

Seleção de espécies tolerantes para a fitorremediação de solo contaminado com imazapic

Selection of tolerant species for contaminated soil phytoremediation using imazapic

Simonny Montthiel Araújo Vasconcelo, Adriano Jakelaitis*, Mailon Lucas Meurer Costa, Romário Rodrigues Cunha de Oliveira, Vanessa Silva Santos

Instituto Federal Goiano, Rio Verde, GO, Brasil. *Autor para correspondência: adriano.jakelaitis@ifgoiano.edu.br

Submissão: 04/05/2018 | Aceite: 06/03/2020

RESUMO

O imazapic por apresentar longo efeito residual no solo pode ocasionar intoxicação visual em culturas sensíveis semeadas em rotação, além de representar riscos ecotoxicológicos em ambientes aquáticos. Diante disso, a fitorremediação é uma proposta inovadora como método alternativo para a remoção de poluentes orgânicos, sendo o sucesso da técnica dependente da seleção criteriosa de plantas com características favoráveis. O objetivo do estudo foi de identificar espécies de plantas tolerantes ao imazapic para potencial uso em programas de fitorremediação. Foram conduzidos oito experimentos em casa de vegetação climatizada com as espécies, *Panicum maximum*, *Crotalaria juncea*, *Stylosanthes* spp., *Cajanus cajan*, *Dolichos lablab*, *Pennisetum glaucum*, *Mucuna aterrima*, *Raphanus sativus* e cinco doses de imazapic (0; 58,33; 87,5; 175 e 350 g ha⁻¹). Os tratamentos foram delineados em blocos ao acaso com quatro repetições. Aos 30 e 60 dias após a emergência das plantas foram avaliados os sintomas de intoxicação visual, altura e a massa seca das plantas, determinada ao término do experimento. As espécies *M. aterrima*, *C. cajan* e *D. lablab* não apresentaram sintomas visuais de fitointoxicação. *M. aterrima* foi a que promoveu maior produção de massa seca quando cultivada como testemunha e a exposição ao imazapic pouco afetou essa característica. Nas espécies tolerantes, a redução da altura e massa seca exigiu doses maiores, embora os resultados não tenham sido significativos para *D. lablab* e *C. cajan*. Entre essas espécies, *M. aterrima* se destacou pela alta produção de biomassa, sendo promissora na fitorremediação de sítios com resíduos do imazapic.

PALAVRAS-CHAVE: imidazolinonas, metabolismo, persistência, fitointoxicação.

ABSTRACT

Imazapic can cause visual intoxication in sensitive crops sown in rotation given its long residual effect in the soil and represents ecotoxicological risks in aquatic environments. In this scenario, phytoremediation is an innovative proposal as an alternative method for removing organic pollutants, with its success depending on the careful selection of plants with favorable characteristics. The objective of this study was to identify imazapic-tolerant plant species for potential use in phytoremediation programs. Eight experiments were conducted in a greenhouse using the species *Panicum maximum*, *Crotalaria juncea*, *Stylosanthes* spp., *Cajanus cajan*, *Dolichos lablab*, *Pennisetum glaucum*, *Mucuna aterrima*, and *Raphanus sativus*, considering five doses of imazapic (0; 58.33; 87.5; 175 and 350 g ha⁻¹). The treatments were delineated in randomized blocks with four replicates. The symptoms of visual toxicity, height, and dry mass of the plants were determined at 30 and 60 days after plant emergence and at the end of the experiment. The species *M. aterrima*, *C. cajan*, and *D. lablab* presented no visual symptoms of phyto-intoxication. *M. aterrima* promoted greater dry mass production when cultivated as a control, and exposure to imazapic did not affect this characteristic. Height and dry mass reduction required higher doses in tolerant species, although the results were not significant for *D. lablab* and *C. cajan*. Among the studied species, *M. aterrima* stood out for its high biomass production, promising phytoremediation of sites with imazapic residues.

KEYWORDS: imidazolinonas, metabolism, persistence, phyto-intoxication.

