícolas, sejam eles aplicados diretamente no solo ou na parte aérea das plantas, 60 a 70% não atingem a superfície alvo de interesse e acabam alcançando direta ou indiretamente o solo, o qual atua como principal receptor desses compostos (LAW, 2001). Ao atingirem o solo, iniciam-se os processos físico-químicos e biológicos que irão determinar o destino, persistência e eficiência agrônômica destas moléculas (SILVA et al., 2014). Dentre os processos envolvidos após a aplicação do herbicida estão a retenção, transformação, transporte e a interação entre esses processos (MANCUSO et al., 2011) (Figura 1).

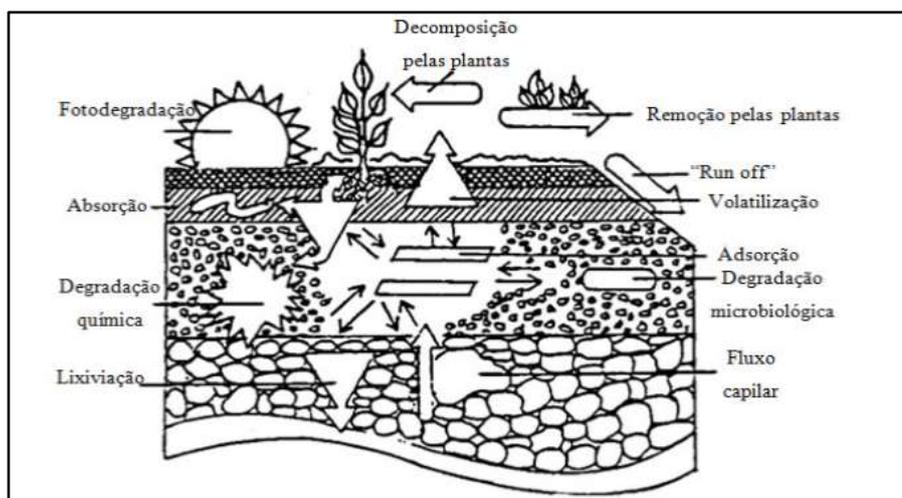


Figura 1. Destino dos herbicidas aplicados na agricultura. Fonte: Adaptado de Appleby e Dawson (1994).

Os principais fatores que influenciam nesses processos de dissipação e destino dos herbicidas no ambiente estão relacionados com as propriedades físico-químicas dos solos e das moléculas, com as condições climáticas, com o manejo das culturas e com o sistema de cultivo utilizado (MANCUSO et al., 2011).

Ao atingir o solo, as moléculas de herbicidas podem ser retidas nos colóides minerais e orgânicos e, dependendo da energia de ligação, podem tornar-se indisponíveis às plantas (resíduo ligado) ou ser novamente desorvida na solução do solo (HORNSBY et al., 1995; LAVORENTI, 1997). O processo de retenção no solo engloba mecanismos específicos de dissipação dos herbicidas, sendo eles a absorção, precipitação e adsorção. A distinção entre os processos de adsorção, precipitação e absorção pelos colóides do solo e organismos é de difícil concepção. Com isso, tem sido utilizado o termo sorção para descrever esses processos, que é usualmente determinado pelo desaparecimento da substância na solução do solo (OLIVEIRA e BRIGHENTI, 2011; SILVA et al., 2014).

A sorção é um dos principais processos que afetam o destino do herbicida no solo, sendo ela que determinará a persistência ou não do herbicida na matriz do solo, se ele será transportado e se tornará um poluente ambiental ou ainda, o quanto eficaz na sua função será esse herbicida (WAUCHOPE et al., 2002). Para sólidos e sedimentos, a sorção consiste na passagem do soluto do meio aquoso para a estrutura das partículas do solo (CALVET, 1989). A caracterização da sorção, usualmente, é feita por meio da estimativa do coeficiente de partição solo-água, também denominado de coeficiente de sorção ou constante de adsorção (K_d). O K_d representa a relação entre a concentração do herbicida que permanece sorvido no solo (C_s) e a concentração do herbicida encontrado na solução do solo em equilíbrio (C_w) (SILVA et al., 2014). Entretanto, a matéria orgânica possui um importante papel na adsorção de herbicidas no solo devido à sua alta capacidade de troca de cátions e grande superfície específica. Logo, diante da natureza orgânica dos herbicidas e de sua alta afinidade pela matéria orgânica, o teor de carbono orgânico do solo torna-se mais representativo da capacidade adsorptiva dos herbicidas nos solos. Dessa forma, tem-se corrigido o valor de K_d em relação ao teor de carbono orgânico do solo. A normalização do K_d para o teor de carbono orgânico resulta no valor de K_{oc} (OLIVEIRA e BRIGHENTI, 2011).

Ao ser liberado no ambiente, os herbicidas sofrem uma distribuição diferencial entre os vários compartimentos ambientais (solo, água e atmosfera), atingindo uma condição de equilíbrio com o tempo. A disponibilidade de herbicidas na solução do solo é o principal fator que determina o transporte e degradação de pesticidas e a eficácia do controle de planta daninha, e é inversamente proporcional ao seu potencial de sorção (GIORI et al., 2014). As moléculas de herbicida que permanecem na solução do solo podem ser absorvidas pelas raízes das plantas, degradadas ou serem transportadas até atingirem sua condição de equilíbrio. Numerosos mecanismos podem ser responsáveis por esse transporte, como por exemplo as propriedades do composto e a quantidade de água no solo. Dentre os principais processos relacionados a mobilidade do herbicida no solo, destacam-se o escoamento superficial, a volatilização e a lixiviação (FAY e SILVA, 2004; ULRICH et al., 2013).

A perda de agrotóxico do local de aplicação, pela força do fluxo de água de superfície, é frequentemente denominada de escoamento superficial. Esse processo acontece quando as moléculas de herbicidas dissolvidas e adsorvidas em sedimentos são transportadas do local de aplicação pela água que não infiltrou no solo (LEONARD, 1990).

A volatilização é o processo pelo qual o herbicida presente na solução do solo passa para a forma de vapor, podendo se perder para a atmosfera por evaporação. A volatilização é aumentada, de uma forma geral, pela elevação da temperatura e aumento da umidade do solo. Entretanto, algumas alternativas podem reduzir esse processo e manter a eficiência dos herbicidas, sendo elas: incorporação do herbicida ao solo e novas formulações dos produtos (SILVA et al., 2014).

O movimento descendente dos herbicidas na matriz do solo ou com a água do solo é chamado de lixiviação ou percolação. A intensidade de lixiviação de um herbicida é função das suas características físico-químicas e das características do solo e clima (OLIVEIRA e BRIGHENTI, 2011). Os fatores que afetam a lixiviação de determinado herbicida são sua retenção pelos colóides do solo, o pH e o teor de água do solo, a topografia ou declividade da área, a intensidade da chuva ou irrigação após a aplicação e o manejo do solo (LIN et al., 1999). Quanto maior a retenção do produto pelos colóides do solo menor a sua desorção, e consequentemente menor a quantidade do produto em solução propensa à lixiviação.

Além de todos esses processos, as moléculas de herbicidas podem também ser transformadas em metabólitos, ou serem completamente mineralizadas obtendo-se, como produtos finais, água, CO_2 e compostos inorgânicos, através de transformações físicas (fotodecomposição), químicas (oxidação-redução e hidrólise) e biológicas (degradação microbiana), num processo denominado de degradação (LAVORENTI et al., 2003). A

degradação, de modo geral, é importante por reduzir o nível de resíduo dos pesticidas no solo. Além do que, a degradação juntamente com a capacidade de sorção das moléculas herbicidas no solo, influi diretamente na persistência desses compostos no ambiente (LEE BELLEC et al., 2015).

Herbicidas que apresentam persistência no solo por longos períodos, como os herbicidas pré-emergentes, são insumos importantes para a garantia da produtividade das culturas comerciais, principalmente para aquelas que precisam prevenir o desenvolvimento das plantas daninhas de uma determinada áreas por um extenso período de tempo (MADALÃO et al., 2013), reduzindo com isso o número de aplicações. No entanto, com o fim do ciclo de cultivo, a presença desses herbicidas no solo pode se tornar indesejável, podendo resultar em efeito residual (MANCUSO et al., 2011; DAN et al., 2012) e contaminação de mananciais de água subterrânea pela lixiviação e, ou, escoamento superficial (BATTAGLIN et al., 2000; PALMA et al., 2004; KRUTZ et al., 2005). Do ponto de vista da produção agrícola, quando a atividade residual de um determinado herbicida excede o ciclo da cultura onde ele foi usado e persiste em intensidade suficiente para causar danos às espécies cultivadas em sucessão, ocorre o fenômeno denominado de *carryover* (OLIVEIRA JR., 2011).

Dessa forma, o herbicida ideal é aquele que permanece ativo no ambiente tempo suficiente longo para o controle das plantas daninhas em determinada cultura, porém não tão longo que cause danos às culturas susceptíveis que venham em sucessão (SOUTO, 2011). Para isso, o conhecimento das principais propriedades físico-químicas da molécula herbicidas permitirá o uso mais racional do mesmo através do entendimento do seu comportamento no ambiente, de forma a controlar o seu destino e impedir o fenômeno de *carryover*. As principais propriedade físico-químicas de um herbicida que influenciam no seu comportamento no ambiente são o coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}), solubilidade (S), capacidade de dissociação eletrolítica (pKa), pressão de vapor (PV) e constante da Lei de Henry (K_H) (MANCUSO et al., 2011).

A capacidade de dissociação eletrolítica (pKa) está relacionado com o grau de ionização das moléculas em soluções com diferentes valores de pH. Essa propriedade é representada por um valor numérico de pH no qual o herbicida apresenta 50% das suas moléculas na forma dissociada e 50% não dissociada. Os herbicidas derivados de ácidos fracos são aqueles que, em solução do solo, apresentam capacidade de doar prótons e formar íons carregados negativamente. E herbicidas derivados de bases fraca são aqueles que apresentam a capacidade de receber prótons e formar íons carregados positivamente, podendo competir com sítios de adsorção de nutrientes. Herbicidas não-iônicos são herbicidas que não doam ou recebem prótons quando estão na solução do solo, permanecendo em sua forma molecular. Esses herbicidas não reagem com a água e também não possuem carga elétrica líquida (KOGAN e PÉREZ, 2003).

O coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}) indica a característica hidrofílica/hidrofóbica (lipofílica) do herbicida, referindo-se a medida da intensidade da afinidade da molécula pela fase polar (representada pela água) e apolar (representada pelo octanol), sendo valores constantes a uma dada temperatura (SANGSTER, 1997).

Com relação a afinidade do herbicida pela fase polar, a solubilidade (S) é a propriedade que indica a quantidade máxima da molécula que se dissolve em água pura a uma determinada temperatura. Dessa forma, quanto maior a quantidade de grupos hidrofílicos presentes no herbicida (mais polar), maior será sua afinidade pela água, logo, maior sua solubilidade. Seu valor é expresso em miligramas do herbicida por litro de água (normalmente a 25°C) (OLIVEIRA e BRIGHENTI, 2011).

O potencial de volatilização de um herbicida pode ser estimado indiretamente pela sua pressão de vapor (PV). A pressão de vapor é a pressão exercida por um vapor em equilíbrio com um líquido, a determinada temperatura, sendo expressa normalmente em mm de Hg. Esse

parâmetro indica a tendência da substância química em escapar na forma de gás. Assim, quanto maior a pressão de vapor, maior a tendência do herbicida vaporizar-se. A relação entre a pressão de vapor (PV) e a solubilidade (S) é expressa por meio da constante da lei de Henry (K_H), sendo este um coeficiente de partição entre o ar e a água (solução do solo). O K_H também é utilizado como indicativo do potencial de volatilização de determinados herbicidas, cujos valores altos K_H indicam que as soluções são altamente voláteis (SILVA et al., 2014).

Logo, a capacidade de uma molécula herbicida apresentar maior persistência no ambiente será em função de suas propriedades físico-químicas. Dentre os herbicidas, os pré-emergentes apresentam, em sua maioria, características que lhes conferem média a elevada persistência no ambiente. Diante disso, a utilização de herbicidas pré-emergentes tornou-se crescente pela sua capacidade de controlar as plantas daninhas de uma determinada área por um maior período de tempo.

Entretanto, com a implantação do sistema de plantio direto e a manutenção da palhada nos campos agrícolas, ocorreu grande redução na utilização de herbicidas pré-emergentes. Contudo, com o desenvolvimento de plantas transgênicas tolerantes ao glifosato, esse herbicida passou a ser utilizado tanto para a dessecação, quanto em pós-emergência de grandes culturas agrícolas como a soja, fato que culminou com o aumento do surgimento de biótipos resistentes ao glifosato. Com o conseqüente aumento do número de aparecimento de novos casos de biótipos resistentes, os herbicidas aplicados em pré-emergência, que outrora foram bastante utilizados, tendem a ressurgir como uma forma de reduzir a pressão de seleção sobre esses biótipos e como uma importante ferramenta no controle de plantas daninhas resistentes (OSIPE et al., 2014).

Dentre os herbicidas utilizados em pré-emergência para o controle de plantas daninhas em culturas comerciais, encontra-se o diclosulam. O diclosulam é um herbicida seletivo, aplicado no solo, recomendado para o controle de dicotiledôneas na cultura da soja. Esse herbicida pertence ao grupo químico das triazolpirimidina sulfonanilidas, podendo ser aplicado em pré-plantio incorporado (PPI) ou em pré-emergência com uma dose máxima de aplicação de 35 g i.a./ha (YODER et al., 2000; HANLEY e BILLINGTON, 2001; LAVORENTI et al., 2003; RODRIGUES e ALMEIDA, 2005; MONQUERO et al., 2013).

O herbicida diclosulam atua inibindo a enzima acetolactato sintase (ALS). Essa enzima está localizada no cloroplasto e é essencial para catalisar duas reações: a condensação de duas moléculas de piruvato para formar uma molécula de acetolactato, que formará os aminoácidos valina e leucina; e a condensação de uma molécula de piruvato com uma de acetobutirato, que formará o aminoácido isoleucina (YODER et al., 2000; HANLEY e BILLINGTON, 2001; LAVORENTI et al., 2003; RODRIGUES e ALMEIDA, 2005; MONQUERO et al., 2013).

Após a germinação da semente e durante a emergência, as plântulas absorvem o herbicida através da radícula e caulículo, sendo este translocado para os meristemas apicais. Muitas plantas são controladas antes da emergência, porém algumas chegam a emergir, mas rapidamente passam a apresentar sintomas de injúria, como necrose nos meristemas onde o herbicida se acumula, impedindo-as de concorrer com a cultura (RODRIGUES e ALMEIDA, 2005).

A estrutura química do diclosulam contém duas cadeias aromáticas, a cadeia aromática triazolpirimidina e um heterociclo nitrogenado (YODER et al., 2000), conforme demonstrado na Figura 2. A massa molecular do diclosulam é de 406 g mol⁻¹, e sua pressão de vapor é 5 x 10⁻¹⁵ mmHg (25°C). O diclosulam é um ácido fraco, sendo assim, sua solubilidade em água é dependente do pH e varia de ~100 mg kg⁻¹ em pH entre 5 e 7 e > 4.000 mg kg⁻¹ em pH 9. O seu pKa é de 4,09 a 20°C, indicando sua predominância na forma aniônica em valores de pH característicos de solos agricultáveis. Seus valores de log Kow variam de -0,448, em pH 9, a 1,42, em pH 5, indicando também baixa hidrofobicidade (YODER et al., 2000; LAVORENTI et al., 2003; RODRIGUES e ALMEIDA, 2005).

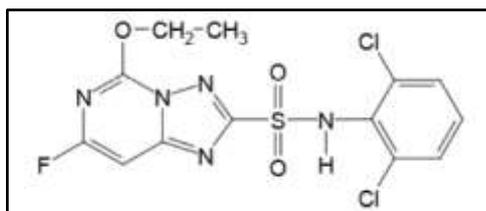


Figura 2. Estrutura química do diclosulam. **Fonte:** Senseman et al., 2007.

A dinâmica desse herbicida no solo é fortemente influenciada pelos teores de umidade e matéria orgânica, sendo esses os principais fatores que influenciam na sua adsorção ao solo (SENSEMAN et al., 2007). A complexidade do processo de adsorção de herbicidas deve-se à heterogeneidade físico-química do solo e suas interações com os sistemas biológicos, atmosféricos e aquáticos, afetando a quantidade do produto disponível em solução (OLIVEIRA e BRIGHENTI, 2011). A classe textural juntamente com o teor de matéria orgânica é um dos principais fatores envolvidos na dinâmica dos herbicidas no solo (SILVA et al., 2013), sendo utilizado como parâmetro para a escolha de suas doses. Normalmente, a capacidade sortiva dos solos tem relação direta com o teor de argila (KARPINSKI et al., 2014).

De acordo com Senseman e colaboradores (2007), a sua degradação é basicamente microbiana, logo, a taxa de degradação desse herbicida diminui com a profundidade. A população microbiana responsável pela degradação biológica é representada principalmente por fungos e bactérias, sendo esses micro-organismos mais abundantes nas camadas superficiais do solo (SILVA et al., 2014).

Na degradação aeróbica microbiana, Yoder e colaboradores (2000) observaram três metabólitos do diclosulam formados em níveis acima de 10 % do herbicida aplicado, sendo eles: 5-OH-diclosulam, ASTP e 8-Cl-diclosulam. Uma das principais vias de degradação do diclosulam é a alquilação do radical metoxi na posição 5 da cadeia aromática triazolopirimidina, formando o 5-OH-diclosulam, seguindo pela biocloração do 5-OH-diclosulam, formando o 8-Cl-diclosulam. Um caminho paralelo da biodegradação desse herbicida envolve a clivagem entre a sulfonamida e o 1,3-diclorobenzeno do diclosulam, formando o metabólito ASTP. Estes produtos da degradação, bem como outros produtos secundários, são então futuramente degradados em CO₂ e incorporados na matéria orgânica do solo como resíduos ligados. A via metabólica de degradação aeróbica do diclosulam no solo está ilustrada na Figura 3.

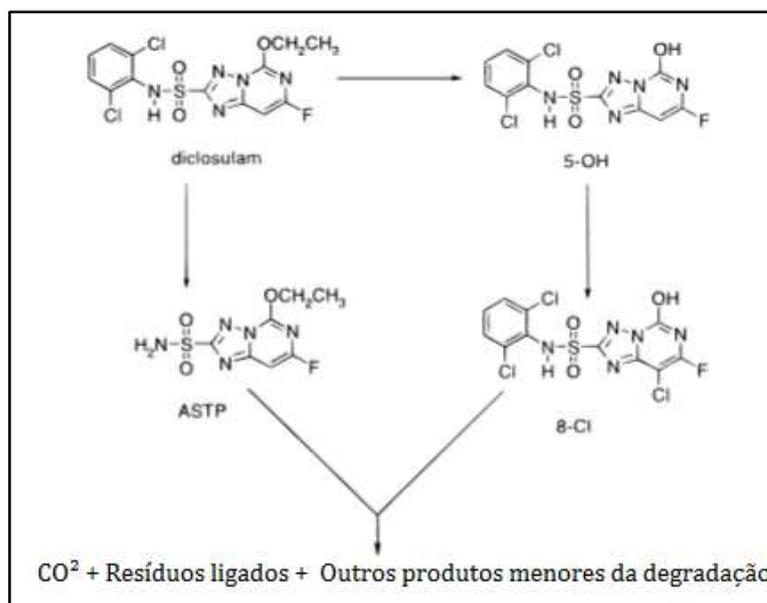


Figura 3. Via metabólica de degradação aeróbica do diclosulam no solo. **Fonte:** Adaptado de Yoder et al. (2000).

A cloração de um composto xenobiótico orgânico não é um mecanismo típico de quebra no metabolismo do solo. A formação de 8-Cl-diclosulam em solos aeróbicos é o primeiro exemplo conhecido de uma sulfonanilida que sofreu biocloração. Embora incomum, halogenação bioquímica de substratos orgânicos tem sido observado por inúmeras formas de vida, com exemplos de organismos tão diversos como bactérias, fungos, algas, plantas superiores, insetos e mamíferos (GRIBBLE, 1998). Estes organismos produzem substâncias halogenadas como parte de suas estratégias de defesa ou de aquisição de alimento (YODER et al., 2000).

Monquero e colaboradores (2013) relatam que a meia vida do diclosulam varia de 60 a 90 dias, dependendo das condições do clima. De acordo com Dan e colaboradores (2012), esse herbicida, quando aplicado no cultivo de soja na dose de 0,035 kg ha⁻¹, reduziu o crescimento e o rendimento de grãos de milho em 5,2% e 1013 kg ha⁻¹, respectivamente.

Dan e colaboradores (2011) observaram que a atividade residual do herbicida diclosulam aplicado na dose de 35 g de i.a. ha⁻¹ não foi suficiente para afetar negativamente o rendimento do milho cultivado em sucessão à soja. Todavia, esse herbicida apresentou significativo potencial de ocasionar efeitos negativos sobre a produção de grãos, forragem ou mesmo palhada no sistema de plantio direto, caso a semeadura do milho ocorra em intervalo menor que 120 dias após a aplicação do herbicida. Dan e colaboradores (2010) também constataram que o sorgo, quando cultivado em sucessão à soja que recebeu o tratamento com diclosulam em pré-emergência na dose de 35 g de i.a. ha⁻¹, apresentou elevada sensibilidade a esse herbicida.

Portanto, é necessário a utilização de herbicidas pré-emergente no manejo dos biótipos de plantas daninhas resistentes à herbicidas e na redução da pressão de seleção, mas deve-se também controlar o destino desses herbicidas no ambiente de forma a impeir o *carryover* e ainda assegurar a produtividade das culturas de sucessão. Nesse cenário a fitorremediação destaca-se como uma técnica de aplicação agrícola que possibilita reduzir o tempo de liberação da área de cultivo, possibilitando o plantio de espécies sensíveis ao diclosulam em sucessão à soja, protegendo a cultura de sucessão de injurias causadas pelo herbicida pré-emergente.

A fitorremediação consiste em uma técnica que utiliza as plantas e a sua comunidade microbiana associada para remover, degradar, imobilizar poluentes presentes no solo e/ou torná-los menos tóxicos ao ecossistema presente (SILICIANO e GERMIDA, 1999). Adicionalmente, de acordo com Accioly e Siqueira (2000), pode envolver também, o emprego de amenizantes no solo (corretivos, fertilizantes, etc.), além de práticas agronômicas aplicadas em conjunto.

A utilização da técnica de fitorremediação não é recente, o que é novo é a sua investigação sistemática e científica, principalmente em um contexto de aplicação agrícola. As plantas são utilizadas no processo de tratamento de esgotos há mais de 300 anos na Alemanha (CUNNINGHAM et al., 1996). Todavia, o uso do termo "*phytoremediation*" (*phyto* = vegetal + *remediation* = remediação) é muito mais recente, tendo sido estabelecido em 1991 para definir o uso de vegetais e dos microrganismos a eles associados, como instrumento para contenção, isolamento, remoção ou redução das concentrações de contaminantes em meio sólido, líquido ou gasoso (USEPA, 2000).

No Brasil são recentes os estudos que utilizam plantas e micro-organismos a elas associados para despoluição de ecossistemas. O primeiro estudo de fitorremediação de herbicida realizado no Brasil de forma aprofundada foi do herbicida tebuthiuron (PIRES et al., 2003b; PIRES et al., 2005a; PIRES et al., 2005b; PIRES et al., 2006; PIRES et al., 2008). Nesse estudo utilizou-se a espécie *Crotalaria juncea* como planta bioindicadora para avaliar plantas com potencial para remediação de solos contaminados por tebuthiuron (PIRES et al., 2008). Além disso, avaliou-se a atividade rizosférica das espécies vegetais com potencial para remediação de solos contaminados por esse herbicida para inferir sobre a contribuição radicular

no processo de descontaminação (PIRES et al., 2005b). Logo, tendo em vista as condições climáticas favoráveis e a vasta biodiversidade vegetal existente, o Brasil apresenta grande potencial de uso dessa tecnologia (PROCÓPIO et al., 2009).

A fitorremediação apresenta elevado potencial de utilização, devido ao seu custo-benefício quando comparada com outras técnicas de remediação de contaminantes de solo. O menor custo envolvido na fitorremediação justifica-se pelo fato de ser uma técnica aplicada *in situ* que utiliza como fonte de energia a energia solar, não exigindo o consumo de combustíveis fósseis, como é o caso de muitos processos comerciais de descontaminação. Além disso, os cuidados de manutenção que essa técnica exige, como irrigação, adubação, entre outros, são práticas já rotineiras de ambientes agrícolas, não sendo necessário a aquisição de maquinários (SAIER e TREVORS, 2010).

Quando não há necessidade de remoção da planta após o processo de remediação, a biomassa produzida durante o processo de fitorremediação pode ser usada na formação de palhada no plantio direto, incorporando matéria orgânica no solo. Ainda, com o cultivo de espécies vegetais fitorremediadoras, as propriedades biológicas, físicas e químicas do solo são mantidas e, não raro, até melhoradas, com a utilização de adubos verdes e leguminosas fixadoras de nitrogênio. Adicionalmente, essa técnica de remediação auxilia no controle do processo erosivo, eólico e hídrico e na redução da lixiviação do contaminante no solo, reduzindo a possibilidade de contaminação dos mananciais hídricos. Diante desse cenário, as vantagens da fitorremediação tornam-se ainda mais evidentes em ambientes agrícolas, onde predominam extensas áreas, que podem estar contaminadas com diferentes tipos de pesticidas (SAIER e TREVORS, 2010).

Apesar de todas as potencialidades comprovadamente significativas apresentadas pela fitorremediação, algumas limitações e dificuldades devem ser previstas antes da sua implantação. As principais dificuldades e limitações que devem ser observadas são: a seleção de plantas para fitorremediação, principalmente em relação à descontaminação de solos com resíduos de herbicidas de amplo espectro de ação; o tempo requerido para obtenção de uma despoluição satisfatória pode ser longo, podendo ser necessário mais de um ciclo de cultivo; o contaminante deve estar dentro da zona de alcance do sistema radicular das plantas fitorremediadoras (PIRES et al., 2003); clima e condições edáficas podem restringir o crescimento de plantas fitorremediadoras, prejudicando conseqüentemente, a descontaminação do solo; necessidade de retirada das plantas da área contaminada, quando o composto tóxico é apenas fitoacumulado ou fitodegradado a um composto ainda tóxico; os xenobióticos podem ser fitotransformados ou mesmo rizotransformados a metabólitos mais problemáticos que o composto inicial; a presença do contaminante ou de algum metabólito tóxico na parte aérea das plantas pode favorecer a contaminação da cadeia alimentar; e a dificuldade de controle posterior da planta fitorremediadora (PROCÓPIO et al., 2009).

Quando a fitorremediação é utilizada em solos agrícolas são necessários alguns cuidados adicionais, pois as espécies de plantas selecionadas não devem competir com a cultura principal e devem ser cultivadas e mantidas facilmente, além de representar um benefício econômico extra. Deve-se evitar uso de espécies que possuem um manuseio difícil após a sua utilização como fitorremediadoras e, se possível, selecionar espécies que promovem outros benefícios para o solo, como as que podem ser utilizadas como adubos verdes, forragem ou mesmo para a produção de grãos (PROCÓPIO et al., 2005; KAWAHIGASHI, 2009; GALON et al., 2014).

