



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO FITOTECNIA
MESTRADO EM FITOTECNIA

FRANCISCO ASSIS NOGUEIRA NETO

**SENSIBILIDADE E POTENCIAL REMEDIADOR DE ESPÉCIES FLORESTAIS AO
HERBICIDA ATRAZINE: SIMULAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO VIA ÁGUAS
SUBSUPERFICIAIS**

MOSSORÓ

2022

FRANCISCO ASSIS NOGUEIRA NETO

**SENSIBILIDADE E POTENCIAL REMEDIADOR DE ESPÉCIES FLORESTAIS AO
HERBICIDA ATRAZINE: SIMULAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO VIA ÁGUAS
SUBSUPERFICIAIS**

Dissertação apresentada ao Mestrado em Fitotecnia do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Proteção de plantas

Orientador: Prof. Dr. Daniel Valadão Silva

Coorientador: Prof. Dr. Matheus de Freitas Souza

MOSSORÓ

2022

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

N774s Nogueira Neto, Francisco Assis.
Sensibilidade e potencial remediador de
espécies florestais ao herbicida atrazine:
simulação da contaminação via águas
subsuperficiais / Francisco Assis Nogueira Neto. -
2022.
52 f. : il.

Orientador: Daniel Valadão Silva.
Coorientador: Matheus de Freitas Souza.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Fitotecnia, 2022.

1. Lençol freático. 2. Impacto ambiental. 3.
Fitorremediação. 4. Plantas arbóreas. I. Silva,
Daniel Valadão, orient. II. Souza, Matheus de
Freitas, co-orient. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade
com AACR2 e os dados fornecidos pelo autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

FRANCISCO ASSIS NOGUEIRA NETO

**SENSIBILIDADE E POTENCIAL REMEDIADOR DE ESPÉCIES FLORESTAIS AO
HERBICIDA ATRAZINE: SIMULAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO VIA ÁGUAS
SUBSUPERFICIAIS**

Dissertação apresentada ao Mestrado em Fitotecnia do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Proteção de plantas

Defendida em: 23 / 02 / 2022.

BANCA EXAMINADORA



Daniel Valadão Silva, Prof. Dr. (UFERSA)
Presidente



Poliana Coqueiro Dias Araújo, Profa. Dra. (UFERSA)
Membro Examinador



Evander Alves Ferreira, Prof. Dr. (UFMG)
Membro Examinador



Fernando Sarmiento de Oliveira, Prof. Dr. (CENTEC)
Membro Examinador

*Dedico esta vitória aos meus pais,
Ricardo e Gilmara Nogueira.
Obrigado por todo o amor, carinho e
dedicação!*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu Deus pelo dom da vida e por ter me concebido saúde e sabedoria para que chegasse até aqui!

Agradeço à minha esposa, Anna Letícia, por todo o amor, carinho e atenção nessa caminhada. Obrigado por ser o meu porto seguro diante das tribulações!

Agradeço aos meus irmãos, Laura Oliveira e Ricardo Filho, por todo o amor, carinho e paciência!

Agradeço aos meus avós maternos, Gilberto e Socorro Alves, aos meus tios e primos por toda ajuda e carinho!

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Daniel Valadão Silva, por todos os ensinamentos, conselhos e oportunidades ao longo dessa trajetória!

Agradeço ao Prof. Dr. Matheus de Freitas Souza por todo o auxílio e conhecimento transmitido durante minha formação!

Agradeço aos professores e pesquisadores Dra. Poliana Coqueiro, Dr. Evander Alves e Dr. Fernando Sarmiento por terem aceitado de pronto fazer parte da minha banca examinadora!

Agradeço aos alunos e pesquisadores integrantes do Núcleo de Estudos em Matologia no Semiárido (NOMATO) por todas as contribuições prestadas a esta pesquisa!

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo!

Por fim, agradeço a todos os professores, servidores e terceirizados da UFERSA que, por meio do Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, contribuíram de forma direta e indireta para a minha formação!

Não é o crítico que importa; nem aquele que aponta onde foi que o homem tropeçou ou como o autor das façanhas poderia ter feito melhor. O crédito pertence ao homem que está por inteiro na arena da vida, cujo rosto está manchado de poeira, suor e sangue; que luta bravamente, que erra, que decepciona, porque não há esforço sem erros e decepções; mas que, na verdade, se empenha em seus feitos; que conhece o entusiasmo, as grandes paixões; que se entrega a uma causa digna; que, na melhor das hipóteses, conhece no final o triunfo da grande conquista e que, na pior, se fracassar, ao menos fracassa ousando grandemente.

Theodore Roosevelt

RESUMO

O herbicida atrazine, amplamente utilizado para o controle de plantas daninhas em diversas regiões do mundo, tem sido frequentemente identificado em fontes hídricas acima das concentrações seguras. Neste sentido, informações sobre estratégias de remediação de atrazine são essenciais para mitigar os impactos ao meio ambiente causados pela aplicação do herbicida. Assim, foi investigada a sensibilidade de espécies florestais às águas subterrâneas contaminadas pelo atrazine, bem como o potencial de espécies florestais de remediar o atrazine de águas subterrâneas rasas. O estudo foi conduzido em casa de vegetação em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições e uma planta por unidade experimental. Os tratamentos foram arranjados em fatorial 2×10 . O primeiro fator correspondeu à presença ($1,0 \text{ mg i.a. kg}^{-1}$ solo) ou ausência (controle) do herbicida atrazine na água subsuperficial. O segundo fator foi composto por 10 espécies florestais: *Amburana cearensis*, *Anadenanthera macrocarpa*, *Bauhinia cheilantha*, *Enterolobium contortisiliquum*, *Hymenaea courbaril*, *Libidibia ferrea*, *Mimosa caesalpiniiifolia*, *Mimosa tenuiflora*, *Myracrodruon urundeuva* e *Tabebuia aurea*. As espécies florestais avaliadas possuem mecanismos de defesa antioxidante que lhes conferem diferentes níveis de sensibilidade ao atrazine. As espécies *A. cearensis* e *B. cheilantha* mostraram-se altamente sensíveis ao atrazine, revelando baixa eficiência do sistema antioxidante e capacidade de descontaminação de águas contaminadas por esse herbicida. As espécies *A. macrocarpa*, *E. contortisiliquum*, *L. ferrea* e *M. caesalpiniiifolia* apresentaram maior tolerância aos danos oxidativos provocados pelo atrazine, porém não foram eficientes no processo de fitorremediação. As espécies *H. courbaril*, *M. urundeuva* e *T. aurea* exibiram maior tolerância ao atrazine em razão da ativação de mecanismos de defesa antioxidante. No entanto, somente a espécie *H. courbaril* mostrou-se capaz de ser usada em processos de descontaminação de águas poluídas pelo atrazine.

Palavras-chave: Lençol freático; Impacto ambiental; Fitorremediação; Plantas arbóreas.

ABSTRACT

The herbicide atrazine, widely used for weed control in different regions of the world, has been frequently detected in water sources above safe concentrations. In this sense, information on atrazine remediation strategies is essential to mitigate the impacts on the environment caused by the herbicide application. Thus, the sensitivity of forest species to atrazine-contaminated groundwater was investigated, as well as the potential of forest species to remediate atrazine from shallow groundwater. The experiment was carried out in a greenhouse in a completely randomized design, with three replications and one plant per experimental unit. The treatments were arranged in a 2×10 factorial. The first factor corresponded to the presence (1.0 mg a.i. kg^{-1} of soil) or absence (control) of the herbicide atrazine in groundwater. The second factor was composed of 10 forest species: *Amburana cearensis*, *Anadenanthera macrocarpa*, *Bauhinia cheilantha*, *Enterolobium contortisiliquum*, *Hymenaea courbaril*, *Libidibia ferrea*, *Mimosa caesalpiniiifolia*, *Mimosa tenuiflora*, *Myracrodruon urundeuva* and *Tabebuia aurea*. The evaluated forest species have antioxidant defense mechanisms that give them different levels of sensitivity to atrazine. The species *A. cearensis* and *B. cheilantha* were highly sensitive to atrazine, revealing low efficiency of the antioxidant system and ability to decontaminate water contaminated by this herbicide. The species *A. macrocarpa*, *E. contortisiliquum*, *L. ferrea* and *M. caesalpiniiifolia* showed greater tolerance to oxidative damage caused by atrazine, but they were not efficient in the phytoremediation process. The species *H. courbaril*, *M. urundeuva* and *T. aurea* showed greater tolerance to atrazine due to the activation of antioxidant defense mechanisms. However, only the species *H. courbaril* was able to be used in decontamination processes of water polluted by atrazine.

Keywords: Groundwater; Environmental impact; Phytoremediation; Forest plants.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Intoxicação aos sete, 14 e 28 dias após a primeira aplicação (DAA) de atrazine (A), área foliar (B) e porcentagem de redução da área foliar (C) de espécies florestais submetidas a águas subsuperficiais contaminadas pelo atrazine. ¹Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste t ($p \leq 0,05$). ²Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Barras indicam o erro padrão da média (n=3). 28
- Figura 2.** Massa seca total (A) e porcentagem de redução da massa seca total (B) de espécies florestais submetidas a águas subsuperficiais contaminadas pelo atrazine. ¹Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste t ($p \leq 0,05$). ²Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Barras indicam o erro padrão da média (n=3). 30
- Figura 3.** Teor de clorofila a (Clo a), clorofila b (Clo b) e clorofilas totais (Clo T) de espécies florestais submetidas a águas subsuperficiais contaminadas pelo herbicida atrazine. Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste t ($p \leq 0,05$). Barras indicam o erro padrão da média (n=3). 32
- Figura 4.** Porcentagem de aumento e redução do teor de clorofila a (A), clorofila b (B) e clorofilas totais (C) de espécies florestais submetidas a águas subsuperficiais contaminadas pelo herbicida atrazine. Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Barras indicam o erro padrão da média (n=3). 33
- Figura 5.** Dano de membrana (A) e porcentagem de aumento e redução do dano de membrana (B) de espécies florestais submetidas a águas subsuperficiais contaminadas pelo atrazine. ¹Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste t ($p \leq 0,05$). ²Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Barras indicam o erro padrão da média (n=3). 35
- Figura 6.** Teor de carotenoides (A) e porcentagem de aumento e redução do teor de carotenoides (B) de espécies florestais submetidas a águas subsuperficiais contaminadas pelo atrazine. ¹Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste t ($p \leq 0,05$). ²Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Barras indicam o erro padrão da média (n=3). 37
- Figura 7.** Atividade das enzimas peroxidase (A) e catalase (C) e porcentagem de aumento da atividade das enzimas peroxidase (B) e catalase (D) de espécies florestais submetidas a águas subsuperficiais contaminadas pelo atrazine. ¹Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste t ($p \leq 0,05$). ²Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Barras indicam o erro padrão da média (n=3). 39

Figura 8. Água evapotranspirada (A) e porcentagem de aumento e redução da água evapotranspirada (B) de espécies florestais submetidas a águas subsuperficiais contaminadas pelo herbicida atrazine. ¹Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste t ($p \leq 0,05$). ²Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Barras indicam o erro padrão da média (n=3).41

Figura 9. Remoção de atrazine (A) e quantidade de deisopropilatraine (B) de solos cultivados com espécies florestais submetidas a águas subsuperficiais contaminadas pelo herbicida atrazine. Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Barras indicam o erro padrão da média (n=3).43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATP	Adenosina trifosfato
CTC	Capacidade de troca catiônica
CAT	Catalase
CE	Condutividade elétrica
UHPLC	Cromatografia líquida de ultra eficiência
DIA	Deisopropilatrazine
DAA	Dias após a aplicação
EROs	Espécies reativas de oxigênio
PSI	Fotossistema I
PSII	Fotossistema II
MF	Massa fresca
MO	Matéria orgânica
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
POD	Peroxidase
Q _B	Plastoquinona B
pH	Potencial hidrogeniônico
RPM	Rotações por minutos

LISTA DE SÍMBOLOS

cm	Centímetro
g	Gramma
g kg ⁻¹	Gramma por quilograma
µg	Micrograma
g i.a. ha ⁻¹	Gramma de ingrediente ativo por hectare
°C	Graus Celsius
ha	Hectare
L	Litro
½	Metade
µg L ⁻¹	Micrograma por litro
µL	Microlitros
mg	Miligrama
mg i.a. kg ⁻¹	Miligrama de ingrediente ativo por quilograma
ml	Mililitro
M	Molar
nm	Nanômetros
%	Porcentagem
kg	Quilograma
kg ha ⁻¹	Quilogramas por hectare

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	14
REFERÊNCIAS	17
SENSIBILIDADE E POTENCIAL REMEDIADOR DE ESPÉCIES FLORESTAIS AO HERBICIDA ATRAZINE: SIMULAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO VIA ÁGUAS SUBSUPERFICIAIS	20
RESUMO	20
ABSTRACT	20
1 INTRODUÇÃO	21
2 MATERIAL E MÉTODOS	23
2.1 Condições experimentais	23
2.2 Sensibilidade das espécies florestais.....	24
2.3 Mecanismos de defesa antioxidante	25
2.4 Extração de atrazine e deisopropilatrazine do solo e condições cromatográficas	26
2.5 Análises estatísticas	26
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
3.1 Avaliação da sensibilidade das espécies florestais	27
3.2 Avaliação dos mecanismos de defesa antioxidante	36
3.3 Água evapotranspirada	41
3.4 Capacidade de fitorremediação.....	42
4 CONCLUSÕES.....	45
REFERÊNCIAS	46
CONSIDERAÇÕES FINAIS	51

INTRODUÇÃO GERAL

Desde o final da década de 1960, o controle químico com herbicidas é o método mais utilizado na agricultura para mitigar os prejuízos provocados pelas plantas daninhas (PEROTTI et al., 2020; DA SILVA et al., 2022), devido à sua eficiência de controle e baixo custo de aplicação (OSIPITAN et al., 2018). Atualmente, os herbicidas abrangem cerca de 60% do total dos pesticidas empregados na agricultura brasileira (PIGNATI et al., 2017). Dentre os herbicidas utilizados no Brasil, o atrazine caracteriza-se como o terceiro produto mais comercializado e aplicado em lavouras brasileiras (IBAMA, 2021), em virtude da sua eficiência no controle de plantas daninhas em várias culturas com importância econômica (BROVINI et al., 2021).

O atrazine (2-cloro-4-(etilamino)-6-(isopropilamino)-s-triazina), pertencente à família das triazinas, é um herbicida aplicado em pré e pós-emergência para o controle de plantas daninhas monocotiledôneas e dicotiledôneas (SINGH et al., 2018) em diversas culturas, como milho e sorgo (GABARDO et al., 2021). Esse herbicida atua inibindo a fotossíntese ao se ligar, no sítio de ligação da plastoquinona B (Qb), à proteína D1 do fotossistema II (PSII), bloqueando o fluxo de elétrons e a transferência de energia do PSII para o fotossistema I (PSI) (DE ALBUQUERQUE et al., 2020; SUN et al., 2020).

Esse bloqueio impede a conversão da energia luminosa em energia química na forma de adenosina trifosfato (ATP) e nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) (DE ALBUQUERQUE et al., 2020). Além disso, há formação de moléculas de clorofila altamente energizadas e espécies reativas de oxigênio (EROs), resultando na degradação de pigmentos, peroxidação de lipídios e proteínas, redução da fixação de carbono e síntese de açúcares (DE ALBUQUERQUE et al., 2020; WU et al., 2021; ZHANG et al., 2021). Como resultado, o atrazine promove clorose e necrose foliar, causando a morte da planta (FAN et al., 2018).