INTRODUÇÃO

As imidazolinonas têm sido amplamente utilizadas em mais de 200 países como herbicidas seletivos

pré ou pós emergentes no controle de um amplo espectro de plantas daninhas e são caracterizadas por taxas de aplicação relativamente baixas, persistência no solo, meia-vida média de 120 dias e baixa toxicidade em mamíferos ($DL_{50} > 5\text{g kg}^{-1}$) (DOR et al. 2016). O mecanismo de ação das imidazolinonas consiste na inibição da acetolactato sintase (ALS), a primeira enzima envolvida na biossíntese de aminoácidos de cadeia ramificada, valina, leucina e isoleucina (VEGA et al. 2012, PÉREZ-IGLESIAS et al. 2018).

Pertencente às imidazolinonas, o imazapic tem sido recomendado no Brasil para o controle de plantas daninhas nas culturas de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) e amendoim (*Arachis hypogaea* L.) (MAPA/AGROFIT 2019). O baixo pH, o alto teor de matéria orgânica e a baixa umidade do solo são fatores responsáveis por aumentar a persistência dos herbicidas deste grupo químico. Sua elevada atividade residual associada à sensibilidade de certas culturas são indicadores de intoxicação visual em culturas rotacionais (ALISTER & KOGAN 2005). Redução de 55% no rendimento de grãos em plantas de arroz (IRGA 417) aos 371 dias após a aplicação (DAA) da mistura de imazethapyr e imazapic ($0,075 + 0,025\text{ kg ha}^{-1}$) foram relatadas assim como lesões significativas aos 705 DAA (MARCHESAN et al. 2010). Também reduções de 35, 47, 49 e 59% da massa seca da parte aérea, respectivamente, foram observadas para as plantas de milho, pepino, rabanete e tomate semeadas aos 1.100 DAA e tratadas com 100 g ha^{-1} da mistura imazethapyr e imazapic (SOUSA et al. 2012).

Conforme a International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), o imazapic possui alta solubilidade em água (2230 mg L^{-1}), baixa constante de dissociação de ácido (pka) de 3,6 e baixo coeficiente de carbono orgânico (K_{oc}) de 137, características que favorecem sua lixiviação. Na prática, resíduos de imazapic têm sido encontrados em águas subterrâneas e superficiais (SILVA et al. 2011, ZANELLA et al. 2012, DAVIS et al. 2014, MAZLAN et al. 2016, SHAIKUDDIN et al. 2016, ALLAN et al. 2017) e seus efeitos sobre organismos aquáticos são reconhecidos. Impacto seletivo na comunidade de zooplâncton foram observados aos 88 dias de tratamento com a mistura fórmula de imazethapyr e imazapic ($75 + 25\text{ g ha}^{-1}$) (REIMCHE et al. 2015). Da mesma forma, efeitos neurotóxico e imunodepressivo foram constatados em populações de peixes *Rhamdia quelen* expostas por 96 horas à mistura de imazapyr e imazapic ($0,488 + 4,88\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$) (GOLOMBIESKI et al. 2016).

O destino dos pesticidas no ambiente está relacionado à presença de vegetação. Poluentes orgânicos são mais facilmente removidos em solos plantados do que em solos em pousio (COUTINHO & BARBOSA 2007). Os pesticidas podem ser degradados na rizosfera por enzimas vegetais exsudadas ou por microrganismos associados (RIBEIRO et al. 2015). As plantas podem ainda remover poluentes orgânicos absorvendo-os através das raízes e das folhas (BELO et al. 2011). Uma vez absorvido, esses compostos podem ser bioquimicamente convertidos em metabólitos não fitotóxicos ou inativos (KAWAHIGASHI 2009, SÁNCHEZ et al. 2017, MITTON et al. 2018).