Devido às suas características desejáveis ao cultivo em ambientes agrícolas, as espécies vegetais *Arachis pintoi*, *Brachiaria decumbens*, *Cajanus cajan*, *Canavalia ensiformis*, *Brachiaria brizantha* e *Crotalaria juncea* são amplamente estudadas quanto as suas tolerâncias à herbicidas residuais e suas capacidades de fitorremedia-los. Monquero et al. (2013) demonstraram que a espécie *Cajanus Cajan* é eficiente na remediação de solos com resíduo do diclosulam na concentração de até 70 g i.a. ha⁻¹. Além disso, identificaram que a *Canavalia*

ensifformis é uma espécie promissora em diminuir o efeito fitotóxico do diclosulam em culturas agrícolas sensíveis. A espécie *Crotalaria juncea*, assim como a *C. cajan*, *C. ensiformis* e *Arachis pontoii*, apresenta elevada produção de biomassa com crescimento rápido e vigoroso, além de ser má hospedeira de muitos nematóides parasitas de plantas (Wang et al., 2001; 2002). A *Brachiaria brizantha* se destaca pela excelente adaptação a solos de baixa fertilidade, fácil estabelecimento e considerável produção de biomassa durante o ano, proporcionando excelente cobertura vegetal do solo (Timossi et al., 2007). Segundo Bernardes (2003), esta forrageira já é difundida e aceita pelos produtores rurais, o que facilita a sua eventual adoção para a produção de massa para a cobertura do solo, em sistema plantio direto.

Didaticamente, o processo de remediação utilizando plantas pode ser dividido em nove processos denominados de Fitoextração, Fitoacumulação, Fitodegradação, Fitovolatilização, Fitoestimulação, Rizodegradação, Rizovolatilização, Rizoestabilização e Rizofiltração, os quais ocorrem em função das características morfofisiológicas de cada espécie vegetal (Tabela 1). Esses processos podem ser executados simultaneamente ou sequencialmente por uma mesma planta, não sendo exclusivos entre si (PROCÓPIO et al., 2005; PEUKE e RENNENBERG, 2005).

Tabela 1. Mecanismos biológicos de fitorremediação. **Fonte:** Procópio et al.(2005); Peuke e Rennenberg (2005); Rice et al. (1997).

MECANISMOS	DESCRIÇÃO DO PROCESSO
Fitoacumulação	Armazenamento do contaminante nas raízes ou em outros órgãos da planta (aprisionamento).
Fitodegradação (Fitotransformação)	Bioconversão do contaminante em formas menos tóxicas ou não-tóxicas nas raízes ou em outros órgãos dos vegetais; em alguns casos a transformação ocorre de forma intensa, resultando na mineralização do xenobiótico. Pode ocorrer após a fitoacumulação. É realizada apenas com poluentes orgânicos.
Fitovolatilização	Volatilização de um contaminante fitotransformado a uma forma volátil no interior da planta, a qual é liberada na atmosfera.
Fitoestimulação (Rizodegradação)	Biodegradação do contaminante pela atividade da comunidade microbiana que foi estimulada através da liberação de exsudatos radiculares na rizosfera.
Rizoestabilização (Fitoestabilização)	Imobilização, lignificação ou humificação do contaminante na rizosfera da espécie vegetal, ficando o contaminante inativo no solo, mesmo que preservando sua integridade molecular. Dessa forma, reduz a biodisponibilidade do contaminante.
Rizofiltração	Processo de extração de contaminantes aplicado à ambientes aquáticos. As plantas são mantidas em sistemas hidropônicos, associadas a vários tipos de microorganismos, através dos quais a água contaminada pelo herbicida passa através da zona radicular, podendo ser absorvido pelas raízes, que por sua vez concentram ou degradam o produto.

De acordo com Pires e colaboradores (2005), os principais mecanismos atuantes na fitorremediação de herbicidas em solos são a fitoestimulação e, em menor escala, a fitodegradação. Isso porque os herbicidas possuem, de uma forma geral, a característica intrínseca de serem biodegradados no solo e ainda, de serem absorvido e terem mobilidade na planta, sendo essas características requisitos básicos para a realização da fitoestimulação e da fitodegradação, respectivamente (LAMEGO e VIDAL, 2007). A não necessidade de remoção da planta após a realização da remediação apresenta-se como uma vantagem desses mecanismos biológicos de fitorremediação para herbicidas, possibilitando a utilização dessas plantas para a formação de palhada nos sistemas de cultivo.

Logo, após conhecer com profundidade as características físico-químicas do solo e do herbicida, torna-se necessário a seleção das espécies fitorremediadoras (PROCÓPIO et al., 2005). A seleção de espécies vegetais para a remediação de herbicidas tem limitações mais

complexas comparativamente a programas que visam a descontaminação de compostos inorgânicos, em razão da diversidade molecular apresentada pelos herbicidas, da complexidade de análise e das constantes transformações a que estão sujeitos. Assim, as pesquisas com compostos orgânicos contaminantes de solo exigem técnicas especializadas e de custo elevado, envolvendo o uso de elementos radiomarcados e sofisticada instrumentação analítica (PIRES et al., 2003). Além disso, os herbicidas são desenvolvidos como agente controlador do próprio descontaminante, no caso, as plantas (SANTOS et al., 2006). Por isso, a seleção de plantas para remediação de herbicidas exige, normalmente, que seja avaliado inicialmente um número elevado de espécies.

Como nem todas as espécies vegetais desenvolvem-se em ambiente contaminados com herbicidas, o primeiro passo para a identificação das espécies fitorremediadoras é a seleção de espécies tolerantes ao herbicida residual (MARQUES et al., 2011). A tolerância de determinadas espécies fitorremediadoras reside na seletividade, natural ou desenvolvida, que algumas espécies exibem a determinados tipos de compostos ou mecanismos de ação (PIRES et al., 2003). A seletividade deve-se ao fato de que os compostos podem ser translocados para outros tecidos da planta e, posteriormente, serem volatilizados; podem ainda sofrer parcial ou completa degradação ou ser transformados em compostos menos tóxicos, especialmente menos fitotóxicos, combinados e/ou ligados a tecidos das plantas (compartimentalização) (ACCIOLY e SIQUEIRA, 2000; SCRAMIN et al., 2001). Entretanto, a seletividade é apenas o primeiro passo para se identificar espécies fitorremediadoras, devendo-se comprovar se elas efetivamente diminuem os níveis do contaminante, ou simplesmente o toleram (PIRES et al., 2006).

Apesar da fitorremediação remover efetivamente os contaminantes do solo, em muitos casos os mecanismos biológicos envolvidos na remoção, imobilização e degradação do herbicida permanecem largamente desconhecidos. Para aumentar a eficiência da técnica de fitorremediação de herbicidas, é necessária uma maior elucidação dos processos biológicos envolvidos. Estes incluem interações entre plantas e micro-organismos na rizosfera, absorção pelas plantas, mecanismos de translocação, mecanismos de tolerância (compartimentalização e metabolização) e a bioquímica das plantas envolvidas no armazenamento e transporte (PILON-SMITH, 2005).

Para que seja possível a planta, e seus micro-organismos associados, realizarem a remediação de um solo com resíduo de herbicida, o mesmo deve estar na solução do solo e assim, biodisponível. Estando na solução do solo, o herbicida poderá ser remediado na rizosfera, poderá ser adsorvido à raiz ou ser absorvido pela planta e posteriormente ser translocado, compartimentalizado, volatilizado e/ou degradado.

A rizosfera compreende uma estreita camada de solo ao redor da raiz, de aproximadamente 1 mm, influenciada pela atividade do sistema radicular e que as características físico-químicas e biológicas diferem do restante do solo (FAGERIA e STONE, 2006). As plantas liberam através das raízes uma variedade de compostos orgânicos derivados da fotossíntese que servem como fonte de carbono e nitrogênio para os micro-organismos do solo (SALT et al., 1998). Como resultado, a densidade da microbiota na rizosfera é de 1 à 4 vezes maior que no restante do solo (KAPULNIK, 1996). Porém, a composição química e a taxa de exsudação radicular irá diferir consideravelmente entre as espécies vegetais.

Os herbicidas podem ser fitoestabilizados na rizosfera de forma passiva, através da prevenção de erosão, através do controle hidráulico realizado pelas raízes e através da adsorção do contaminante à superfície da raiz, impedindo a mobilidade das moléculas de herbicidas (PILON-SMITH, 2005). A hemicelulose presente na parede celular ea bicamada lipídica das membranas das raízes podem se ligar eficazmente às substâncias orgânicas hidrofóbicas, podendo ser desorvida no futuro. A adsorção dessas substâncias aos grupos de lignina presentes na parede celular é denominada de lignificação (DIETZ e SCHNOOR, 2001).

Porém, a tendência das substâncias hidrofóbicas se ligarem à superfície da raiz (partição hidrofóbica) não é o único mecanismo que governa a adsorção dos compostos orgânicos à superfície radicular. A sorção específica em sítios químicos e transformações enzimáticas por proteínas ligadas à membrana são outros mecanismos de potencial importância (DIETZ e SCHNOOR, 2001). Alguns contaminantes são transformados rapidamente na superfície da raiz por enzimas extracelulares ou por enzimas ligadas à membrana. As aminas (-NH₂) e grupos funcionais hidroxil (-OH), ambos presentes nos metabólitos formados na degradação do diclosulam, são transformados enzimaticamente (YODER et al, 2000). Estes compostos e os seus metabólitos (especialmente a anilina) ligam-se irreversivelmente às raízes e são quimicamente transformados (HUGHES et al., 1997; LANG, 1998).

A remediação na rizosfera também pode ser realizada através de processos ativos realizados pelas plantas e/ou micro-organismos que irão afetar a biodisponibilidade do contaminante. A solubilidade em água dos poluentes hidrofóbicos pode ser aumentada através da ação de biosurfactantes liberados por algumas bactérias (*rhamnolipidis*), de exsudatos e lisatos liberados pelas plantas que contêm compostos lipofílicos e ainda, por enzimas liberadas pelas plantas e/ou micro-organismos (SICILIANO e GERMIDA, 1998; VOLKERING et al., 1998; WOLFE e HOEHAMER, 2003). Dessa forma, os contaminantes orgânicos podem ser degradados na rizosfera através da liberação radicular de enzimas da planta (lacases, desalogenases, nitroreduases, nitrilases e peroxidases) ou através da fitoestimulação da degradação microbiana (SCHNOOR et al., 1995). A fitoestimulação pode ocorrer através do aumento da densidade microbiana promovido pelo fornecimento de carbono e nitrogênio proveniente dos exsudatos radiculares, ou através da liberação de metabólitos secundários pelas raízes que podem induzir genes específicos microbianos envolvidos na degradação do composto orgânico ou ainda, esses metabólitos podem atuar como um co-metabólito para facilitar a degradação microbiana (PILON-SMITH, 2005).

Os herbicidas são xenobióticos para as plantas. Dessa forma, não existem transportadores na membrana plasmática das células vegetais que realizem o transporte desse xenobiótico para o interior da raiz. O transporte de herbicidas através da parede celular e membrana das raízes das plantas ocorre por difusão (absorção passiva) (PILON-SMITH, 2005). Diante disso, existe uma hidrofobicidade ideal, que não seja baixa o bastante para impedir o herbicida a passar na bicamada lipídica da membrana, e que não seja alto o bastante que levará a adsorção do herbicida à superfície da raiz impossibilitando a absorção. Essa hidrofobicidade ideal compreende valores de log K_{ow} que variam de 0,5 a 3,5. Herbicidas com log K_{ow} maior que 3,5 são propensos a fitoestabilização e/ou rizodegradação devido sua característica de permanecer longo tempo na rizosfera (DIETZ e SCHNOOR, 2001, TRAPP e MCFARLANE, 1995).

De acordo com Burken e Schnoor (1997), além da biodisponibilidade do herbicida na solução do solo, a taxa de absorção de compostos químicos pela planta através de suas raízes irá depender também da eficiência característica de cada espécie de planta e de sua taxa de transpiração.

Para que o herbicida seja translocado da raiz para a parte aérea da planta é necessário que ele seja transportado do apoplasto para o xilema da raiz. Para isso, o mesmo deve passar pelas estrias de Caspary por difusão, e então, serem transportados por via simplástica até os elementos condutores do cilindro central (PILON-SMITH, 2005; LARCHER, 2004).

Dessa forma, a eficiência que uma planta apresenta em absorver um herbicida através de sua raiz é dada pela razão entre a concentração do herbicida no fluido do xilema e a sua concentração na solução do solo, e é uma medida de captação do herbicida direcionado para a parte aérea da planta (TRAPP e MCFARLANE, 1995).

Uma vez que o herbicida é absorvido e translocado na planta, ele passará por uma ou mais fases de degradação, sendo elas (DIETZ e SCHNOOR, 2001):

- Fase I → Conversão: oxidação, redução, hidrólise;
- Fase II → Conjugação: com a glutathione, açúcares ou aminoácidos;
- Fase III → Compartimentalização: os conjugados da fase II são convertidos à outros conjugados e depositados no vacúolo das plantas ou ligados à parede celular e/ou à lignina.

Essa sequência de eventos que ocorrem na fitodegradação (Figura 4), dividida didaticamente em três fases, têm sido apelidado de "modelo de fígado verde" devido à sua semelhança com os mecanismos de detoxificação dos mamíferos (SANDERMANN, 1994; BURKEN, 2003).

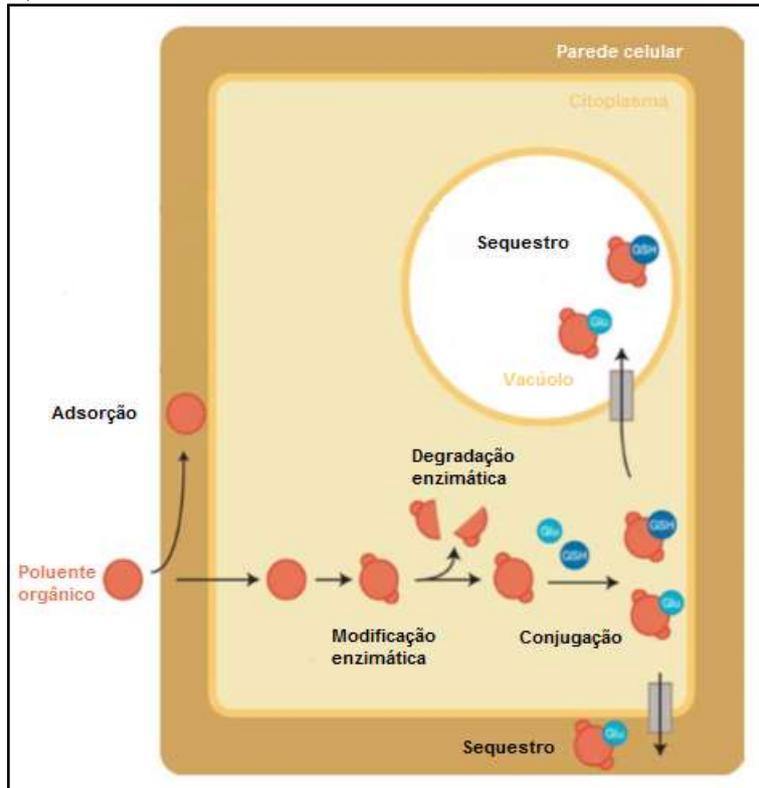


Figura 4. Mecanismo de tolerância em célula de planta para poluentes orgânicos. **Fonte:** Adaptado de Pilon-Smith (2005).

Após atravessar por difusão a membrana que separa o xilema da planta das células de sua folha, o herbicida precisa ser conjugado. Porém, para que isso ocorra, ele precisa sofrer uma modificação química, denominada de fitodegradação, para criar grupos laterais passíveis de conjugação (PILON-SMITH, 2005). A fitodegradação tem sido estudada principalmente com pesticidas em plantas cultivadas (DIETZ e SCHNOOR, 2001).

Os herbicidas sofrem uma série de processos metabólicos ao entrar na célula da folha. A primeira fase introduz grupos funcionais tais como -OH, -NH₂ ou -SH e pode ocorrer por oxidação, redução ou hidrólise (DIETZ e SCHNOOR, 2001). O citocromo P450 monooxigenase, por exemplo, catalisa uma transformação oxidativa incorporando um átomo de oxigênio em uma molécula orgânica, como no atrazine para criar o grupamento lateral hidroxila (COLEMAN, 1997). Nas plantas, a maioria dos P450s são ligados ao retículo endoplasmático (CHRISPEELS, 1980). Outras enzimas que catalisam transformações de poluentes orgânicos na planta são: nitroredutase (degradação de nitroaromáticos), desalogenases (degradação de solventes clorados e pesticidas) e lacases (degradação de anilinas), peroxidase, peroxigenase e carboxilesterase (MILLER, 1982; MCCUTCHEON et al., 2003).

Após a conversão, os herbicidas são conjugados a uma Glutathione reduzida (GSH). Um grande número de enzimas GSTs (GSH-S-transferases) com diferentes substratos específicos

catalisam a conjugação do poluente orgânico com o GSH no citosol (HATTON et al., 1996; NEUEFEIN et al., 1997). As conjugações de pesticidas com a GSH geralmente são menos tóxicas e mais solúveis em água que a própria molécula original do pesticida (FOYER et al., 2001).

A GST é transportada ativamente para o vacúolo ou para o apoplasto da planta através de bombas da membrana dependentes de ATP, denominadas de *ATP-binding cassette* (ABC) (MARTINOIA et al., 1993, SANDERMANN, 1994; PEUKE e REINNENBERG, 2015). Assim como com a GSH, o herbicida também pode ser conjugado e transportado ativamente pela ABC ao vacúolo ou ao apoplasto através da conjugação com a glicose ou com grupos malonil. Essas conjugações são catalisadas pelas enzimas glicosiltransferase e malonil-transferase (BURKEN, 2003).

De acordo com Pilon-Smith (2005), o poluente é compartimentalizado em locais da planta em que ele causa menos danos aos processos celulares essenciais. A nível celular, os contaminantes são acumulados no vacúolo ou na parede celular (BURKEN, 2003). A nível de tecido, eles podem ser acumulados na epiderme e nos tricomas (HALE et al., 2001).

Na Figura 5 verifica-se uma sequência potencial de reação e ligação de xenobióticos que podem ocorrer dentro das células.

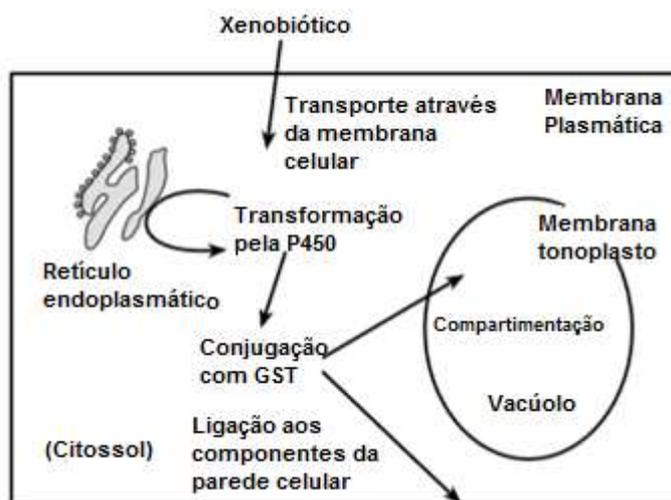


Figura 5. Transporte e processos metabólicos de poluente orgânico na célula vegetal. **Fonte:** Dietz e Schnoor (2001).

Em se tratando da degradação realizada após a compartimentalização pelas plantas através da fitorremediação, apenas os poluentes orgânicos podem passar por esse processo (PILON-SMITH, 2005). Na fitodegradação enzimas específicas presentes nas plantas agem sobre os contaminantes orgânicos já armazenados e os degradam, seja mineralizando-os completamente em compostos inorgânicos ou degradando-os parcialmente em metabólitos intermediários que serão armazenados na planta (MCCUTCHEON e SCHNOOR, 2003). Essa degradação enzimática pode ocorrer tanto na raiz quanto na parte aérea da planta. Contudo, a degradação nos tecidos das plantas geralmente é atribuída às plantas, mas em alguns casos ela pode envolver micro-organismos endofíticos (BARAC et al., 2004).

A fitodegradação envolve as mesmas enzimas responsáveis pela acumulação de compostos orgânicos no tecido da planta. As enzimas que alteram os grupamentos laterais das moléculas orgânicas para aumentar sua solubilidade e possibilitar a sua conjugação também irão agir nas primeiras etapas de fitodegradação. Também, se os poluentes não forem completamente degradados, seus metabólitos serão armazenados na planta através dos mesmos mecanismos de compartimentalização descritos anteriormente (PILON-SMITH, 2005).

Esses produtos da degradação de herbicidas que são compartimentalizados no vacúolo ou nos tecidos das plantas são denominados de resíduos ligados devido sua incapacidade de serem extraídos por métodos químicos. No entanto, uma preocupação é se sob condições diferentes, tal como no intestino de um verme ou herbívoro, pode haver lignases ou outras enzimas capazes de separar ligações covalentes e libertar o composto original, ou o conjugado tóxico, do resíduo ligado (DIETZ e SCHNOOR, 2001).

Apesar de haverem diversos estudos sobre fitorremediação, grande parte deles consiste na identificação de tolerância das espécies vegetais à herbicidas residuais. São escassos os estudos que elucidam o mecanismo de tolerância e o mecanismo biológico de fitorremediação empregado pela planta. Diante do exposto, a utilização de plantas com a capacidade de tolerar e, concomitantemente, extrair e/ou degradar determinados herbicidas, representa uma alternativa promissora para a resolução de problemas atuais da agricultura. Entretanto, os resultados obtidos até agora são ainda incipientes para apontamentos seguros quanto à utilização de plantas na remediação de herbicidas (ASSIS et al., 2010). Informações como o mecanismo biológico de fitorremediação empregado pela planta, densidade populacional ideal, tempo de cultivo necessário para satisfatória descontaminação do solo, comportamento fitorremediador sob condições edafoclimáticas diversas e realização de trabalhos em campo são fundamentais para a recomendação segura dessa prática (SOUTO, 2011).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Para o desenvolvimento do projeto foram executados três experimentos distintos, o primeiro para a seleção de espécies vegetais tolerantes ao diclosulam (EI), o segundo para avaliar a eficiência das espécies vegetais na remediação do solo com resíduo do herbicida estudado utilizando plantas bioindicadoras (EII) e o terceiro para analisar a absorção e translocação do diclosulam nas plantas que apresentaram potencial para fitorremediar solos com resíduo do diclosulam (EIII).

3.1 Experimento I

Para a seleção de espécies vegetais que apresentem tolerância ao diclosulam, o experimento foi realizado em vasos em condição de campo, localizado em áreas da Estação Experimental da empresa Dow AgroScience, Mogi Mirim, SP. O período de condução do experimento foi de outubro à dezembro de 2015.

No experimento foram avaliadas seis espécies vegetais quanto à tolerância ao herbicida diclosulam, sendo elas: *Arachis pintoi* (amendoim forrageiro), *Brachiaria decumbens*, *Cajanus cajan* (feijão-guandu), *Canavalia ensiformis* (feijão-de-porco), *Brachiaria brizantha* e *Crotalaria juncea*. Essas espécies foram selecionadas de acordo com o conhecimento prévio de seus potenciais apresentados para fitorremediar outros herbicidas (BRAGA et al., 2016; MONQUERO et al., 2013; MADALÃO et al., 2012; PIRES et al., 2008).

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com quatro repetições. Os tratamentos foram compostos por quatro doses do herbicida (21; 42 (dose recomendada); 63 e 84 g ha⁻¹) e o controle (sem aplicação de herbicida). O solo utilizado foi classificado como Argilo-arenoso (SBCS), tipo 3 (IN SPA/MAPA 02/2008), proveniente de uma camada de 0-20 cm. As análises físico-químicas do solo foram realizadas previamente no Laboratório de Análise de Solo, Tecido Vegetal e Fertilizante do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa e estão representadas na Tabela 2.

Tabela 2. Atributos físicos e químicos do solo utilizado no experimento I¹.

Análise granulométrica (g kg ⁻¹)											
Areia grossa	Areia fina	Silte	Argila	Classe textural							
167	248	67	517	Argila arenosa (Tipo 3)							
Análise química											
pH	P	K	Ca ⁺²	Mg ⁺²	Al ⁺³	H+Al	SB	t	T	m	V
H ₂ O	—	mg dm ⁻³	—	cmol _o dm ⁻³				—		%	
5,7	20,5	188	2,12	0,9	0	3,2	3,5	3,5	6,7	0	52,2
P-Rem	MO										
mg L ⁻¹	dag kg ⁻¹										
29,2	2,97										

¹Análises realizadas nos Laboratórios de Análises Físicas e Químicas de Solo do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa, segundo a metodologia da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-EMBRAPA (1997).

Foram utilizados vasos com capacidade de 8 dm³ para a condução do experimento, em um total de 120 unidades experimentais. Os vasos foram preenchidos com o solo previamente peneirado e em seguida realizou-se a semeadura das espécies vegetais.

O herbicida diclosulam foi aplicado no solo contido nos vasos, em pré-emergência, um dia após a semeadura das espécies vegetais. Foram semeadas 5 sementes por vaso. Para a aplicação do herbicida foi utilizado um pulverizador costal pressurizado a CO₂, com barra munida de seis pontas tipo leque (110.015), proporcionando a aplicação de 150 L ha⁻¹ de calda

do herbicida. A umidade relativa do ar, medida no início da aplicação, a temperatura do ar, a velocidade do vento e a pressão de aplicação foram de 52%, 32 °C, 1,5 km h⁻¹ e 45 psi, respectivamente. Os vasos foram irrigados periodicamente de acordo com a necessidade das plantas.

Aos 15, 30 e 45 dias após a semeadura foram realizadas as avaliações da cinética de emissão da fluorescência transiente da clorofila *a*. E aos 45 dias após semeadura foi feita a coleta do experimento para a realização das avaliações destrutivas, sendo elas: altura de lantãs, massa seca da parte aérea (MSA) e massa seca da raiz (MSR), conforme descrito no tópico 3.5.

3.2 Experimento II

Para avaliar a eficiência das espécies vegetais na remediação do solo com resíduo do diclosulam utilizando plantas bioindicadoras foi realizado um experimento em delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições, em esquema fatorial 4x5. As espécies vegetais que apresentaram maior tolerância ao herbicida diclosulam no Experimento I e que, portanto, foram avaliadas nesse experimento foram: *Arachis pintoi*, *Canavalia ensiformes*, *Cajanus cajan* e *Crotalaria juncea*. Os tratamentos foram compostos por quatro doses do herbicida diclosulam (21; 42; 63 e 84 g ha⁻¹) mais o controle (sem aplicação) e pelas espécies vegetais.

O experimento foi realizado em vasos em condição de campo, localizado no Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. O período de condução do experimento foi de maio à agosto de 2016.

Foram utilizados vasos com capacidade de 5 dm³, totalizando 80 unidades experimentais. Os vasos foram preenchidos com o solo previamente peneirado e em seguida realizou-se a semeadura das espécies vegetais. O solo utilizado foi classificado como Franco Argilo-Arenoso (SBCS), tipo 2 (IN SPA/MAPA 02/2008). As análises físico-químicas do solo foram realizadas previamente no Laboratório de Análise de Solo, Tecido Vegetal e Fertilizante do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa e estão representadas na Tabela 3.

Tabela 3. Atributos físicos e químicos do solo utilizado no experimento II¹.