O atrazine apresenta solubilidade moderada em água (33,0 mg L⁻¹ a 22 °C), baixa pressão de vapor, baixo coeficiente de adsorção ao solo ($K_{oc} = 100 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$) e coeficiente de partição octanol-água (log Kow) igual a 2,75 (DE ALBUQUERQUE et al., 2020). O tempo de meia-vida do atrazine no solo varia entre quatro e 57 semanas (BOOPATHY, 2017) e em torno de 100 dias na água (HOU et al., 2017). Após a aplicação no solo, o atrazine pode ser degradado em diversos metabólitos, como a deisopropilatraxine (DIA) (HOLÁSKOVÁ et al., 2019), por meio dos processos químicos de hidrólise, fotólise (PÉREZ; DOUCETTE; MOORE, 2022) e atividade microbiana (LUO et al., 2021). Porém, a baixa adsorção do atrazine e de seus metabólitos ao solo favorece perdas por lixiviação (YADAV; BANERJEE; SINGH, 2021) e

umenta o potencial de contaminação das águas subterrâneas (DE ALBUQUERQUE et al., 2020).

Dessa maneira, o atrazine pode impactar não apenas o estabelecimento de plantas daninhas, como também ecossistemas aquáticos, tornando-se uma ameaça ao meio ambiente (SINGH et al., 2018). Em vista disso, assim como a União Europeia (GABARDO et al., 2021), a legislação brasileira determinou o valor máximo de $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de atrazine em água por meio da Resolução nº 357/05 (BRASIL, 2005). No entanto, diversos estudos têm relatado amostras de águas contaminadas com concentrações de atrazine superiores àquela permitida por lei (AMADORI et al., 2016; BROVINI et al., 2021; CHISTE et al., 2020; VIEIRA et al., 2021). Altos valores de atrazine na água foram identificados principalmente em regiões agrícolas produtoras como, por exemplo, no estado de Goiás, onde foram registrados $195 \mu\text{g L}^{-1}$ de atrazine (BROVINI et al., 2021). Ainda é válido ressaltar que não há regulamentação vigente que estabeleça a concentração máxima dos metabólitos do atrazine nas águas (GABARDO et al., 2021).

Em virtude do potencial do atrazine de contaminar mananciais, deve-se redobrar a atenção nas pulverizações desse herbicida em locais próximos às fontes hídricas, como os rios (RIBEIRO et al., 2019). Além disso, é necessário aplicar técnicas para mitigar os impactos desse contaminante em áreas já poluídas (ESCOTO et al., 2019; RIBEIRO et al., 2019; VIEIRA et al., 2021). Nesse sentido, a fitorremediação é um método já validado e baseado na utilização de plantas para remover poluentes orgânicos e inorgânicos do meio ambiente (SÁNCHEZ et al., 2017). Nessa técnica, as plantas removem ou transformam a molécula herbicida em compostos menos tóxicos com base na fisiologia vegetal, bioquímica do solo e química dos poluentes (DOS SANTOS et al., 2018). Além disso, a fitorremediação é uma estratégia de baixo custo e de fácil aplicação (SÁNCHEZ et al., 2017).

O sucesso da fitorremediação depende da seleção de espécies com potencial de remediação (FARRAJI et al., 2016). As espécies florestais são potenciais agentes fitorremediadores por possuírem alta variabilidade genética, alto acúmulo de massa seca, raízes profundas e elevada transpiração (DOS SANTOS et al., 2018).

Nesse sentido, pesquisadores têm estudado o potencial fitorremediador de diversas espécies florestais brasileiras. Aguiar et al. (2020) relataram a eficiência das espécies *Eremanthus crotonoides* e *Inga striata* na remediação dos herbicidas atrazine e clomazone do solo. De acordo com Barroso et al. (2021), as espécies *Mabea fistulifera* e *Zeyheria tuberculosa* podem ser recomendadas para programas de fitorremediação em áreas contaminadas pelos herbicidas 2,4-D e picloram. Dos Santos et al. (2018) comprovaram a capacidade da espécie

Calophyllum brasiliense de remediar os herbicidas ametrin e hexazinone e o potencial da espécie *Hymenaea courbaril* em remover o hexazinone do solo. Ainda nesse trabalho, as espécies *E. crotonoides*, *I. striata* e *Protium heptaphyllum* apresentaram menor aptidão de remediar o ametrin e alta sensibilidade ao hexazinone. As espécies florestais utilizadas em programas de fitorremediação de herbicidas devem ser capazes de sobreviver em ambientes contaminados por esses poluentes.

O desempenho de espécies arbóreas na fitorremediação de atrazine é afetado pela alta sensibilidade dessas plantas a esse herbicida (VIEIRA et al., 2021). Como mencionado anteriormente, o atrazine inibe o crescimento das plantas ao interromper o transporte de elétrons do PSII para o PSI, restringindo a síntese de ATP e NADPH, requeridos na fixação do CO₂ no ciclo de Calvin (SILVA et al., 2021). Simultaneamente, devido ao acúmulo excessivo de clorofilas altamente reativas, ocorre a formação de EROs (WANG et al., 2018). As EROs são formas de oxigênio parcialmente reduzidas ou excitadas, como o oxigênio singlete (¹O₂), radical superóxido (O₂^{•-}), peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e radical hidroxila (OH[•]) (MITTLER, 2017). Em baixas concentrações, as EROs auxiliam na manutenção de diversas vias metabólicas de respostas aos estresses bióticos e abióticos (MITTLER, 2017; CAVERZAN et al., 2019). No entanto, a superprodução de EROs resulta em dano oxidativo na membrana das células vegetais e em pigmentos fotossintéticos (ERINLE et al., 2018; WU et al., 2021).

Para mitigar os efeitos adversos das EROs, as plantas possuem mecanismos de defesa que atuam na degradação dessas moléculas tóxicas e restauram a homeostase celular (CAVERZAN et al., 2019). A capacidade das plantas fitorremediadoras de tolerar o estresse oxidativo gerado pelo atrazine está associada aos processos de inativação das EROS por meio do sistema de defesa antioxidante enzimático e não enzimático (CAVERZAN et al., 2019; VIEIRA et al., 2021). O sistema antioxidante é composto por carotenoides, ascorbatos e diversas enzimas, como a catalase (CAT) e a peroxidase (POD) (WANG et al., 2018; CAVERZAN et al., 2019).

Informações sobre a sensibilidade de espécies florestais ao atrazine podem subsidiar a elaboração de estratégias para minimizar o impacto ambiental dos herbicidas. Desta forma, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a tolerância e a capacidade remediadora de diferentes espécies florestais ao atrazine via simulação da contaminação de águas subterrâneas.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, Luciana Monteiro et al. Phytoremediation by *Eremanthus crotonoides* and *Inga striata* decay atrazine and clomazone residues in the soil. **International Journal of Phytoremediation**, v. 22, n. 8, p. 827-833, 2020.
- AMADORI, Maristela F. et al. Behavior of atrazine and its degradation products deethylatrazine and deisopropylatrazine in oxisol samples. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 227, n. 10, p. 1-13, 2016.
- BARROSO, Gabriela Madureira et al. *Mabea fistulifera* and *Zeyheria tuberculosa* can be indicated for phytoremediation programs of soils contaminated with hormonal herbicides. **International Journal of Phytoremediation**, p. 1-8, 2021.
- BOOPATHY, Raj. Anaerobic degradation of atrazine. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 119, p. 626-630, 2017.
- BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005**. p. 58–63. Disponível em: http://conama.mma.gov.br/?option=com_sisconama&task=arquivo.download&id=450. Acesso em: 07 nov. 2021.
- BROVINI, Emília Marques et al. Three-bestseller pesticides in Brazil: Freshwater concentrations and potential environmental risks. **Science of the Total Environment**, v. 771, p. 144754, 2021.
- CAVERZAN, Andréia et al. Defenses against ROS in crops and weeds: The effects of interference and herbicides. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 5, p. 1086, 2019.
- CHISTE, Bruna Milke et al. Risk assessment and acute toxicological effects of atrazine on Nile tilapia larvae after stress. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 56, n. 1, p. 23-29, 2020.
- DA SILVA, Cydianne Cavalcante et al. Risk of environmental contamination due to the hexazinone application in agricultural soils in northeastern Brazil. **Geoderma Regional**, p. e00481, 2022.
- DE ALBUQUERQUE, Felícia Pereira et al. An overview of the potential impacts of atrazine in aquatic environments: Perspectives for tailored solutions based on nanotechnology. **Science of the Total Environment**, v. 700, p. 134868, 2020.
- DOS SANTOS, Naiane Maria Corrêa et al. Phytoremediation of Brazilian tree species in soils contaminated by herbicides. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 27, p. 27561-27568, 2018.
- ERINLE, Kehinde O. et al. Physiological and molecular responses of pearl millet seedling to atrazine stress. **International Journal of Phytoremediation**, v. 20, n. 4, p. 343-351, 2018.
- ESCOTO, Dandara Fidélis et al. Use of *Pistia stratiotes* for phytoremediation of water resources contaminated by clomazone. **Chemosphere**, v. 227, p. 299-304, 2019.

FAN, Xiaoxu et al. Responses of photosynthesis-related parameters and chloroplast ultrastructure to atrazine in alfalfa (*Medicago sativa* L.) inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 166, p. 102-108, 2018.

FARRAJI, Hossein et al. Advantages and disadvantages of phytoremediation: A concise review. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 2, p. 69-75, 2016.

GABARDO, Renata P. et al. Determination of atrazine and main metabolites in natural waters based on a simple method of QuEChERS and liquid chromatography coupled to a diode-array detector. **Microchemical Journal**, v. 168, p. 106392, 2021.

HOLÁSKOVÁ, Ida et al. Long-term immunotoxic effects of oral prenatal and neonatal atrazine exposure. **Toxicological Sciences**, v. 168, n. 2, p. 497-507, 2019.

HOU, Xiaojing et al. Ascorbic acid induced atrazine degradation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 327, p. 71-78, 2017.

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Relatórios de comercialização de agrotóxicos**. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/relatorios/quimicos-e-biologicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais>. Acesso em: 08 nov. 2021.

LUO, Shuwen et al. Accelerated atrazine degradation and altered metabolic pathways in goat manure assisted soil bioremediation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 221, p. 112432, 2021.

MITTLER, Ron. ROS are good. **Trends in plant science**, v. 22, n. 1, p. 11-19, 2017.

OSIPITAN, O. Adewale et al. Cover crop for early season weed suppression in crops: Systematic review and meta-analysis. **Agronomy Journal**, v. 110, n. 6, p. 2211-2221, 2018.

PÉREZ, Débora Jesabel; DOUCETTE, William Joseph; MOORE, Matthew Truman. Atrazine uptake, translocation, bioaccumulation and biodegradation in cattail (*Typha latifolia*) as a function of exposure time. **Chemosphere**, v. 287, p. 132104, 2022.

PEROTTI, Valeria E. et al. Herbicide resistant weeds: A call to integrate conventional agricultural practices, molecular biology knowledge and new technologies. **Plant Science**, v. 290, p. 110255, 2020.

PIGNATI, Wanderlei Antonio et al. Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: uma ferramenta para a Vigilância em Saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, p. 3281-3293, 2017.

RIBEIRO, Victor Hugo Vidal et al. Sensitivity of the macrophytes *Pistia stratiotes* and *Eichhornia crassipes* to hexazinone and dissipation of this pesticide in aquatic ecosystems. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 168, p. 177-183, 2019.

SÁNCHEZ, Virtudes et al. Assessing the phytoremediation potential of crop and grass plants for atrazine-spiked soils. **Chemosphere**, v. 185, p. 119-126, 2017.

SILVA, Fabia Barbosa et al. Atrazine toxicity to *Handroanthus heptaphyllus*, a nontarget species from a Brazilian biome threatened by agriculture. **Environmental Quality Management**, v. 30, n. 3, p. 17-25, 2021.

SINGH, Simranjeet et al. Toxicity, degradation and analysis of the herbicide atrazine. **Environmental Chemistry Letters**, v. 16, n. 1, p. 211-237, 2018.

SUN, Chen et al. To evaluate the toxicity of atrazine on the freshwater microalgae *Chlorella* sp. using sensitive indices indicated by photosynthetic parameters. **Chemosphere**, v. 244, p. 125514, 2020.

VIEIRA, Lorena AJ et al. Water contamination with atrazine: is nitric oxide able to improve *Pistia stratiotes* phytoremediation capacity? **Environmental Pollution**, v. 272, p. 115971, 2021.

WANG, Y. et al. Atrazine and mesotrione-induced oxidative stress and impact on antioxidant enzymes and chlorophyll contents in bermudagrass. **Planta daninha**, v. 36, e018172727, 2018.

WU, Juan et al. The Differences between the Effects of a Nanoformulation and a Conventional Form of Atrazine to Lettuce: Physiological Responses, Defense Mechanisms, and Nutrient Displacement. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 42, p. 12527-12540, 2021.

YADAV, Shubham; BANERJEE, Tirthankar; SINGH, Neera. Leaching behaviour of atrazine and fipronil in sugarcane trash ash mixed soils. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, p. 1-11, 2021.

ZHANG, Ying et al. The oxidative stress caused by atrazine in root exudation of *Pennisetum americanum* (L.) K. Schum. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 211, p. 111943, 2021.

SENSIBILIDADE E POTENCIAL REMEDIADOR DE ESPÉCIES FLORESTAIS AO HERBICIDA ATRAZINE: SIMULAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO VIA ÁGUAS SUBSUPERFICIAIS

RESUMO

O atrazine é um herbicida utilizado no controle de plantas daninhas em diversas culturas agrícolas. Por ser altamente lixiviável, esse herbicida apresenta elevado potencial de contaminação de água subsuperficiais e superficiais. Nesta pesquisa, foi avaliado o impacto da contaminação de águas subsuperficiais pelo atrazine em espécies florestais, como forma de determinar os efeitos do herbicida sobre plantas jovens de locais com lençol freático raso. Também foi avaliada a capacidade das espécies florestais em descontaminar o atrazine nessa condição, visando a selecionar espécies para programas de remediação. As espécies florestais estudadas demonstraram diferentes níveis de sensibilidade ao atrazine presente na água subsuperficial. As espécies *A. cearensis* e *B. cheilantha* possuem sistemas antioxidantes ineficientes, permitindo que o atrazine promova graves danos oxidativos. As espécies *A. macrocarpa*, *E. contortisiliquum*, *L. ferrea* e *M. caesalpiniiifolia* são moderadamente afetadas pelo atrazine. Os maiores níveis de tolerância das espécies ao atrazine foram registrados na *H. courbaril*, *M. urundeuva* e *T. aurea* devido à ação do sistema de defesa antioxidante dessas espécies. Dentre as espécies florestais, a *H. courbaril* apresenta maior capacidade fisiológica para ser utilizada na fitorremediação de águas subsuperficiais contaminadas pelo atrazine.

Palavras-chave: Lençol freático; Impacto ambiental; Fitorremediação; Plantas arbóreas.

ABSTRACT

Atrazine is an herbicide used to control weeds in several agricultural crops. Because it is highly leachable, this herbicide has a high potential for contamination of groundwater and surface water. In this research, the impact of atrazine contamination of groundwater on forest species was evaluated, as a way of determining the herbicide effects on young plants in places with shallow water table. The ability of forest species to decontaminate atrazine in this condition was also evaluated, aiming to select species for remediation programs. The forest species studied showed different levels of sensitivity to atrazine present in groundwater. *A. cearensis* and *B. cheilantha* species have inefficient antioxidant systems, allowing atrazine to promote severe oxidative damage. The species *A. macrocarpa*, *E. contortisiliquum*, *L. ferrea* and *M. caesalpiniiifolia* are moderately affected by atrazine. The highest levels of tolerance of species to atrazine were recorded in *H. courbaril*, *M. urundeuva* and *T. aurea* due to the action of the antioxidant defense system of these species. Among the forest species, *H. courbaril* has the highest physiological capacity to be used in the phytoremediation of atrazine-contaminated groundwater.

Keywords: Groundwater; Environmental impact; Phytoremediation; Forest plants.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos principais produtores e exportadores de *commodities* agrícolas do mundo, especialmente soja e milho (FAO, 2021a). Desse modo, o país continua a aumentar a cada ano sua área agrícola e produção de alimentos para atender às demandas do mercado interno e externo. Em 2020, a área plantada atingiu 83,4 milhões de hectares, um aumento de 2,7% em relação ao ano anterior (IBGE, 2020). A produção de cereais, leguminosas e oleaginosas alcançou 255,4 milhões de toneladas, um aumento de 5,0% em relação a 2019 (IBGE, 2020). Esse crescimento das lavouras brasileiras exige a utilização de grandes quantidades de pesticidas, como os herbicidas. Por esse motivo, o Brasil é o segundo maior consumidor de pesticidas, com 5,94 kg ha⁻¹ por unidade de área plantada, superado apenas pela China (13,07 kg ha⁻¹) (FAO, 2021b).