A fitorremediação é uma tecnologia emergente que consiste na utilização de plantas na remoção de contaminantes orgânicos e inorgânicos presentes no solo, água e sedimentos (NISSIM et al. 2018). Nesse sentido, o sucesso da fitorremediação depende da biodisponibilidade dos contaminantes e da seleção criteriosa de plantas com características favoráveis, como alta produção de biomassa, crescimento rápido, adaptação a condições climáticas extremas, fácil estabelecimento, presença de raízes profundas e densas, capacidade de crescer em solos pobres em nutrientes e tolerar concentrações relevantes de contaminantes e múltiplos contaminantes (LUO et al. 2017, GERHARDT et al. 2017). Diante disso, o objetivo deste estudo foi identificar espécies vegetais tolerantes ao imazapic para o uso em programas de remediação.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação climatizada localizada no Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde. As unidades experimentais foram constituídas por vasos de polietileno com capacidade para 6 dm^3 preenchidos com amostra de solo coletada da área do Campus ($17^{\circ}48'55''\text{ S}$ e $50^{\circ}56'28''\text{ O}$, altitude de 754 m), sem histórico de contaminação. O solo seco ao ar foi submetido ao processo de peneiramento e amostras foram coletadas para serem analisadas física e quimicamente. As principais características do solo foram: 63% de areia, 5% de silte, 32% de argila, textura franco argilo-arenosa (média), $15,4\text{ g dm}^{-3}$ de CO, V de 32%, CTC de $7,1\text{ cmol}_c\text{ dm}^{-3}$ e pH (CaCl_2) de 5,3.

A identificação das espécies tolerantes ao imazapic baseou-se no método proposto por MADALÃO et al. (2013). As espécies foram selecionadas com base na tolerância já relatada aos herbicidas do grupo das imidazolinonas (SOUTO et al. 2015) bem como por outras características de interesse agrônomo.

Foram conduzidos oito experimentos com as espécies *Panicum maximum* cv. Tanzânia (capim-colônião), *Crotalaria juncea* cv. Comum (crotalária), *Stylosanthes* spp. cv. Campo Grande (estilosantes),

Cajanus cajan cv. Fava Larga (feijão-guandu), *Dolichos lablab* cv. Rongai (lablab), *Pennisetum glaucum* cv. BRS 1501 (milheto), *Mucuna aterrima* cv. Mucuna Preta (mucuna-preta) e *Raphanus sativus* cv. Comum (nabo forrageiro). Sementes foram adquiridas da Brseeds Produção e Comércio de Sementes Ltda.

Os tratamentos constaram de cinco doses de imazapic (0; 58,33; 87,5; 175 e 350 g ha⁻¹) correspondentes a 0, 1/3, 1/2, 1 e 2 vezes a dose comercial, respectivamente, segundo MAPA/AGROFIT (2019) delineados em blocos ao acaso com quatro repetições. Ao término da semeadura das espécies, o imazapic foi aplicado em pré-emergência, utilizando um pulverizador de precisão, pressurizado com gás carbônico (CO₂). O volume de aplicação foi de 250 L ha⁻¹. Após 10 dias de emergência das plântulas, foi realizado o desbaste deixando-se três plantas por vaso. Procedeu-se irrigação diária para a manutenção do suprimento hídrico das plantas e aplicações a cada 15 dias na dose de 20 g L⁻¹ de fertilizante comercial Forth Jardim[®] da marca Tecnutri do Brasil, contendo N: 13; P₂O₅: 5; K₂O: 13; B: 0,04; Ca: 1; Cu: 0,05; S: 5; Fe: 0,2; Mg: 1; Mn: 0,08; Mo: 0,005 e Zn: 0,15%, aplicando 50 mL em cada vaso.

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

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

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

Os resultados foram submetidos à análise de variância, ao nível de 5% de significância e à análise de regressão. A escolha dos modelos baseou-se na significância dos parâmetros, resposta biológica e nos valores de R². Posteriormente, os modelos definidos foram submetidos à análise de identidade de modelos e igualdade de parâmetros.

RESULTADOS

Os resultados das variáveis fitointoxicação avaliadas aos 30 e aos 60 DAE, dos índices de altura e de massa seca da parte aérea e de raiz das espécies *Panicum maximum*, *Crotalaria juncea*, *Stylosanthes* spp. e *Cajanus cajan* em função de doses do herbicida imazapic são apresentados na Tabela 1. Aos 30 e 60 DAE, os resultados obtidos para todos os parâmetros avaliados em *P. maximum* se ajustaram ao modelo logístico. Na primeira avaliação realizada aos 30 DAE, a dose de 86,13 g ha⁻¹ foi suficiente para promover 50% dos sintomas de fitointoxicação e a partir da dose de 131,25 g ha⁻¹ os efeitos se estabilizaram com valores próximos a 90%. Aos 60 DAE, os sintomas de fitointoxicação foram atenuados, sendo 50% dos efeitos observados na dose de 158,59 g ha⁻¹.