Análise granulométrica (g kg ⁻¹)											
Areia grossa	Areia fina	Silte	Argila				Classe textural				
0,457	0,181	0,075	0,286				Franco argilo arenoso (Tipo 2)				
Análise química											
pH	P	K	Ca ⁺²	Mg ⁺²	Al ⁺³	H+Al	SB	t	T	m	V
H ₂ O	—	mg dm ⁻³	—	cmol _o dm ⁻³				—		%	
6,29	105,1	293	4,89	2,31	0	1,1	7,95	7,95	9,05	0	87,8
P-Rem	MO										
mg L ⁻¹	dag kg ⁻¹										
42	5,76										

¹Análises realizadas nos Laboratórios de Análises Físicas e Químicas de Solo do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa, segundo a metodologia da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-EMBRAPA (1997).

O herbicida diclosulam foi aplicado no solo contido nos vasos, em pré-emergência, após a semeadura das espécies vegetais (sistema plante-aplique). Para a aplicação do herbicida foi utilizado um pulverizador costal pressurizado a CO₂, com barra munida de quatro pontas tipo leque (110.015), proporcionando a aplicação de 150 L ha⁻¹ de calda do herbicida. A umidade relativa do ar, medida no início da aplicação, a temperatura do ar, a velocidade do vento e a pressão de aplicação foram de 74,4 %, 26°C, 1,6 km h⁻¹ e 45 psi, respectivamente. Os vasos foram irrigados periodicamente de acordo com a necessidade das plantas. Foram semeadas 4

sementes por vaso e após a germinação das plantas, efetuou-se desbaste, deixando-se duas plantas por vaso.

Aos 60 dias após sementeira (período máximo de cultivo de um adubo verde na entressafra) foi feita a coleta das plantas. As espécies vegetais foram cortadas na altura do coleto, não tendo sido efetuada a retirada das raízes do solo.

Após a coleta, foi realizada a sementeira da espécie bioindicadora pepino (*Cucumis sativus*) com o intuito de avaliar a capacidade fitorremediadora das espécies anteriormente cultivadas no solo com resíduo do diclosulam. Após a emergência das plantas bioindicadoras, efetuou-se o desbaste, deixando-se três plantas por vaso.

Aos 15 e 30 dias após a sementeira foram realizadas as avaliações da cinética de emissão da fluorescência transiente da clorofila *a* das espécies bioindicadoras. E aos 30 dias após sementeira foram feitas as avaliações de altura de plantas, massa seca da parte aérea (MSA) e massa seca de raiz (MSR).

3.3 Experimento III

Para avaliar a absorção e translocação do herbicida diclosulam nas plantas que apresentaram potencial para fitorremediar solos com resíduo do diclosulam foi realizado um experimento em casa de vegetação no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) junto à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP) durante o mês de março de 2016.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental de blocos casualizados, em esquema fatorial 3x2x2, com três repetições. Os tratamentos foram compostos pela combinação entre as espécies vegetais *Cajanus cajan* (Feijão Guandu), *Crotalaria juncea* e um tratamento controle (sem cultivo prévio) – FATOR A; pelas doses do herbicida diclosulam de 42 g ha⁻¹ e o controle (sem aplicação) – FATOR B e pelos tempos de avaliação de 7 e 14 dias após a germinação – FATOR C. As unidades experimentais totalizaram 36 vasos com capacidade de 1 dm³.

A dose de 42 g ha⁻¹ analisada representa a dose máxima de aplicação recomendada pela bula do produto comercial, sendo utilizado adicionalmente ao produto comercial o herbicida diclosulam com o carbono radiomarcado (herbicida radiomarcado com ¹⁴C).

O solo utilizado foi classificado como Argilo-arenoso (SBCS), tipo 3 (IN SPA/MAPA 02/2008). As análises físico-químicas do solo foram realizadas previamente no Laboratório de Análise de Solo, Tecido Vegetal e Fertilizante do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa e estão representadas na Tabela 4.

Tabela 4. Atributos físicos e químicos do solo utilizado no experimento III¹.

Análise granulométrica (g kg ⁻¹)													
Areia grossa	Areia fina	Silte	Argila	Classe textural									
0,186	0,214	0,07	0,53	Argila arenosa (Tipo 3)									
Análise química													
pH	P	K	Ca ⁺²	Mg ⁺²	Al ⁺³	H+Al	SB	t	T	m	V		
H ₂ O	—	mg dm ⁻³	—	cmol _o dm ⁻³								—	—
4,78	1,2	84	1,08	0,5	0,39	4,8	1,8	2,19	6,6	17,8	27,3		
P-Rem								MO					
mg L ⁻¹								dag kg ⁻¹					
18,2								3,33					

¹Análises realizadas nos Laboratórios de Análises Físicas e Químicas de Solo do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa, segundo a metodologia da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-EMBRAPA (1997).

De acordo com a metodologia definida por Nandula e Vencill (2015), inicialmente foi realizado o preparo da solução do herbicida diclosulam radiomarcado. Para isso, misturou-se em água destilada a quantidade recomendada por bula do herbicida frio (não radiomarcado) para atingir a dose de 42 g ha^{-1} , com a quantidade do herbicida radiomarcado necessária para a detecção posterior da radiação, sendo atingido uma radioatividade final na solução de trabalho de $4\,489\,333 \text{ dpm}$. A radiopureza do ^{14}C -diclosulam foi $> 99\%$.

Anteriormente à aplicação do herbicida radiomarcado, o solo foi peneirado, seco em estufa à 40°C por 24 horas e moído em moinho. O herbicida foi então aplicado ao solo utilizando-se uma pipeta e homogeneizado utilizando-se uma batedeira.

Cada vaso foi constituído por duas camadas de solo. A camada inferior de solo era composta por 500g de solo frio (sem herbicida) previamente peneirado em peneira de 2 mm de espessura e umedecido com 150 ml de água deionizada. E a camada superior de solo era constituída por 30g do solo que recebeu a aplicação do herbicida radiomarcado. As sementes ficaram localizadas entre essas duas camadas de solo, sendo cultivadas 4 sementes por vaso. Após a semeadura e adição da camada superior de solo, foi adicionado volume de água suficiente para que o solo atingisse sua capacidade de campo, permitindo assim uma distribuição homogênea do herbicida em toda a unidade experimental. Os vasos foram posicionados na casa de vegetação sobre bandejas para evitar uma possível contaminação do ambiente, e foram mantidos sob irrigação diária, a fim de se conservar a umidade do solo em torno de 80% da capacidade de campo.

No 7º e 14º dia após a germinação das espécies vegetais foram realizadas as coletas para análises. Foram realizados dois tipos de análises, a absorção e translocação do diclosulam pelas espécies vegetais qualitativamente através da autorradiografia e quantitativamente através da oxidação do tecido das plantas e balanço de massa.

3.3.1 Análise qualitativa: Autorradiografia

A autorradiografia consiste no desenvolvimento de imagens, sobre um filme de raio-x revestido com um material especial como o Fluoro-haleto de Bário (BaFX), de padrão bidimensional de emissão de raios beta (^{14}C , ^3H) ou gama (^{32}P) produzidos pelo decaimento dos compostos radioativos (NANDULA e VENCILL; 2015). Portanto, para a realização da autorradiografia das plantas, inicialmente, durante a coleta, as plantas foram removidas dos vasos com o auxílio de um pisset para remover o solo de suas raízes (Figura 6A). Em seguida, elas foram lavadas, prensadas e secas em estufa de circulação forçada de ar à 40°C , até atingirem massa constante.

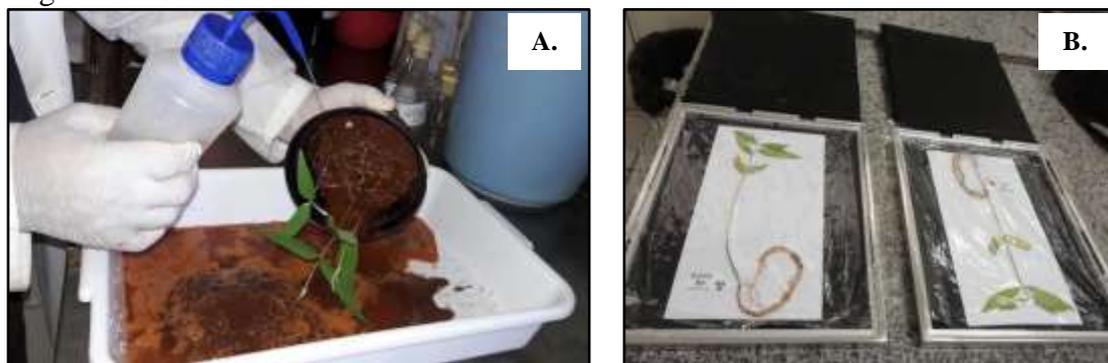


Figura 6. Coleta das plantas (A); Preparo do filme de raio-x (B).

Depois de secas, cada planta foi autorradiografada seguindo o protocolo estabelecido por Crafts e Yamaguchi (1964), no qual as plantas foram colocadas em contato o filme de raio-x (Figura 6B) e, em seguida, esse filme foi analisado em um detector autorradiográfico (Cyclone Plus Storage Phosphor System da PerkinElmer com o programa OptiQuant™).

3.3.2 *Análise quantitativa: Oxidação e balanço de massa*

O balanço de massa corresponde a soma da radioatividade medida nas partes das plantas (folha, caule e raiz), na água de lavagem e no solo, em relação a radioatividade total aplicada. Ela é expressa em percentual de recuperação e ajuda a contabilizar as perdas através da volatilização, exsudação radicular e técnicas experimentais (NANDULA e VENCILL; 2015).

Para quantificar o total de herbicida que não foi absorvido pelas espécies vegetais, a água e o solo que restaram após a coleta das plantas foram analisados. A água de lavagem foi colocada de repouso em uma proveta para decantar a parte sólida, que foi removida e acrescida à porção de solo. A fração líquida da água de lavagem foi centrifugada na centrífuga JS-HS BECKMAN a 4000 rpm por 10 minutos, o precipitado foi removido e adicionado à porção de solo e o sobrenadante foi transferido para a proveta onde foi anotado o volume total. Do volume total de sobrenadante foi retirado uma alíquota de 10 ml e adicionado no frasco de cintilação juntamente com 10 ml da solução cintiladora Insta-gel da Packard Instruments Company Inc. A quantificação foi realizada em um espectrômetro de cintilação líquida do tipo Liquid Scintillation Analyzer 1600 TR da Packard Instruments Company Inc.

A porção de solo foi seca à temperatura ambiente e moída. Três replicatas de 0,2 g foram retiradas de cada amostra de solo e queimadas no oxidador biológico OX 500 para quantificar o herbicida remanescente. Na oxidação biológica, as amostras foram queimadas por 3 minutos na presença de oxigênio, resultando em $^{14}\text{CO}_2$ que é capturado por uma solução cintiladora acrescida de etanolamida (solução fixadora de CO_2). A radioatividade da solução cintiladora foi quantificada no espectrômetro de cintilação líquida do tipo Liquid Scintillation Analyzer 1600 TR da Packard Instruments Company Inc.

Depois de secas e autorradiografadas, as plantas foram divididas em grupos de folhas, caule e raiz com o objetivo de quantificar a radioatividade presente em cada grupo. Cada grupo das plantas foram previamente pesados e, posteriormente, queimadas no oxidador biológico OX 500. Semelhantemente ao procedimento para quantificar a radiação presente no solo, a solução cintiladora resultante da combustão das plantas foi quantificada no espectrômetro de cintilação líquida do tipo Liquid Scintillation Analyzer 1600 TR da Packard Instruments Company Inc. A radioatividade presente em toda a planta foi considerada a que foi absorvida. E a radioatividade presente em cada parte da planta (folha, caule ou raiz) em comparação com a radiação total absorvida foi considerada a radiação translocada.

Nos tratamentos que não receberam aplicação de herbicida foram analisadas apenas uma amostra de solo e uma planta por vaso.

3.4 **Determinações**

Nos experimentos EI e EII foram avaliadas as variáveis-resposta: cinética de emissão da fluorescência transiente da clorofila *a*, altura de planta, massa seca da parte aérea (MSA) e massa seca de raiz (MSR).

-Avaliação da cinética de emissão da fluorescência transiente da clorofila a (O-J-I-P)

A fluorescência transiente da clorofila *a* foi medida utilizando-se um fluorômetro portátil (HandyPEA, Hanstech, King's Lynn, Norfolk, UK). Os cliques utilizados para estas medições foram colocados no terço médio de folhas jovens completamente expandidas, no período da manhã, e as medições foram realizadas 20 minutos após a adaptação das folhas ao escuro. A emissão de fluorescência é induzida em uma área de 4mm de diâmetro da folha pela exposição da amostra a um pulso de luz saturante numa intensidade de $3.000\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, sendo o intervalo entre os pulsos de 500ms. A partir da curva de emissão de fluorescência transiente obtida, as intensidades determinadas a 50 μs (fluorescência inicial - F0), 100, 300 μs , 2 (FJ) e 30 (FI) ms e

FM (fluorescência máxima), foram utilizadas para o cálculo dos parâmetros estabelecidos pelo Teste JIP (STRASSER e STRASSER, 1995) (Tabela 5).

Tabela 5. Principais parâmetros do Teste JIP (Adaptada de: STRASSER et al., 2004 e YUSUF et al., 2010).

Parâmetros de fluorescência calculados a partir dos dados primários obtidos	
$F_V = F_M - F_0$	Fluorescência variável
F_V/F_M	Rendimento quântico máximo do FSII
V_t	Fluorescência variável relativa em um tempo "t"
V_j	Fluorescência variável relativa em relação ao nível J
V_i	Fluorescência variável relativa em relação ao nível I
$M_0 = 4(F_{300\mu s} - F_0)/(F_M - F_0)$	Declive inicial aproximado (em ms^{-1}) da fluorescência transiente $V = f(t)$
$S_s = V_j/M_0$	Área total normalizada complementar correspondente apenas a fase OJ (reflete um único volume de eventos de redução de Q_A)
$S_m = (Area)/(F_M - F_0)$	Área total normalizada complementar acima da curva OJIP (reflete múltiplos eventos de redução Q_A)
$N = S_m/S_s$	Número total de elétrons transferidos para a cadeia de transporte de elétrons entre o tempo de 0 e (necessário para atingir F_M)
Atividade específica por centro de reação (RC)	
$ABS/RC = M_0 (1/V_j) (1/\phi P_0)$	Medida do tamanho aparente do sistema antena ou o fluxo de absorção por RC
$TR_0/RC = M_0 (1/V_j)$	Máxima taxa pela qual um éxciton é capturado pelo RC resultando em uma redução da plastoquinona (Q_A^-)
$ET_0/RC = M_0 (1/V_j) \Psi_0$	Reoxidação da Q_A^- via transporte de elétrons em um RC ativo
$DI_0/RC = (ABS/RC) - (TR_0/RC)$	Razão de dissipação total de energia de excitação não capturada do total de RC, sendo a dissipação neste caso à perda de energia na forma de calor
RE_0/RC	Redução do acceptor final de elétrons no lado do acceptor de elétrons do FSI por RC
Rendimentos energéticos ou taxas de fluxo	
$\phi P_0 = TR_0/ABS = F_V/F_M$	Rendimento quântico máximo fotoquímico
$\phi E_0 = ET_0/ABS$	Rendimento quântico de transporte de elétrons de Q_A^- para o intersistema de aceptores de elétrons
$\phi D_0 = 1 - \phi P_0 = (F_0/F_M)$	Rendimento quântico para dissipação de energia
$\phi R_0 = RE_0/ABS$	Rendimento quântico de transporte de elétrons de Q_A^- para o acceptor final de elétrons do FSI
Eficiências	
$\psi E_0 = ET_0/TR_0$	Eficiência com que um éxciton capturado no RC pode mover um elétron de Q_A^- para o intersistema de aceptores de elétrons
$\rho_0 = RE_0/TR_0$	Eficiência com que um éxciton capturado no RC pode mover um elétron dentro da cadeia de transporte de elétrons de Q_A^- para os aceptores finais de elétrons do FSI
$\delta R_0 = RE_0/ET_0$	Eficiência com que um elétron pode mover o intersistema de aceptores de elétrons reduzidos no intersistema para o acceptor final de elétrons do FSI
Índices de desempenho	
$PI_{ABS} = \frac{RC}{ABS} B \left(\frac{\phi P_0}{10S\phi P_0} \right) OSi \left(\frac{\Psi_0}{10\Psi_0} \right) = \frac{RC}{ABS} B \frac{TR_0}{DI_0} \times \frac{ET_0}{1TSET_0}$	Índice de desempenho fotossintético (conservação de energia a partir do éxciton para a redução dos aceptores de elétrons do intersistema)
$PI_{total} = PI_{ABS} BS \frac{\delta_0}{1B\delta_0}$	Índice de desempenho fotossintético total (conservação de energia a partir do éxciton para a redução de aceptores finais do FSI)

A avaliação da cinética de emissão da fluorescência transiente da clorofila *a* é uma ferramenta altamente sensível e não-invasiva para a medição de eficiência fotossintética. Esta técnica permite avaliar a vitalidade de plantas em condições ambientais desfavoráveis. O estresse a que uma planta é submetida, direta ou indiretamente, afeta o metabolismo fotossintético que, conseqüentemente, irá alterar o rendimento da fluorescência da clorofila *a* (BAKER, 2008; GOVINDJEE, 2011; KALAJI et al., 2014).

A análise da emissão de fluorescência transiente da clorofila *a*, forneceu informações sobre a intensidade e a cinética de cada fase das curvas OJIP. Alterações de fluorescência durante a parte rápida do transiente (isto é, até quando o rendimento da fluorescência atinge o pico P) podem ser correlacionadas com os eventos que ocorrem na cadeia de transporte de elétrons fotossintética (PAPAGEORGIOU; GOVINDJEE, 2004). Dessa forma, todos os transientes foram normalizados entre os passos O e P, a fim de revelar alterações mais específicas na forma destes entre os dois extremos. Posteriormente, a fluorescência transiente da clorofila *a* foi utilizada para derivar diversos parâmetros (Tabela 2) estabelecidos pelo Teste-JIP (STRASSER; STRASSER, 1995). A cuidadosa interpretação dos parâmetros medidos e calculados a partir deste teste fornece numerosas informações dos fluxos de energia através do FSII em diferentes níveis (STRASSER et al., 2004).

- *Altura de planta (AP), Massa seca da parte aérea (MSA) e Massa seca de raiz (MSR)*

Para a obtenção da altura de plantas, mediu-se a distância entre a superfície do solo e o ápice da folha mais jovem. Em seguida, separou-se a parte aérea da raiz das plantas. Para determinar a massa de matéria seca da parte aérea e das raízes das espécies, as raízes foram lavadas e o material vegetal foi seco em estufa com circulação forçada de ar (50 ± 5 °C) até atingir massa constante. Posteriormente o material foi pesado em balança analítica.

3.5 Estatística

Os dados gerados nos experimentos foram submetidos à análise da variância ($p \leq 0,05$); e sendo significativos, estes foram comparados pelo teste de Tukey a 5% ou testados por modelos de regressão polinomial (MACHADO e CONCEIÇÃO, 2007). A escolha dos modelos foi baseada na significância estatística (teste F), no ajuste do coeficiente de determinação (R^2) e no significado biológico do modelo.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Experimento I

A possibilidade de uma planta ser fitorremediadora depende do tipo de herbicida à que ela está submetida, devendo ser testadas várias espécies de plantas para que seja detectado um pequeno grupo de espécies que apresentem tolerância ao herbicida testado (CUNNINGHAM et al., 1996).

A espécie *A. pintoii* não apresentou diferença estatística significativa nos seus valores de massa seca da parte aérea (MSA), massa seca de raiz (MSR) e altura de plantas (AP) quando submetida em até o dobro da dose máxima recomendada por bula (84 g ha⁻¹), avaliada aos 45 dias após a semeadura (DAS), conforme demonstrado na Tabela 6.

Tabela 6. Massa seca da parte aérea (MSA), massa seca das raízes (MSR) e altura de plantas (AP) da espécie *Arachis pintoii* sob doses do herbicida diclosulam.

Doses do diclosulam (g ha ⁻¹)	MSA (g)	MSR (g)	AP (cm)
0 (controle)	2,61 ^{NS}	0,67 ^{NS}	24,33 ^{NS}
21	2,50	0,82	24,33
42	2,46	0,87	27,19
63	2,41	0,77	26,19
84	2,35	0,69	24,62
C.V.	15,77	17,79	9,49

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade.

A curva OJIP e os valores da intensidade de fluorescência nos pontos O-J-I-P da *A. pintoii* obtidos aos 15 DAS (Figura 7A e Tabela 7, respectivamente) demonstram que no ponto P ocorre uma elevação significativa na intensidade de fluorescência nas doses de 21, 63 e 84 g ha⁻¹ quando comparadas com o controle. A dose de 42 g ha⁻¹ apresenta no ponto J uma redução na emissão da fluorescência em relação ao controle, porém nos pontos seguintes a emissão de fluorescência novamente iguala-se estatisticamente com o controle.

Na cinética de emissão da fluorescência transiente, a fase compreendida entre os pontos O e J, está relacionada com a redução fotoquímica da Quinona A (Q_A), sendo a sua cinética fortemente dependente da densidade de fluxo de luz (SCHANSKER et al., 2005). A fase entre os pontos O e I da cinética, revela mudanças no processo entre o éxciton capturado pelos CRs até a redução da Plastoquinona (YUSUF et al., 2010). Entre os pontos J e I, são refletidas principalmente as reduções dos transportadores de elétrons do intersistema da cadeia de transporte de elétrons, ou seja, conjunto de pastoquinonas, Cytb6f e PC, enquanto entre os pontos I e P são refletidas as reduções dos receptores de elétrons do lado aceptor do FSI, ou seja, ferredoxina (F_d), outros intermediários e NADP⁺ (SCHANSKER et al., 2005). Quanto chega ao final, no ponto F_M, todas as moléculas de Q_A são completamente reduzidas, devido à redução da cadeia de transporte de elétrons acíclica, como resultado de um atolamento de tráfego de elétrons no lado aceptor do FSI (SCHANSKER et al., 2005)

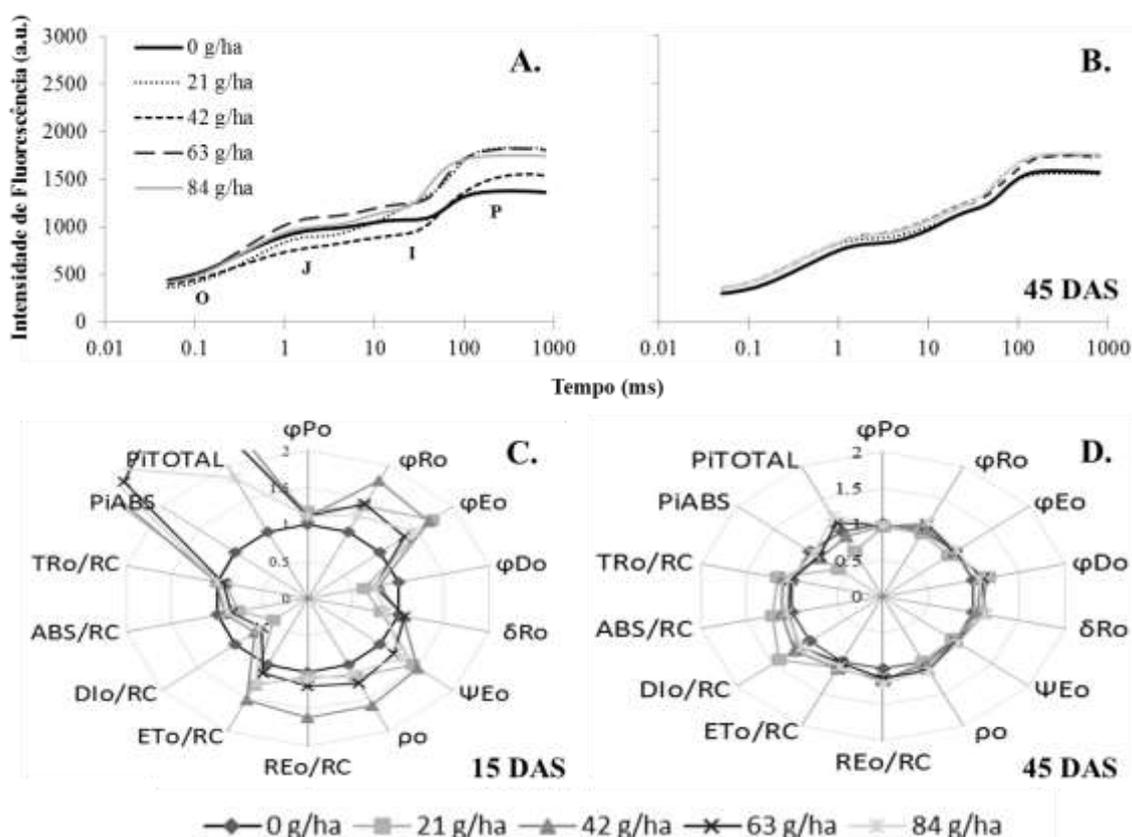


Figura 7. Intensidade de fluorescência da clorofila *a* obtida para a espécie *Arachis pintoi*, aos 15 DAS (A) e 45 DAS (B). Parâmetros do Teste JIP obtidos da mesma espécie submetida a diferentes doses do herbicida diclosulam, expresso em relação aos valores do tratamento controle (valor transformado para 1), aos 15 DAS (C) e aos 45 DAS (D).

Tabela 7. Intensidades de fluorescência da clorofila *a* nos passos O (Fo), J (FJ), I (FI) e P (FM) obtidas aos 15 e 45 DAS da espécie *A. pintoi* submetida as doses do herbicida diclosulam.

Dose (g _{ha} ⁻¹)	15 DAS				45 DAS			
	F _O	F _J	F _I	F _M	F _O	F _J	F _I	F _M
0	447 a	970 ab	1081 ab	1381 b	305 ^{NS}	820 ^{NS}	1175 ^{NS}	1588 ^{NS}
21	365 b	902 bc	1283 a	1841 a	353	875	1173	1567
42	400 ab	789 c	963 b	1564 ab	365	906	1276	1748
63	440 a	1098 a	1260 a	1826 a	368	918	1251	1751
84	422 ab	1002 ab	1280 a	1759 a	363	905	1253	1776
C.V	7,3	7,3	8,7	8,3	9,5	9,3	12,6	11,6

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade.

Tabela 8. Parâmetros da fluorescência transiente da clorofila *a* obtidos aos 15 DAS e 45 DAS da espécie *A. pintoi* submetida as doses do herbicida diclosulam.

Dose (g _{ha} ⁻¹)	15 DAS					45 DAS				
	φPo	Pi _{ABS}	Pi _{TOTAL}	DIo/RC	ABS/RC	φPo	Pi _{ABS}	Pi _{TOTAL}	DIo/RC	ABS/RC
0	0,67 b	6176 c	17454 b	0,75 a	28977 a	0,81 ^{NS}	29968 ^{NS}	36074 ^{NS}	0,41 ^{NS}	21165 ^{NS}
21	0,80 a	32445 a	47461 ab	0,43 c	21878 b	0,77	20475	26321	0,64	26474
42	0,74 ab	22764 ab	106675 a	0,60b	27159 ab	0,79	25571	33736	0,49	23358
63	0,76 a	14669 bc	52493 ab	0,58 b	24223 ab	0,79	27388	42402	0,48	22247
84	0,76 a	16377 bc	28388 b	0,62 b	25524 ab	0,79	28467	43363	0,47	22635
C.V	3,88	27,55	57,78	7,78	9,26	3,54	30,74	35,23	23,57	10,30

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade.