Os herbicidas são amplamente utilizados na agricultura com o objetivo de minimizar as perdas causadas pelas plantas daninhas que competem com a cultura e para garantir o máximo potencial produtivo das lavouras (ABOUZIENA et al., 2016; PÉREZ-LUCAS et al., 2020). No entanto, mesmo quando os herbicidas são usados corretamente, esses produtos podem ser transportados no solo por processos de lixiviação e escoamento superficial (PASSOS et al., 2019), contaminando reservatórios de água superficiais e subsuperficiais, como rios e lençóis freáticos (PÉREZ-LUCAS et al., 2020). Conseqüentemente, resíduos de herbicidas são frequentemente detectados em amostras de água (BONIFACIO; HUED, 2019). O atrazine é um dos herbicidas mais encontrados em fontes de água no Brasil, pois tem sido quantificado em diversas amostras de cursos d'água e poços artesanais (AMADORI et al., 2016; BROVINI et al., 2021; VIEIRA et al., 2021).

O atrazine (2-cloro-4-(etilamino)-6-(isopropilamino)-s-triazina) é o terceiro herbicida mais vendido e utilizado na agricultura brasileira, atrás apenas pelo o glifosato e o 2,4-D (IBAMA, 2021). É um herbicida seletivo usado no manejo de plantas daninhas monocotiledôneas e dicotiledôneas (LIU et al., 2021) em culturas como milho, cana-de-açúcar e sorgo (VIEIRA et al., 2021). No entanto, devido às suas características físico-químicas, como baixa taxa de degradação e moderada solubilidade em água (SOUZA et al., 2016; VIEIRA et al., 2021), o atrazine e seus metabólitos, como o deisopropilatrazine, podem ser moderadamente persistentes na água e afetar a qualidade das águas subterrâneas (AGUIAR et al., 2020), tornando-se uma ameaça aos ecossistemas (LERCH et al., 2018). Nesse sentido, para preservar a qualidade das águas, a legislação brasileira, por meio da Resolução Conama nº 357/05 (BRASIL, 2005), prevê a concentração máxima de atrazine na água potável de 2,0 µg L⁻¹. Contudo, no Brasil, foram registrados 195 µg L⁻¹ (BROVINI et al., 2021), valor 97,5 vezes

superior ao permitido. Ressalta-se que a Resolução Conama nº 357/05 não determinou a concentração máxima dos metabólitos da atrazine em água (GABARDO et al., 2021).

Diante do impacto ambiental de grandes quantidades de atrazine nos mananciais, estratégias devem ser adotadas para minimizar os efeitos nocivos desse poluente no meio ambiente (ESCOTO et al., 2019; VIEIRA et al., 2021). Dentre elas, a fitorremediação é uma técnica baseada na remoção e transformação de compostos poluentes do meio ambiente em formas menos tóxicas por espécies vegetais por meio de seus processos fisiológicos (DOS SANTOS et al., 2018; ESCOTO et al., 2019; VIEIRA et al., 2021). Nesse sentido, as espécies florestais apresentam potencial fitorremediador por possuírem alta produção de biomassa, sistema radicular profundo e alta taxa de transpiração (DOS SANTOS et al., 2018; MCKNIGHT et al., 2021). No entanto, o uso de espécies florestais em programas de fitorremediação do atrazine é limitado pela alta toxicidade deste herbicida (VIEIRA et al., 2021), sendo, portanto, importante avaliar a tolerância dessas espécies ao herbicida contaminante (BARROSO et al., 2021).

A sensibilidade das espécies florestais ao atrazine está associada aos efeitos do herbicida no fotossistema II (PSII) das plantas (VIEIRA et al., 2021). O mecanismo de ação do atrazine consiste no bloqueio da ligação da plastoquinona B (Q_B) na proteína D_1 do PSII, impedindo o transporte de elétrons para o fotossistema I (PSI) e inibindo a fotossíntese (MAJEWSKA et al., 2018; SUN et al., 2020; VIEIRA et al., 2021). Como consequência, é produzida a clorofila singlete, seguida pela clorofila triplete, que por sua vez reage com o oxigênio molecular e aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), como o oxigênio singlete (WANG et al., 2018). A produção e acúmulo excessivo de EROs promovem danos oxidativos a proteínas e lipídios e branqueamento de pigmentos fotossintéticos (ALMEIDA et al., 2017; ERINLE et al., 2018). Portanto, para mitigar os efeitos das EROs, as plantas tolerantes ao atrazine devem possuir mecanismos antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, como peroxidase, catalase e carotenoides (HASANUZZAMAN et al., 2020; VIEIRA et al., 2021; WANG et al., 2018).

Dessa maneira, foi levantada a hipótese de que as espécies florestais apresentam diferentes níveis de sensibilidade às águas subsuperficiais contaminadas pelo atrazine. Para testar esta hipótese, foi avaliada a sensibilidade de diferentes espécies florestais à presença do atrazine em águas subsuperficiais, visando a selecionar espécies com potencial de uso em programas de fitorremediação.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil. O delineamento adotado foi inteiramente casualizado, com três repetições. Os tratamentos foram arrançados em fatorial 2×10 . O primeiro fator foi representado pela presença ou ausência (controle) do herbicida atrazine (Herbitrin 500 BR[®], ADAMA) na água subsuperficial. O segundo fator correspondeu a 10 dez espécies florestais: cumaru (*Amburana cearensis* (Allemão) A. C. Sm.), angico vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan), mororó (*Bauhinia cheilantha* (Bong.) Steud.), tamboril (*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong), jatobá (*Hymenaea courbaril* L.), jucá (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L. P. Queiroz), sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth.), jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir.), aroeira (*Myracrodruon urundeuva* M. Allemão) e caraibeira (*Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore).

A unidade experimental correspondeu a uma planta por vaso (3,5 L) preenchido com solo e composto orgânico (10:1). O solo utilizado no experimento foi coletado na camada de 0 a 20 cm em área sem histórico de aplicação de herbicidas na horta didática do Departamento de Ciências Agrônômicas e Florestais (DCAF) da UFERSA. A análise física e química do substrato revelou os seguintes valores: areia: 820 g kg^{-1} ; silte: 120 g kg^{-1} ; argila: 60 g kg^{-1} (classe textural areia franca); pH (H₂O): 7,6; matéria orgânica (MO): $8,8 \text{ g kg}^{-1}$; condutividade elétrica (CE): $0,54 \text{ dS m}^{-1}$ e capacidade de troca catiônica (CTC): $6,1 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$. Os vasos foram furados no fundo e colocados sob recipientes com volume de 500 ml, para simular a absorção de água pelas raízes de um lençol freático.

Inicialmente, as mudas foram transplantadas para os vasos quando apresentaram dois pares de folhas verdadeiras e aclimatadas durante 30 dias. A partir desse período, a água foi ofertada para as plantas somente por capilaridade por meio do sistema de simulação de lençol freático. Para tanto, o volume de água foi completado sempre que observado o consumo de todo o conteúdo do recipiente (500 ml). As quantidades de água acrescentadas nos reservatórios foram registradas para obtenção do volume de água evapotranspirada (L) por cada espécie avaliada.

Após o período de aclimação, as mudas foram cultivadas durante 28 dias sob influência do atrazine adicionado ao reservatório de água. O atrazine foi adicionado em dois momentos na água - aos 30 e 40 dias após o transplântio. Em cada aplicação do atrazine, foram adicionados 1,75 mg (quantidade correspondente a $\frac{1}{2}$ da dose comercial, equivalente a 2500 g

i.a. ha^{-1} , considerando a camada 0 a 20 cm de solo e o volume do vaso de 3,5 L), totalizando 1,0 mg i.a. kg^{-1} solo. Além disso, o volume do reservatório de água era completado até 500 ml.

Aos sete, 14 e 28 dias após a primeira aplicação (DAA) do atrazine, foram registrados os níveis de intoxicação das mudas. Passados 28 DAA, determinou-se a área foliar, massa seca total, teor de clorofilas a, b e total, além do dano de membrana celular para avaliar a sensibilidade das espécies florestais ao atrazine. Além disso, foram determinados o teor de carotenoides e a atividade das enzimas peroxidase e catalase para avaliar o mecanismo de defesa antioxidante das plantas.

Ainda foi avaliada a capacidade das espécies florestais de extrair o atrazine do solo por meio da cromatografia líquida de ultraeficiência (UHPLC). Para isso, um vaso sem planta (controle) foi mantido sob as mesmas condições dos vasos com plantas durante todo o período de avaliação, para comparar a quantidade de atrazine retido ao solo em vasos com e sem planta.

2.2 SENSIBILIDADE DAS ESPÉCIES FLORESTAIS

A intoxicação das mudas foi avaliada aos sete, 14 e 28 DAA. Foram utilizados os seguintes critérios: 0% - ausência de intoxicação; 1 a 30% - ligeira intoxicação (ligeira clorose); 31 a 69% - intoxicação mediana (clorose grave, necrose leve a moderada); 70 a 99% - intoxicação grave (clorose grave e necrose grave); e 100% - morte das plantas (SBCPD, 1995).

A área foliar foi obtida pelo método da imagem digital (SOUZA et al., 2012), usando o *software* ImageJ (National Institute of Health, NY, USA), com resultados expressos em cm^2 . Para a obtenção da massa seca total (MST), as plantas foram retiradas dos vasos, acondicionadas em sacos de papel, colocadas em estufa com circulação de ar forçada a 65 °C durante 72 horas até massa constante, e depois pesadas em balança analítica. Os valores de MST foram expressos em g planta^{-1} .

O teor de clorofilas foi quantificado de acordo com a metodologia proposta por Lichthenthaler (1987). Primeiramente, foram coletados 200 mg de massa foliar fresca (MF) e congelados em nitrogênio líquido. Em seguida, o material foi macerado em almofariz contendo 0,2 g de CaCO_3 , 5 ml de acetona 80% e uma pitada de areia. Em seguida, foram adicionados 10 ml de acetona 80% ao extrato e transferidos para tubos do tipo Falcon revestidos com papel alumínio. Os tubos foram centrifugados por 10 minutos, a 10 °C, a 6.000 rpm. O sobrenadante foi vertido para balões volumétricos de 25 ml revestidos com papel alumínio, e o volume foi completado com acetona 80%. Por fim, foi retirada uma alíquota e realizada a leitura em espectrofotômetro nos comprimentos de ondas de 470; 646,8 e 663,2 nm. As concentrações de clorofilas e de carotenoides (g kg^{-1} MF) foram calculadas utilizando as seguintes equações:

Clorofila a (C_a) = $12,25 \times A_{663,2} - 2,79 \times A_{646,8}$; Clorofila b (C_b) = $21,50 \times A_{646,8} - 5,10 \times A_{663,2}$;
Clorofilas totais = $7,15 \times A_{663,2} + 18,71 \times A_{646,8}$.

O dano de membrana foi determinado por meio do extravasamento de eletrólitos, de acordo com Shanahan et al. (1990). Para isso, foram coletados discos foliares com 10 mm de diâmetro e colocados em tubos de ensaio contendo água deionizada. Os tubos ficaram incubados a 30 °C durante oito horas. Após esse período, foi realizada a leitura da condutividade elétrica (CE_1) em $\mu\text{S cm}^{-1}$. Posteriormente, os tubos foram incubados a 100 °C por 1 hora. Por fim, foi obtida nova condutividade elétrica (CE_2) da solução. O dano de membrana (DM) foi calculado a partir da seguinte equação: $DM = (CE_1 / CE_2) \times 100$.

2.3 MECANISMOS DE DEFESA ANTIOXIDANTE

O teor de carotenoides foi determinado conforme a metodologia utilizada para a quantificação de clorofilas (LICHTHENTHALER, 1987). A concentração de carotenoides (g kg^{-1} MF) foi calculada por meio da seguinte equação: $\text{Carotenoides} = (1000 \times A_{470} - 1,82 \times C_a - 85,02 \times C_b) / 198$.

A atividade da enzima peroxidase (POD) foi determinada seguindo a metodologia proposta por Silva (1981). Inicialmente, 1 g de tecido foliar foi macerado em almofariz contendo 6 ml de tampão fosfato 0,2 M (pH 6,0). O material foi transferido para tubos do tipo Falcon e centrifugados a 10.000 g por 21 minutos a 4 °C. Após a centrifugação, o sobrenadante foi mantido em banho de gelo. Em seguida, foram retirados 100 μL do extrato e adicionados em tubos de ensaio contendo 1 ml de tampão fosfato 0,2 M (pH 6,0). Esses tubos de ensaio permaneceram em banho termostático a 25 °C até a estabilização da temperatura. Aos tubos de ensaio, foram adicionados 100 μL de guaiacol 0,5% e 100 μL de peróxido de hidrogênio 0,08%. Por fim, a solução foi homogeneizada, tendo sido realizadas seis leituras a 470 nm a cada 30 segundos em espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em unidades de enzima por grama de amostra (UE g^{-1}).

A atividade da enzima catalase (CAT) foi determinada de acordo com Havir e McHale (1987). Foram macerados 0,2 g de tecido foliar em 1,0 ml de meio de reação [Tampão Fosfato-K 100 mmol L^{-1} , pH 7,0; EDTA 0,1 mmol L^{-1}] + 60 mg de PVPP. O homogenato foi transferido para tubos e centrifugado a 15.000 g por 15 min a 4 °C. Em seguida, foram adicionados 20 μL do extrato a 2980 μL do meio de reação [Tampão Fosfato-K 50 mmol L^{-1} , pH 7,0; H_2O_2 12,5 mmol L^{-1}], totalizando 3000 μL (3 ml). Por fim, foi feita a leitura da alíquota em espectrofotômetro a 240 nm durante dois minutos a 30 °C. Os valores da catalase foram calculados por meio da seguinte fórmula: $\text{Unidade Cat}/3 \text{ mL} = 69 \times \Delta\text{Abs } 240 \text{ nm}$.

2.4 EXTRAÇÃO DE ATRAZINE E DEISOPROPILATRAZINE DO SOLO E CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

Aos 28 DAA, foram coletadas amostras de solo dos vasos de cada repetição das espécies avaliadas e do vaso sem planta para determinação da quantidade de atrazine extraído pelas plantas. Além disso, foi mensurada a concentração de deisopropilatrazine (DIA) ($\mu\text{g kg}^{-1}$ solo).

Para tanto, em tubos do tipo Falcon, foram colocados 5 g de solo seco e 20 ml de metanol e depois agitados por três horas. Em seguida, foram centrifugados por sete minutos a 2.260 g para decantação das partículas e limpeza do extrato. O sobrenadante foi retirado, tendo sido adicionados 10 ml de metanol ao precipitado. Os tubos foram novamente agitados por duas horas e centrifugados durante sete minutos, e os extratos das duas etapas foram combinados (10 + 10 ml de metanol). Da mistura de extratos, foram retirados 1,5 ml, filtrados em membrana de 0,45 μm de poro.

A concentração do atrazine nos solos contidos nos vasos de cada espécie foi determinada por meio de um sistema de cromatografia líquida de ultraeficiência (UHPLC) acoplado a um espectrômetro de massa em tandem (LC-MS/MS) e detector de UV com arranjo de fotodiodo (DAD). Utilizou-se uma coluna de fase reversa, a Restek (Pinnacle DB AQ C18 de tamanho 50 \times 2,1 mm, com partículas de 1,9 μm). As condições cromatográficas foram: eluição isocrática em fase móvel binária contendo ácido fórmico 0,1% e acetonitrila, na proporção 30:70, respectivamente, com fluxo de 0,3 mL min^{-1} e volume de injeção de 5 μL . A temperatura do mostrador automático e do forno foi ajustada para 15 e 40°C, nessa ordem. O comprimento de onda utilizado foi de 220 nm.