Os altos níveis de intoxicação apresentados aos 30 DAE nas plantas de *P. maximum* refletiram na altura nessa mesma época, constatando-se 50% de reduções no porte das plantas na dose de 112,11 g ha⁻¹. Aos 60 DAE, foi observado plantas de maior altura, em que a dose de 172,27 g ha⁻¹ representou 50% da resposta. Quanto a produção de massa seca, o incremento das doses de imazapic promoveu reduções expressivas nesse parâmetro, sendo as doses de 88,87 e 82,03 g ha⁻¹ suficientes para inibir em 50% a produção de MSPA e MSR, respectivamente, com reduções acima de 80% em doses superiores a 175 g ha⁻¹.

Modelos lineares se ajustaram aos resultados de fitointoxicação, índices de altura e massa seca (Tabela 1) para *Crotalaria juncea*, em ambas as épocas avaliadas. Aos 30 DAE, cada g ha⁻¹ do herbicida promoveu incremento nos sintomas de fitointoxicação de 0,008%. Comparado à testemunha, o aumento dos sintomas representou 25,43% na maior dose de 350 g ha⁻¹. Aos 60 DAE, as plantas de *C. juncea* apresentaram recuperação das lesões apresentando incremento médio sobre a fitointoxicação de 0,005% para cada g ha⁻¹ de herbicida aplicado.

Em relação à altura de *C. juncea* avaliada aos 30 DAE, houve decréscimos lineares de 0,09% para cada g ha⁻¹. Reduções variando de 14,73 e 30,60% foram verificadas na altura das plantas a partir da dose de 175 g ha⁻¹. Aos 60 DAE, as plantas apresentaram menor porte em relação à testemunha, observando-se decréscimos lineares de 0,012% para cada g ha⁻¹ do herbicida aplicado. Ao avaliar a produção de massa seca, o aumento da dose de imazapic promoveu reduções unitárias (g ha⁻¹ de herbicida aplicado) de 0,14 e 0,18% para os índices MSPA e MSR, respectivamente.

Tabela 1. Intoxicação em plantas aos 30 dias (FT_30) e aos 60 após a emergência (FT_60), índice de altura avaliados aos 30 dias (IA_30) e aos 60 após a emergência (IA_60), índice de massa seca da parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR) de *Panicum maximum*, *Crotalaria juncea*, *Stylosanthes* spp., e *Cajanus cajan* em função de doses do herbicida imazapic.

Table 1. Intoxication in plants at 30 days (FT_30) and 60 days after emergence (FT_60), height index evaluated at 30 days (IA_30) and 60 days after emergence (IA_60), shoot (MSPA) and root dry mass index (MSR) of *Panicum maximum*, *Crotalaria juncea*, *Stylosanthes* spp., and *Cajanus cajan* as a function of doses of the imazapic herbicide.