O Teste-JIP da *A. pintoi* aos 15 DAS (Figura 7C e Tabela 8) demonstra um incremento significativo do índice de desempenho fotossintético (Pi_{ABS}) nas doses do diclosulam 21 e 42 g ha⁻¹, em relação ao controle. O tratamento de 42 g ha⁻¹ ainda apresentou incremento significativo no índice de desempenho fotossintético total (Pi_{TOTAL}), em relação ao controle. Como os processos de emissão da fluorescência, dissipação de calor e produção fotoquímica ocorrerem em competição direta, de maneira que qualquer aumento da eficiência de um irá causar um decréscimo no rendimento dos outros, o grande aumento do desempenho fotossintético levou a uma grande redução da perda de energia na forma de calor (DIO/RC). A dose de 21 g ha⁻¹ foi a que proporcionou maior redução do DIO/RC quando comparada ao controle. Em decorrência, esse tratamento foi o que apresentou redução estatística significativa no tamanho do sistema antena (ABS/RC) quando comparado com o controle.

Entretanto, aos 45 DAS, os valores da intensidade de fluorescência (Figura 7B e Tabela 7) demonstram que, assim como a MSA, MSR e altura de planta, essas respostas também não apresentaram diferença estatística significativa quando submetidas às diferentes doses do diclosulam avaliadas. Também, os parâmetros obtidos através do Teste-JIP dessa espécie vegetal, aos 45 DAS, apresentados na Figura 7D e Tabela 5, não apresentaram diferença estatística significativa. Dessa forma, observou-se que a espécie *A. pintoi* reestabelece suas atividades fotossintéticas aos 45 DAS, mesmo sob aplicação do dobro da dose recomendada em bula para o herbicida diclosulam.

A espécie *C. juncea*, assim como a *A. pintoi*, não apresentou diferença nas características respostas MSA, MSR, altura de planta e na emissão de fluorescência dos pontos O-J-I-P da curva dupla sigmóide, entre as doses do diclosulam testadas, aos 45 DAS, conforme apresentado na Tabela 9 e na Tabela 10, respectivamente.

Tabela 9. Parâmetros da fluorescência transiente da clorofila *a* obtidos aos 15 DAS e 45 DAS da espécie *C. juncea* submetida as doses do herbicida diclosulam.

Doses do diclosulam (g ha ⁻¹)	MSA (g)	MSR (g)	AP (cm)
0 (controle)	4,82 ^{NS}	1,08 ^{NS}	80,31 ^{NS}
21	5,01	1,43	77,94
42	4,06	1,41	70,25
63	3,38	0,93	71,00
84	2,71	0,81	63,19
C.V.	33,46	41,34	12,17

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade.

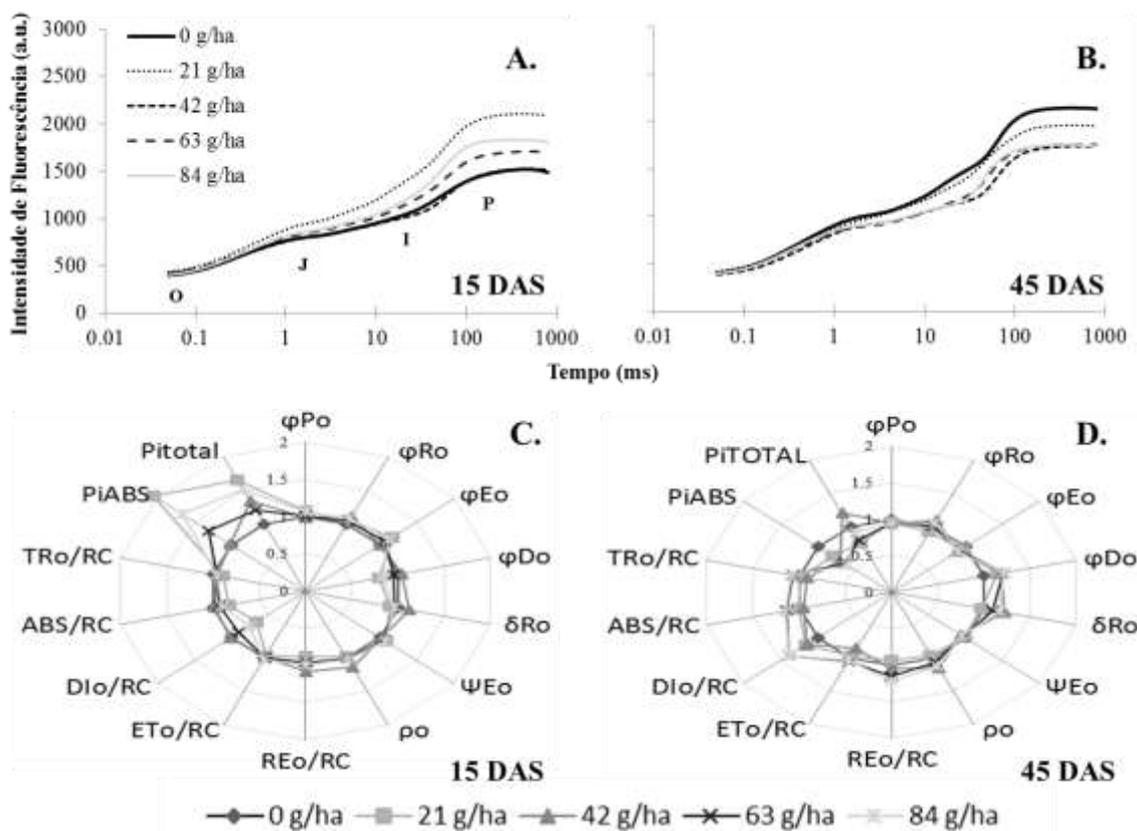


Figura 8. Intensidade de fluorescência da clorofila *a* obtida para a espécie *Crotalaria juncea*, aos 15 DAS (A) e 45 DAS (B). Parâmetros do Teste JIP obtidos da mesma espécie submetida a diferentes doses do herbicida diclosulam, expresso em relação aos valores do tratamento controle (valor transformado para 1), aos 15 DAS (C) e aos 45 DAS (D)

Tabela 10. Intensidades de fluorescência da clorofila *a* nos passos O (Fo), J (FJ), I (FI) e P (FM) obtidas aos 15 e 45 DAS da espécie *C. juncea* submetida as doses do herbicida diclosulam.

Dose (gha ⁻¹)	15 DAS				45 DAS			
	F _O	F _J	F _I	F _M	F _O	F _J	F _I	F _M
0	395 ^{NS}	809 b	1100 b	1525 b	403 ^{NS}	998 ^{NS}	1494 ^{NS}	2145 ^{NS}
21	436	963 a	1492 a	2104 a	423	963	1411	1964
42	416	811 b	1057 b	1533 b	388	908	1164	1740
63	424	857 ab	1222 b	1715 b	401	891	1218	1762
84	401	869 ab	1287 ab	1834 ab	399	911	1191	1758
C.V	10,3	7,4	8,8	7,9	5,3	8,2	12,7	12,0

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade.

Tabela 11. Parâmetros da fluorescência transiente da clorofila *a* obtidos aos 15 DAS e 45 DAS da espécie *C. juncea* submetida as doses do herbicida diclosulam.

Dose (gha ⁻¹)	15 DAS					45 DAS				
	φPo	Pi _{ABS}	Pi _{TOTAL}	DIo/RC	ABS/RC	φPo	Pi _{ABS}	Pi _{TOTAL}	DIo/RC	ABS/RC
0	0,74 bc	19229 b	28574 ^{NS}	0,68 a	26147 ^{NS}	0,81 ^{NS}	41587 ^{NS}	54481 ab	0,41 ^{NS}	20775 ab
21	0,79 a	39196 a	45900	0,45 b	21741	0,78	33658	44646 ab	0,47	20958 ab
42	0,73 c	20010 b	41944	0,69 a	25320	0,78	28922	65325 a	0,44	19581 b
63	0,75 abc	25258 b	36511	0,60 ab	24467	0,77	26139	44238 b	0,53	23124 a
84	0,78 ab	30821 ab	40361	0,52ab	23789	0,77	24347	50314 ab	0,53	23414 a
C.V	2,67	19,25	28,80	13,90	8,33	2,81	25,50	18,01	14,47	5,89

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade.

Aos 15 DAS, a *C. juncea* que recebeu a dose de 21 g ha⁻¹ de diclosulam, apresentou aumento da emissão de fluorescência nos pontos J-I-P da curva transiente, diferindo estatisticamente do controle, conforme demonstrado na Figura 8A e na Tabela 10. No Teste-JIP dessa espécie, obtido aos 15 DAS (Figura 8C e Tabela 11), o tratamento correspondente a dose de 21 g ha⁻¹ de diclosulam foi o que apresentou incremento significativo do desempenho fotossintético (Pi_{ABS}), resultando na redução significativa da dissipação de energia na forma de calor (DIO/RC), comparado ao controle. Aos 45 DAS, todos os parâmetros da fluorescência obtidos a partir do Teste-JIP e não apresentaram diferença estatística significativa em relação ao controle, o que demonstra uma recuperação da fotossíntese das plantas.

A *C. ensiformes* não apresentou diferença estatística significativa nas características respostas MSA, MSR e altura de planta (Tabela 12). Aos 15 DAS, a curva OJIP e os valores da intensidade de fluorescência nos pontos O-J-I-P da *C. ensiformes* não apresentaram diferença significativa entre as doses testadas (Figura 9A e Tabela 13). Entretanto, foi verificado aos 45 DAS uma diferença estatística significativa na curva OJIP entre a dose de 63 g ha⁻¹ e o controle no ponto O, e entre a dose de 21 e 42 g ha⁻¹ e o controle no ponto J (Figura 9B e Tabela 13).

Tabela 12. Massa seca da parte aérea (MSA), massa seca das raízes (MSR) e altura de planta (AP) da espécie *Canavalia ensiformes* sob doses do herbicida diclosulam.

Doses do diclosulam (gha ⁻¹)	MSA (g)	MSR (g)	AP (cm)
0 (controle)	4,55 ^{NS}	1,07 ^{NS}	39,81 ^{NS}
21	4,10	1,11	41,50
42	4,18	1,23	38,87
63	4,33	1,35	38,56
84	4,37	1,39	38,00
C.V.	13,77	14,89	7,26

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade.

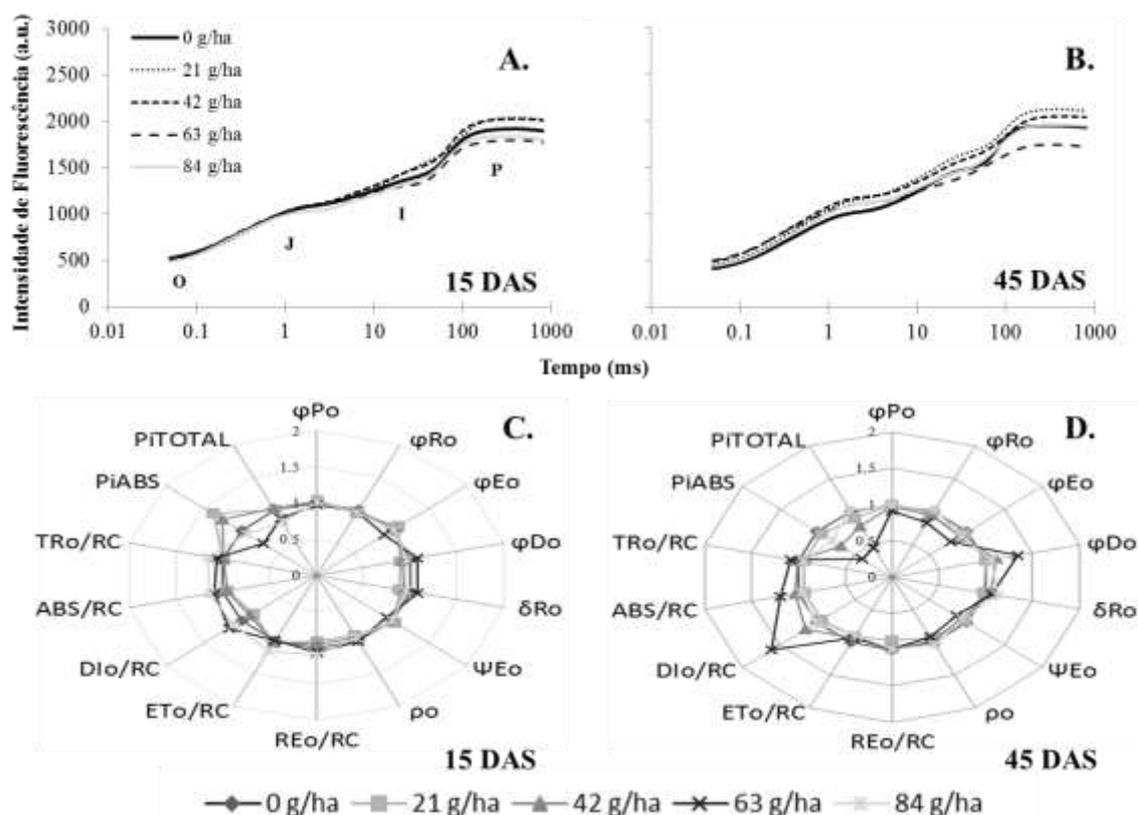


Figura 9. Intensidade de fluorescência da clorofila *a* obtida para a espécie *Canavalia ensiformis*, aos 15 DAS (A) e 45 DAS (B). Parâmetros do Teste JIP obtidos da mesma espécie submetida a diferentes doses do herbicida diclosulam, expresso em relação aos valores do tratamento controle (valor transformado para 1), aos 15 DAS (C) e aos 45 DAS (D).

Tabela 13. Intensidades de fluorescência da clorofila *a* nos passos O (Fo), J (FJ), I (FI) e P (FM) obtidas aos 15 e 45 DAS da espécie *C. ensiformis* submetida as doses do herbicida diclosulam.

Dose (gha ⁻¹)	15 DAS				45 DAS			
	F _O	F _J	F _I	F _M	F _O	F _J	F _I	F _M
0	529 ^{NS}	1089 ^{NS}	1401 ^{NS}	1919 ^{NS}	415 b	1015 b	1462 ab	1949 ab
21	501	1081	1515	2041	454 ab	1151 a	1630 a	2125 a
42	515	1097	1488	2023	488 ab	1171 a	1567 ab	2052 a
63	531	1090	1322	1796	498 a	1094 ab	1381 b	1739 b
84	486	1030	1359	1838	441 ab	1100 ab	1457 ab	1957 ab
C.V	10,5	9,2	9,9	9,7	7,7	4,0	6,2	5,1

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade.

Tabela 14. Parâmetros da Fluorescência transiente da clorofila *a* obtidos aos 15 DAS e 45 DAS da espécie *C. ensiformis* submetida as doses do herbicida diclosulam.

Dose (gha ⁻¹)	15 DAS					45 DAS				
	φPo	PiABS	PiTOTAL	DIo/RC	ABS/RC	φPo	PiABS	PiTOTAL	DIo/RC	ABS/RC
0	0,72 ab	15071 bc	25262 ^{NS}	0,72 ab	25967 bc	0,79 a	25583 a	27663 ^{NS}	0,49 b	22794 ab
21	0,75 a	20677 a	25139	0,62 b	24940 c	0,79 a	25573 a	29207	0,45 b	21222 b
42	0,74 a	18733 ab	25632	0,64 b	24995 c	0,76 ab	17947 ab	22646	0,58 b	23943 ab
63	0,70 b	10731 c	23182	0,84 a	28289 ab	0,71 b	11120 b	14703	10667 a	27925 a
84	0,74 ab	14021 bc	20322	0,78 ab	29607 a	0,77ab	21048 ab	33045	0,51 b	22190 ab
C.V	2,28	14,70	20,61	11,15	5,34	4,17	30,16	33,30	9,64	11,41

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade.

No Teste-JIP da espécie *C. ensiformis*, obtido aos 15 DAS (Figura 9C e Tabela 14), o tratamento correspondente a dose de 21 g ha⁻¹ de diclosulam apresentou incremento significativo do desempenho fotossintético (Pi_{ABS}) comparado ao controle. As plantas que receberam a dose de 84 g ha⁻¹ do herbicida responderam com um aumento significativo do tamanho do sistema antena (ABS/RC). Aos 45 DAS, o tratamento correspondente a dose de 63 g ha⁻¹ causou uma redução significativa do rendimento quântico fotoquímico (φPo) e do desempenho fotossintético (Pi_{ABS}) comparado ao controle, sendo essas reduções de 9,66% e 56,53%, respectivamente (Figura 9D e Tabela 14). Conseqüentemente, esse tratamento apresentou um maior incremento na dissipação de energia da planta na forma de calor (Dio/RC) e um aumento significativo do tamanho do sistema antena (ABS/RC).

A espécie *C. cajan* não apresentou diferença estatística significativa nas características respostas MSA e MSR, conforme demonstrado na Tabela 15. Entretanto, diferentemente das espécies analisadas anteriormente, a *C. cajan* apresentou diferença estatística na altura das plantas que receberam as diferentes doses do diclosulam analisado. Na Tabela 15 pode-se observar que ao receber a aplicação do herbicida na dose de 21 g ha⁻¹ a *C. cajan* respondeu com um aumento significativo da sua altura de planta em 16,47 % quando comparado ao controle. A partir da dose de 42 g ha⁻¹, a medida que aumentava a dose do herbicida, menor era a altura da *C. cajan*, no entanto, não diferiu estatisticamente do controle.

Tabela 15. Massa seca da parte aérea (MSA), massa seca das raízes (MSR) e altura de planta (AP) da espécie *Cajanus cajan* sob doses do herbicida diclosulam.

Doses do diclosulam (g ha ⁻¹)	MSA (g)	MSR (g)	AP (cm)
0 (controle)	2,30 ^{NS}	0,50 ^{NS}	48,08 bc
21	2,17	0,54	56,00 a
42	1,94	0,56	53,67 ab
63	1,92	0,44	51,17 ab
84	1,69	0,46	43,58 c
C.V.	19.26	28.43	6.18

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade.

A espécie *C. cajan* apresentou elevadas perturbações em seus parâmetros fotossintéticos aos 15 DAS (Figura 10A e 10C e Tabelas 16 e 17). Aos 15 DAS, os parâmetros φPo, Pi_{ABS}, Dio/RC e ABS/RC dos tratamentos que receberam aplicação do herbicida diferiram estatisticamente do controle.

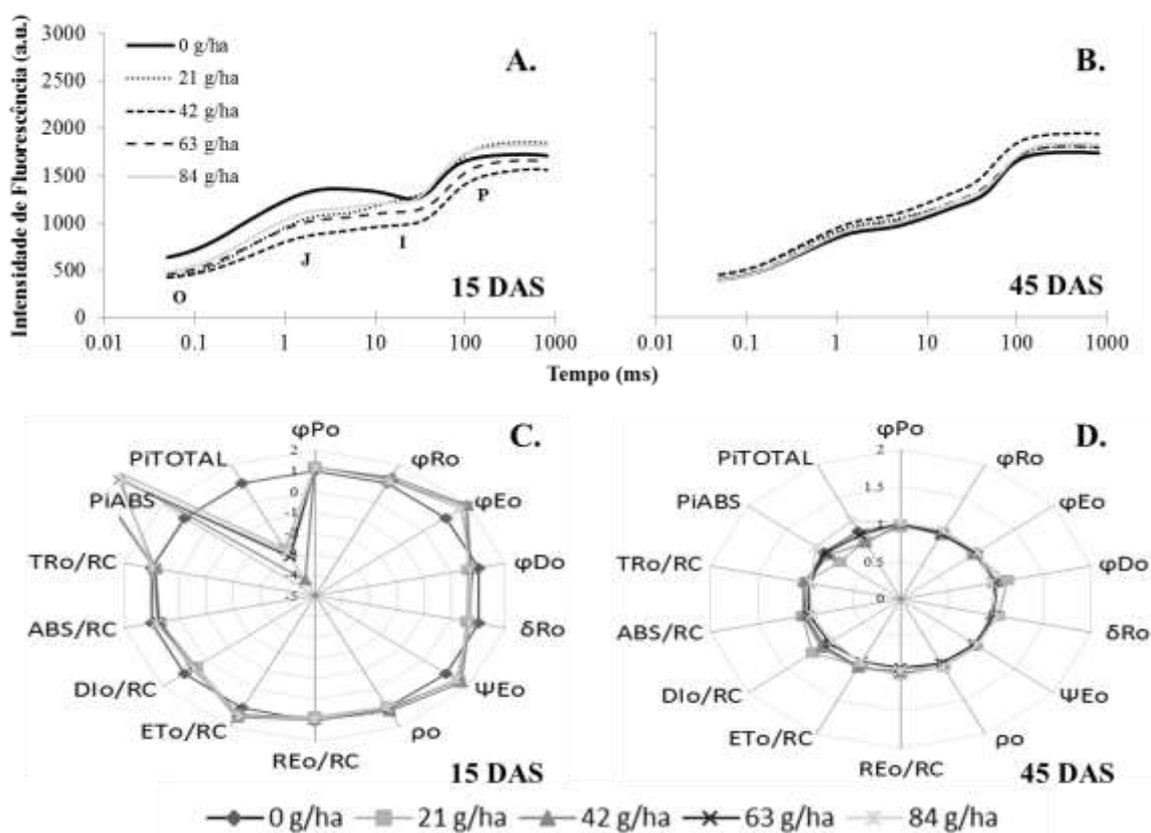


Figura 10. Intensidade de fluorescência da clorofila *a* obtida para a espécie *Cajanus cajan*, aos 15 DAS (A) e 45 DAS (B). Parâmetros do Teste JIP obtidos da mesma espécie submetida a diferentes doses do herbicida diclosulam, expresso em relação aos valores do tratamento controle (valor transformado para 1), aos 15 DAS (C) e aos 45 DAS (D).

Tabela 16. Intensidades de fluorescência da clorofila *a* nos passos O (F_o), J (F_J), I (F_I) e P (F_M) obtidas aos 15 e 45 DAS da espécie *C. cajan* submetida as doses do herbicida diclosulam.

Dose (g ha ⁻¹)	15 DAS				45 DAS			
	F _O	F _J	F _I	F _M	F _O	F _J	F _I	F _M
0	637 a	1338 a	1260 ab	1727 ab	394 ^{NS}	910 ^{NS}	1217 ^{NS}	1742 ^{NS}
21	433 b	1064 b	1295 a	1858 a	454	981	1271	1798
42	421 b	870 c	1006 c	1571 b	446	1026	1388	1940
63	460 b	1022 b	1138 bc	1662 ab	399	963	1281	1801
84	478 b	1126 b	1262 ab	1822 a	394	955	1271	1834
C.V	6,7	5,7	5,3	6,0	7,3	7,6	9,8	7,0

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade.

Tabela 17. Parâmetros da Fluorescência transiente da clorofila *a* obtidos aos 15 DAS e 45 DAS da espécie *C. cajan* submetida as doses do herbicida diclosulam.

Dose (g ha ⁻¹)	15 DAS					45 DAS				
	ϕP_o	PI_{ABS}	PI_{TOTAL}	DI_o/RC	ABS/RC	ϕP_o	PI_{ABS}	PI_{TOTAL}	DI_o/RC	ABS/RC
0	0,63 b	3466 c	156605 ^{NS}	8723 a	29073 a	0,77 ab	26427 ^{NS}	44858 ^{NS}	0,50 ab	21824 ^{NS}
21	0,77 a	20621 a	50292	0,48 b	20467 b	0,75 b	21794	39642	0,58 a	22694
42	0,73 a	19971 a	83407	0,60 b	21887 b	0,77 ab	25523	38334	0,52 ab	22444
63	0,72 a	12834 b	63596	0,65 b	23327 b	0,77 a	25316	46198	0,47 ab	21015
84	0,74 a	12876 b	54226	0,62 b	23702 b	0,78 a	29886	68050	0,43 b	20159
C.V	2,91	20,69	185,04	149,92	7,46	1,58	25,70	41,30	11,80	7,63

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade.

De acordo com o caráter competitivo entre a etapa fotoquímica, dissipação de calor e emissão de fluorescência relatado por Buonasera et al. (2011), observou-se grande aumento do índice de desempenho fotossintético no FSII (Pi_{ABS}) nos tratamentos que receberam aplicação do herbicida, isso é, aumento do *queenching* fotoquímico, e conseqüentemente, ocorreu redução da fluorescência emitida por esses tratamentos, como observado na Figura 26A e Tabela 13, entre os passos O-I. Entretanto, a partir do ponto I os transientes referentes aos tratamentos que receberam aplicação do herbicida voltaram a apresentar a característica sigmóide semelhante ao controle, apresentando os passos I e P bem definidos.

Aos 45 DAS todos parâmetros fotossintéticos analisados foram reestabelecidos, igualando-se estatisticamente ao controle, conforme demonstrado na Figura 26B e 26D e nas Tabelas 13 e 14.

Diferentemente das espécies analisadas anteriormente, as espécies *B. decumbens* e *B. brizantha* apresentaram progressivas reduções de suas respostas biométricas (MSA, MSR e altura de planta) com o aumento da dose do diclosulam (Tabela 18 e 19). A *B. decumbens*, ao receber a aplicação do máximo da dose recomendada por bula (42 g ha^{-1}), respondeu com uma redução de 64,96% da sua MSA, de 75% da sua MSR e de 44,29% da sua altura de planta, em relação ao controle. Já a *B. brizantha* ao receber a mesma dose do herbicida, demonstrou redução de 85,63% da sua MSA, de 77,33% da sua MSR e de 47,45% da sua altura de planta, comparativamente ao controle.

O resíduo no solo do dobro da dose máxima recomendada por bula (84 g ha^{-1}) causou prejuízos severos à ambas as espécies de braquiárias, levando à inibição do desenvolvimento de quase 100% das plantas na unidade experimental.

Tabela 18. Massa seca da parte aérea (MSA), massa seca das raízes (MSR) e altura de planta (AP) da espécie *B. decumbens* sob doses do herbicida diclosulam.

Doses do diclosulam (g ha^{-1})	MSA (g)	MSR (g)	AP (cm)
0 (controle)	1,37 a	1,48 a	37,25 a
21	1,84 a	1,89 b	35,00 a
42	0,48 b	0,37 bc	20,75 b
63	0,04 b	0,04 c	7,42 c
84	0,01 b	0,04 c	3,5 c
C.V.	36,80	45,99	10,75

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade.

Tabela 19. Massa seca da parte aérea (MSA), massa seca das raízes (MSR) e altura de planta (AP) da espécie *B. brizantha* sob doses do herbicida diclosulam.

Doses do diclosulam (g ha^{-1})	MSA (g)	MSR (g)	AP (cm)
0 (controle)	4,87 a	2,25 a	47,33 a
21	2,85 b	1,96 a	33,92 b
42	0,70 cd	0,51 b	24,87 b
63	0,83 c	0,27 b	14,67 c
84	0,09 d	0,04 b	9,81 c
C.V.	15,13	25,99	16,62

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade.

Apesar da redução dos valores dos parâmetros de MSA, MSR e altura de plantas observado na *B. decumbens*, os valores da intensidade de fluorescência nos pontos O-J-I-P observados na Figura 11A e 11B e na Tabela 20 não apresentaram diferença estatística entre as plantas que receberam o herbicida nas doses testadas e o controle, nos dois tempos avaliados (15 e 45 DAS).