A porcentagem de atrazine removido do solo por cada espécie foi calculada a partir da diferença entre a quantidade de herbicida encontrado no solo dos vasos com planta e do solo do vaso sem planta:

$$\text{Remoção do atrazine (\%)} = \frac{\text{solo dos vasos plantados}}{\text{solo do vaso não plantado}} \times 100$$

2.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados obtidos foram submetidos à análise de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk (SHAPIRO; WILK, 1965) e à análise de homogeneidade da variância pelo teste de Levene (LEVENE, 1960) a 5% de probabilidade. Atendendo às pressuposições, foi realizada a análise de variância. Em caso de significância, as médias dos tratamentos controle e atrazine foram comparadas pelo teste t ($p \leq 0,05$) para cada variável analisada. Por fim, as variáveis com

diferença significativa entre os tratamentos tiveram as médias dos percentuais de aumento ou redução de cada espécie comparadas por meio do teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas por meio do *software* R 4.0.4 (R Core Team, 2021). Os gráficos foram confeccionados com o auxílio do *software* SigmaPlot 14.0 (Systat Software, 2017).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DAS ESPÉCIES FLORESTAIS

As espécies florestais apresentaram diferentes níveis de intoxicação ao atrazine presente na água subsuperficial (Figura 1A). Desde a primeira avaliação da intoxicação, as espécies *A. cearensis*, *E. contortisiliquum* e *B. cheilantha* demonstraram graves sintomas decorrentes da ação do atrazine, como intensa clorose foliar, evoluindo para necrose e, por fim, perda das folhas. As espécies *A. macrocarpa*, *T. aurea*, *L. ferrea* e *M. tenuiflora* manifestaram sintomas que caracterizaram intoxicação mediana, segundo os critérios adotados. Para a *A. macrocarpa* e a *T. aurea*, a intoxicação foi mais severa aos sete e 14 DAA, com leve redução dos sintomas aos 28 DAA. A *L. ferrea* manteve a taxa de intoxicação em cerca de 40% em todas as épocas de avaliação.

M. tenuiflora apresentou 30% de intoxicação aos sete e 14 DAA e 40% aos 28 DAA. A espécie *M. caesalpiniifolia* apresentou intoxicação máxima aos sete e 14 DAA (50%), com posterior atenuação dos sintomas aos 28 DAA (20%). Os níveis de intoxicação da *M. urundeuva* evoluíram de 0%, ou seja, sem sintomas foliares aparentes, para 20% aos 28 DAA. A espécie *H. courbaril* não demonstrou intoxicação ao atrazine durante o período avaliado.

A aplicação do atrazine não afetou a área foliar das espécies *M. urundeuva* e *M. caesalpiniifolia* (Figura 1B). O tratamento controle e o atrazine proporcionaram valores médios iguais a 345,26 e 333,80 cm² para a *M. urundeuva* e 525,29 e 550,76 cm² para a *M. caesalpiniifolia*, respectivamente. Por outro lado, o tratamento atrazine reduziu a área foliar da espécie *E. contortisiliquum* em 97,02% e da *A. macrocarpa*, *T. aurea*, *L. ferrea* e *M. tenuiflora* entre 59,84 e 73,41% (Figura 1C). *H. courbaril* apresentou a menor porcentagem de perda da área foliar, com 27,42%. As plantas de *A. cearensis* e *B. cheilantha* perderam suas folhas durante a condução do experimento, o que impediu a mensuração da área foliar e, conseqüentemente, a realização das análises bioquímicas.

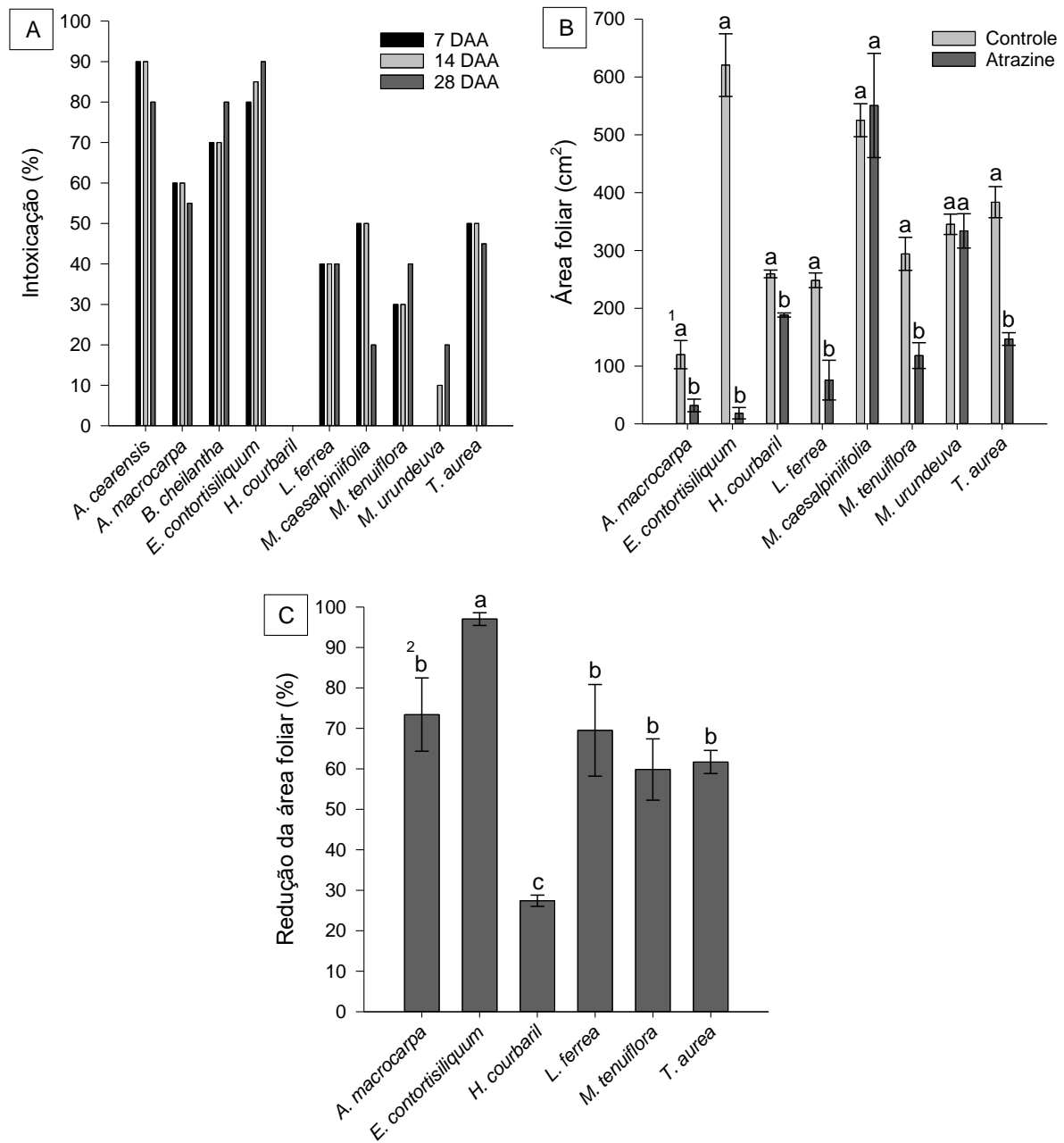


Figura 1. Intoxicação aos sete, 14 e 28 dias após a primeira aplicação (DAA) de atrazine (A), área foliar (B) e porcentagem de redução da área foliar (C) de espécies florestais submetidas a águas subsuperficiais contaminadas pelo atrazine. ¹Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste t ($p \leq 0,05$). ²Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Barras indicam o erro padrão da média ($n=3$).

A área foliar das plantas foi condizente com os níveis de intoxicação apresentados pelas espécies florestais estudadas. A ocorrência de clorose e necrose nas folhas, com a consequente perda de área foliar na maioria das espécies, sugere alta sensibilidade ao atrazine, especialmente para *A. cearensis*, *E. contortisiliquum* e *B. cheilantha*. Esses sintomas são comumente

observados em plantas nas quais foi aplicado o atrazine (DOS SANTOS et al., 2020), como a *Handroanthus heptaphyllus* (Vell.) (SILVA et al., 2021).

O alto nível de intoxicação das espécies florestais, aliado à redução da área foliar, pode estar associado aos danos oxidativos de clorofilas e peroxidação de lipídeos das folhas provocados pelo atrazine presente na água subsuperficial (DA SILVA TÉOFILO et al., 2020; DA SILVA BORGES et al., 2021). Em contrapartida, a menor intoxicação da *M. urundeuva* e *M. caesalpiniiifolia* e a ausência de sintomas na *H. courbaril* sugere que essas espécies possuem mecanismos que lhe conferem tolerância ao atrazine. Possivelmente, a *M. urundeuva*, *M. caesalpiniiifolia* e *H. courbaril* produzem compostos antioxidantes que atuam contra a peroxidação de clorofilas e lipídeos (BARROS et al., 2019). Essa hipótese de tolerância da *M. urundeuva* e da *M. caesalpiniiifolia* é reforçada pela ausência de diferença de área foliar entre plantas expostas ao controle e ao atrazine. No entanto, a redução da área foliar do *H. courbaril* pode ser atribuída ao maior gasto de energia requerido pelas plantas dessa espécie para ativar o sistema antioxidante e amenizar os danos oxidativos (DA SILVA BORGES et al., 2021). Esse gasto energético excessivo pode limitar a fixação de carbono e, conseqüentemente, a produção de tecido foliar (DA SILVA BORGES et al., 2021).

O atrazine presente na água subsuperficial reduziu a massa seca total de todas as espécies arbóreas estudadas (Figura 2A), sendo possível dividi-las em quatro grupos com diferentes porcentagens de redução da massa seca (Figura 2B). As espécies *E. contortisiliquum* e *B. cheilantha* apresentaram as maiores reduções, com 90,31 e 89,85%, respectivamente. Em seguida, as espécies *M. tenuiflora*, *T. aurea* e *A. cearensis* demonstraram perdas de 83,94; 80,74 e 79,15%, respectivamente. Ainda foram observadas reduções de 71,94 e 70,91% na *A. macrocarpa* e na *L. ferrea*, respectivamente. Por fim, as espécies *H. courbaril*, *M. urundeuva* e *M. caesalpiniiifolia* expressaram as menores taxas de redução de massa seca, nessa mesma ordem, com 60,84; 60,03 e 53,66%.

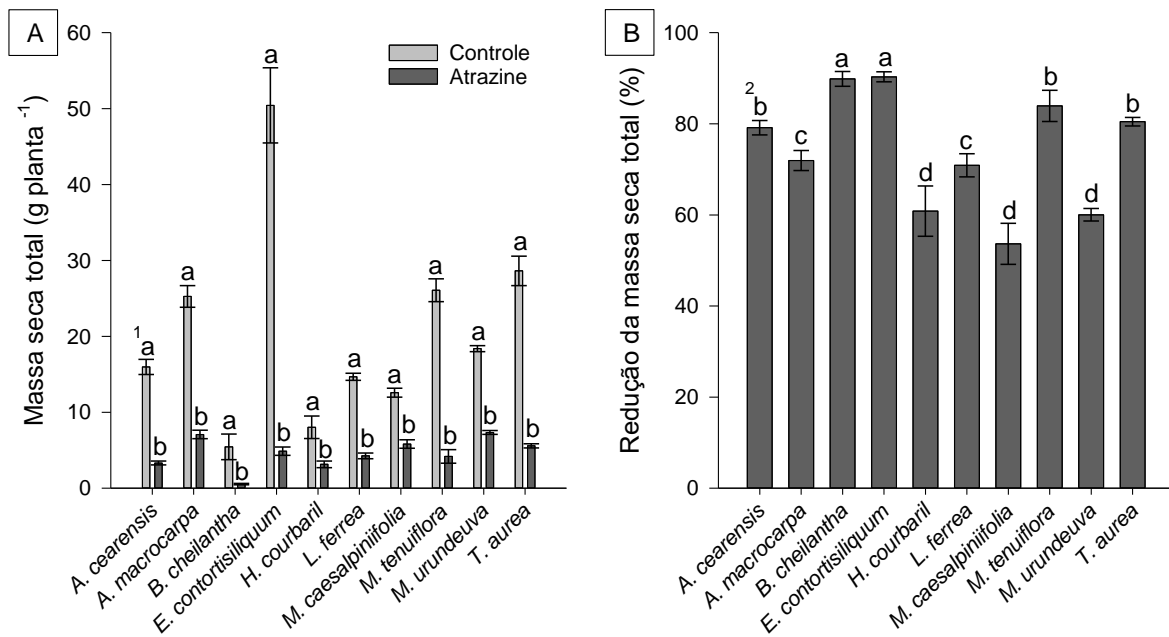


Figura 2. Massa seca total (A) e porcentagem de redução da massa seca total (B) de espécies florestais submetidas a águas subsuperficiais contaminadas pelo atrazine. ¹Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste t ($p \leq 0,05$). ²Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Barras indicam o erro padrão da média ($n=3$).

A produção de massa seca é um importante parâmetro a ser mensurado para avaliar a sensibilidade ao herbicida e o potencial fitorremediador de espécies florestais (BARROSO et al., 2021). De modo geral, a redução da massa seca total de todas as espécies avaliadas sugere que essas plantas possuem algum nível de sensibilidade ao atrazine, principalmente aquelas que demonstraram graves sintomas de intoxicação, como *E. contortisiliquum*, *A. cearensis* e *B. cheilantha*. Esse padrão de resposta é indesejável em espécies fitorremediadoras, pois diminui o potencial de utilização dessas espécies em programas de fitorremediação de herbicidas (DA SILVA TEÓFILO et al., 2020).

A restrição no acúmulo de massa seca total das espécies avaliadas pode estar relacionada ao mecanismo de ação do atrazine (DOS SANTOS et al., 2021). Esse herbicida inibe o transporte de elétrons do fotossistema II para o fotossistema I (MAJEWSKA et al., 2018; SUN et al., 2020), o que reduz a produção de ATP e NADPH, requeridos na fixação do CO₂ no ciclo de Calvin (DAYAN; DUKE, 2020). Portanto, o atrazine limita o acúmulo de massa seca por reduzir a carboxilação do CO₂ (RIBEIRO et al., 2018). Ainda vale ressaltar que a redução de massa seca nas espécies com menor grau de intoxicação (*M. urundeuva* e *M. caesalpinifolia*) e sem sintomas de intoxicação aparentes (*H. courbaril*) pode ser atribuída à redução da área foliar e ao decaimento da taxa fotossintética dessas plantas (DA SILVA TEÓFILO et al., 2020).

Isso porque herbicidas inibidores da fotossíntese são capazes de afetar a produção de fotoassimilados mesmo em espécies com baixa sensibilidade (SUN et al., 2020).

De modo geral, o atrazine reduziu a produção das clorofilas a, b e totais das espécies *E. contortisiliquum*, *H. courbaril*, *M. caesalpiniifolia* e *M. tenuiflora* (Figura 3). Por sua vez, para as espécies *A. macrocarpa*, *L. ferrea*, *M. urundeuva* e *T. aurea*, houve comportamento diferente na síntese das clorofilas a, b e totais.

O teor de clorofila a das espécies florestais foi reduzido pelo atrazine, com exceção das espécies *T. aurea* e *M. urundeuva*. Para a *T. aurea*, não houve diferença entre o controle e o atrazine, com médias iguais a 3,09 e 3,33 g kg⁻¹ MF, respectivamente. Já para a espécie *M. urundeuva*, o atrazine promoveu aumento de 48,91% do teor de clorofila em comparação ao controle (Figura 4A). Em contrapartida, as espécies *L. ferrea* e *E. contortisiliquum* apresentaram redução de clorofila a de 55,84 e 50,48%, nessa ordem. O atrazine ainda reduziu a produção de clorofila a em 39,12% na espécie *M. tenuiflora* e em 24,73; 21,95 e 22,06% nas espécies *H. courbaril*, *M. caesalpiniifolia* e *A. macrocarpa*.