Variáveis	Doses (g ha ⁻¹)					Equação	R ²
	0	58,33	87,5	175	350		
<i>Panicum maximum</i>							
FT_30	0	2,92	54,17	89,25	89,17	$\hat{Y} = 89,21 / (1 + \exp^{-(x-84,18) / 7,63})$	1,00*
FT_60	0	6,67	26,67	54,17	78,33	$\hat{Y} = 78,18 / (1 + \exp^{-(x-133,81) / 44,05})$	0,98*
IA_30	1	0,95	0,57	0,20	0,11	$\hat{Y} = 1,13 / (1 + \exp^{-(x-103,79) / -42,70})$	0,95*
IA_60	1	1,14	0,90	0,46	0,16	$\hat{Y} = 1,10 / (1 + \exp^{-(x-164,13) / -42,79})$	0,96*
MSPA	1	0,92	0,54	0,10	0,08	$\hat{Y} = 1,00 / (1 + \exp^{-(x-89,45) / -13,17})$	0,98*
MSR	1	0,60	0,47	0,09	0,07	$\hat{Y} = 1,22 / (1 + \exp^{-(x-66,13) / -44,23})$	0,99*
<i>Crotalaria juncea</i>							
FT_30	0	2,50	0,00	15,00	25,00	$\hat{Y} = -2,024 - 0,0784x$	0,92*
FT_60	0	1,25	0,00	6,25	15,00	$\hat{Y} = -1,6456 - 0,0454x$	0,95*
IA_30	1	0,99	0,94	0,80	0,71	$\hat{Y} = 1,0113 - 0,0009x$	0,93*
IA_60	1	1,02	0,94	0,72	0,64	$\hat{Y} = 1,0227 - 0,0012x$	0,87*
MSPA	1	0,91	0,82	0,70	0,49	$\hat{Y} = 0,9801 - 0,0014x$	0,98*
MSR	1	0,77	0,87	0,66	0,33	$\hat{Y} = 0,9716 - 0,0018x$	0,95*
<i>Stylosanthes</i> spp.							
FT_30	0	11,00	9,17	46,25	62,75	$\hat{Y} = 0,2047 - 0,1910x$	0,92*
FT_60	0	12,92	2,50	32,08	51,67	$\hat{Y} = -0,7223 - 0,1532x$	0,91*
IA_30	1	1,16	1,09	0,76	0,64	$\hat{Y} = 1,1197 - 0,0014x$	0,74*
IA_60	1	1,13	1,15	0,62	0,49	$\hat{Y} = 1,1389 - 0,0019x$	0,74*
MSPA	1	1,01	0,96	0,35	0,34	$\hat{Y} = 1,02 / (1 + \exp^{-(x-158,74) / -26,10})$	0,77*
MSR	1	0,80	0,83	0,61	0,45	$\hat{Y} = 0,9386 - 0,0015x$	0,93*
<i>Cajanus cajan</i>							
FT_30	0	1,67	2,50	6,67	3,75	$\hat{Y} = 2,92$	-
FT_60	0	0,00	1,67	0,42	0,00	$\hat{Y} = 0,42$	-
IA_30	1	1,12	1,11	1,08	1,14	$\hat{Y} = 1,12$	-
IA_60	1	1,18	1,21	1,19	1,22	$\hat{Y} = 1,18$	-
MSPA	1	1,08	1,23	1,02	1,11	$\hat{Y} = 1,08$	-
MSR	1	1,16	1,23	0,97	1,28	$\hat{Y} = 1,12$	-

* significativo a 5% pelo teste F.

Em plantas de *Stylosanthes*, os sintomas de fitointoxicação e índice de altura foram ajustados aos modelos lineares para as avaliações realizadas em ambas as épocas (Tabela 1). Aos 30 DAE, para cada g ha⁻¹ do herbicida aplicado, a intoxicação aumentou em 0,19%. Comparado à testemunha, os aumentos dos sintomas representaram 33,63 e 67,06%, respectivamente, nas doses de 175 e 350 g ha⁻¹. Aos 60 DAE, as plantas de *Stylosanthes* apresentaram ligeira recuperação dos sintomas visuais de intoxicação. Todavia, mantendo tendência observada na avaliação inicial, os sintomas foram superiores a 30% nas doses acima de 175 g ha⁻¹ (Tabela 1).

O incremento das doses promoveu redução linear na altura das plantas de *Stylosanthes* em ambas as épocas (Tabela 1). Aos 30 DAE, a altura apresentou perdas unitárias de 0,14%, o que caracterizou redução de 36,65% na maior dose de 350 g ha⁻¹ em relação à testemunha. Aos 60 DAE, para as variáveis índice de altura e MSR, o incremento da dose promoveu decréscimos lineares de 0,19 e 0,15%, respectivamente, para cada g ha⁻¹ do herbicida aplicado. Enquanto os efeitos na MSPA foram mais representativos a partir da dose de 133,98 g ha⁻¹ e sua resposta ajustada ao modelo logístico, com redução de 50% de MSPA na dose de 159,96 g ha⁻¹ e ausência na produção desta, nas doses acima de 278,91 g

ha⁻¹ (Tabela 1).

Em plantas de *C. cajan*, os níveis de fitointoxicação foram insignificantes em ambas as épocas, permanecendo entre 0,42 e 2,92% (Tabela 1). Essa tendência refletiu na resposta das variáveis altura que apresentaram valores estatisticamente semelhantes à testemunha, aos 30 e aos 60 DAE, bem como de massa seca da parte aérea e de raiz.