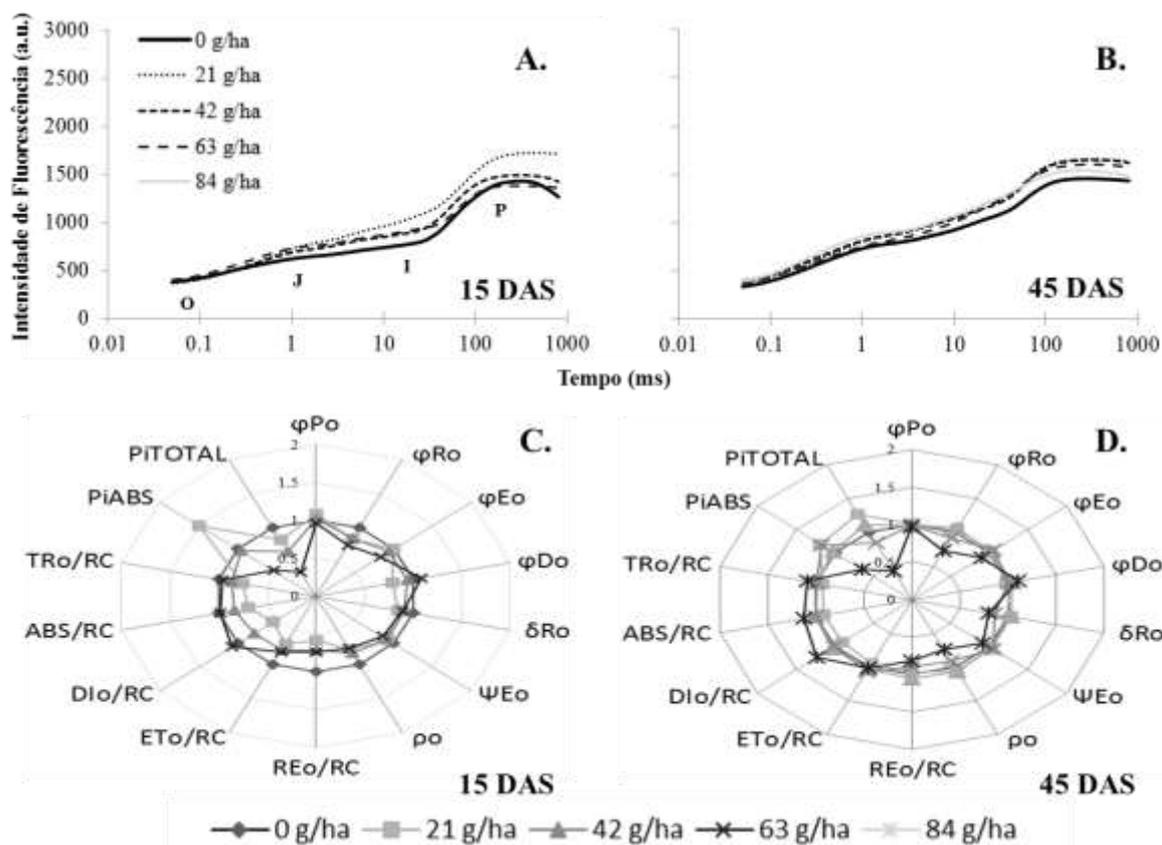


Figura 11. Intensidade de fluorescência da clorofila *a* obtida para a espécie *Brachiaria decumbens*, aos 15 DAS (A) e 45 DAS (B). Parâmetros do Teste JIP obtidos da mesma espécie submetida a diferentes doses do herbicida diclosulam, expresso em relação aos valores do tratamento controle (valor transformado para 1), aos 15 DAS (C) e aos 45 DAS (D). *Não foi possível realizar a fluorescência dos tratamentos de 84 g ha⁻¹ aos 15 DAS, pois as folhas ainda estavam muito pequenas para prender os cliques do aparelho HanyPEA.

Tabela 20. Intensidades de fluorescência da clorofila *a* nos passos O (Fo), J (FJ), I (FI) e P (FM) obtidas aos 15 e 45 DAS da espécie *B. decumbens* submetida as doses do herbicida diclosulam.

Dose (g ha ⁻¹)	15 DAS				45 DAS			
	F _O	F _J	F _I	F _M	F _O	F _J	F _I	F _M
0	377 ^{NS}	648 ^{NS}	819 ^{NS}	1444 ^{NS}	332 ^{NS}	778 ^{NS}	1073 ^{NS}	1452 ^{NS}
21	355	786	1103	1722	371	860	1194	1651
42	369	729	951	1495	392	868	1195	1649
63	396	759	943	1381	367	812	1221	1600
84	*	*	*	*	387	896	1248	1538
C.V	12,2	13,7	18,0	15,6	10,3	10,0	11,5	11,0

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade. *Não foi possível realizar a fluorescência dos tratamentos de 84 g ha⁻¹ aos 15 DAS, pois as folhas ainda estavam muito pequenas para prender os cliques do aparelho HanyPEA.

Tabela 21. Parâmetros da Fluorescência transiente da clorofila *a* obtidos aos 15 DAS e 45 DAS da espécie *B. decumbens* submetida as doses do herbicida diclosulam.

Dose (g ha ⁻¹)	15 DAS					45 DAS				
	φPo	Pi _{ABS}	Pi _{TOTAL}	DIo/RC	ABS/RC	φPo	Pi _{ABS}	Pi _{TOTAL}	DIo/RC	ABS/RC
0	0,73 b	30165 ab	174031 ^{NS}	3835 ^{NS}	30857 a	0,77 a	20391 ab	26057a	0,58 ^{NS}	25218 ab
21	0,79 a	42775 a	84402	0,41	20028 b	0,77 a	24201 ab	34262 a	0,53	23374 b
42	0,75 ab	29217 ab	73727	0,61	24326 ab	0,76 ab	21561 ab	34679 a	0,60	25168 ab
63	0,71 b	14923 b	35432	0,83	28681 ab	0,77 a	25592 a	23469 ab	0,57	25068 ab
84	*	*	*	*	*	0,75 b	13274 b	8255 b	0,62	28999 a
C.V	2,98	27,88	68,89	399,74	17,41	1,23	23,38	30,36	8,81	7,68

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade. *Não foi possível realizar a fluorescência dos tratamentos de 84 g ha⁻¹ aos 15 DAS, pois as folhas ainda estavam muito pequenas para prender os cliques do aparelho HanyPEA.

Já a espécie *B. brizantha* não apresentou, aos 45 DAS, diferença estatística entre a intensidade de emissão de fluorescência nos pontos O-J-I-P das plantas que receberam o herbicida e do controle (Figura 12B e Tabela 22). Porém, aos 15 DAS, essa espécie apresentou no ponto O um aumento significativo da emissão de fluorescência de aproximadamente 23% e 21% naquelas plantas que receberam a aplicação do herbicida nas doses de 42 e 63 g ha⁻¹, respectivamente, em relação ao controle, conforme Figura 12A e Tabela 22. E nos pontos J-I-P a emissão da fluorescência de todas as plantas que receberam o diclosulam diferiram estatisticamente do controle, sendo a emissão de fluorescência crescente a medida que aumentou-se a dose de aplicação do herbicida.

Assim como ocorrido nas curvas transientes OJIPs, o JIP teste da *B. brizantha* apresentou maiores alterações de seus parâmetros fotossintéticos em relação ao controle aos 15 DAS do que aos 45 DAS (Figura 12C e 12D e Tabela 23). Aos 45 DAS, apenas a dissipação de energia na forma de calor (DIo/RC) apresentou diferença estatística entre os tratamentos que receberam o diclosulam em relação ao controle, sendo essa diferença uma redução de 42,30% e de 33,33% nos tratamentos de 42 e 84 g ha⁻¹, respectivamente. Já aos 15 DAS, o rendimento quântico máximo fotoquímico (φPo) e o índice de desempenho fotossintético (Pi_{ABS}) do tratamento de 21 g ha⁻¹ aumentou em relação ao controle; e a dissipação de energia da planta na forma de calor (DIo/RC) e o tamanho do sistema antena (ABS/RC) dos tratamentos de 21 e 2 g ha⁻¹ reduziram em relação ao controle.

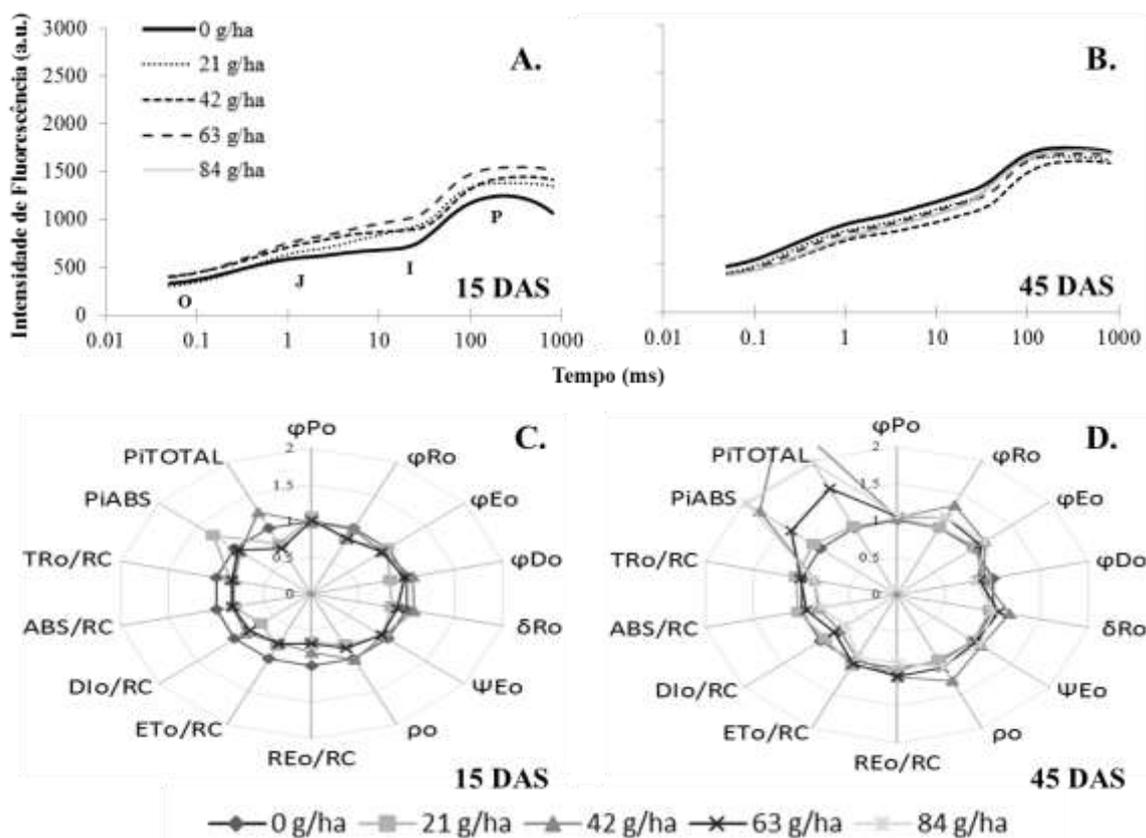


Figura 12. Intensidade de fluorescência da clorofila *a* obtida para a espécie *Brachiaria brizantha*, aos 15 DAS (A) e 45 DAS (B). Parâmetros do Teste JIP obtidos da mesma espécie submetida a diferentes doses do herbicida diclosulam, expresso em relação aos valores do tratamento controle (valor transformado para 1), aos 15 DAS (C) e aos 45 DAS (D). *Não foi possível realizar a fluorescência dos tratamentos de 84 g ha⁻¹ aos 15 DAS, pois as folhas ainda estavam muito pequenas para prender os cliques do aparelho HanyPEA.

Tabela 22. Intensidades de fluorescência da clorofila *a* nos passos O (Fo), J (FJ), I (FI) e P (FM) obtidas aos 15 e 45 DAS da espécie *B. brizantha* submetida as doses do herbicida diclosulam.

Dose (g ha ⁻¹)	15 DAS				45 DAS			
	F _O	F _J	F _I	F _M	F _O	F _J	F _I	F _M
0	329 b	613 c	785 c	1249 c	480 ^{NS}	983 ^{NS}	1306 ^{NS}	1721 ^{NS}
21	304 b	690 b	960 b	1388 b	417	907	1234	1626
42	406 a	771 a	917 b	1447 ab	400	808	1073	1585
63	399 a	816 a	1067 a	1546 a	397	888	1201	1661
84	*	*	*	*	390	855	1222	1692
C.V	4,1	3,8	4,7	3,8	10,2	9,9	12,9	13,9

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade. *Não foi possível realizar a fluorescência dos tratamentos de 84 g ha⁻¹ aos 15 DAS, pois as folhas ainda estavam muito pequenas para prender os cliques do aparelho HanyPEA.

Tabela 23. Parâmetros da Fluorescência transiente da clorofila *a* obtidos aos 15 DAS e 45 DAS da espécie *B. brizantha* submetida as doses do herbicida diclosulam.

Dose (g ha ⁻¹)	15 DAS					45 DAS				
	φPo	Pi _{ABS}	Pi _{TOTAL}	DIo/RC	ABS/RC	φPo	Pi _{ABS}	Pi _{TOTAL}	DIo/RC	ABS/RC
0	0,74 b	22415 b	61608 ^{NS}	0,75 a	28301 a	0,72 ^{NS}	13705 ^{NS}	18147 ^{NS}	0,78 a	27768 ^{NS}
21	0,78 a	28620 a	45603	0,50 c	22649 b	0,74	15413	18557	0,74 a	28617
42	0,73 b	22060 b	52564	0,60 bc	22480 b	0,73	25428	52093	0,45 b	24448
63	0,73 b	19543 b	58290	0,67 ab	25185 ab	0,76	21025	37183	0,63 ab	26343
84	*	*	*	*	*	0,77	28428	40064	0,52 b	22477
C.V	1,16	8,07	22,68	9,36	6,81	5,04	39,85	49,84	15,12	12,55

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade.*Não foi possível realizar a fluorescência dos tratamentos de 84 g ha⁻¹ aos 15 DAS, pois as folhas ainda estavam muito pequenas para prender os cliques do aparelho HanyPEA.

Diante dos resultados apresentados, constata-se que o diclosulam não afetou a produção de biomassa das espécies de *A. pintoi*, *C. juncea* e *C. ensiformis*, caracterizando a tolerância dessas espécies ao herbicida. O mesmo foi observado por Monquero e colaboradores (2013) em relação a massa seca das raízes, em que verificou que a *C. cajan* não apresentou diferença significativa quanto ao desenvolvimento da raiz e a *C. juncea* não apresentou diferença significativa quanto ao desenvolvimento da parte aérea entre a testemunha e as doses de 35 e 70 g i.a. ha⁻¹ de diclosulam. Com relação à MSA, Monquero e colaboradores (2013) observaram que, dentre as espécies analisadas, a *C. ensiformis* foi a que apresentou maior acúmulo de biomassa.

As espécies *A. pintoi* e a *C. cajan* já haviam apresentado tolerância para outros herbicidas utilizados na cultura da soja. Madalão e colaboradores (2012) avaliaram a tolerância de diversas espécies ao herbicida sulfentrazone, herbicida também utilizado na cultura da soja, e dentre essas espécies, a *A. pintoi* e a *C. cajan* demonstraram os melhores resultados com relação à tolerância, juntamente com a *Leucaena leucocephala*. Madalão e colaboradores (2012) acrescentam ainda que a *C. cajan* apresentou maiores porcentagens de acúmulo de biomassa, comparativamente ao controle, em até metade da dose comercial.

O aumento significativo da altura de planta da *C. cajan*, observado no tratamento de 21 g ha⁻¹ do diclosulam, pode ser justificado pelo maior incremento do desempenho fotossintético realizado pela planta nessa dose, com a finalidade de acelerar sua atividade metabólica e degradar o herbicida presente no solo, como pode-se observar no aumento dos parâmetros do índice de desempenho fotossintético. Sendo que, a partir dessa dose, o tamanho da altura da planta reduziu conforme ocorreu a redução do índice de desempenho fotossintético. A mesma resposta foi observada por Qiu e colaboradores (2013), no qual o BPA (Bisfenol A), um disruptor endócrino representativo, em pequenas concentrações promoveu o crescimento de mudas de soja. De acordo com Qiu e colaboradores (2013), o crescimento e o desenvolvimento das plantas são baseados na síntese e na acumulação de substâncias orgânicas que são dependentes da fotossíntese, sendo assim, alterações na fotossíntese da planta podem ser uma das formas que os contaminantes afetam o crescimento das plantas.

Também com a finalidade de acelerar sua atividade metabólica e degradar o herbicida presente no solo, foi observado incremento do desempenho fotossintético na primeira avaliação das espécies *A. pintoi* e *C. juncea*. Oukarroum et al (2007) salienta que os índices de desempenho fotossintético são considerados mais sensíveis à detecção e quantificação de estresse nas plantas do que o próprio rendimento quântico máximo do fotossistema II (Fv/Fm ou φPo). Isto ocorre, porque os índices de desempenho (Pi_{ABS} e Pi_{TOTAL}) relacionam a eficiência de absorção, captura e transferência de energia de excitação pelo fotossistema II proporcionando uma visão maior do grau de efeito do ambiente estressante (GONÇALVES e SANTOS JR., 2005). A diminuição nos índices de desempenho, indicam perda de eficiência fotoquímica pelas plantas (THACH et al., 2007).

Apesar das alterações dos parâmetros fotossintéticos observados na primeira avaliação, as espécies *A. pintoii*, *C. juncea* e *C. cajan* reestabeleceram suas atividades fotossintéticas na segunda avaliação. Dessa forma, demonstraram elevada resiliência ao ser cultivada em solos com resíduos do diclosulam, metabolizando esse herbicida e impossibilitando que o mesmo interfira no desenvolvimento das espécies.

Entretanto, diferentemente da *A. pintoii*, *C. juncea* e *C. cajan*, a *C. ensiformes* ainda apresentou na segunda avaliação diferença estatística significativa entre os tratamentos que receberam aplicação do diclosulam e o controle, tanto nos passos O-J-I-P quanto nos parâmetros do Teste-JIP. Diante disso, constata-se que a *C. ensiformes* apresenta uma resposta mais demorada à ação do herbicida diclosulam quando comparada com as outras três espécies anteriormente citadas. Essa resposta mais lenta à ação do diclosulam é um comportamento esperado pois os sintomas visuais e morte das plantas causadas por herbicidas inibidores da ALS ocorre de forma lenta (ROMAN et al., 2007). De acordo com Vidal e colaboradores (2014), a morte de plantas que receberam a aplicação de herbicidas inibidores da enzima ALS pode ocorrer em até 60 dias após a aplicação.

As análises de fluorescência transiente da clorofila *a* das espécies *B. decumbens* e *B. brizantha* não foram expressivas, pois, apesar dessa análise mostrar aos 45 DAS que não havia diferença significativa entre os tratamentos que receberam as doses do diclosulam e o controle, nessa mesma data observou-se diferença estatística significativa na MSA, MSR e na altura de planta quando comparadas ao controle.

A *B. decumbens* e *B. brizantha* apresentaram diferença estatística significativa nas três características respostas biométricas avaliadas quando comparadas ao controle. A MSA, MSR e altura de planta dessas espécies reduziu acentuadamente com o aumento da dose do herbicida. Dessa forma, essas espécies demonstraram uma maior sensibilidade ao herbicida diclosulam.

Alinhado ao objetivo do presente experimento, determinou-se como espécies tolerantes ao herbicida diclosulam aquelas que apresentaram menores variações de suas características respostas quando comparadas ao controle, demonstrando assim, uma menor sensibilidade ao herbicida. Concomitantemente à tolerância ao diclosulam, buscou-se selecionar espécies que agreguem o maior número possível de características favoráveis à fitorremediação, como fácil controle, elevada produção de biomassa, sistema radicular profundo e denso e viabilidade econômica (MONQUERO et al., 2013).

Diante disso, conclui-se que as espécies analisadas diferiram quanto a tolerância ao diclosulam. As espécies *B. decumbens* e *B. brizantha* foram as que apresentaram maior sensibilidade ao herbicida. As espécies *A. pintoii*, *C. juncea*, *C. ensiformis* e *C. cajan* apresentaram tolerância ao herbicida em até o dobro da dose máxima recomendada por bula (84 g ha⁻¹), dessa forma apresentam potencial para serem utilizadas como fitorremediadoras de solos com resíduo do diclosulam, sendo estas utilizadas no experimento 2.

4.2 Experimento II

Constata-se nas Tabelas 24 e 25 que as doses do herbicida diclosulam não tiveram efeito significativo na massa seca da planta indicadora (pepino) quando em sucessão às espécies *C. cajan*, *C. ensiformes* e *C. juncea*. Entretanto, o cultivo da espécie *A. pintoii* antecedendo à indicadora teve efeito significativo sobre massa seca do pepino. Pode-se verificar na Tabela 24 que o pepino em sucessão à espécie *A. pintoii*, até a dose de 63 g ha⁻¹, apresentou diferença estatística significativa da sua MSA quando comparado com o pepino cultivado em sucessão às outras espécies. Igualmente, na Tabela 25, verifica-se que o pepino em sucessão à espécie *A. pintoii* apresentou diferença estatística significativa da sua MSR quando comparado com o pepino cultivado em sucessão às outras espécies no controle.

Tabela 24. Massa seca da parte aérea (g) da bioindicadora (pepino) em sucessão às espécies fitorremediadoras sob doses do herbicida diclosulam.

Espécie Fitorremediadora	Doses do diclosulam (g ha ⁻¹)				
	0	21	42	63	84
<i>A. pintoi</i>	0,654 aA	0,406 aB	0,398 aB	0,528 aAB	0,092 aC
<i>C. cajan</i>	0,046 bA	0,078 bA	0,043 bA	0,037 bA	0,045 aA
<i>C. ensiformes</i>	0,071 bA	0,093 bA	0,076 bA	0,065 bA	0,057 aA
<i>C. juncea</i>	0,051 bA	0,088 bA	0,039 bA	0,036 bA	0,029 aA
C.V.	56,12				

Médias seguidas por letras iguais, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 25. Massa seca de raiz (g) da bioindicadora (pepino) em sucessão às espécies fitorremediadoras sob doses do herbicida diclosulam.

Espécie Fitorremediadora	Doses do diclosulam (g ha ⁻¹)				
	0	21	42	63	84
<i>A. pintoi</i>	0,221 aA	0,084 aB	0,08 aB	0,179 aA	0,026 aB
<i>C. cajan</i>	0,008 bA	0,011 aA	0,012 aA	0,008 bA	0,013 aA
<i>C. ensiformes</i>	0,022 bA	0,018 aA	0,019 aA	0,023 bA	0,018 aA
<i>C. juncea</i>	0,024 bA	0,023 aA	0,008 aA	0,021 bA	0,009 aA
C.V.	115,82				

Médias seguidas por letras iguais, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 26. Altura de planta (cm) da bioindicadora (pepino) em sucessão às espécies fitorremediadoras sob doses do herbicida diclosulam.

Espécie Fitorremediadora	Doses do diclosulam (g ha ⁻¹)				
	0	21	42	63	84
<i>A. pintoi</i>	17,47 aA	4,09 aB	3,70 aB	3,79 aB	2,87 aB
<i>C. cajan</i>	15,22 aA	5,22 aB	4,12 aB	2,38 aB	3,42 aB
<i>C. ensiformes</i>	17,71 aA	5,42 aB	4,93 aB	3,58 aB	3,86 aB
<i>C. juncea</i>	15,71 aA	4,98 aB	4,15 aB	3,56 aB	3,87 aB
C.V.	31,07				

Médias seguidas por letras iguais, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Analisando os valores de massa seca do pepino em sucessão à *A. pintoi*, nas Tabelas 24 e 25, verifica-se um efeito significativo da presença do herbicida diclosulam sobre a MSA e MSR, levando à uma redução dos valores de massa seca das unidades que receberam a aplicação do herbicida.

Quando cultivado em sucessão as quatro espécies potencialmente fitorremediadoras testadas, a presença do diclosulam causou efeito significativo na altura de planta do pepino, conforme verifica-se na Tabela 26. As unidades que receberam a aplicação do herbicida apresentaram diferença estatística significativa daqueles que não receberam herbicida, apresentando redução da altura de planta com o aumento da dose.

Analisando a Figura 13A e 13B e a Tabela 22 verifica-se que o pepino em sucessão à *A. pintoi* aos 15 DAS apresentou inicialmente uma redução na intensidade de fluorescência nos pontos O-J-I-P, seguindo de um progressivo aumento, diferenciando-se estatisticamente do controle. Contudo, aos 30 DAS as intensidades de fluorescência nesses pontos igualaram-se estatisticamente ao controle em todas as doses testadas. Apesar da dose do diclosulam não causar efeito significativo na emissão de fluorescência nos pontos O-J-I-P da curva sigmóide na última avaliação, os efeitos das doses permaneceram-se significativos nos parâmetros de fluorescência avaliados no Teste-JIP, de acordo com a Figura 16C e 16D e a Tabela 27.

Aos 15 DAS verifica-se na Figura 16C e na Tabela 28 um aumento significativo do índice de desempenho fotossintético (Pi_{ABS}) e uma redução significativa do índice de desempenho fotossintético total (Pi_{TOTAL}) nas doses de 21 e 84 g ha⁻¹ do pepino em sucessão à *A. pintoi*. Aos 30 DAS verificou-se um acentuado aumento de ambos os índices de desempenho fotossintéticos em todas as doses testadas, atestando distúrbio fisiológico no pepino em sucessão à *A. pintoi* ainda aos 30 DAS.

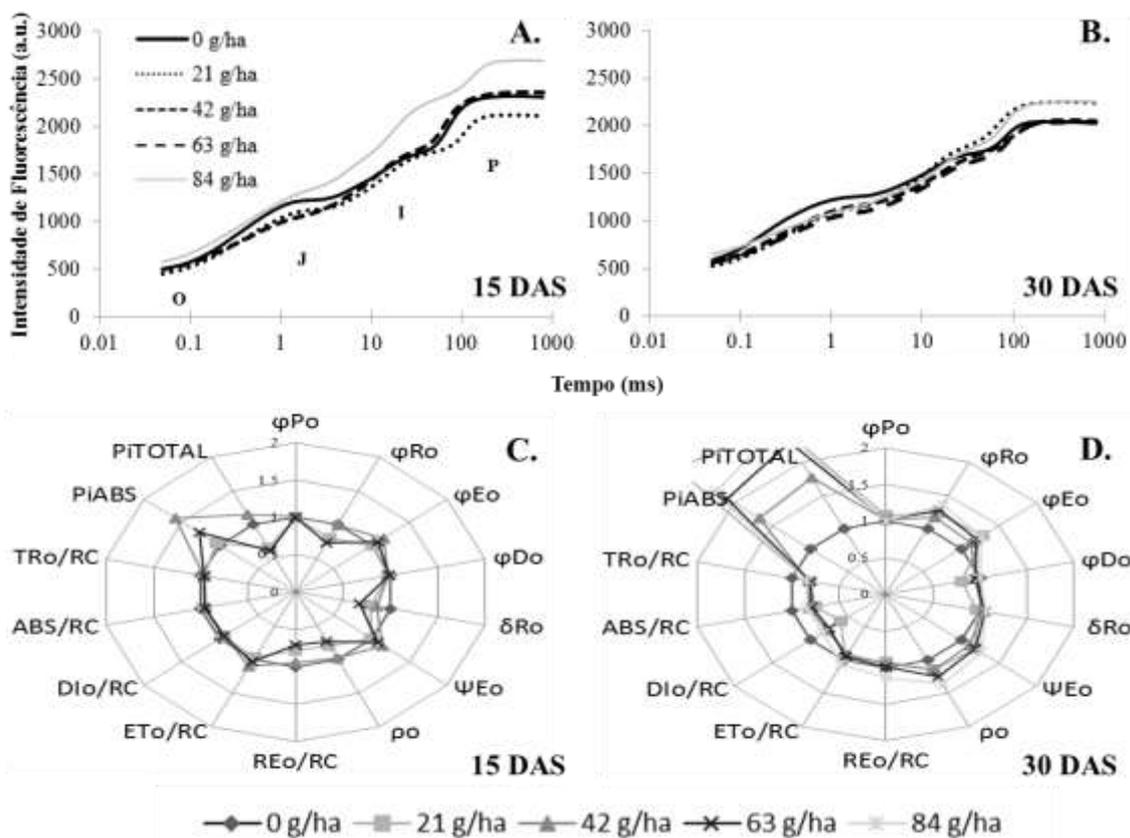


Figura 13. Intensidade de fluorescência da clorofila *a* obtida para o pepino em sucessão a *A. pintoi*, aos 15 DAS (A) e 45 DAS (B). Parâmetros do Teste JIP obtidos da mesma plantas submetida a diferentes doses do herbicida diclosulam, expresso em relação aos valores do tratamento controle (valor transformado para 1), aos 15 DAS (C) e aos 45 DAS (D).