Em relação à clorofila b, as espécies *L. ferrea* e *M. urundeuva* não apresentaram variação entre os tratamentos controle e atrazine. Para *L. ferrea*, os valores de clorofila b mantiveram-se entre 2,15 (controle) e 2,42 (atrazine) g kg⁻¹ MF. A espécie *M. urundeuva* apresentou médias entre 1,05 (controle) e 1,14 (atrazine) g kg⁻¹ MF. No entanto, as plantas das espécies *T. aurea* e *A. macrocarpa* sob influência do atrazine aumentaram a produção de clorofila b. Para a *T. aurea*, houve aumento de 96,11%, sendo estatisticamente superior a *A. macrocarpa* (33,82%) (Figura 4B). As demais espécies demonstraram redução do conteúdo de clorofila b devido à presença do atrazine na água subsuperficial. As espécies *M. tenuiflora*, *E. contortisiliquum* e *H. courbaril* expressaram reduções de 75,05; 66,06 e 63,33%, respectivamente. Por sua vez, a espécie *M. caesalpiniifolia* apresentou a menor média de redução (31,48%).

No que se refere ao conteúdo de clorofilas totais, não foi observada diferença entre o controle e o atrazine na *A. macrocarpa*. Para essa espécie, os valores médios foram iguais a 6,09 (controle) e 5,81 (atrazine) g kg⁻¹ MF. Porém, o atrazine aumentou a produção de clorofilas totais nas espécies *T. aurea* e *M. urundeuva* em 34,43 e 31,61%, respectivamente (Figura 4C). Por outro lado, houve redução de clorofilas totais nas plantas das demais espécies. As maiores reduções foram observadas nas espécies *E. contortisiliquum* (54,48%) e *M. tenuiflora* (48,05%). Em seguida, as espécies *H. courbaril* e *L. ferrea* apresentaram reduções iguais a 42,48 e 38,37%, nessa ordem. Por fim, o atrazine diminuiu o teor de clorofilas totais de *M. caesalpiniifolia* em 24,58%.

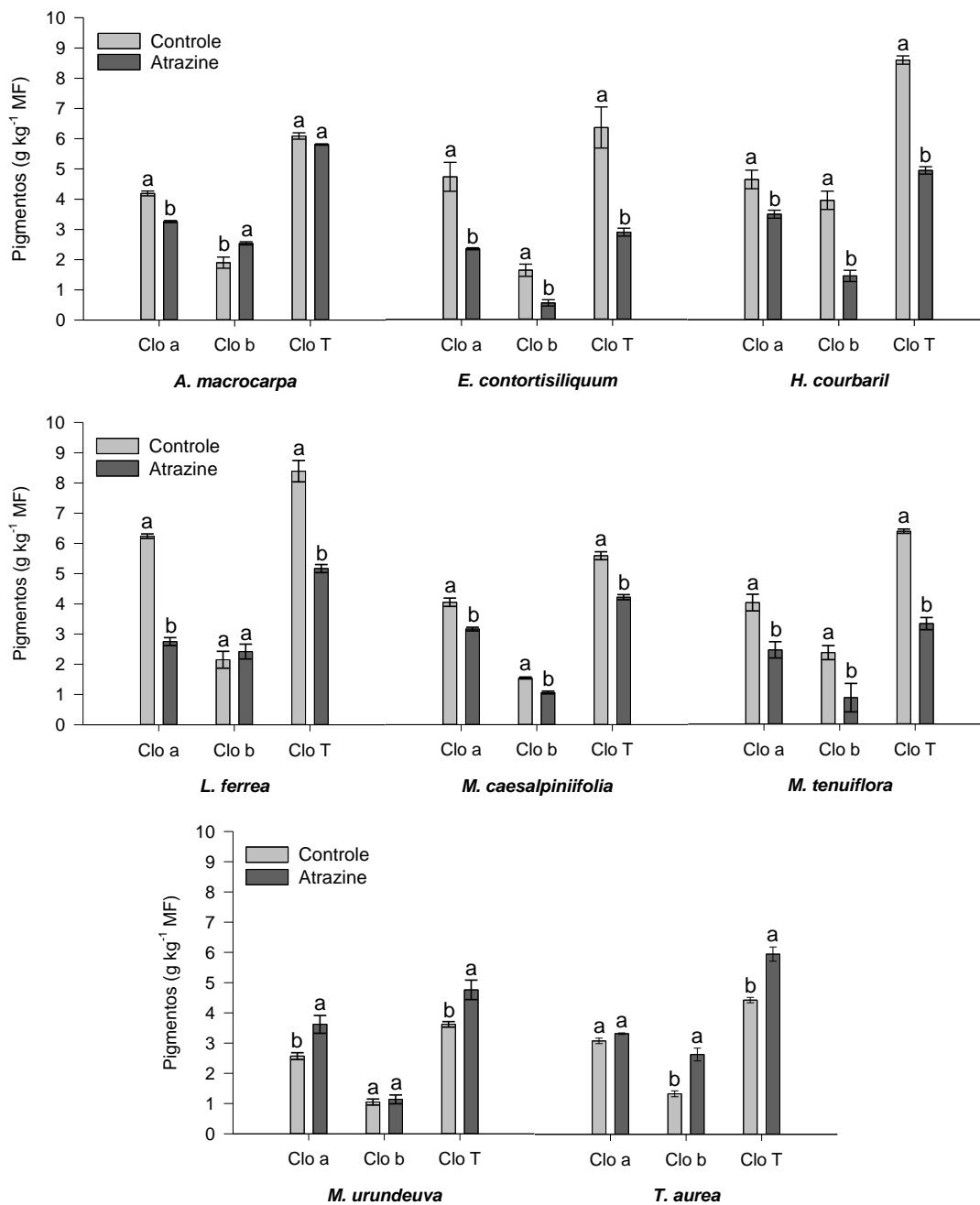


Figura 3. Teor de clorofila a (Clo a), clorofila b (Clo b) e clorofilas totais (Clo T) de espécies florestais submetidas a águas subsuperficiais contaminadas pelo herbicida atrazine. Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste t ($p \leq 0,05$). Barras indicam o erro padrão da média ($n=3$).

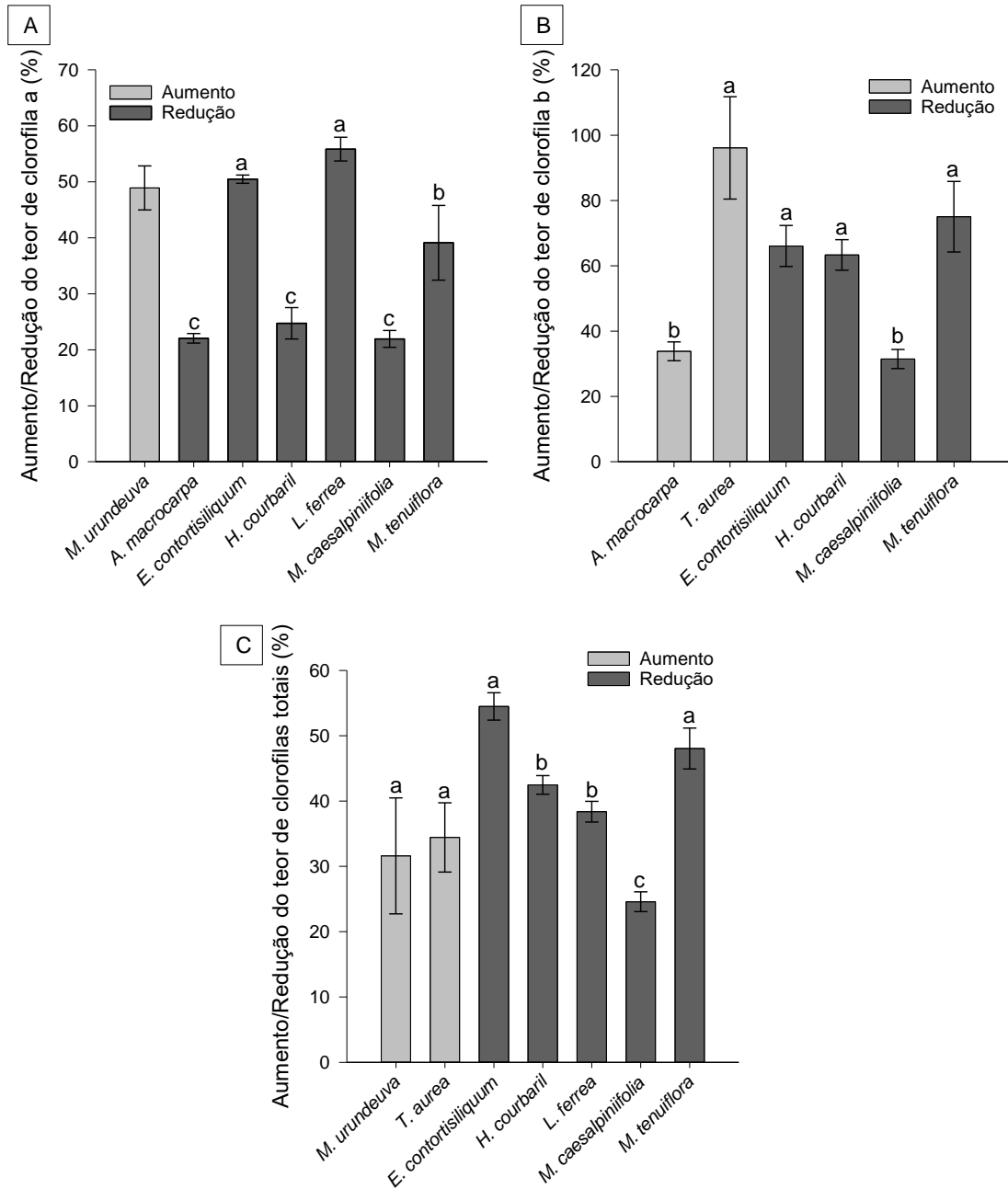


Figura 4. Porcentagem de aumento e redução do teor de clorofila a (A), clorofila b (B) e clorofilas totais (C) de espécies florestais submetidas a águas subsuperficiais contaminadas pelo herbicida atrazine. Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Barras indicam o erro padrão da média ($n=3$).

A clorofila é uma variável importante a ser analisada na avaliação da sensibilidade de plantas a contaminantes orgânicos (BI et al., 2012). As clorofilas são pigmentos responsáveis por absorver energia luminosa utilizada para produzir fotoassimilados (SHER et al., 2021). Em razão disso, a concentração de clorofilas está diretamente associada à eficiência fotossintética das plantas (FAN et al., 2018). No entanto, a redução dos teores de clorofila é normalmente constatada em plantas cultivadas sob condições estressantes (ERINLE et al., 2018). No presente

estudo, a diminuição do conteúdo de clorofilas a, b e totais nas plantas das espécies *E. contortisiliquum*, *H. courbaril*, *M. caesalpinifolia* e *M. tenuiflora*, da clorofila a na espécie *A. macrocarpa* e das clorofilas a e totais na espécie *L. ferrea* revela o impacto negativo do atrazine sob esses pigmentos. Geralmente, plantas expostas ao atrazine podem apresentar alta taxa de degradação de clorofilas devido à ação das EROs (ALMEIDA et al., 2017), que são geradas a partir da inibição do fotossistema II (ERINLE et al., 2018; VIEIRA et al., 2021). Além disso, a redução da concentração das clorofilas pode caracterizar um mecanismo de defesa para mitigar a produção de EROs (WANG et al., 2018), já que haverá diminuição da capacidade de captação da energia luminosa.

Os centros de reações do fotossistema II e do fotossistema I localizados nos tilacoides dos cloroplastos são os principais locais de produção de EROs em organismos fotossintetizantes (ALMEIDA et al., 2017). Contudo, o aumento dos teores das clorofilas a e totais na espécie *M. urundeuva*, clorofilas b e totais na *T. aurea* e clorofila b na *A. macrocarpa* pode estar relacionado à ativação de sistemas de defesa bioquímicos e fisiológicos. As plantas dispõem de mecanismos fotoprotetores como modificações estruturais e funcionais no fotossistema II e a síntese de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos para evitar a intensa produção de EROs ou desintoxicar as células expostas às EROs (KORKARIC et al., 2015). O sistema antioxidante das plantas é composto por enzimas como a peroxidase e a catalase, bem como pelos carotenoides (HASANUZZAMAN et al., 2020; VIEIRA et al., 2021; WANG et al., 2018).

Ainda é possível que o incremento do conteúdo de clorofilas nas plantas tratadas com o atrazine esteja associado ao fenômeno conhecido como hormese, termo utilizado para descrever o estímulo de um composto tóxico em baixas concentrações no desenvolvimento vegetal (BELZ; DUKE, 2014). Nesse sentido, herbicidas podem estimular a produção de biomassa, a fotossíntese e o teor de aminoácidos e proteínas das plantas (ASADUZZAMAN et al., 2021). Por exemplo, a aplicação de atrazine aumentou as clorofilas a, b e totais em plantas de canola (*Brassica napus* L. var. oleifera) (DURIGON et al., 2019). Nesse trabalho, os autores relacionaram o incremento das clorofilas ao aumento da atividade da enzima nitrato redutase promovido pelo atrazine, o que eleva o metabolismo do nitrogênio. O teor de clorofilas é diretamente influenciado pela concentração de nitrogênio na planta (PADILLA et al., 2018), já que a clorofila possui quatro átomos de nitrogênio em sua estrutura molecular (DURIGON et al., 2019). Porém, no presente trabalho o aumento da produção de clorofila não foi suficiente para impedir a redução de massa seca total, sinalizando ineficiência do sistema fotossintético e agressividade dos danos oxidativos.

O padrão de resposta do dano de membrana celular foi diferente entre as espécies florestais estudadas (Figura 5A). *M. urundeuva* não apresentou variação do dano de membrana entre as plantas do controle e aquelas tratadas com o atrazine. Nessa espécie, o tratamento controle e o atrazine proporcionaram valores iguais a 387 e 393 $\mu\text{S cm}^{-1}$, respectivamente. Porém, o herbicida aumentou o dano de membrana em 69,31% na espécie *E. contortisiliquum*, 35,80% na *A. macrocarpa* e 11,77% na *L. ferrea* (Figura 5B). Em contrapartida, houve redução do dano de membrana em 22,63% na *T. aurea*, 19,24% na *M. tenuiflora*, 10,29% na *H. courbaril* e 5,25% na *M. caesalpinifolia*. Não foi possível obter amostras de folhas de *A. cearensis* e *B. cheilantha* para a análise do dano de membrana.

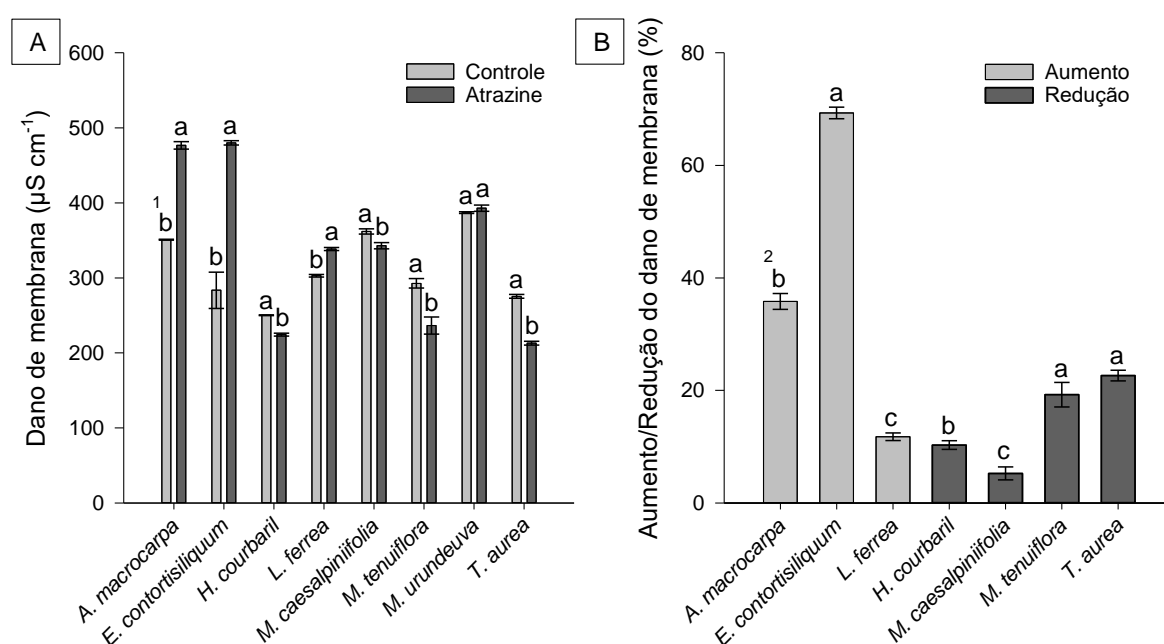


Figura 5. Dano de membrana (A) e porcentagem de aumento e redução do dano de membrana (B) de espécies florestais submetidas a águas subsuperficiais contaminadas pelo atrazine. ¹Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste t ($p \leq 0,05$). ²Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Barras indicam o erro padrão da média ($n=3$).