Em plantas de *D. lablab*, o incremento das doses não promoveu sintomas de intoxicação em ambas as épocas avaliadas (Tabela 2). Para esse parâmetro, os valores permaneceram entre 2,91 e 4,03%, o que influenciou a altura e os índices MSPA e MSR, que não foram afetados com as doses do herbicida. Todavia, em plantas de *P. glaucum*, o modelo logístico explicou o efeito das doses sobre os sintomas de intoxicação em ambas as épocas avaliadas (Tabela 2). Aos 30 DAE, a dose de 125,78 g ha⁻¹ promoveu 50% dos sintomas visuais. Aos 60 DAE, 50% da resposta foi obtida na dose de 151,76 g ha⁻¹ e a partir da dose de 250,02 g ha⁻¹ as plantas de *P. glaucum* apresentaram tendência de estabilização dos efeitos, com valores de intoxicação próximos a 75% (Tabela 2).

Tabela 2. Intoxicação em plantas aos 30 dias (FT_30) e aos 60 após a emergência (FT_60), índice de altura avaliados aos 30 dias (IA_30) e aos 60 após a emergência (IA_60), índice de massa seca da parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR) de *Dolichos lablab*, *Pennisetum glaucum*, *Mucuna aterrima* e *Raphanus sativus* em função de doses do herbicida imazapic.

Table 2. Intoxication in plants at 30 days (FT_30) and 60 days after emergence (FT_60), height index evaluated at 30 days (IA_30) and 60 days after emergence (IA_60), shoot (MSPA) and root dry mass index (MSR) of *Dolichos lablab*, *Pennisetum glaucum*, *Mucuna aterrima* and *Raphanus sativus* as a function of doses of the imazapic herbicide.

Variáveis	Doses (g ha ⁻¹)					Equação	R ²
	0	58,33	87,5	175	350		
<i>Dolichos lablab</i>							
FT_30	0	3,75	2,50	4,17	4,17	$\hat{Y} = 2,91$	-
FT_60	0	3,75	6,67	6,67	3,33	$\hat{Y} = 4,03$	-
IA_30	1	1,02	0,90	0,84	0,94	$\hat{Y} = 0,94$	-
IA_60	1	1,02	0,89	0,89	0,97	$\hat{Y} = 0,99$	-
MSPA	1	1,02	0,98	0,98	1,00	$\hat{Y} = 0,99$	-
MSR	1	0,95	0,75	0,64	0,90	$\hat{Y} = 0,84$	-
<i>Pennisetum glaucum</i>							
FT_30	0	3,75	13,33	68,75	68,17	$\hat{Y} = 68,99 / (1 + \exp^{-(x-109,69) / 15,68})$	0,99*
FT_60	0	19,17	5,67	63,33	74,17	$\hat{Y} = 75,77 / (1 + \exp^{-(x-131,36) / 26,67})$	0,96*
IA_30	1	0,97	0,89	0,50	0,37	$\hat{Y} = 1,0158 - 0,020x$	0,88*
IA_60	1	0,91	1,01	0,36	0,21	$\hat{Y} = 1,0434 - 0,026x$	0,84*
MSPA	1	0,65	0,71	0,20	0,09	$\hat{Y} = 1,32 / (1 + \exp^{-(x-75,97) / -70,23})$	0,95*
MSR	1	0,66	0,44	0,10	0,15	$\hat{Y} = 1,32 / (1 + \exp^{-(x-55,88) / -48,65})$	0,96*
<i>Mucuna aterrima</i>							
FT_30	0	3,75	2,08	12,08	8,58	$\hat{Y} = 8,70$	-
FT_60	0	5,00	12,50	8,33	17,92	$\hat{Y} = 5,30$	-
IA_30	1	0,97	0,77	0,61	0,47	$\hat{Y} = 0,9573 - 0,0018x$	0,89*
IA_60	1	0,99	0,79	0,64	0,54	$\hat{Y} = 0,9797 - 0,0014x$	0,85*
MSPA	1	1,02	0,91	0,96	0,77	$\hat{Y} = 1,02013 - 0,0007x$	0,82*
MSR	1	1,05	0,93	0,92	0,74	$\hat{Y} = 1,0388 - 0,0008x$	0,87*
<i>Raphanus sativus</i>							
FT_30	0	52,92	95,42	96,92	99,42	$\hat{Y} = 98,16 / (1 + \exp^{-(x-56,99) / 8,59})$	0,99*
FT_60	0	63,33	96,71	97,17	100,00	$\hat{Y} = 98,56 / (1 + \exp^{-(x-53,29) / 8,60})$	0,99*
IA_30	1	0,40	0,15	0,16	0,07	$\hat{Y} = 0,997 \exp^{-0,017x}$	0,96*
IA_60	1	0,13	0,02	0,01	0,00	$\hat{Y} = 1,000 \exp^{-0,038x}$	0,99*
MSPA	1	0,25	0,01	0,01	0,00	$\hat{Y} = 1,003 \exp^{-0,028x}$	0,98*
MSR	1	0,19	0,01	0,00	0,00	$\hat{Y} = 1,002 \exp^{-0,032x}$	0,99*