Tabela 27. Intensidades de fluorescência da clorofila *a* nos passos O (Fo), J (FJ), I (FI) e P (FM) obtidas aos 15 e 30 DAS do pepino em sucessão a *A. pintoi*, submetido as doses do diclosulam.

Dose (g ha ⁻¹)	15 DAS				30 DAS			
	F _O	F _J	F _I	F _M	F _O	F _J	F _I	F _M
0	506 b	1228 ab	1703 b	2320b	591 ab	1255 ^{NS}	1693 ^{NS}	20141 ^{NS}
21	454 c	1118 bc	1671 b	2121 b	523 b	1140	1777	2250
42	502 b	1078 c	1741 b	2364 b	569 ab	1162	1649	2057
63	*	*	*	*	560 ab	1086	1595	2035
84	582 a	1327 a	2170 a	2696 a	652 a	1149	1733	2253
C.V	1,5	4,3	6,1	5,0	8,1	8,2	6,6	6,8

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade. *Não foi possível realizar a fluorescência dos tratamentos de 63 g ha⁻¹ aos 15 DAS, pois as folhas ainda estavam muito pequenas para prender os cliques do aparelho HanyPEA.

Tabela 28. Parâmetros da Fluorescência transiente da clorofila *a* obtidos aos 15 DAS e 30 DAS do pepino em sucessão a *A. pintoi* submetida as doses do herbicida diclosulam.

Dose (g ha ⁻¹)	15 DAS					30 DAS				
	ϕP_o	Pi_{ABS}	Pi_{TOTAL}	DI_o/RC	ABS/RC	ϕP_o	Pi_{ABS}	Pi_{TOTAL}	DI_o/RC	ABS/RC
0	0,78 ^{NS}	2,32 a	3,07 a	0,51 ^{NS}	2,36 ^{NS}	0,71 b	0,92 c	0,70 c	1,03 a	3,51 a
21	0,78	2,41 bc	1,98 b	0,50	2,32	0,77 a	2,33 a	1,73 a	0,60 b	2,60 b
42	0,79	3,67 a	3,45 a	0,48	2,26	0,72 b	1,45 bc	1,20 b	0,78 ab	2,83 b
63	*	*	*	*	*	0,72 b	1,75 ab	1,51 ab	0,75 ab	2,72 b
84	0,78	2,94 b	1,83 b	0,49	2,27	0,71 b	1,88 ab	1,67 a	0,84 ab	2,90 b
C.V	1,22	9,21	14,14	7,24	2,92	2,55	18,65	12,90	16,73	8,42

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade. *Não foi possível realizar a fluorescência dos tratamentos de 63 g ha⁻¹ aos 15 DAS, pois as folhas ainda estavam muito pequenas para prender os cliques do aparelho HanyPEA.

O pepino cultivado em sucessão à espécie *C. ensiforme* que recebeu aplicação do diclosulam, apesar de apresentar acentuadas alterações de suas atividades fotossintéticas aos 15 DAS (redução significativa de Pi_{TOTAL} , Pi_{ABS} e ϕP_o e aumento de DI_o/RC e do ABS/RC), aos 30 DAS já havia reestabelecido seu metabolismo fotossintético, conforme demonstrado na Figura 14 e nas Tabelas 29 e 30.

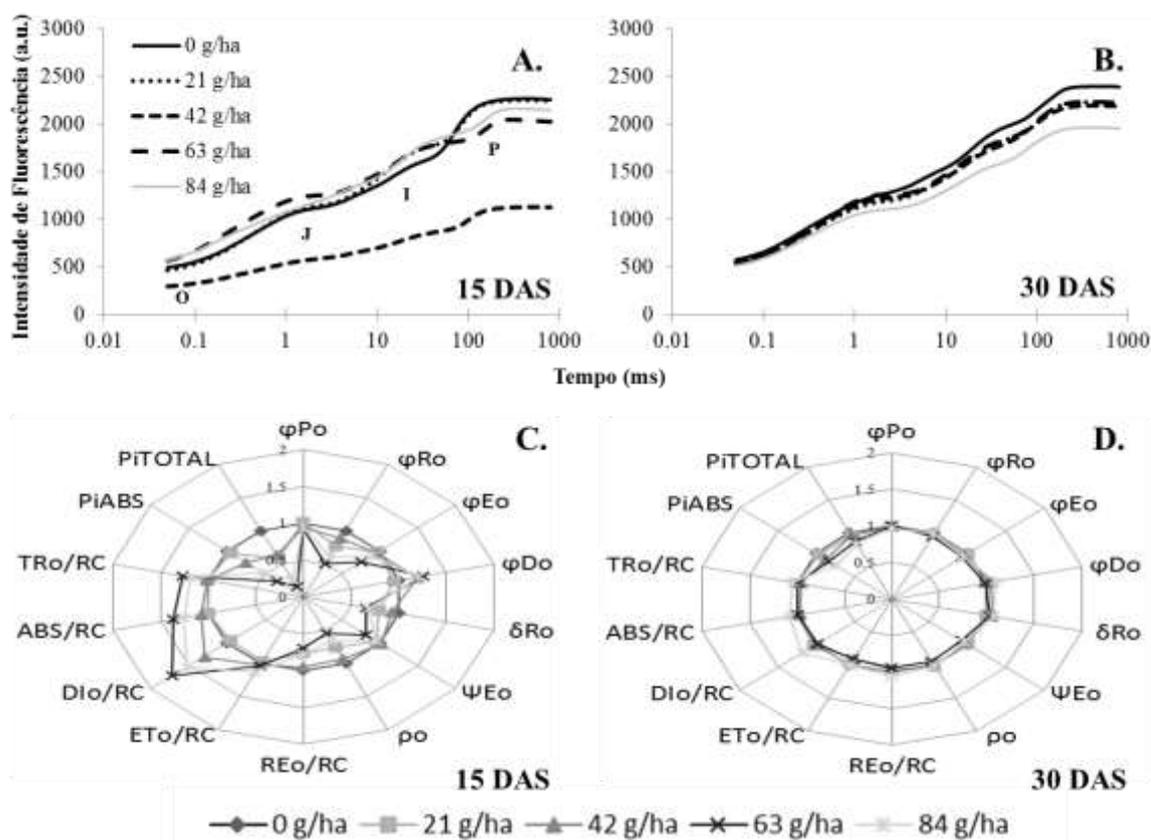


Figura 14. Intensidade de fluorescência da clorofila *a* obtida para o pepino em sucessão a *C. ensiformis*, aos 15 DAS (A) e 30 DAS (B). Parâmetros do Teste JIP obtidos da mesma plantas submetida a diferentes doses do herbicida diclosulam, expresso em relação aos valores do tratamento controle (valor transformado para 1), aos 15 DAS (C) e aos 30 DAS (D).

Tabela 29. Intensidades de fluorescência da clorofila *a* nos passos O (Fo), J (FJ), I (FI) e P (FM) obtidas aos 15 e 30 DAS do pepino em sucessão a *C. ensiformis*, submetido as doses do diclosulam.

Dose (g ha ⁻¹)	15 DAS				30 DAS			
	F _O	F _J	F _I	F _M	F _O	F _J	F _I	F _M
0	497 bc	1115 c	1600 ab	2269 a	577 ^{NS}	1263 ^{NS}	1882 ^{NS}	2396 ^{NS}
21	469 c	1140 bc	1743 a	2256 a	548	1189	1762	2237
42	516 b	1027 d	1472 b	1987 b	554	1217	1727	2195
63	565 a	1249 a	1739 a	2046 ab	530	1262	1779	2234
84	572 a	1175 b	1770 a	2161 ab	518	1103	1547	1965
C.V	3,0	1,8	4,7	4,6	8,4	8,3	9,6	9,9

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade.

Tabela 30. Parâmetros da Fluorescência transiente da clorofila *a* obtidos aos 15 DAS e 30 DAS do pepino em sucessão a *C. ensiformis* submetida as doses do herbicida diclosulam

Dose (g ha ⁻¹)	15 DAS					30 DAS				
	φP _O	P _{iABS}	P _{iTOTAL}	D _{Io} /RC	ABS/RC	φP _O	P _{iABS}	P _{iTOTAL}	D _{Io} /RC	ABS/RC
0	0,78 a	3,05 a	4,50 a	0,48 d	2,18 d	0,76 ^{NS}	2,08 ^{NS}	1,73 ^{NS}	0,61 ^{NS}	2,53 ^{NS}
21	0,79 a	2,94 a	2,59 b	0,46 d	2,19 cd	0,75	2,04	1,75	0,62	2,52
42	0,72 b	2,44 a	2,79 b	0,64 c	2,34 c	0,75	1,82	1,67	0,62	2,46
63	0,72 b	1,03 b	0,64 c	0,82 a	2,97 a	0,76	1,72	1,60	0,60	2,51
84	0,73 b	1,65 b	1,08 c	0,73 b	2,75 b	0,73	1,58	1,46	0,79	2,84
C.V	0,87	13,93	28,55	3,17	2,75	3,14	25,21	32,07	24,06	12,38

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade.

O pepino cultivado em sucessão à *C. cajan* apresentou alterações dos parâmetros fotossintéticos menos acentuadas aos 15 DAS que o pepino cultivado em sucessão à *C. ensiforme* nessa mesma data (Figura 15 e 14, respectivamente). Verifica-se na Figura 15A e na Tabela 31 apenas um aumento significativo da emissão de fluorescência no ponto O referente ao tratamento de 21 g ha⁻¹, no ponto J referente ao tratamento de 84 g ha⁻¹ e no ponto P referente ao tratamento de 63 g ha⁻¹. E na Figura 15C e Tabela 32 verifica-se acentuadas alterações apenas nos parâmetros P_{iABS} e P_{iTOTAL} e um aumento do D_{Io}/RC no tratamento de 63 g ha⁻¹ do herbicida.

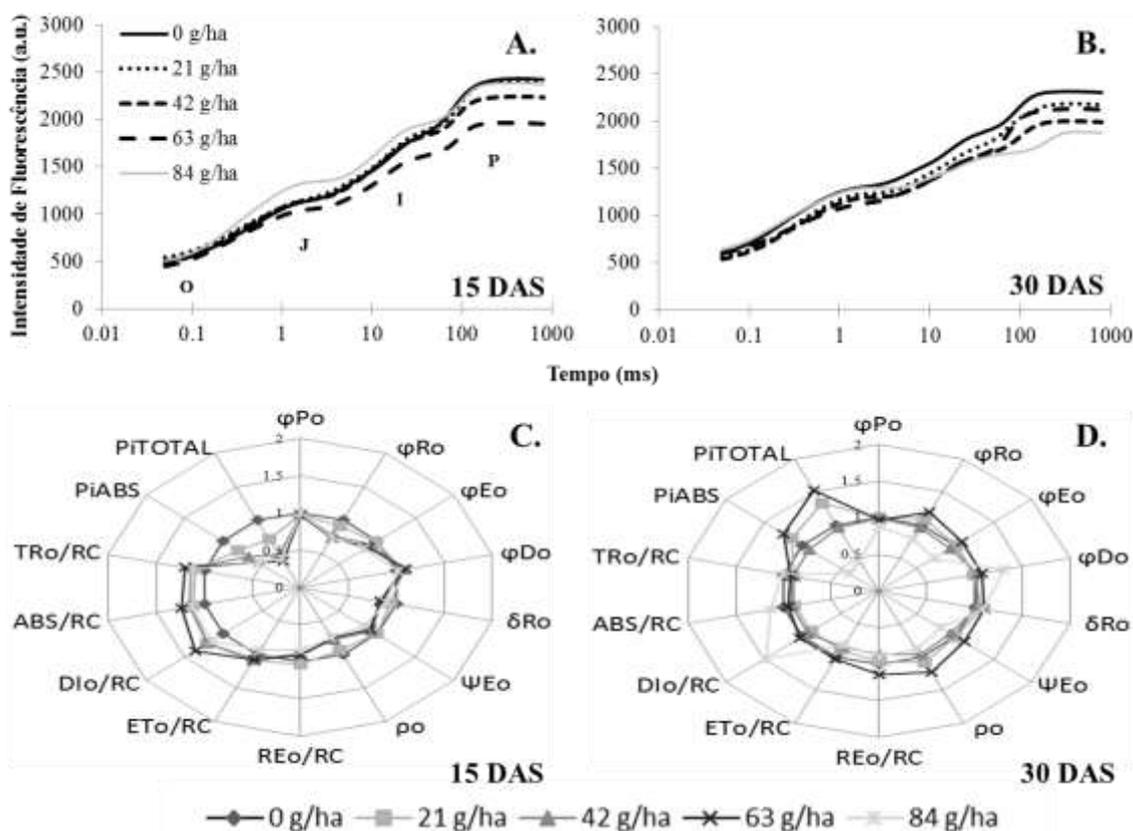


Figura 15. Intensidade de fluorescência da clorofila *a* obtida para o pepino em sucessão a *C. cajan*, aos 15 DAS (A) e 30 DAS (B). Parâmetros do Teste JIP obtidos da mesma plantas submetida a diferentes doses do herbicida diclosulam, expresso em relação aos valores do tratamento controle (valor transformado para 1), aos 15 DAS (C) e aos 45 DAS (D).

Tabela 31. Parâmetros da Fluorescência transiente da clorofila *a* obtidos aos 15 DAS e 30 DAS do pepino em sucessão a *C. cajan* submetida as doses do herbicida diclosulam.

Dose (g/ha)	15 DAS				30 DAS			
	F _O	F _J	F _I	F _M	F _O	F _J	F _I	F _M
0	509 ab	1145 bc	1801 ab	2434 a	607 ab	1308 ^{NS}	1844 a	2314 a
21	546 a	1170 b	1841 ab	2423 a	566 b	1230	1704 ab	2186 ab
42	491 ab	1151 bc	1797 ab	2249 ab	539 b	1193	1614 ab	2004 b
63	454 b	1052 c	1589 b	1968 b	600 ab	1129	1613 ab	2131 ab
84	505 ab	1339 a	1927 a	2386 a	646 a	1294	1581 b	1887 b
C.V	5,0	4,4	8,3	7,1	5,6	6,8	6,7	6,4

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade.

Tabela 32. Parâmetros da Fluorescência transiente da clorofila *a* obtidos aos 15 DAS e 30 DAS do pepino em sucessão a *C. cajan* submetida as doses do herbicida diclosulam.

Dose (g/ha)	15 DAS					30 DAS				
	φP _o	Pi _{ABS}	Pi _{TOTAL}	DI _o /RC	ABS/RC	φP _o	Pi _{ABS}	Pi _{TOTAL}	DI _o /RC	ABS/RC
0	0,79 ^{NS}	3,72 a	3,68 a	0,43 b	2,06 b	0,74 a	1,37 ab	1,21 b	0,77 b	2,95 b
21	0,77	2,99 ab	2,70 b	0,52 ab	1,31 ab	0,74 a	1,58 ab	1,61 a	0,69 b	2,63 c
42	0,78	2,48 bc	1,74 c	0,55 ab	2,45 a	0,73 a	1,27 b	1,19 b	0,74 b	2,73 bc
63	0,77	2,12 bc	1,47 c	0,59 a	2,55 a	0,72 a	1,71 a	1,83 a	0,79 b	2,82 bc
84	0,79	2,00 c	1,56 c	0,50 ab	2,34 ab	0,66 b	0,52 c	0,55 c	1,14 a	3,34 a
C.V	1,96	16,57	16,63	12,93	5,91	1,42	12,10	13,98	6,22	3,96

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade.

Aos 30 DAS, verifica-se que o pepino em sucessão à *C. cajan* que recebeu aplicação do herbicida até a dose de 63 g ha⁻¹ (dose máxima recomendada por bula), reestabeleceu sua atividade fotossintética. Apenas as plantas de pepino que recebem o tratamento de 84 g ha⁻¹ do diclosulam ainda apresenta diferença estatística significativa em todos os parâmetros do Teste-JIP, comparado ao controle.

O pepino cultivado em sucessão à *C. juncea* não apresentou alterações significativas em relação ao controle na emissão da fluorescência nos pontos O-J-I-P em nenhuma das datas de avaliação (15 e 30 DAS), conforme demonstrado nas Figuras 16A e 16B e na Tabela 33. Comparando ao controle, os únicos efeitos significativos do diclosulam no pepino em sucessão à *C. juncea* foram aos 15 DAS nos parâmetros Pi_{TOTAL} e ABS/RC do Teste-JIP, no qual reduziu no tratamento de 84 g ha⁻¹ e aumentou nos tratamentos de 42 e 84 g ha⁻¹, respectivamente (Figura 16C e Tabela 34).

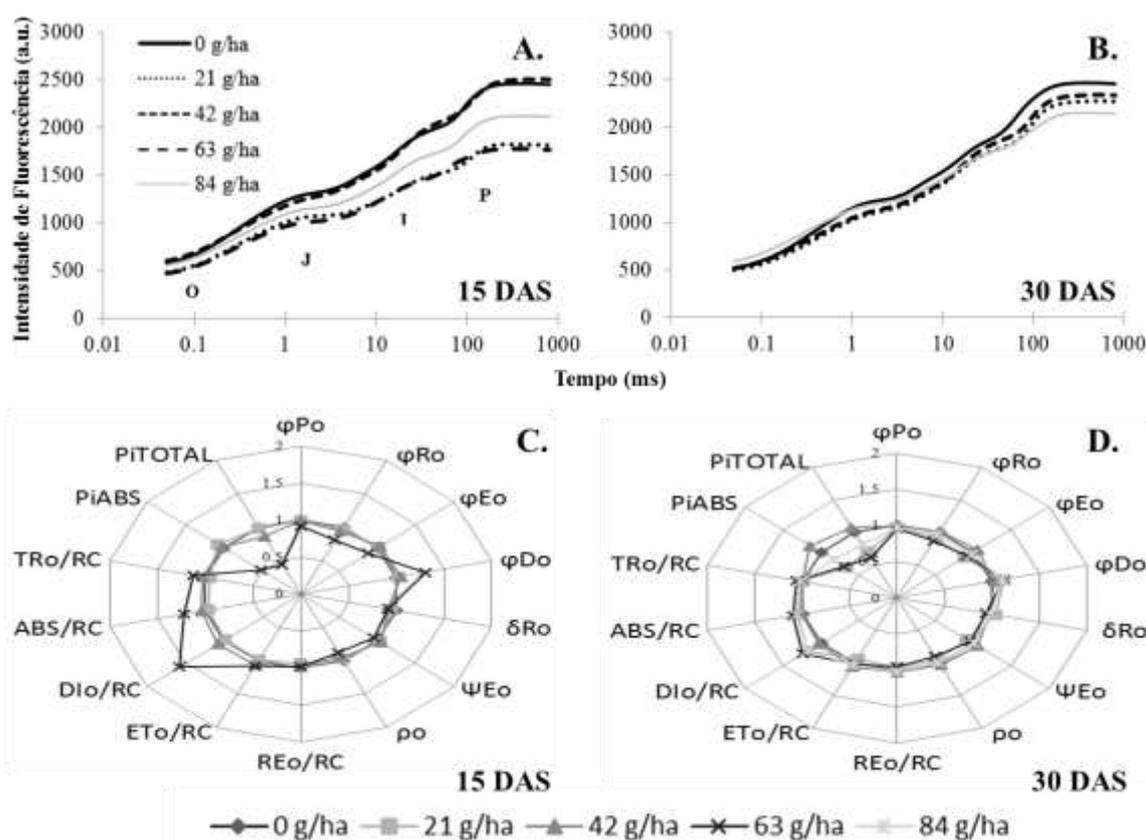


Figura 16. Intensidade de fluorescência da clorofila *a* obtida para o pepino em secessão a *C. juncea*, aos 15 DAS (A) e 30 DAS (B). Parâmetros do Teste JIP obtidos da mesma plantasubmetida a diferentes doses do herbicida diclosulam, expresso em relação aos valores do tratamento controle (valor transformado para 1), aos 15 DAS (C) e aos 30 DAS (D).

Tabela 33. Intensidades de fluorescência da clorofila *a* nos passos O (Fo), J (FJ), I (FI) e P (FM) obtidas aos 15 e 30 DAS do pepino em sucessão a *C. juncea*, submetido as doses do diclosulam.

Dose (gha ⁻¹)	15 DAS				30 DAS			
	F _O	F _J	F _I	F _M	F _O	F _J	F _I	F _M
0	525 ^{NS}	1231 ^{NS}	1851 ^{NS}	2468 ^{NS}	582 ^{NS}	1313 a	1923 ^{NS}	2464 ^{NS}
21	497	1113	1723	2275	482	1312 ab	1457	1823
42	521	1137	1795	2347	607	1275 ab	1949	2514
63	*	*	*	*	474	1018 b	1445	1785
84	596	1205	1721	2153	558	1158 ab	1676	2124
C.V	13,6	8,1	9,2	7,1	19,3	11,2	15,2	16,9

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade. *Não foi possível realizar a fluorescência dos tratamentos de 63 g ha⁻¹ aos 15 DAS, pois as folhas ainda estavam muito pequenas para prender os cliques do aparelho HanyPEA.

Tabela 34. Parâmetros da Fluorescência transiente da clorofila *a* obtidos aos 15 DAS e 30 DAS do pepino em sucessão a *C. juncea* submetida as doses do herbicida diclosulam.

Dose (gha ⁻¹)	15 DAS					30 DAS				
	φPo	Pi _{ABS}	Pi _{TOTAL}	DIo/RC	ABS/RC	φPo	Pi _{ABS}	Pi _{TOTAL}	DIo/RC	ABS/RC
0	0,79 ^{NS}	2,87 ^{NS}	3,03 a	0,48 ab	2,26 b	0,76 ^{NS}	2,00 ^{NS}	1,79 ^{NS}	0,61 ^{NS}	2,55 ^{NS}
21	0,78	3,10	2,81 ab	0,48 b	2,18 b	0,74	1,33	1,26	0,70	2,68
42	0,78	2,94	2,48 ab	0,53 ab	2,35ab	0,76	2,24	1,90	0,62	2,56
63	*	*	*	*	*	0,74	1,42	1,18	0,75	2,83
84	0,73	1,82	1,54 b	0,78 a	2,77 a	0,74	1,40	1,49	0,71	2,23
C.V	4,11	23,19	26,58	23,93	8,05	2,15	25,22	26,04	12,06	17,49

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade. *Não foi possível realizar a fluorescência dos tratamentos de 63 g ha⁻¹ aos 15 DAS, pois as folhas ainda estavam muito pequenas para prender os cliques do aparelho HanyPEA.

A diferença significativa observada na massa seca do pepino cultivado posteriormente a espécie *A. pintoi* é devida, provavelmente, à uma melhoria das características físico-químicas do solo executado de forma mais eficiente pelo *A. pintoi*, quando comparado com as outras espécies. O gênero *Arachis* realiza simbiose com diversas bactérias, como por exemplo as do gênero *Bradyrhizobium* e *Rhizobium*, nodulando e promovendo a fixação do nitrogênio atmosférico (MONTENEGRO & PINZÓN, 1997). Após o crescimento inicial, ocorre grande capacidade de nodulação nas raízes desse gênero, conforme foi observado durante a condução do experimento (Figura 17), fato que favorece a capacidade de fixação de nitrogênio por ação natural dessa espécie, sendo sua capacidade de fixação similar ou superior às espécies *Stylosantes* (SIMPSON et al., 1994; THOMAS, 1994). Sendo assim, a melhoria do solo promovida pelo *A. pintoi* que foi verificada nos resultados, provavelmente, é decorrente de uma fixação de nitrogênio atmosférico altamente eficiente.



Figura 17. Nodulação da espécie *A. pintoi* observada no experimento.

Ao observar a redução significativa dos valores de massa seca do pepino em sucessão à *A. pintoi* é possível constatar que a presença dessa espécie não é capaz de realizar a fitorremediação das moléculas do diclosulam no solo. Senseman e colaboradores (2007) salientam que a molécula do diclosulam também é registrada nos Estados Unidos da América (EUA) para o controle de plantas daninhas na cultura do amendoim (*Arachis hypogaea* L.), sendo também aplicado em pré-emergência. E em algumas áreas, os cultivares de amendoim mostraram excelente tolerância ao diclosulam (BAILEY e WILCUT, 2002; MAIN et al., 2002; PRICE et al., 2002; BAILEY et al., 2000, 1999). Diante disso, constata-se que as espécies do gênero *Arachis* apresentam elevada tolerância à molécula do diclosulam. Entretanto, os resultados desse trabalho demonstraram que, apesar de extremamente tolerante ao herbicida, a *A. pintoi* não é capaz de fitorremediar o herbicida diclosulam no solo.

Por outro lado, não houve diferença entre o controle e as doses avaliadas para as variáveis biométricas do pepino em sucessão à *C. cajan*, *C. ensiformes* e *C. juncea*. Nessas situações, as avaliações da fluorescência transiente da clorofila *a* mostram-se mais sensíveis à detecção do estresse na planta, tendo sido utilizada para a seleção, dentre essas três espécies vegetais, das que apresentaram maior desempenho à fitorremediação do diclosulam no solo, juntamente com a identificação das características desejáveis à fitorremediação.

O pepino cultivado em sucessão à *C. cajan* apresentou alterações dos seus parâmetros fotossintéticos na primeira avaliação. Entretanto, na segunda avaliação, apenas aquele que recebeu a dose mais elevada do diclosulam ainda apresentou diferença estatística significativa quando comparado ao controle. Salienta-se que, essa dose representa, possivelmente, uma quantidade de herbicida improvável de ser encontrada disponível no solo no momento do cultivo das fitorremediadoras, levando-se em conta as perdas a que este herbicida está sujeito em campo. Isto porque, o diclosulam sofre degradação microbiana, além de, com o tempo, tornar-se menos biodisponível às plantas devido ao aumento do seu potencial de sorção no solo (YODER et al., 2000).

Além de sua capacidade de fitorremediar solos com resíduo do diclosulam, a *C. cajan* é uma leguminosa que tem como forte característica o sistema radicular agressivo e robusto que cresce em profundidade, reciclando nutrientes e descompactando solos, fazendo uma subsolagem “biológica” (ALVARENGA et al., 1995), sendo essa característica extremamente benéfica para reverter a compactação de solo promovida no sistema de plantio direto. E, por ser

uma leguminosa utilizada na adubação verde, essa espécie tem a capacidade de fixar nitrogênio da atmosfera no solo e elevada produção de biomassa, o que contribui para tornar o sistema mais eficiente e sustentável (BARRETOS e FERNANDES, 2001).