A determinação do dano de membrana por meio do extravasamento de eletrólitos é um importante indicador do grau da lesão das células sob estresses ambientais (MA et al., 2019). Normalmente, em situações não estressantes a membrana plasmática das células vegetais apresenta menor permeabilidade a íons (ZHANG et al., 2018). Entretanto, a aplicação de herbicidas nas plantas pode comprometer a permeabilidade da membrana celular em razão da produção de EROs (ZHANG et al., 2018; PLAZA et al., 2021). Nesse sentido, o aumento do extravasamento de eletrólitos – associado à redução do crescimento foliar e da produção de massa total nas plantas de *E. contortisiliquum*, *A. macrocarpa* e *L. ferrea* expostas ao atrazine

presente na água subsuperficial – pode ser atribuído ao acúmulo excessivo das EROs no interior das células. As EROs são radicais livres que promovem a oxidação de macromoléculas como proteínas e lipídios (ERINLE et al., 2018), principais componentes da membrana plasmática das células vegetais (CASSIM et al., 2019).

Quando presentes em pequenas concentrações nas células vegetais, as EROs podem atuar como sinalizadores de estresses abióticos e estimular a ativação de processos de aclimação das plantas (FAROOQ et al., 2019; HASANUZZAMAN et al., 2020; HOMAYOONZADEH et al., 2020). A partir disso, as plantas realizam modificações bioquímicas no sistema de defesa antioxidante enzimático e não enzimático para mitigar os danos oxidativos (PANDEY et al., 2017). Portanto, a redução do dano de membrana nas espécies *T. aurea*, *M. tenuiflora*, *H. courbaril* e *M. caesalpinifolia* e a estabilidade do dano de membrana na *M. urundeuva* podem estar associadas à eficiência do sistema antioxidante das plantas, mantendo a integridade da membrana plasmática.

3.2 AVALIAÇÃO DOS MECANISMOS DE DEFESA ANTIOXIDANTE

O atrazine afetou a produção de carotenoides das espécies florestais avaliadas, com exceção da *M. tenuiflora* e da *T. aurea* (Figura 6A). Para *M. tenuiflora*, os tratamentos controle e atrazine alcançaram médias iguais a 0,77 e 0,59 g kg⁻¹ MF, respectivamente. Para *T. aurea*, por sua vez, foram observadas médias iguais a 0,51 (controle) e 0,49 (atrazine) g kg⁻¹ MF. No entanto, as espécies *H. courbaril* e *M. urundeuva* aumentaram o teor de carotenoides na presença do atrazine (Figura 6B). *H. courbaril* apresentou ganho de 160,28%, sendo estatisticamente superior a *M. urundeuva* (61,16%). Em contrapartida, o atrazine diminuiu o conteúdo de carotenoides das plantas das espécies *L. ferrea*, *A. macrocarpa*, *E. contortisiliquum* e *M. caesalpinifolia*. As espécies *L. ferrea* e *A. macrocarpa* apresentaram as maiores taxas de redução, 80,76 e 65,52%, respectivamente. Em seguida, foi observada redução de 53,89% na espécie *E. contortisiliquum*. A espécie *M. caesalpinifolia* expressou a menor taxa de redução de carotenoides (35,52%).

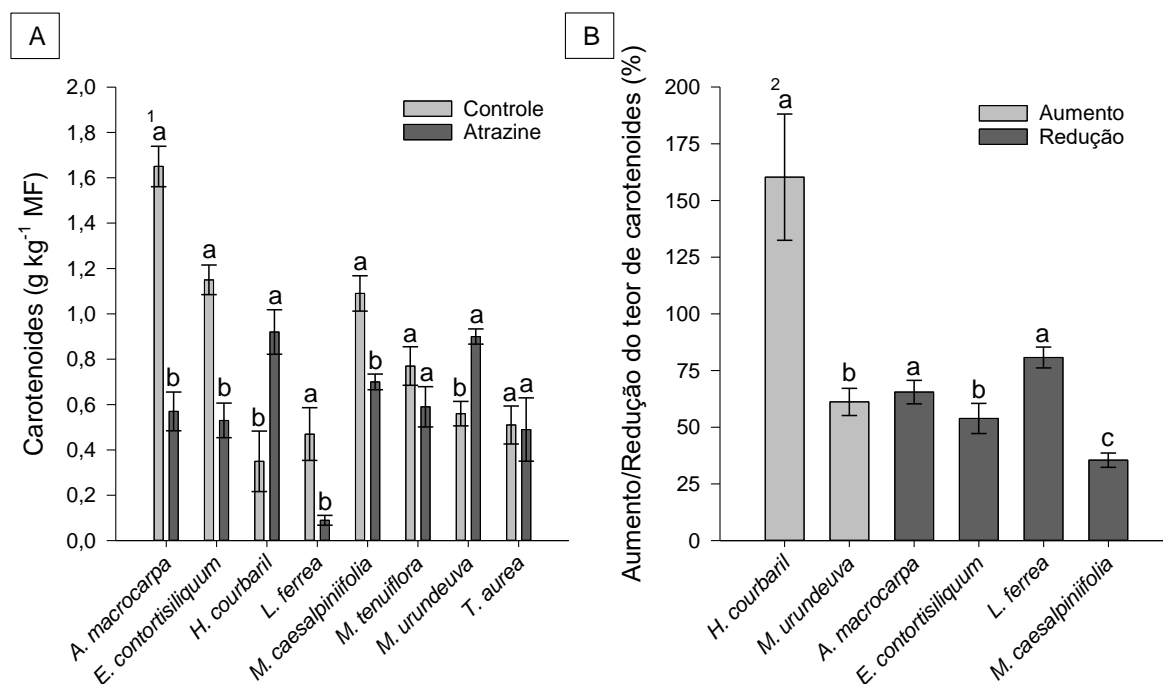


Figura 6. Teor de carotenoides (A) e porcentagem de aumento e redução do teor de carotenoides (B) de espécies florestais submetidas a águas subsuperficiais contaminadas pelo atrazine. ¹Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste t ($p \leq 0,05$). ²Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Barras indicam o erro padrão da média ($n=3$).

Os carotenoides são pigmentos acessórios do complexo antena responsáveis por proteger os pigmentos fotossintéticos dos danos oxidativos promovidos pelas EROs (ALMEIDA et al., 2017; KORKARIC et al., 2015). A função fotoprotetora dos carotenoides consiste em absorver a energia luminosa excessiva captada pelas clorofilas, prevenindo a formação de clorofila tripleto por meio da dissipação inofensiva do excesso energético (SACCON et al., 2019). Dessa maneira, os carotenoides mitigam a formação de EROs (SACCON et al., 2019) e, conseqüentemente, reduzem a peroxidação lipídica (ERINLE et al., 2018). É possível que o incremento de carotenoides nas plantas de *H. courbaril* e *M. urundeuva* e a estabilidade de tais pigmentos na *M. tenuiflora* e *T. aurea* estejam associadas à eficiência do sistema antioxidante dessas espécies. Essa hipótese é reforçada pelo fato de que o aumento dos teores de carotenoides foi acompanhado pela redução do extravasamento de eletrólitos nas espécies *H. courbaril*, *M. tenuiflora* e *T. aurea* e pela indiferença da aplicação do atrazine sob o extravasamento de eletrólitos da *M. urundeuva*. Além disso, a ação fotoprotetora dos carotenoides pode ter contribuído para a manutenção dos teores de clorofila das espécies *M. urundeuva* e *T. aurea*. Porém, a redução do conteúdo das clorofilas das espécies *H. courbaril* e *M. tenuiflora* sugere que o aumento da produção dos carotenoides não foi suficiente para atenuar os efeitos oxidativos das EROs sob as clorofilas.

Em contrapartida, a redução dos teores de carotenoides nas espécies *L. ferrea*, *A. macrocarpa*, *E. contortisiliquum* e *M. caesalpiniiifolia* sugere que esses pigmentos foram degradados pelas EROs (ALMEIDA et al., 2017). É importante ressaltar que a diminuição da síntese dos carotenoides das espécies *L. ferrea*, *A. macrocarpa* e *E. contortisiliquum* ocorreu simultaneamente à redução do conteúdo de clorofilas e ao aumento do extravasamento de eletrólitos. Esse comportamento fisiológico pode estar associado a um aumento da atividade oxidante das EROS graças ao desequilíbrio nos processos de produção e eliminação das EROS (LI et al., 2022). No entanto, diante da baixa produção de carotenoides e clorofilas nas plantas da espécie *M. caesalpiniiifolia*, é possível que a diminuição do extravasamento de eletrólitos esteja relacionada à ação das enzimas antioxidantes.

O atrazine presente na água subsuperficial elevou a atividade da POD em todas as espécies estudadas (Figura 7A). O herbicida proporcionou o maior aumento da POD, comparado ao controle na espécie *E. contortisiliquum* (9937,50%) (Figura 7B). Para *M. caesalpiniiifolia*, o atrazine foi superior ao controle em 5733,33%. Em relação ao *H. courbaril*, foi verificado incremento de 3600% da atividade da POD. A espécie *L. ferrea* apresentou aumento igual a 2100%. As espécies *T. aurea* e *M. urundeuva* demonstraram acréscimo de 1117,95 e 1100%, respectivamente. Por fim, as espécies *A. macrocarpa* e *M. tenuiflora* expressaram o menor acúmulo da enzima POD, 575 e 400%, nessa ordem. Não foi possível obter amostras foliares das espécies *A. cearensis* e *B. cheilantha* para a realização da análise.

Todas as espécies florestais avaliadas demonstraram aumento da atividade da CAT na presença do atrazine (Figura 7C). A espécie *L. ferrea* apresentou o maior aumento da CAT entre as espécies estudadas (7466,67%) (Figura 7D). Em seguida, tem-se a espécie *M. tenuiflora* com 3250% de acréscimo. O atrazine incrementou a CAT em 2472,73% para a *E. contortisiliquum* e em 1838% para a *M. caesalpiniiifolia* e a *M. urundeuva*. Por fim, as espécies *H. courbaril*, *A. macrocarpa* e *T. aurea* apresentaram aumento de 1188,37; 772,2 e 506%, nessa ordem.

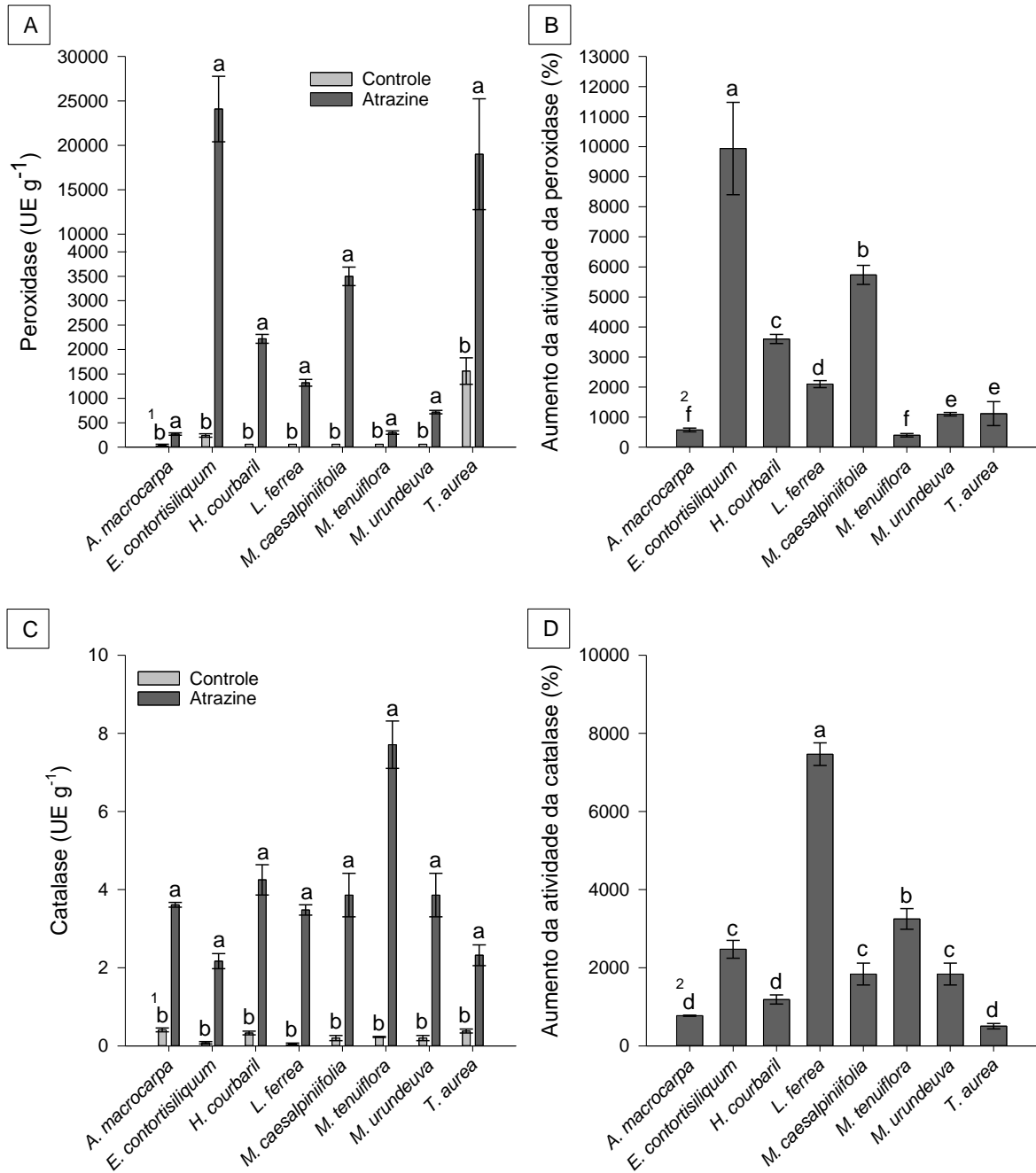


Figura 7. Atividade das enzimas peroxidase (A) e catalase (C) e porcentagem de aumento da atividade das enzimas peroxidase (B) e catalase (D) de espécies florestais submetidas a águas subsuperficiais contaminadas pelo atrazine. ¹Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste t ($p \leq 0,05$). ²Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Barras indicam o erro padrão da média ($n=3$).

A POD e a CAT são enzimas que compõem o sistema antioxidante das plantas (SHAKIR et al., 2018; HASANUZZAMAN et al., 2020), atuando em conjunto na conversão do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em H_2O , O_2 e outros radicais livres (ERINLE et al., 2018; LI et al., 2022). O efeito antioxidante da POD consiste na catalisação de substâncias como guaiacol e ascorbato, utilizando o H_2O_2 como receptor de elétrons (SOARES et al., 2016).

POD atua basicamente nas paredes celulares e requer um cofator enzimático para decompor o H_2O_2 , como os compostos fenólicos (CARNEIRO et al., 2018). Por sua vez, a CAT atua diretamente na eliminação do H_2O_2 , principalmente nos peroxissomos (CORPAS, 2015; LI et al., 2022). Dessa forma, os componentes bioquímicos do sistema antioxidante enzimático atuam de forma distinta, potencializando os mecanismos de defesa da planta (HOMAYOONZADEH et al., 2020). Por exemplo, a alta afinidade da POD com o H_2O_2 permite que essa enzima seja ativada mesmo quando o H_2O_2 estiver em baixas concentrações (CARNEIRO et al., 2018). Por outro lado, a CAT apresenta baixa afinidade com o H_2O_2 , sendo ativada, portanto, apenas em condições de alta concentração de H_2O_2 nos tecidos vegetais (CARNEIRO et al., 2018).

No presente estudo, é possível que a alta produção de POD e CAT nas plantas de todas as espécies avaliadas esteja associada a uma elevada síntese de H_2O_2 . Além de causar danos oxidativos e a morte das células, o H_2O_2 pode atuar como sinalizador de estresses para ativação do sistema imunológico das plantas (HOMAYOONZADEH et al., 2020). Contudo, o incremento na atividade das enzimas POD e CAT, aliado ao decaimento dos teores de carotenoides, não foi suficiente para conter a redução da área foliar, da massa seca total, das clorofilas e mitigar o extravasamento de eletrólitos nas espécies *A. macrocarpa*, *E. contortisiliquum* e *L. ferrea*. Esse comportamento indica que essas espécies não possuem um sistema antioxidante enzimático e não enzimático capaz de mitigar os efeitos das EROs.

Para a espécie *M. caesalpinifolia*, o aumento das enzimas POD e CAT, associado à redução dos carotenoides, promoveu a diminuição do dano de membrana e a manutenção da área foliar, mas não evitou a oxidação das clorofilas e diminuição da massa seca total. Para as espécies *H. courbaril* e *M. tenuiflora*, por sua vez, a POD e CAT em conjunto aos carotenoides contiveram o extravasamento de eletrólitos, mas não preveniram a redução da massa seca total, da área foliar e a degradação das clorofilas. Por fim, a atividade antioxidante das enzimas POD e CAT e dos carotenoides nas plantas das espécies *M. urundeuva* e *T. aurea* atenuaram os efeitos nocivos das EROs. Nessas espécies, o aumento da produção de clorofilas e manutenção da integridade da membrana plasmática sugere alta eficiência do sistema antioxidante enzimático e não enzimático (BATOOL et al., 2020).

3.3 ÁGUA EVAPOTRANSPIRADA

O atrazine presente na água subsuperficial elevou significativamente a quantidade de água evapotranspirada de todas as espécies, exceto *A. cearensis* e *T. aurea* (Figura 8A). Para essas espécies, o atrazine diminuiu a evapotranspiração em 44,74% na *A. cearensis*, sendo estatisticamente superior a *T. aurea* (30,62%) (Figura 8B). No entanto, a espécie *H. courbaril* apresentou o maior aumento do consumo de água (61,17%). Em seguida, foi observado ganho de 51,77% na *M. urundeuva*. Logo depois, tem-se as espécies *M. caesalpinifolia*, *A. macrocarpa*, *M. tenuiflora* e *L. ferrea*, com médias diferentes entre si e iguais a 45,19; 37,58; 28,50 e 19,22%, respectivamente. Por último, com os menores aumentos da evapotranspiração, estão as espécies *B. cheilantha* e *E. contortisiliquum*, com médias iguais à 10,49 e 7,29%, nessa ordem.

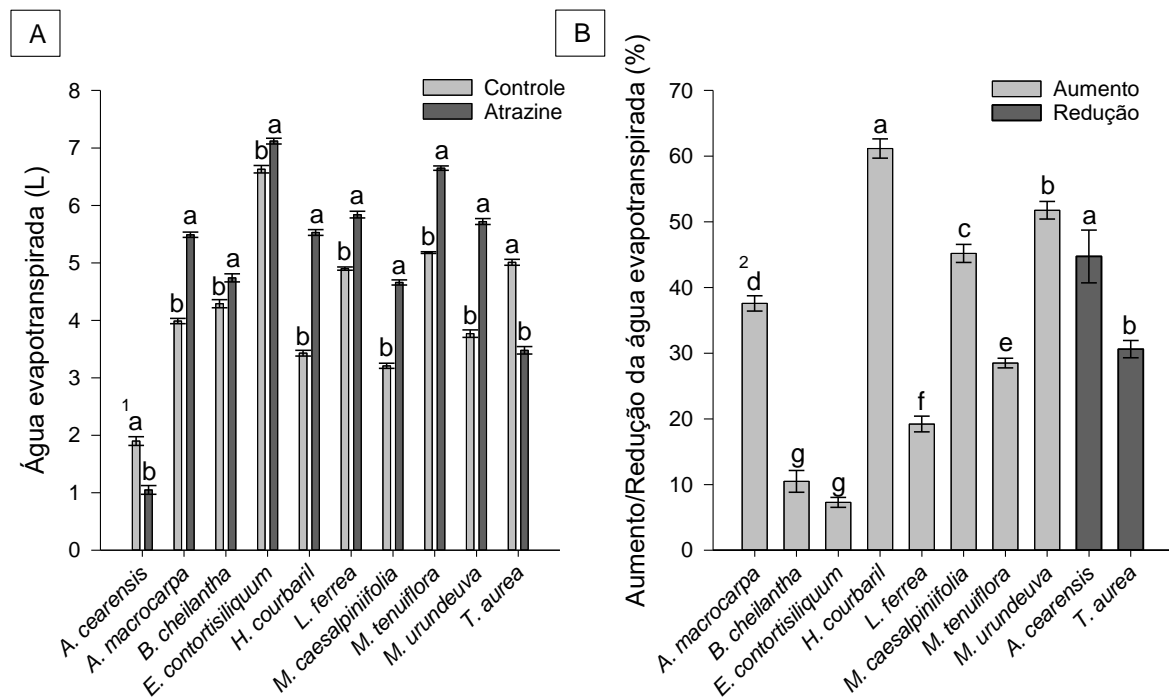


Figura 8. Água evapotranspirada (A) e porcentagem de aumento e redução da água evapotranspirada (B) de espécies florestais submetidas a águas subsuperficiais contaminadas pelo herbicida atrazine. ¹Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste t ($p \leq 0,05$). ²Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Barras indicam o erro padrão da média ($n=3$).

A transpiração é um processo fisiológico que influencia diretamente a fotossíntese (AGUIAR et al., 2020). Os herbicidas podem limitar a transpiração de plantas sensíveis e tolerantes ao reduzir a condutância estomática e, consequentemente, a troca gasosa com a atmosfera e a saída de água por meio dos estômatos (PIVETA et al., 2018). Por essa razão, é

possível que a diminuição da transpiração das plantas das espécies *A. cearensis* e *T. aurea* esteja vinculada ao fechamento dos estômatos em decorrência da inibição da fotossíntese provocada pelo atrazine (PÉREZ; DOUCETTE; MOORE, 2022; PIVETA et al., 2018). Além disso, a perda das folhas na espécie *A. cearensis* e a redução da área foliar das plantas de *T. aurea* contribuíram para a restrição da evapotranspiração.

Por outro lado, as demais espécies aumentaram a taxa de transpiração diante da perda de folhas e área foliar. Normalmente, a queda das folhas e a diminuição do tecido foliar são mecanismos que podem ser adotados pelas plantas em condições estressantes, para regular a absorção de água e continuar realizando fotossíntese (DOS SANTOS et al. 2018). No entanto, no presente estudo o aumento da taxa de transpiração das espécies que apresentaram redução da área foliar pode estar relacionado à presença de estômatos na epiderme do caule (MAUREL; VERDOUCQ; RODRIGUES, 2016).

Segundo Dodgen et al. (2015), pesticidas sistêmicos, como o atrazine, são absorvidos pelas plantas a partir do fluxo transpiratório. Portanto, quanto maior for a taxa de transpiração das plantas, maior será a quantidade de atrazine absorvido e acumulado nos tecidos vegetais (DODGEN et al., 2015). Porém, a absorção e o transporte de herbicidas no interior das plantas são influenciados pelas características físico-químicas desse composto orgânico (SÁNCHEZ et al., 2017). A molécula do atrazine é moderadamente hidrofílica ($\log K_{ow} = 2,75$) (DE ALBUQUERQUE et al., 2020), razão pela qual é possível que seja adsorvida às raízes ou absorvida e translocada até a parte aérea das plantas por meio do fluxo transpiratório (SÁNCHEZ et al., 2017).

3.4 CAPACIDADE DE FITORREMEDIAÇÃO

A análise em UHPLC do solo contido no vaso sem planta revelou que a quantidade de atrazine retido ao solo foi igual a $59,16 \mu\text{g kg}^{-1}$ solo. As espécies florestais avaliadas demonstraram diferenças na capacidade de remoção do atrazine retido ao solo (Figura 9A). A espécie *H. courbaril* foi capaz de remover a maior quantidade de atrazine do solo (95,18%). As espécies *A. cearensis* e *B. cheilantha* apresentaram valores iguais a 70,26 e 60,70%, respectivamente. Para as espécies *L. ferrea* e *M. urundeuva*, os valores médios de remoção do atrazine foram 27,19 e 22,04%, nessa ordem. As espécies *E. contortisiliquum* e *T. aurea* removeram 18,11 e 16,59% do total de atrazine retido ao solo. Em relação às espécies *M. caesalpiniifolia* e *A. macrocarpa*, a porcentagem de extração de atrazine foi igual a 13,67 e 12,99%. Por fim, a espécie *M. tenuiflora* foi responsável por remover a menor quantidade de atrazine do solo (9,57%).

Além disso, no que se refere à concentração de deisopropilatrazine nas amostras de solos analisados, não houve diferença entre as espécies florestais (Figura 9B). Os valores médios quantificados no UHPLC variaram entre 5,06 (*M. urundeuva*) e 6,87 (*L. ferrea*) $\mu\text{g kg}^{-1}$ solo.

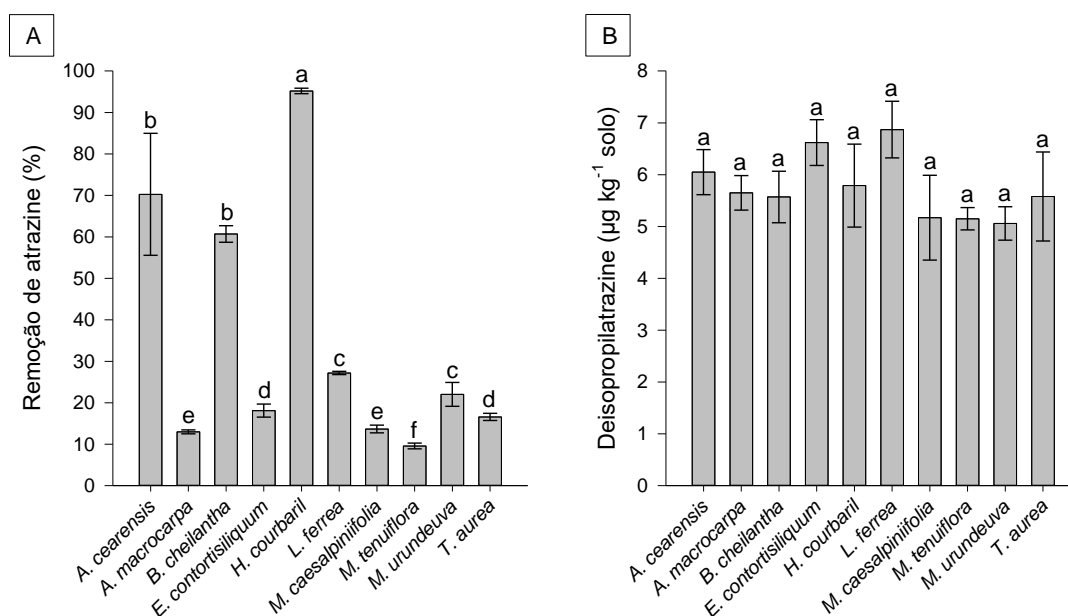


Figura 9. Remoção de atrazine (A) e quantidade de deisopropilatrazine (B) de solos cultivados com espécies florestais submetidas a águas subsuperficiais contaminadas pelo herbicida atrazine. Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Barras indicam o erro padrão da média ($n=3$).

O atrazine é removido do solo por meio do somatório de diversos processos. Por exemplo, a molécula herbicida pode ser absorvida pelos tecidos vegetais e degradada por enzimas (fitodegradação), pode manter-se adsorvida às raízes (rizofiltração) e, por fim, o atrazine ainda pode ser degradado pelos microrganismos presentes na rizosfera (rizodegradação) (FAN; SONG, 2014; SÁNCHEZ et al., 2020). No presente trabalho, não foi possível determinar a participação de cada um desses processos na remediação do atrazine do solo. No entanto, a diminuição dos parâmetros fisiológicos na maioria das espécies avaliadas, associada à redução da concentração de atrazine retido ao solo, indica que as plantas mitigaram o impacto ambiental ao absorverem e acumularam ou degradaram o herbicida (AGUIAR et al., 2020).

A espécie *H. courbaril* já demonstrou potencial de utilização em programas de fitorremediação de herbicidas (DOS SANTOS et al., 2018). Apesar da redução da massa seca total, da área foliar e a degradação das clorofilas, os baixos níveis de intoxicação, a elevada transpiração e a alta taxa de remoção do herbicida alcançada pela espécie *H. courbaril* reafirmam o potencial dessa planta de fitorremediar o atrazine do solo. As espécies *A. cearensis*

e *B. cheilantha* removeram mais de 60% do atrazine retido ao solo, porém a alta sensibilidade dessas espécies ao atrazine limita sua aplicação em processos de fitorremediação. Em contrapartida, ainda que as espécies *M. urundeuva* e *T. aurea* tenham demonstrado um eficiente sistema de defesa antioxidante, essas plantas não foram capazes de remediar grandes quantidades do herbicida.

Ao analisar em conjunto o volume de água evapotranspirada e a taxa de remoção do atrazine das espécies *B. cheilantha* e *M. urundeuva*, constata-se que a remediação do herbicida ocorreu simultaneamente ao aumento da transpiração. Por outro lado, nas espécies *A. cearensis* e *T. aurea*, observa-se comportamentos fora do padrão. Nessas espécies, mesmo diante da redução do fluxo transpiratório, houve remoção do atrazine do solo, especialmente pela *A. cearensis*. Esse fenômeno sugere que, além da transpiração, outros processos fisiológicos podem atuar na absorção e remoção do atrazine. É provável que parte do atrazine removido do solo pelas espécies *A. cearensis* e *T. aurea* tenha ficado adsorvida às suas raízes (SÁNCHEZ et al., 2017). As demais espécies avaliadas aumentaram o fluxo transpiratório, mas exibiram baixa tolerância e capacidade de fitorremediação do atrazine. De acordo com Da Silva Teófilo et al. (2020), a capacidade das plantas de mitigar os danos oxidativos dos herbicidas afeta diretamente o potencial de remediação dessas espécies.

O acúmulo da deisopropilatrazine em solos também possui relevância ambiental por apresentar maior solubilidade e toxicidade semelhante ao atrazine (GABARDO et al., 2021; KUMAR; SINGH, 2016). A formação da deisopropilatrazine e de outros metabólitos ocorre por meio da degradação do atrazine por processos químicos, como hidrólise e fotólise (PÉREZ; DOUCETTE; MOORE, 2022) e pela atividade de microrganismos (LOU et al., 2021). Portanto, a quantificação de deisopropilatrazine nas amostras de solos confirma que parte do atrazine adicionado às águas subsuperficiais foi degradada mediante processos bioquímicos conduzidos pelos microrganismos presentes na rizosfera das espécies arbóreas avaliadas (SÁNCHEZ et al., 2020). Novamente, é válido ressaltar que a metodologia adotada no presente estudo não permitiu definir a via de degradação do atrazine e de produção da deisopropilatrazine.