As alterações das atividades fotossintéticas na primeira avaliação do pepino cultivado em sucessão à espécie *C. ensiforme* foram mais acentuadas que a do pepino em sucessão à *C. cajan*, apesar de na segunda avaliação ele já ter reestabelecido todo o seu metabolismo fotossintético. Todavia, apesar da espécie *C. ensiformis* ser uma leguminosa utilizada na adubação verde, ela é suscetível ao nematoide de galhas *Meloidogyne* sp., devendo-se evitar o seu plantio sucessivo no mesmo local (LOPES, 1998). E ainda, Alvarenga e colaboradores (1995) demonstraram que essa espécie apresenta um rápido estabelecimento e grande porcentagem de cobertura do solo, demonstrando-se uma cultura agressiva com potencialidade de competir com a cultura principal.

O pepino cultivado em sucessão à *C. juncea* foi o que apresentou menores alterações fotossintéticas. Assim sendo, demonstra o elevado potencial fitorremediador da espécie *C. juncea* em solos com resíduo do herbicida diclosulam. Além de promover reduções na disponibilidade do herbicida no solo, essa espécie pode ser utilizada como cultura de cobertura em rotação com várias espécies vegetais, provendo benefícios como a fixação de nitrogênio, controle de plantas daninhas e supressão de nematóides (BRAZ et al., 2016). A *C. juncea* apresenta elevada produção de biomassa com crescimento rápido e vigoroso. Essa espécie também é má hospedeira de muitos nematóides parasitas de plantas, incluindo os do gênero *Meloidogyne* (WANG et al., 2001, 2002), pois quando incorporados no solo, os resíduos da desta espécie liberam no solo compostos tóxicos para os nematóides (WANG et al., 2004; HINDS et al., 2013).

Mediante o exposto, foi possível verificar que a presença das espécies vegetais *C. cajan*, *C. juncea* e *C. ensiformis* estudadas causam impacto positivo na dissipação/degradação de moléculas herbicidas no solo.

Em vista do exposto, os resultados obtidos no presente trabalho podem ser explicados pela capacidade que as plantas fitorremediadoras estudadas possuem em metabolizar (fitodegradação) o herbicida diclosulam até compostos não tóxicos (ou menos tóxicos) à planta e ao ambiente, ou simplesmente possuem a habilidade de compartimentalizar as moléculas do agrotóxico. Como a massa vegetal das plantas anteriormente cultivada foi retirada, junto pode ter sido retirado o herbicida que estava compartimentalizado em alguns órgãos de reserva, permitindo assim o desenvolvimento normal da planta de pepino cultivada em sucessão. Salt et al. (1998), afirma que a maioria dos compostos orgânicos parece sofrer algum grau de transformação nas células das plantas antes de serem isolados em vacúolos ou ligarem-se a estruturas celulares insolúveis, como a lignina.

Outra possibilidade é a fitoestimulação, na qual há o estímulo à atividade microbiana da rizosfera, promovido pela liberação de exsudatos radiculares, que atuam degradando o composto no solo, o que caracteriza, em algumas plantas a aptidão para a biorremediação de compostos tóxicos (ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000; SCRAMIN et al., 2001).

Souto e colaboradores (2015) verificaram que as espécies *C. juncea*, *C. ensiformis*, *Stizolobium aterrimum*, *Vicia sativa*, *Raphanus sativa* e *Triticum aestivum* são capazes de fitorremediar solos contaminados com imazetapir+imazapique, ambos herbicidas inibidores de ALS, como o diclosulam. Pires e colaboradores (2005) verificaram, através da taxa de evolução do CO₂, que a espécie *C. ensiformis*, seguida da espécie *Estizolobium aterrimum*, apresentaram maior produção de C-CO₂ no solo rizosférico do que às espécies *Pennisetum glaucum* e *Estizolobium deeringianum* quando cultivadas em solo contaminado com o herbicida tebuthiuron, também indicando que o tebuthiuron está sendo degradado pelo mecanismo de fitoestimulação executado por essas espécies. Entretanto, estudos indicam que *S. aterrimum* e *C. ensiformis* são eficientes na descontaminação de áreas tratadas com os herbicidas

trifloxysulfuron-sódio e tebuthiuron e que provável mecanismo envolvido na descontaminação é a interação da fitoestimulação e fitodegradação (PROCÓPIO et al., 2005).

Diante do exposto, faz-se necessário identificar o mecanismo de fitorremediação empregado pelas espécies que mais se destacaram nesse experimento, a *C. juncea* e a *C. cajan*, com a finalidade de possibilitar o emprego da técnica de fitorremediação num contexto controlado e seguro.

4.3 Experimento III

De acordo com os resultados apresentados no Experimento I e no Experimento II, as espécies selecionadas para serem avaliadas em relação a absorção e translocação do herbicida diclosulam foram a *Cajanus cajan* e a *Crotalaria juncea*.

4.3.1 *Cajanus cajan*

As radioimagens e suas respectivas imagens digitais das plantas de *C. cajan* autorradiografadas aos 7 e 14 DAE estão ilustradas na Figura 18. Toda a região escurecida das radioimagens, isto é, os contornos visíveis, indicam a presença do herbicida radiomarcado e/ou seus metabólitos. Pode-se observar que, aos 7 DAE, ocorre uma concentração da radiação no coleto da planta, e, aos 14 DAE, essa região do coleto se torna mais escurecida, indicando que, após absorvido pelas raízes ocorre um obstáculo à translocação desse herbicida para a parte aérea da planta, tendo o mesmo ficado concentrado nessa região da planta.

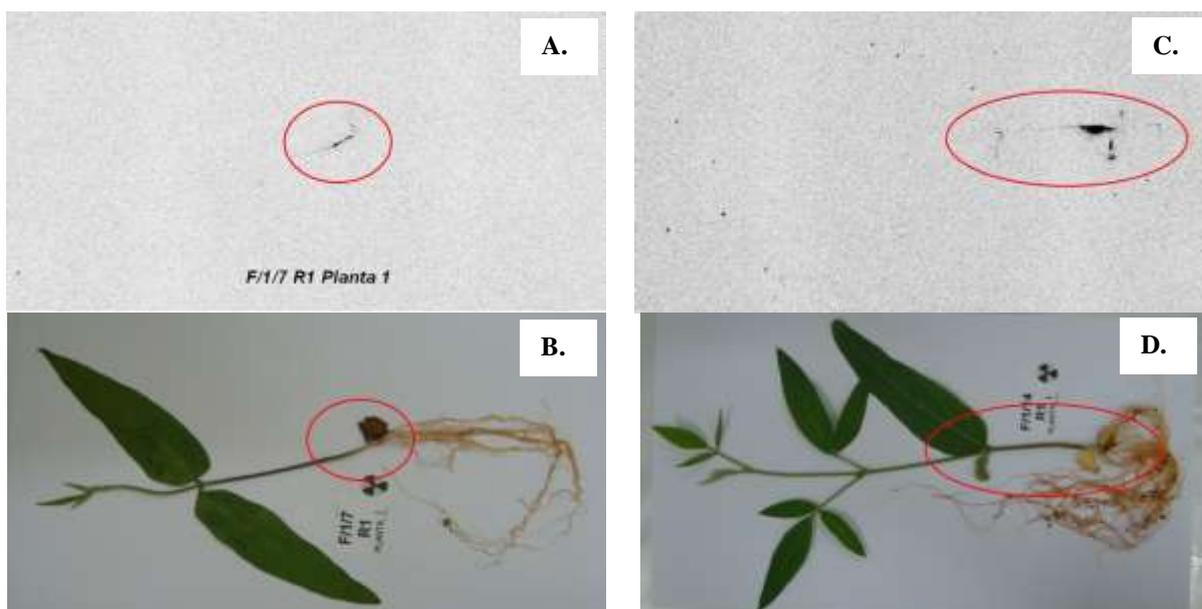


Figura 18. Radioimagem indicando a absorção e translocação do diclosulam na *C.cajan* aos 7 DAE (A) e 14 DAE (C). Correspondentes imagens digitais da *C.cajan* aos 7 DAE (B) e 14 DAE (D).

Também pode-se verificar, corroborado pelos dados da Tabela 35, como o diclosulam foi translocado dentro da planta, que apesar do herbicida ter ficado concentrado entre caule e raiz, uma pequena fração dele é translocado para a parte aérea da planta. Entre o sétimo e o décimo quarto dia após a emergência a quantidade de radiação acumulada nas folhas aumentaram 4,7 vezes. Florido e colaboradores (2014) também observaram esse mesmo comportamento na *Canavalia ensiformis* e na *Mucuna cinerea* quando cultivados em solo com resíduo do herbicida imazaquin (também inibidor da enzima ALS). Ainda, de acordo com Florido e colaboradores (2014), o aumento do herbicida encontrado na folha, ao longo do ciclo de vida da planta, comprova que a translocação do herbicida para a parte aérea tende a aumentar nas plantas durante os estádios fenológicos mais desenvolvidos.

Tabela 35. Translocação do herbicida diclosulam no interior da espécie *C. cajan* aos 7 e 14 DAE.

Tratamento	Radiação Acumulada (dpm)				Translocação (%)		
	Total	Folha	Caule	Raiz	Folha	Caule	Raiz
7 DAE	1649,21	150,88	849,38	648,95	9,15	51,50	39,35
14 DAE	3715,49	709,05	1726,87	1279,57	19,08	46,48	34,44

De todo o herbicida aplicado, pode-se observar na Tabela 36, que a *C. cajan* absorveu 0,40% e 1,02% aos 7 e 14 DAE, respectivamente. Assim, pode-se constatar que a planta continua a absorver o diclosulam durante seu crescimento, tendo mais que dobrado a quantidade de herbicida absorvido durante 7 dias. Vale salientar que, apesar do *C. cajan* ter sido cultivado apenas até o décimo quarto dia após a emergência nesse experimento, em condições de campo ele pode ser cultivado por até dois meses (período da entressafra).

Tabela 36. Radioatividade recuperada do diclosulam, aos 7 e 14 DAE da espécie *C. cajan*.

Tratamento	Radioatividade da solução de lavagem dos vasos (%)	Radioatividade recuperada no solo (%)	Radioatividade recuperada pela planta (%)	Total de radioatividade recuperada (%)
7 DAE	3,73	95,88	0,40	100,00
14 DAE	4,63	94,36	1,02	100,00

Apesar de grande parte da radioatividade recuperada permanecer no solo, valores semelhantes de recuperação no solo foram encontrados por Florido e colaboradores (2014), demonstrando que, quando o herbicida é aplicado no solo, comumente obtêm-se altos valores de recuperação nesse meio. Rey-Caballero e colaboradores (2016) verificaram uma recuperação de até 76,98% na papoula (*Papaver rhoeas*) após 3 dias de aplicação do herbicida 2,4D. Contudo, essa alta porcentagem de recuperação da radioatividade na planta é devido a metodologia utilizada pelos autores consistir na aplicação do herbicida diretamente nas folhas. Wall e colaboradores (1993), investigaram o efeito da aplicação do imazaquin radiomarcado em pré-plantio incorporado (PPI) e diretamente na folha na absorção desse herbicida pelo tabaco. Eles demonstraram que, quando esse herbicida é aplicado no solo, a recuperação pela planta do imazaquin é de 7% a 8%. Todavia, quando o herbicida é aplicado na folha, recuperou-se na planta até 90% do herbicida aplicado.

4.3.2 *Crotalaria juncea*

A Figura 18 apresenta as radioimagens e respectivas imagens digitais das plantas da *C. juncea* que foram cultivadas em solo com resíduo do diclosulam. Observa-se nessa figura que, assim como no *C. cajan*, ocorre um maior escurecimento na região do coleto da planta, indicando uma maior concentração do herbicida nessa área. Entretanto, verifica-se uma maior translocação do diclosulam para as folhas cotiledonares, quando comparada com a *C. cajan*, podendo-se observar um escurecimento na região dos cotilédones presentes na radioimagem (Figura 19A e 19C).

Verifica-se também que, aos 14 DAE, o contorno das folhas cotiledonares da *C. juncea* ficam mais escurecidos, indicando um aumento da translocação do diclosulam para essa região ao longo dos 7 dias. Esses resultados estão de acordo com Salihu e colaboradores (1998) que demonstraram que a translocação do herbicida absorvido aumenta com o tempo. Além disso, Pester e colaboradores (2001) salientam que após absorvido, a translocação de um herbicida pode ser afetada por diversos fatores, com o estágio de crescimento, a taxa de fotossíntese e questões ambientais.

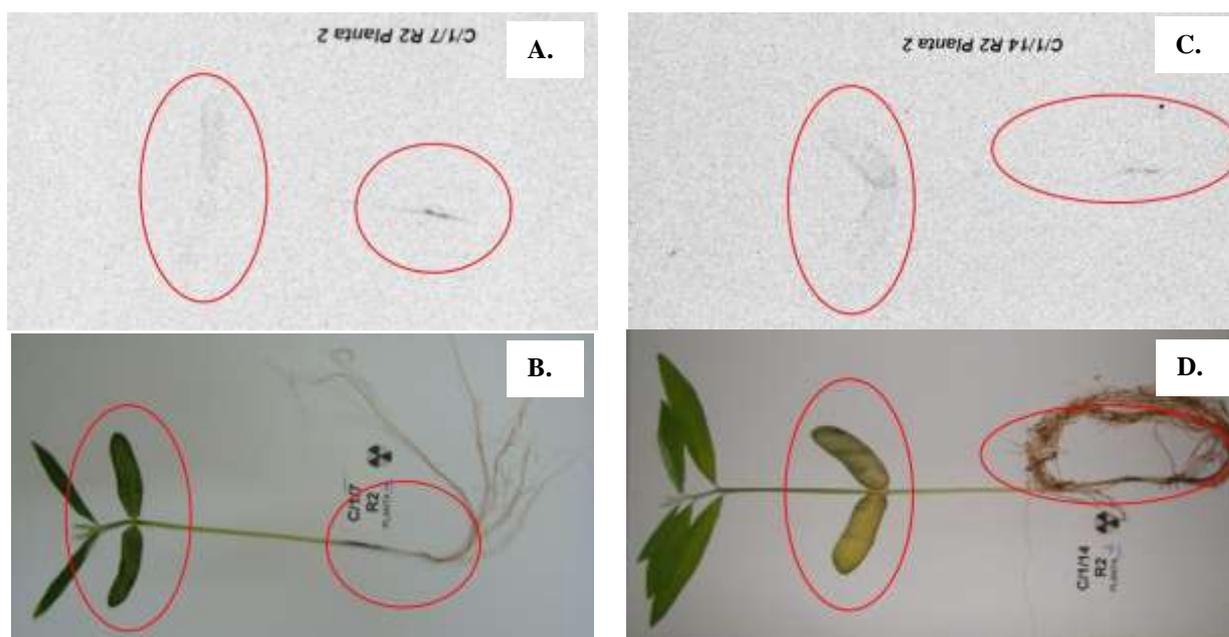


Figura 19. Radioimagem indicando a absorção e translocação do diclosulam na *C. juncea* aos 7 DAE (A) e 14 DAE (C). Correspondentes imagens digitais da *C. juncea* aos 7 DAE (B) e 14 DAE (D).

Os dados de translocação apresentados na Tabela 37 corroboram com as observações anteriores. Pode-se verificar, em valores absolutos, uma maior translocação do diclosulam para a parte aérea na *C. juncea* quando comparado com a *C. cajan*. De todo o herbicida absorvida pela *C. juncea*, mais de 80% encontra-se nas folhas e no caule. Entretanto, apesar de apresentar maior translocação, pode-se observar na Tabela 38 que a Crotalária não continua a absorver o diclosulam após os 7 DAE, tendo a radioatividade recuperada pela planta permanecido praticamente constante.

Tabela 37. Translocação do herbicida diclosulam na *C. juncea* aos 7 e 14 DAE.

Tatamento	Radiação Acumulada (dpm)				Translocação (%)		
	Total	Folha	Caule	Raiz	Folha	Caule	Raiz
7 DAE	1215,90	374,44	676,31	165,15	30,80	55,62	13,58
14 DAE	1353,01	448,00	667,01	238,00	33,11	49,30	17,59

Tabela 38. Radioatividade recuperada do diclosulam nas duas épocas de avaliação da *C. juncea*, aos 7 e 14 DAE.

Tratamento	Radioatividade da solução de lavagem dos vasos (%)	Radioatividade recuperada no solo (%)	Radioatividade recuperada pela planta (%)	Total de radioatividade recuperada (%)
7 DAE	4,57	95,09	0,34	100,00
14 DAE	5,36	94,29	0,35	100,00

O decaimento radioativo do carbono radiomarcado presente na molécula do diclosulam produz, sobre um filme de raio-x, a elucidação do local em que os átomos do herbicida radiomarcado e seus metabólitos estão na planta (NANDULA E VENCILL; 2015). Por conseguinte, os locais escurecidos das radioimagens indicam a presença do diclosulam e/ou seus metabólitos. A partir das radioimagens da *C. cajan* e *C. juncea* constata-se que, apesar do

diclosulam presente no solo ter sido absorvido através das raízes dessas plantas, o mesmo não ficou absorvido nessas estruturas, tendo sido translocado até o coleto da planta pelo xilema.

Diferentes trabalhos demonstram a translocação de herbicidas ao longo de toda a planta. Nandula e colaboradores (2013) exibiram a translocação do glifosato em toda a planta *Amaranthus tuberculatus*. Wehtje e colaboradores (2007) apresentaram a translocação do herbicida atrazina por toda a planta daninha *Jacquemontia tamnifolia*. E ainda, Florido e colaboradores (2014) demonstraram a translocação do imazaquin, um herbicida que, assim como o diclosulam, também é inibidor da enzima ALS, por todo o *C. ensiformis*, sendo também aplicado em pré-emergência. Entretanto, não foi encontrada nenhuma bibliografia que demonstre a translocação e concentração do herbicida no coleto de plantas que absorvem herbicidas radiomarcados.

Segundo Senseman e colaboradores (2007), um dos mecanismos de tolerância presentes na soja e no amendoim que os conferem elevada tolerância ao diclosulam é a limitação à translocação desse herbicida para o seu sítio de ação, isto é, para o meristema apical da planta. A enzima ALS está presente nos cloroplastos, porém, essa enzima é ativa apenas em regiões jovens da planta, onde predominam tecidos meristemáticos. As radioimagens do *C. cajan* e *C. juncea* demonstram esse mesmo comportamento, evidenciando um impedimento da translocação do diclosulam para a parte aérea da planta, onde localiza-se o meristema apical. Em vista disso, pode-se concluir que existe uma barreira anatômica/metabólica de translocação do diclosulam no coleto dessas espécies, o que lhes confere tolerância à essa molécula herbicida. E ainda, a ação fitorremediadora exercida por essas espécies é, provavelmente, através da fitoestimulação, tendo em vista que no balanço de massa não houve redução da quantidade do herbicida no sistema solo-planta, logo, o diclosulam não foi fitovolatilizado.

5 CONCLUSÕES

- Das espécies avaliadas nesse trabalho, as espécies *B. brizantha* e *B. decumbens* não apresentam tolerância ao herbicida diclosulam, não apresentando potencial para fitorremediar esse herbicida.
 - A *A. pintoii*, apesar de ser muito tolerante ao diclosulam, não é capaz de fitorremedia-lo.
 - As espécies que apresentam maior poder fitorremediador do diclosulam são a *C. cajan* e *C. juncea*, existindo nelas uma barreira à translocação do herbicida no coleto, o que lhes confere elevada tolerância à essa molécula. O mecanismo de fitorremediação possivelmente empregado por elas é a fitoestimulação.

6 RECOMENDAÇÕES PARA ESTUDOS FUTUROS

Diante do exposto no presente trabalho, constata-se que as espécies *C. cajan* e *C. juncea* absorvem e fitorremediam o diclosulam. Contudo, estudos futuros são necessários para comprovar que o mecanismo de fitorremediação realizado por essas espécies é a fitoestimulação. Para isso, a biodegradação do diclosulam no solo rizosférico dessas espécies pode ser avaliada através da quantificação da produção de C-CO₂ do solo e da quantificação da degradação do herbicida no solo por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa. Estudo semelhante foi realizado por Souto e colaboradores (2013) para avaliar a biodegradação do imazetapir e imazapique em solos rizosféricos de seis espécies vegetais distintas.

Além disso, deve-se verificar se a quantidade de herbicida fitorremediado pela *C. cajan* e *C. juncea* foi suficiente para não causar injúria nas culturas de sucessão. Portanto, maiores estudos são necessários para que a fitorremediação do diclosulam seja aplicada em um contexto de campo com estratégias cada vez mais eficientes e de forma segura.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V.; V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R. **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 1. p. 299-352, 2000.
- ALCARENGA, R.C.; COSTA, L.M.; MOURA FILHO, W.; REGAZZI, A.J. Características de alguns adubos verdes de interesse para a conservação e recuperação de solos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, p. 175-185, 1995.
- APPLEBY, A.P.; DAWSON, J.H. Microbial and non-microbial breakdown of herbicides in soil. In: **Intensive course on the activity, selectivity, behavior, and fate of herbicides in plants and soils**. West Lafayette, Indiana, USA. West Lafayette: Purdue University. Departments of Horticulture, Agronomy, Botany and Plant Pathology, and Forestry and Natural Resources. p.446-462, 1994.
- ASSIS, R.L.; PROCÓPIO, S.O.; CARMO, M.L.; PIRES, F.R.; FILHO, A.C.; BRAZ, G.B.P. Fitorremediação de solo contaminado com o herbicida picloram por plantas de capim pé de galinha gigante. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, n. 11, p. 1131-1135, 2010.
- AZEVEDO NETO A.D.; PRISCO J.T.; ENÉAS-FILHO J.; ABREU C.E.B.; GOMES-FILHO E. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation inleaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. **Environmental and Experimental Botany**, 56:87–94, 2006.
- BAILEY, W.A.; WILCUT, J.W.; JORDAN, D.L.; SWANN, C.W.; LANGSTON, V.B. Response o fpeanut (*Arachis hypogaea*) and selectedweeds to diclosulam. **Weed Technology**, v. 13, p. 771–776, 1999.
- BAILEY, W.A.; WILCUT, J.W.; SPEARS, J.F.; ISLEIB, T.G.; LANGSTON, V.B. Diclosulam does not influence yields in eight Virginiamarket-type peanut (*Arachis hypogaea*) cultivars. **Weed Technology**, v. 14, p. 402–405, 2000.
- BAILEY, W.A.; WILCUT, J.W. Diclosulam systems for weedmanagement in peanut (*Arachis hypogaea*L). **Weed Technology**, v. 16, p. 807–814,2002.
- BARAC, T.; TAGHAVI, S.; BORREMANS, B.; PROVOOST, A.; OEYEN, L.; COLPAERT, J.V.; VANGRONVELD, J.; LELIE, D.V.D. Engineered endophytic bacteria improve phytoremediation of water-soluble, volatile, organic pollutants. **Nature Biotechnology**, v. 22, p. 583–88, 2004.
- BARRETO, A.C.; FEERNANDES, M.F. **Recomendações técnicas para o uso da adubação verde em solos de tabuleiros costeiros**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2001. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Circular Técnica, 19).
- BATTAGLIN, W.A.; FURLONG, E.T.; BURKHARDT, M.R.; PETER, C.J. Occurrence of sulfonylurea, sulfonamide, imidazolinone, and other herbicides in rives, reservoirs and ground water in the Midwestern United States, 1998. **The Science of the Environment**, v. 248, p. 123-133, 2000.

BEHKI, R. M.; KHAN, S. U. Degradation of atrazine by *Pseudomonas*: N-dealkylation and dehalogenation of atrazine and its metabolites. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.34, n.4, p.746-749, 1986.

BEHKI, R. M.; TOPP, E.; DICK, W.; GERMON, P. Metabolism of the herbicide atrazine by *Rhodococcus* strains. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.59, n.6, p.1955-1959, 1993.

BERNARDES, L.F. **Semeadura de capim-braquiária em pós- emergência da cultura do milho para obtenção de cobertura morta em sistema de plantio direto**. 2003. 42f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, 2003.

BIELMET, S.; KEETMAN, U.; ALBRECHT, G. Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings. **Plant Physiology**, v. 116, n. 2, p. 651-658, 1998.

BLACK, H. Absorbing Possibilities: Phytoremediation. **Environmental Health Perspectives**, v. 103, 1995.

BRADFORD M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRAGA, R.R.; SANTOS, J.B.; ZANUNCIO, J.C.; BIBIANO, C.S.; FERREIRA, E.A.; OLIVEIRA, M.C.; SILVA, D.V.; SERRÃO, J.E. Effect of growing *Brachiaria brizantha* on phytoremediation of picloram under diferente pH environments. **Ecological Engineering**, v. 94, p. 102-106, 2016.

BRAZ, G.B.P.; OLIVEIRA JR., R.S.; CROW, W.T.; CHASE, C.A. Susceptibility of diferente accessions of *Crotalaria juncea* ro *Belonolaimus longicaudatu*. **Nematropica**, v. 46, n. 1, 2016.

BRIGGS, G. G.; BROMILOW, R. H.; EVANS, A. A. Relationship between lipophilicity and root uptake and translocation of non-ionised chemicals by Barley. **Pesticide Science**, v. 13, p. 495-504, 1982.

BUONASERA, K.; LAMBREVA, M.; REA, G; TOULOUPAKIS, E.; GIARDI, M. T. Technological applications of chlorophyll a fluorescence for the assessment of environmental pollutants. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 401, p. 1139- 1151, 2011.

BURKENJG. Uptake and metabolismo of organic compounds: green-liver model. In **Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants**, ed. SC McCutcheon, JLSchnoor, pp. 59-84. New York: Wiley. 2003.

BURKEN, J.G.; SCHONOR, J.L. Uptake and metabolismo of atrazine by poplar trees. **Environmental Science Technology**, v. 31, p. 1399-1406, 1997.

CALVET, R. Adsorption of organic chemical in soils. **Environ Health Perspect**, v. 83, p. 145-177, 1989

CARMO, M.L.; PROCOPIO, S.O.; PIRES, F.R.; CARGNELUTTI FILHO, A.; BARROSO, A.L.L.; SILVA, G.P.; CARMO, E.L.; BRAZ, G.B.P.; SILVA, W.F.P.; BRAZ, A.J.B.P.;

PACHECO, L.P. Seleção de plantas para fitorremediação de solos contaminados com picloram. **Planta Daninha**, v. 26, p. 301-313, 2008.

CHRISPEELS MJ. The endoplasmic reticulum. In: **The Biochemistry of Plants: a Comprehensive Treatise** (Tolbert NE, ed). New York:Academic Press, 389–412, 1980.

COLEMAN JOD, BLAKE-KALFF MMA, DAVIES TGE. Detoxification of xenobiotics by plants: chemical modification and vacuolar compartmentation. **TrendsPlantScience**, v. 2, p. 144–51, 1997.

CORSEUIL, H. X.; MORENO, F. N. Phytoremediation potential of willow trees for aquifers contaminated with ethanol-blended gasoline. **Water Research**, v. 35, p. 3013–3017, 2001.

CRAFTS, A. S.; YAMAGUCHI, S. The autoradiography of plant materials. **California Agricultural Experiment Station Manual**, v. 35, n. 1, p. 143, 1964.

CUNNINGHAM, S.D.; ANDERSON, T.A.; SCHWAB, A.P.; HSU, F.C. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. **Advances in Agronomy**, v.56, 1996.

DALTON D.A., BONIFACE C., TURNER Z., LINDAHL A., KIM H.J, JELINEK L., GOVINDARAJULU M., FINGER R.E, TAYLOR C.G. Physiological roles of glutathione s-transferases in soybean root nodules. **Plant Physiology**, v. 150, p. 521–530, 2009.

DAN, H.A., DAN, L.G.M.; BARROSO, A.L.L.; PROCÓPIO, S.O.; OLIVEIRA JR., R.S.; SILVA, A.G.; LIMA, M.D.B.; FELDKIRCHER, C. Residual activity of herbicides used in soybean agriculture on grain sorghum crop succession. **Planta Daninha**, v. 28, p. 1087-1095, 2010.

DAN, H.A.; DAN, L.G.M.; BARROSO, A.L.L.; PROCÓPIO, S.O.; OLIVEIRA JR., R.S.; ASSIS, R.L.; SILVA, A.G.; FELDKIRCHER, C. Atividade residual de herbicidas pré-emergentes aplicados na cultura da soja sobre o milho cultivado em sucessão. **Planta Daninha**, v. 29, n. 2, p. 437-445, 2011.

DAN, H. A.; DAN, L. G. M.; BARROSO, A. L. L.; OLIVEIRA NETO, A.M.; GRERRA, N. Resíduo de herbicidas utilizados na cultura da soja sobre o milho cultivado em sucessão. **Revista Caatinga**, v. 25, p. 86-91, 2012.

D'ANTONINO, L.; SILVA, A.A.; FERREIRA, L.R.; CECON, P.R.; FRANÇA, A.C.; SILVA, G.R. Lixiviação do picloram em argissolo vermelho-amarelo e latossolo vermelho-amarelo com diferentes valores de pH. **Planta Daninha**, v. 27, n. 3, p. 589-600, 2009.

DIETZ, A.C.; SCHNOOR, J.L. Advances in phytoremediation. **Environmental Health Perspectives**, v. 109, p. 163-168, 2001.

FAGERIA, N.K.; STONE, L.F. Physical, chemical, and biological changes in the rizosphere and nutriente availability. **Journal of Plant Nutrition**, v. 29, p. 1327-1356, 2006.

FAY, E.F.; SILVA, C.M.M.S. Comportamento e destino de agrotóxicos no ambiente solo-água. In: SILVA, C.M.M.S; FAY, E.F (Ed.) **Agrotóxicos e ambiente**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 107-131, 2004.

- FLORIDO, F.G.; MONQUERO, P.A.; DIAS, A.C.R.; TORNISIELO, V.L. The absorption and translocation of imazaquin in green manures. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 36, n. 3, p. 291-300, 2014.
- FOYER, C.H.; THEODOULOU, F.L.; DELROT, S. The function of inter-and intracellular glutathione transport system in plants. **Trends in Plant Science**, v. 6, n. 10, p. 486 – 492, 2001.
- GALON, L.; LIMA, A.M.; GUIMARÃES, S.; BELARMINO, J.G.; BURG, G.M.; CONCENÇO, G.; BASTIANI, M.O.; BEUTLER, A.N.; ZANDONA, R.R.; RADÜNZ, A.L. Potential of plant species for bioremediation of soils applied with Imidazolinone Herbicides. **Planta Daninha**, v. 32, n. 4, p. 719-726, 2014.
- GIANNOPOLITIS, C.N.; REIS, S.K. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, p. 309–314, 1977.
- GIORI, F.G.; TORNISIELO, V.L.; REGITANO, J.B. The role of sugarcane residues in the sorption and leaching of herbicides in two tropical soils. **Water Air Soil Pollutant**, v. 1935, p. 2-9, 2014.
- GONÇALVES, J. F. C.; SANTOS JR., U. M. Utilization of the chlorophyll a fluorescence technique as a tool for selecting tolerant species to environments of high irradiance. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v. 17, p. 307-313, 2005.
- GRIBBLE, G. W. Naturally Occurring Organohalogen Compounds. **Accounts of Chemical Research**, v. 31, p. 141-152, 1998.
- HALE, K.L.; MCGRATH, S.; LOMBI, E.; STACK, S.; TERRY, N.; PICKERING, I.J.; GEORGE, G.N.; PILON-SMITS, E.A. Molybdenum sequestration in Brassica: a role for anthocyanins? **Plant Physiology**, v. 126, p. 1391–402, 2001.
- HANLEY, T.R.; BILLINGTON, R. Toxicology of Triazolopyrimidine Herbicides. In: KRIEGER, R. I.; KRIEGER, W. C. **Handbook of Pesticide Toxicology**. Academic Press, v. 2, p. 1653-1665, 2001.
- HATTON PJ, DIXON D, COLE DJ, EDWARDS R. Glutathione transferase activities and herbicide selectivity in maize and associated weed species. **Pesticides Science**, v. 46, p. 267–75, 1996.
- HAVIR, E.A.; MCHALE, N.A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v.84, n.2, p.450-455, 1987.
- HINDS, J., K. H. WANG, S. P. MARAHATTA, S. L. F. MEYER, AND C. R. R HOOKS. Sunn hemp cover cropping and organic fertilizer effects on the nematode community under temperate growing conditions. **Journal of Nematology**, v. 45, p. 265-271, 2013.
- HORNSBY, A. G., WAUCHOPE, R.D.; HERNER, A. **Pesticide properties in the environment**. New York: Springer Verlag, p. 227, 1995.
- HUGHES, J.B.; SHANKS, J.; VANDERFORD, M.; LAURITZEN, J.; BHADRA, R. Transformation of TNT by aquatic plants and plant tissue cultures. **Environmental Science Technology**, v. 31, p. 266–271, 1997.

KAPULNIK, Y. Plant growth promotion by rhizosphere bacteria. In **Plant Roots—The Hidden Half**, ed. Y Waisel, A Eshel, U Kaffkafi, p. 769–81. New York: Marcel Dekker, 1996.

KARPINSKI, R.A.K.; OLIVEIRA NETO, A.M.; GUERRA, N.; CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA JR., R.S.; MACIEL, C.D.G.; SILVA, A.A.P. Influência da textura do solo na seletividade do herbicida fomesafen aplicado em pré-emergência do algodoeiro. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.13, n.2, p.125-133, 2014.

KAWAHIGASHI, H. Transgenic plants for phytoremediation of herbicides. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 20, p. 225-230, 2009.

KOGAN, A.M.; PEREZ, J.A. **Herbicidas: Fundamentos Fisilógicos y bioquímicos del modo de acción**. Ediciones Universidad Católica de Chile, 2003, 333p.

KRUTZ, I. J.; SENSEMAN, S. A.; ZABLOTOWICZ, R. M.; MATOCHA, M. A. Reducing herbicide runoff from agricultural fields with vegetative filter strips: a review. **Weed Science**, v. 53, p. 353-367, 2005.

LAMEGO, F; VIDAL, R. Fitorremediação: Plantas como agentes de despoluição? Pesticidas: **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 17, p. 9-18, 2007.

LANG S. **The Sorption of Substituted Benzenes to Hybrid Poplar Trees** [MS Thesis]. Iowa City, IA: University of Iowa, 1998.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. Editora Rima: São Carlos, p. 506, 2004.

LAVORENTI, A.; ROCHA, A. A.; PRATA, F.; REGITANO, J. B.; TORNISIELO, V. L.; PINTO, O. B. Comportamento do diclosulam em amostras de um latossolo vermelho distroférico sob plantio direto e convencional. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.27, n.1, p.183-190, 2003

LAVORENTI, A. Identificação de perigos de resíduos ligados de pesticidas em substâncias húmicas. In: **Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas**, São Carlos, 1997. Anais. São Carlos, EMBRAPA, p.66-71, 1997.

LAW, S.E. Agricultural eletrostatic spray application: a review of significant research and development during the 20th century. *J. Eletrost.*, v.51/52, p. 25-42, 2001.

LEE BELLEC, F.; VÉLU, A.; FOURNIER, P.; LE SQUIN, S.; MICHELS, T.; TENDERO, A.; BOCKSTALLER, C. Helping farmes to reduce herbicide environmental impacts. **Ecological Indicators**, v. 54, p. 207-216, 2015.

LEONARD, R. A. Movement of pesticides into surface waters. In: H. H. Cheng, ed. **Pesticides in the Soil Environment**. Processes, Impacts, and Modeling, SSSA Book Series 2. Madison, WI: Soil Science Society of America, p. 303–350, 1990.

LEVANON, D. Roles of fungi and bacteria in the mineralization of the pesticides atrazine, alachlor, malathion and carbofuran in soil. **Soil Biology & Biochemistry**, v.25, n.8, p.1097-1105, 1993.

LIN, Y.J.; MAKESH, K.; ANUGRAH, S.; GIAN, G. Effect of simulated sunlight on atrazine and metolachlor toxicity of surface. **Waters. Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 43, p. 35-37, 1999.

LOPES, O.M.N. **Feijão-de-porco: leguminosa para adubação verde e cobertura do solo**. Belém: Embrapa – CPATU, 1998. (Embrapa- CPATU. Recomendações Básicas,37).

MACHADO, A. A.; CONCEIÇÃO, A. R. **WinStat – Sistema de Análise Estatística para Windows versão 1.0**. Universidade Federal de Pelotas, 2007.

MADALÃO, J.C.; PIRES, F. R.; FILHO, A. C.; NASCIMENTO, A. F.; CHAGAS, K.; ARAÚJO, R. S.; PROCÓPIO, S. O.; BONOMO, R. Susceptibilidade de espécies de plantas com potencial de fitorremediação do herbicida sulfentrazone. **Revista Ceres**, Viçosa, . 60, n.1, p. 111-121, 2013.

MADALÃO, J.C.; PIRES, F. R.; FILHO, A. C.; NASCIMENTO, A. F.; CHAGAS, K.; PROCÓPIO, S. O.; ARAÚJO, R. S.; BONOMO, R.; TAUFNER, G.A. Selection of species tolerant to the herbicide sulfentrazone with potential for phytoremediation of contaminated soils. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 6, p. 2199-2214, 2012.

MAIN, C.L.; DUCAR, J.T.; MACDONALD, G.E. Response of three runner market-type peanut cultivars to diclosulam. **Weed Technology**, v. 16, p. 593–596, 2002.

MANCUSO, M. A. C.; NEGRISOLI, E.; PERIM, L. Efeito residual de herbicidas no solo (Carryover). **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 10, n. 2, p. 151-164, 2011.

MARQUES, M.; AGUIAR, C.R.C.; SILVA, J.J.L.S. Desafio técnico e barreiras sociais, econômicas e regulatórias na fitorremediação de solos contaminados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 55, p. 1-11, 2011.

MARTINOIA, E.; GRILL, E.; TOMMASINI, R.; KREUZ, K.; AMREHIN, N. ATP-dependent glutathione S-conjugate ‘export’ pump in the vacuolar membrane of plants. **Nature**, v. 364, p. 247–49, 1993.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G.N. Chlorophyll fluorescence: a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 345, p. 659-668, 2000.

MCCUTCHEON SC, MEDINA VF, LARSON SL. Proof of phytoremediation for explosives in water and soil. In **Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants**, ed. S.C. McCutcheon, J.L. Schnoor, p. 429–80. New York: Wiley. 2003.

MCCUTCHEON, S.C.; SCHNOOR, J.L. Overview of phytotransformation and control of wastes. In **Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants**, ed. S.C. McCutcheon, J.L. Schnoor, pp. 3–58. New York: Wiley. 2003.

MILLER, R.E.; GUENGERICH, P.F. Oxidation of trichloroethylene by liver microsomal cytochrome P-450: evidence for chlorine migration in a transition state not involving trichloroethylene oxide. **Biochemistry**, v. 21, p. 1090–1097, 1982.

MONQUERO, P. A.; CÔRREA, M.C.; BARBOSA, L.N.; GUTIERREZ, A.; ORZARI, I.; HIRATA, A.C.S. Seleção de espécies de adubos verdes visando à fitorremediação de Diclosulam. **Planta Daninha**, v. 31, n. 1, p. 127-135, 2013.

MONQUERO, P.A.; HIRATA, A.C.S. Comportamento de herbicida nas plantas. In: MONQUERO, P. A. (Org. e Ed.) **Aspectos da biologia e manejo das plantas daninhas**. São Carlos: Rima Editora, p. 129-144, 2014.

MONTENEGRO, R.; PINZÓN, B. **Maní forrajero (Arachis pintoi Krapovickas e Gregory): Una alternativa para el sostenimiento de la ganadería en Panamá.** Panamá: IDIAP, 1997. 20p. MOREIRA

MORENO, F. N.; CORSEUIL, H. X. Fitorremediação de aquíferos contaminados por gasolina. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 6, p. 1-7, 2001.

NANDULA VK, RAY JD, RIBEIRO DN, PAN Z, REDDY KN. Glyphosate resistance in tall waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*) from Mississippi is due to both altered target site and non-target site mechanisms. **Weed Science**, v. 61, p. 374–383, 2013.

NANDULA, V.K.; VENCILL, W.K. Herbicide Absorption and Translocation in Plants using Radioisotopes. **Weed Science**, v. 63, p. 140-151, 2015.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, v. 22, p. 867–880, 1981.

NEUEFEIND, T.; REINEMER, P.; BIESELER, B. Plantglutathione S-transferases and herbicide detoxification. **Biol. Chem.**, v. 378, p. 199–205, 1997.

OLIVEIRA JR., R.S. Introdução ao controle químico. In: Oliveira JR., R.S.; Constantin, J.; Inoue, M.H. (Eds.). **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas.** Editora Omnipax, 2011. p.125-140.

OLIVEIRA, M.F.; BRIGHENTI, A.M. Comportamento de herbicida no ambiente. In: OLIVEIRA JR., R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. (Ed.). **Biologia e Manejo de plantas daninhas.** Curitiba, PR: Omnipax, 2011. p.141-192.

OLIVEIRA JR, R.S.; REGITANO, J. B. Dinâmica de Pesticidas no Solo. In: Vander Freitas Melo; Luís Reynaldo Ferraciú Alleoni. (Org.). **Química e Mineralogia do Solo: Parte II - Aplicações.** 1ed. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2009, v. 2, p. 187-248. 2009

OLSON, P.E.; REARDON, K.F.; PILON-SMITS, E.A.H. Ecology of rhizosphere bioremediation. In **Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants**, ed. SC McCutcheon, JL Schnoor, pp. 317–54. New York: Wiley.2003.

OSIPE, J.B.; OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J.; BIFFE, D.F.; RIOS, F.A.; FRANCHINI, L.H.M.; GHENO, E.A.; RAIMONDI, M.A. Seletividade de aplicações combinadas de herbicidas em pré e pós-emergência para a soja tolerante ao glyphosate. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 3, p. 623-631, 2014.

OUKARROUM A, MADIDI SE, SCHANSKER G, STRASSER RJ (2007) Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll a fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. **Environ Experim Bot**, v. 60, p. 438–446, 2007.

PALMA, G.; SÁNCHEZ, A.; OLAVE, Y.; ENCINA, F.; PALMA, R.; BARRA, R. Pesticide levels in surface Waters in na agricultural-forestry basin Southern Chile. **Chemosphere**, v. 57, p. 763-770, 2004.

PESTER, T. A.; NISSEN, S. J.; WESTRA, P. Absorption, translocation and metabolism of imazamox in jointed goatgrass and feral rye. **Weed Science**, v. 49, n. 5, p. 607-612, 2001.

PEUKE, A.D.; RENNENBERG, H. Phytoremediation. **European Molecular Biology Organization Reports**, v. 6, n. 6, p. 497-501, 2005.

PILON-SMITH, E. Phytoremediation. **Annual Reviews Plant Biology**, v. 56, p. 15-39, 2005.

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

PIRES, F. R.; SOUZA, C. M.; SILVA, A. A. et al. Seleção de plantas tolerantes ao tebuthiuron e com potencial para fitorremediação. **Revista Ceres**, v. 50, p. 583-594, 2003b.

PIRES, F.R.; SOUZA, C.M.; CECON, P.R.; SANTOS, J.B.; TÓTOLA, M.R.; PROCÓPIO, S.O.; SILVA, A.A.; SILVA, C.S.W. Inferência sobre atividade rizosférica de espécies com potencial para fitorremediação do herbicida tebuthiuron. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 290, p. 627-634, 2005a.

PIRES, F. R.; SOUZA, C. M.; SILVA, A. A. et al. Fitorremediação de solos contaminados com tebuthiuron utilizando-se espécies cultivadas para adubação verde. **Planta Daninha**, v. 23, p. 711-717, 2005b.

PIRES, F.R.; PROCÓPIO, S.O.; SOUZA C. M.; SANTOS, J. B.; SILVA, G. P. Adubos verdes na fitorremediação de solos contaminados com o herbicida tebuthiuron. **Caatinga**, v. 19, n. 1, p. 92-97, 2006.

PIRES, F. R.; PROCÓPIO, S. O.; SANTOS, J. B. et al. Avaliação da fitorremediação de tebuthiuron utilizando *Crotalaria juncea* como planta indicadora. **Revista Ciências Agronômicas**, Fortaleza, v. 39, p. 245-250, 2008.

PRICE, A.J., WILCUT, J.W., SWANN, C.W. Weed management with diclosulam in peanut (*Arachis hypogaea*). **Weed Technology**, v. 16, p. 724-730, 2002.

PROCÓPIO, S. O.; SANTOS, J.B.; SILVA, A.A.; PIRES, F.R.; RIBEIRO JÚNIOR, J.I.; SANTOS, E.A. Potencial de espécies vegetais para a remediação do herbicida Trifloxysulfuron-Sodium. **Planta Daninha**, v. 23, n. 1, p. 9-16, 2005.

PROCÓPIO, S. O.; CARMO, M. L.; PIRES, F. R.; FILHO, A. C.; BRAZ, G. B. P.; SILVA, W. F. P.; BARROSO, A. L. L.; SILVA, G. P.; CARMO, E. L.; BRAZ, A. J. B. P. Fitorremediação de solo contaminado com picloram por capim-pé-de-galinha-gigante (*Eleusine coracana*). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 2517-2524, 2008.

PROCÓPIO, S.O.; PIRES, F.R.; SANTOS, J.B.; SILVA, A.A. **Fitorremediação de solos com resíduos de herbicidas**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros. 1 ed. 32 p. 2009.

QIU, Z.; WANG, L.; ZHOU, Q. Effects of bisphenol A on growth, photosynthesis and chlorophyll fluorescence in above-ground organs of soybean seedlings. **Chemosphere**, v.90, p. 1274-1280, 2013

REY-CABALLERO, J.; MENÉNDEZ, J.; GINÉ-BORDONABA, J.; SALAS, M.; ALCÁNTARA, R.; TORRA, J. Unravelling the resistance mechanisms to 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) in corn poppy (*Papaver rhoeas*). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 133, p. 67-72, 2016.

RICE, P.J.; ANDERSON, T.A.; COATS, J.R. Phytoremediation of herbicide-contaminated surface water with aquatic plants. In: **Premediation of soil and water contaminants**, Washington, 1996, DC. ACS Symposium Series. Washington, DC: American Chemical Society, p. 133-151, 1997.

RODRIGUES, B. N. Influência da cobertura morta no comportamento dos herbicidas imazaquin e clomazone. **Planta Daninha**, v. 11, n. 1, p. 21-28, 1993.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**.5ª ed. Londrina: Grafmarke, 2005.

ROSSINI, L. et al. Characterization of glutathione S-transferase isoforms in three maize inbred lines exhibiting differential sensitivity to alachlor. **Plant Physiology**, v. 112, n.4, p.1595-1600, 1996.

SAIER JR., M.H.; TREVORS, J.T. Phytoremediation. **Water Ais Soil Pollut**, v. 205, p. 61-63, 2010.

SALIHU, S.; HATZIOS, K. K.; DERR, J. F. Comparative uptake, translocation, and metabolism of root-applied isoxaben in Ajuga (*Ajuga reptans*) and two ornamental. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 60, n. 2, p. 119-131, 1998.

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

SANDERMANN H. Higher plant metabolism of xenobiotics: the “green liver” concept. **Pharmacogenetics**, v. 4, p. 225–4, 1994.

SANGSTER, J. Octanol-Water Partition Coefficients: Fundamentals and Physical Chemistry; Wiley: New York, 178 pp, 1997.

SANTOS, J. B.; PROCÓPIO, S. O.; PIRES, F. R., SILVA, A.A.; SANTOS, E.A. Fitorremediação de solo contaminado com trifloxysulfuron-sodium por diferentes densidades populacionais de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L). DC.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, p. 444-449, 2006.

SCHANSKER, G.; TÓTH, S. Z.; STRASSER, R. J. Methylviologen and dibromothymoquinone treatments of pea leaves reveal the role of photosystem I in the Chl a fluorescence rise OJIP. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1706, p. 250 – 261, 2005.

SCHNOOR, J.L.; LICHT, L.A.; MCCUTCHEON, S.C.; WOLFE, N.L.; CARREIRA, L.H. Phytoremediation of organic and nutriente contaminants. **Environmental Science Technology**, v. 29, p.318-23, 1995.

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

SENSEMAN, S.A. **Herbicide handbook**. Weed Science Society of America, 2007.

SICILIANO SD, GERMIDA JJ. Mechanisms of phytoremediation: biochemical and ecological interactions between plants and bacteria. **Environmental Reviews**, v. 6, p. 65–79, 1998.

SILVA, G.R.; D'ANTONINO, L.; FAUSTINO, L.A.; SILVA, A.A.; FERREIRA, F.A.; TEXEIRA, C.C. Sorption of fomesafen in brazilian soils. **Planta Daninha**, v. 31, n. 4, p. 971-977, 2013.

SILVA, A.A.; D'ANTONINO, L.; VIVIAN, R.; OLIVEIRA JR., R.S. Comportamento de herbicida no solo. In: MONQUERO, P. A. (Org. e Ed.) **Aspectos da biologia e manejo das plantas daninhas**. São Carlos: Rima Editora, p. 129-144, 2014.

SIMPSON, C.E.; VALLS, J.F.M.; MILES, J.W. Reproductive biology and potential for genetic recombination in *Arachis*. In: KERRIDGE, P.C.; HARDY, B. (Eds.) **Biology and agronomy of forage *Arachis***. Cali: CIAT, 1994. p.43-52.

SOUTO, K.M. **Fitorremediação de solo de várzea contaminado com os herbicidas imazetapir e imazapique**. 2011. 109 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria. 2011.

SOUTO, K.M.; JACQUES, J.S.; AVILA, L.A.; MACHADO, S.L.O.; ZANELLA, R.; REFATTI, J.P. Biodegradação dos herbicidas imazetapir e imazapique em solo rizosférico de seis espécies vegetais. **Ciência Rural**, v.43, n.10, 2013.

SOUTO, K.M.; AVILA, L.A.; CASSOL, G.V.; MACHADO, S.L.O.; MARCHESAN, E. Phytoremediation of lowland soil contaminated with a formulated mixture of Imazethapyr and Imazapic. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 46, n. 1, p. 185-192, 2015.

STRASSER, B. J.; STRASSER, R. J. Measuring fast fluorescence transients to address environmental question: The JIP test. In: MATHIS, P. (Ed.), **Photosynthesis: From Light to Biosphere**. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, vol. V, p. 977–980, 1995.

THACH, L. B.; SHAPCOTT, A.; SCHMIDT, S.; CRITCHLEY, C. The OJIP fast fluorescence rise characterizes Graptophyllum species and their stress responses. **Photosynthesis Research**, v. 94, p. 423-436, 2007.

THOMAS, R.J. Requerimientos de rhizobium, fijación de nitrógeno y reciclaje de nutrientes em *Arachis* Forrajero. In KERRIDGE, P C.; HARDY, B. (Eds.) **Biology and agronomy of forage *Arachis***. Cali: CIAT, 1994. p.91-101.

TIMOSSI, P.C.; DURIGAN, J.C.; LEITE, G.J. Formação de palhada por braquiárias para adoção do sistema plantio direto. **Bragantia**, Campinas, v.66, n.4, p.617-622, 2007.

TRAPP, S.; MCFARLANE, C. eds. **Plant Contamination: Modeling and Simulation of Organic Processes**. Boca Raton, FL: Lewis. 254 pp. 1995.

ULRICH, U.; DIETRICH, A.; FOHRER, N. Herbicide transport via surface runoff during intermittent artificial rain fall: A laboratory plot scale study. **Catena**, v. 201, p. 38-49, 2013.

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

VIDAL, R.A.; MEROTTO JR., A.; SCHAEGLER, C.E.; LAMEGO, F.P.; PORTUGAL, J.; MENENDES, J.; KOZLOWSKI, L.A.; TREZZI, M.M.; PRADO, R. Mecanismo de ação dos

herbicidas. In: MONQUERO, P. A. (Org. e Ed.) **Aspectos da biologia e manejo das plantas daninhas**. São Carlos: Rima Editora, p. 129-144, 2014.

VOLKERING, F.; BREURE, A.M.; RULKENS, W.H. Microbiological aspects of surfactant use for biological soil remediation. **Biodegradation**, v. 8, p. 401–17, 1998.

YODER, R.N.; HUSKIN, M. A.; KENNARD, L. M.; ZABIK, J. M. Aerobic metabolism of diclosulam on U.S. and South American soils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, n.3, p.4335-4340, 2000.

YUSUF, M.A.; KUMAR, D.; RAJWANSHI, R.; STRASSER, R.J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; GOVINDJEE; SARIN, N.B. Overexpression of γ -tocopherol methyl transferase gene in transgenic Brassica juncea plants alleviates abiotic stress: Physiological and chlorophyll a fluorescence measurements. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1797, p. 1428-1438, 2010.

WALLS, F.R.; CORBIN, F.T.; COLLINS, W.K.; WORSHAM, A.D.; BRADLEY, J.R. Imazaquin Absorption, Translocation, and Metabolism in Flue-Cured Tobacco. **Weed Technology**, v. 7, n. 2, p. 370-375, 1993.

WANG, K. H., B. S. SIPES, AND D. P. SCHMITT. Suppression of *Rotylenchulus reniformis* by *Crotalaria juncea*, *Brassica napus*, and *Tagetes erecta*. **Nematropica**, v. 31, p. 237-251, 2001.

WANG, K. H., B. S. SIPES, AND D. P. SCHMITT. *Crotalaria* as a cover crop for nematode management: A review. **Nematropica**, v. 32, p. 35-57, 2002.

WANG, K. H., R. MCSORLEY, AND R. N. GALLAHER. Effect of *Crotalaria juncea* amendment on squash infected with *Meloidogyne incognita*. **Journal of Nematology**, v. 36, p. 290-296, 2004.

WAUCHOPE, R.D.; YEH, S.; LINDERS, J.B.H.J.; KLOSKOWSKI, R.; TANAKA, K.; RUBIN, B.; KATAYAMA, A.; KÖRDEL, W.; GERSTL, Z.; LANE, M.; UNSWORTH, J.B. Review Pesticide soil sorption parameters: theory, measurement, uses, limitations and reliability. **Pest Management Science**, v. 58, p. 419-445, 2002.

WEHTJE, G.; MILLER, M.E.; GREY, T.L.; BRAUNER JR, W.R. Comparisons Between X-Ray Film- and Phosphorescence Imaging-Based Autoradiography for the Visualization of Herbicide Translocation. **Weed Technology**, v. 21, p. 1109–1114, 2007.

WOLFE NL, HOEHAMER CF. Enzymes used by plants and microorganisms to detoxify organic compounds. In **Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants**, ed.SC McCutcheon, JL Schnoor, pp. 159–87. New York: Wiley. 2003.

ZABIK, J.M., WESENBEECK, I.J.V., PEACOCK, A.L.; KENNARD, L.M.; ROBERTS, D.W. Terrestrial field dissipation of diclosulam at four sites in the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 3284-3290, 2001.