4 CONCLUSÕES

A sensibilidade das espécies florestais ao atrazine presente na água subsuperficial está diretamente relacionada à capacidade do sistema antioxidante dessas plantas de garantir o equilíbrio das reações de oxirredução. As espécies *A. cearensis* e *B. cheilantha* são muito sensíveis ao atrazine. As espécies *A. macrocarpa*, *E. contortisiliquum*, *L. ferrea* e *M. caesalpiniiifolia* são parcialmente sensíveis ao atrazine e demonstraram baixa eficiência na remoção do atrazine. As espécies *H. courbaril*, *M. urundeuva* e *T. aurea* apresentaram mecanismo de defesa antioxidante que lhes conferem menor sensibilidade ao atrazine. No entanto, dentre todas as espécies avaliadas, apenas a *H. courbaril* demonstrou potencial para ser utilizada em programas de remediação de atrazine.

REFERÊNCIAS

- ABOUZIENA, H. F.; HAGGAG, W. M. Weed control in clean agriculture: a review. **Planta Daninha**, v. 34, n. 2, p. 377-392, 2016.
- AGUIAR, L. M. et al. Phytoremediation by *Eremanthus crotonoides* and *Inga striata* decay atrazine and clomazone residues in the soil. **International Journal of Phytoremediation**, v. 22, n. 8, p. 827-833, 2020.
- ALMEIDA, Ana Catarina et al. Oxidative stress in the algae *Chlamydomonas reinhardtii* exposed to biocides. **Aquatic toxicology**, v. 189, p. 50-59, 2017.
- AMADORI, Maristela F. et al. Behavior of atrazine and its degradation products deethylatrazine and deisopropylatrazine in oxisol samples. **Water, Air & Soil Pollution**, v. 227, n. 10, p. 1-13, 2016.
- ASADUZZAMAN, Md et al. Paraquat resistance and hormetic response observed in *Conyza sumatrensis* (Retz.) E. Walker (tall fleabane) in Australian cotton cropping systems. **Phytoparasitica**, n. 50, p. 269-279, 2021.
- BARROS, C. V. S. D. et al. Sensitivity and biochemical mechanisms of sunflower genotypes exposed to saline and water stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 41, n. 9, p. 1-12, 2019.
- BARROSO, G. M. et al. *Mabea fistulifera* and *Zeyheria tuberculosa* can be indicated for phytoremediation programs of soils contaminated with hormonal herbicides. **International Journal of Phytoremediation**, p. 1-8, 2021.
- BATOOL, T. et al. Plant growth promoting rhizobacteria alleviates drought stress in potato in response to suppressive oxidative stress and antioxidant enzymes activities. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1-19, 2020.
- BELZ, R. G.; DUKE, S. O. Herbicides and plant hormesis. **Pest Management Science**, v. 70, n. 5, p. 698-707, 2014.
- BI, Y. F. et al. Phytotoxicity, bioaccumulation and degradation of isoproturon in green algae. **Journal of Hazardous Materials**, v. 243, p. 242-249, 2012.
- BONIFACIO, A. F.; HUED, A. C. Single and joint effects of chronic exposure to chlorpyrifos and glyphosate based pesticides on structural biomarkers in *Cnesterodon decemmaculatus*. **Chemosphere**, v. 236, p. 124311, 2019.
- BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Resolução nº 357 de 17 de março de 2005, 58–63. Disponível em: http://conama.mma.gov.br/?option=com_sisconama&task=arquivo.download&id=450. Acesso em: 07 nov. 2021.
- BROVINI, E. M. et al. Three-bestseller pesticides in Brazil: Freshwater concentrations and potential environmental risks. **Science of The Total Environment**, v. 771, p. 144754, 2021.
- CARNEIRO, M. M. L. C. et al. Antioxidant Defense in Sunflower against Drought. **Journal of Experimental Agriculture International**, v. 25, n. 1, p. 1-9, 2018.

CASSIM, A. M. et al. Plant lipids: Key players of plasma membrane organization and function. **Progress in Lipid Research**, v. 73, p. 1-27, 2019.

CORPAS, F. J. What is the role of hydrogen peroxide in plant peroxisomes? **Plant Biology**, v. 17, n. 6, p. 1099-1103, 2015.

DA SILVA BORGES, M. P. et al. Glyphosate effects on tree species natives from Cerrado and Caatinga Brazilian biome: Assessing sensitivity to two ways of contamination. **Science of The Total Environment**, v. 769, p. 144113, 2021.

DA SILVA TEÓFILO, T. M. et al. Phytoextraction of diuron, hexazinone, and sulfometuron-methyl from the soil by green manure species. **Chemosphere**, v. 256, p. 127059, 2020.

DAYAN, F. E.; DUKE, S O. Discovery for new herbicide sites of action by quantification of plant primary metabolite and enzyme pools. **Engineering**, v. 6, n. 5, p. 509-514, 2020.

DE ALBUQUERQUE, F. P. et al. An overview of the potential impacts of atrazine in aquatic environments: Perspectives for tailored solutions based on nanotechnology. **Science of the Total Environment**, v. 700, p. 134868, 2020.

DODGEN, L. K. et al. Effect of transpiration on plant accumulation and translocation of PPCP/EDCs. **Environmental Pollution**, v. 198, p. 144-153, 2015.

DOS SANTOS, E. A. et al. Tolerance and remedial potential of trees submitted to atrazine and sulfentrazone in the rhizosphere. **International Journal of Phytoremediation**, v. 22, n. 1, p. 78-86, 2020.

DOS SANTOS, N. M. C. et al. Phytoremediation of Brazilian tree species in soils contaminated by herbicides. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 27, p. 27561-27568, 2018.

DOS SANTOS, N. M. C. et al. Use of *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes* for environmental services: decontamination of aquatic environments with atrazine residues. **Aquatic Botany**, p. 103470, 2021.

DURIGON, M. R. et al. Does spraying of atrazine on triazine-resistant canola hybrid impair photosynthetic processes? **Planta Daninha**, v. 37, 2019.

ERINLE, Kehinde O. et al. Physiological and molecular responses of pearl millet seedling to atrazine stress. **International journal of Phytoremediation**, v. 20, n. 4, p. 343-351, 2018.

ESCOTO, D. F. et al. Use of *Pistia stratiotes* for phytoremediation of water resources contaminated by clomazone. **Chemosphere**, v. 227, p. 299-304, 2019.

FAN, X. et al. Responses of photosynthesis-related parameters and chloroplast ultrastructure to atrazine in alfalfa (*Medicago sativa* L.) inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 166, p. 102-108, 2018.

FAN, X.; SONG, F. Bioremediation of atrazine: recent advances and promises. **Journal of soils and sediments**, v. 14, n. 10, p. 1727-1737, 2014.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAOSTAT. Major commodities exporters.** Disponível em: https://www.fao.org/faostat/en/#rankings/major_commodities_exports. Acesso em: 14 out. 2021.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAOSTAT. Agri-environmental Indicators/Pesticides.** Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/EP>. Acesso em: 02 nov. 2021.

FAROOQ, M. A. et al. Acquiring control: The evolution of ROS-Induced oxidative stress and redox signaling pathways in plant stress responses. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 141, p. 353-369, 2019.

GABARDO, R. P. et al. Determination of atrazine and main metabolites in natural waters based on a simple method of QuEChERS and liquid chromatography coupled to a diode-array detector. **Microchemical Journal**, v. 168, p. 106392, 2021.

HASANUZZAMAN, M. et al. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. **Antioxidants**, v. 9, n. 8, p. 681, 2020.

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.

HOMAYOONZADEH, M. et al. Antioxidant system status of cucumber plants under pesticides treatment. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 42, n. 11, p. 1-11, 2020.

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Relatórios de comercialização de agrotóxicos. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/relatorios/quimicos-e-biologicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais>. Acesso em: 08 nov. 2021.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção agrícola municipal, Rio de Janeiro, v. 47, p.1-8, 2020.

KORKARIC, M. et al. Acclimation of *Chlamydomonas reinhardtii* to ultraviolet radiation and its impact on chemical toxicity. **Aquatic Toxicology**, v. 167, p. 209-219, 2015.

KUMAR, A.; SINGH, N. Atrazine and its metabolites degradation in mineral salts medium and soil using an enrichment culture. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, n. 3, p. 1-12, 2016.

LERCH, R. N. et al. Atrazine Transport through a Soil–Epikarst System. **Journal of Environmental Quality**, v. 47, n. 5, p. 1205-1213, 2018.

LEVENE, Howard. Contributions to probability and statistics. **Essays in honor of Harold Hotelling**, p. 278-292, 1960.

LI, Mengyao et al. Ecotoxicity of herbicide carfentrazone-ethyl towards earthworm *Eisenia fetida* in soil. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 253, p. 109250, 2022.

LICHTENTHALER, Hartmut K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: **Methods in enzymology**. Academic Press, 1987. p. 350-382.

LIU, J. et al. Physiochemical assessment of environmental behaviors of herbicide atrazine in soils associated with its degradation and bioavailability to weeds. **Chemosphere**, v. 262, p. 127830, 2021.

- MA, Li Ya et al. Uptake of atrazine in a paddy crop activates an epigenetic mechanism for degrading the pesticide in plants and environment. **Environment International**, v. 131, p. 105014, 2019.
- MAJEWSKA, M. et al. Phytotoxic activity of diclofenac: Evaluation using a model green alga *Chlamydomonas reinhardtii* with atrazine as a reference substance. **Chemosphere**, v. 209, p. 989-997, 2018.
- MCKNIGHT, A. M.; GANNON, T. W.; YELVERTON, F. Phytoremediation potential of three terrestrial plant species for removal of atrazine, azoxystrobin, and imidacloprid. **International Journal of Phytoremediation**, p. 1-9, 2021.
- PADILLA, F. M. et al. Different responses of various chlorophyll meters to increasing nitrogen supply in sweet pepper. **Frontiers in plant science**, v. 9, p. 1752, 2018.
- PANDEY, S. et al. Abiotic stress tolerance in plants: myriad roles of ascorbate peroxidase. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 581, 2017.
- PASSOS, A. B. R. J. et al. Effects of liming and *Urochloa brizantha* management on leaching potential of picloram. **Water, Air & Soil Pollution**, v. 230, n. 1, p. 12, 2019.
- PÉREZ, D. J.; DOUCETTE, W. J.; MOORE, M. T. Atrazine uptake, translocation, bioaccumulation and biodegradation in cattail (*Typha latifolia*) as a function of exposure time. **Chemosphere**, v. 287, p. 132104, 2022.
- PÉREZ-LUCAS, G.; GAMBÍN, M.; NAVARRO, S. Leaching behaviour appraisal of eight persistent herbicides on a loam soil amended with different composted organic wastes using screening indices. **Journal of Environmental Management**, v. 273, p. 111179, 2020.
- PIVETA, L. B. et al. Selectivity of imazapic+ imazapyr herbicides on irrigated rice as affected by seed treatment with dietholate and clomazone applied in preemergence. **Planta Daninha**, v. 36, 2018.
- PLAZA, G. et al. First Case of Multiple Resistance to EPSPS and PSI in *Eleusine indica* (L.) Gaertn. Collected in Rice and Herbicide-Resistant Crops in Colombia. **Agronomy**, v. 11, n. 96, p. 1-11, 2021.
- R Core Team (2021). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 10 jan. 2022.
- RIBEIRO, V. H. V. et al. Sensitivity of the macrophytes *Pistia stratiotes* and *Eichhornia crassipes* to hexazinone and dissipation of this pesticide in aquatic ecosystems. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 168, p. 177-183, 2019.
- SACCON, F. et al. Spectroscopic properties of violaxanthin and lutein triplet states in LHCII are independent of carotenoid composition. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 123, n. 44, p. 9312-9320, 2019.
- SANCHEZ, V. et al. A mesocosm study of electrokinetic-assisted phytoremediation of atrazine-polluted soils. **Separation and Purification Technology**, v. 233, p. 116044, 2020.
- SÁNCHEZ, V. et al. Assessing the phytoremediation potential of crop and grass plants for atrazine-spiked soils. **Chemosphere**, v. 185, p. 119-126, 2017.
- SHAKIR, S. K. et al. Pesticide-induced oxidative stress and antioxidant responses in tomato (*Solanum lycopersicum*) seedlings. **Ecotoxicology**, v. 27, n. 7, p. 919-935, 2018.

SHANAHAN, J. F. et al. Membrane thermostability and heat tolerance of spring wheat. **Crop Science**, v. 30, n. 2, p. 247-251, 1990.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v. 52, n. 3/4, p. 591-611, 1965.

SHER, A. et al. The Growth, physiological and biochemical response of foxtail millet to atrazine herbicide. **Saudi journal of biological sciences**, v. 28, n. 11, p. 6471-6479, 2021.

SILVA, E. **Estudo da atividade enzimica da polifenoloxidase e da peroxidase em algumas frutas e hortaliças “in natura” e processadas**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo. 1981. 108 f. (Dissertação, Mestrado em Tecnologia de Alimentos).

SILVA, F. B. et al. Atrazine toxicity to *Handroanthus heptaphyllus*, a nontarget species from a Brazilian biome threatened by agriculture. **Environmental Quality Management**, v. 30, n. 3, p. 17-25, 2021.

SOARES, C. et al. Effect of 24-epibrassinolide on ROS content, antioxidant system, lipid peroxidation and Ni uptake in *Solanum nigrum* L. under Ni stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 122, p. 115-125, 2016.

Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas – SBCPD. (1995). **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas** (42 p.). Londrina: SBCPD.

SOUZA, M. S. et al. Comparação de métodos de mensuração de área foliar para a cultura da melancia. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, p. 241-245, 2012.

SOUZA, T. S. et al. MCR-ALS Aplicado no monitoramento quantitativo do processo de eletrodegradação da atrazine usando espectros UV: Resultados comparativos com HPLC-DAD como um método de referência. **Química Nova**, v. 39, n. 2, p. 137-145, 2016.

SUN, C. et al. To evaluate the toxicity of atrazine on the freshwater microalgae *Chlorella* sp. using sensitive indices indicated by photosynthetic parameters. **Chemosphere**, v. 244, p. 125514, 2020.

Systat Software Inc. (2017). Sigmaplot for Windows (No. 14). Disponível em: <https://systatsoftware.com/products/sigmaplot/>. Acesso em: 10 jan. 2022.

MAUREL, C.; VERDOUCQ, L.; RODRIGUES, O. Aquaporins and plant transpiration. **Plant, cell & environment**, v. 39, n. 11, p. 2580-2587, 2016.

VIEIRA, L. A. J. et al. Water contamination with atrazine: is nitric oxide able to improve *Pistia stratiotes* phytoremediation capacity? **Environmental Pollution**, v. 272, p. 115971, 2021.

WANG, Y. et al. Atrazine and mesotrione-induced oxidative stress and impact on antioxidant enzymes and chlorophyll contents in bermudagrass. **Planta daninha**, v. 36, 2018.

ZHANG, J. J. et al. Reduced phytotoxicity of propazine on wheat, maize and rapeseed by salicylic acid. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 162, p. 42-50, 2018.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conforme relatado nesta pesquisa, o herbicida atrazine influencia diretamente o aparato fotossintético das plantas, promovendo sintomas severos de clorose, necrose e a morte dos tecidos vegetais. De modo geral, a análise dos parâmetros fisiológicos das espécies florestais avaliadas neste estudo revelou que todas as plantas apresentam algum nível de sensibilidade ao atrazine. As espécies que promoveram modificações na concentração dos compostos antioxidante, em especial a *H. courbaril*, *M. urundeuva* e *T. aurea*, foram capazes de mitigar a ação oxidativa do atrazine. No entanto, para um melhor entendimento dos processos de oxirredução, é imprescindível que pesquisas futuras avaliem a formação de espécies reativas de oxigênio e enzimas antioxidantes em diferentes órgãos das plantas.

A espécie *H. courbaril* demonstrou alto potencial de remediação do atrazine. Contudo, foi observado que a remoção e degradação do atrazine do solo é afetada por diversos fatores, como a capacidade da planta de absorver e transformar ou acumular a molécula do herbicida, processos de hidrólise e fotólise e pela atividade microbiológica do solo. Neste estudo, não foi possível definir com clareza a contribuição de cada processo na fitorremediação do atrazine. Por isso, estudos futuros devem investigar a associação de microrganismos e as espécies florestais para observar o efeito dessa interação na descontaminação dos solos.