* significativo a 5% pelo teste F.

Reduções lineares na altura das plantas de *P. glaucum* foram observadas em ambas as épocas (Tabela 2). Aos 30 DAE, para cada g ha⁻¹ de herbicida aplicado observou-se redução de 0,20% no porte das plantas. Comparado à testemunha, o decréscimo na altura representou 68,96% na dose de 350 g ha⁻¹. Aos 60 DAE, o aumento das doses de imazapic ocasionou maior incremento na redução da altura em relação a avaliação inicial. Cada g ha⁻¹ do herbicida aplicado promoveu decréscimo de 0,26% e caracterizou reduções de 40,47 e 85,28% nas doses de 175 e 350 g ha⁻¹.

O modelo logístico descreveu satisfatoriamente a relação entre as doses de imazapic e os índices de massa seca nas plantas de *P. glaucum* aos 60 DAE (Tabela 2). As doses de 110,74 e 79,29 g ha⁻¹ ocasionaram 50% de redução da MSPA e MSR, respectivamente. Para MSR, os valores foram superiores a 90% a partir da dose de 175 g ha⁻¹.

Aos 30 e 60 DAE, os sintomas visuais de intoxicação observados nas plantas de *M. aterrima* foram insignificantes, permanecendo entre 5,3 e 8,7% (Tabela 2). Todavia, o incremento das doses promoveu reduções lineares sobre as demais variáveis estudadas e em ambas as épocas. Aos 30 DAE, a altura das plantas apresentou decréscimo de 0,16% para cada g ha⁻¹ de herbicida, com reduções variando entre 30 e 58% nas doses acima de 175 g ha⁻¹. Aos 60 DAE, os efeitos foram ligeiramente atenuados e a redução na altura foi de 0,14% para cada g ha⁻¹ aplicado. A produção de MSPA e MSR apresentou perdas unitárias de 0,07 e 0,08%, respectivamente, e caracterizou reduções inferiores a 25% nas plantas tratadas com a maior dose (350 g ha⁻¹) de imazapic (Tabela 2).

As plantas de *R. sativus* mostraram-se altamente suscetíveis ao aumento das doses de imazapic, independentemente da época avaliada (Tabela 2). Os resultados de intoxicação visual foram ajustados pelo modelo logístico, sendo 50% dos sintomas visuais ocasionados em doses de 50,32 e 53,32 g ha⁻¹ aos 30 e 60 DAE, respectivamente. A partir da dose de 95,70 g ha⁻¹ as plantas apresentaram tendência de estabilização dos efeitos próximos de 100% (Tabela 2).

Modelos exponenciais decrescentes se ajustaram aos índices de altura, MSPA e MSR em ambas as épocas (Tabela 2). Aos 30 DAE, a altura das plantas apresentou reduções superiores a 80% em doses acima de 94,33 g ha⁻¹. Aos 60 DAE, os efeitos foram mais acentuados e 100% de redução nesses parâmetros (altura, MSPA e MSR) foi verificado em doses abaixo de 175 g ha⁻¹.

Entre as espécies avaliadas, a maior produção de massa seca foi determinada em plantas de *M. aterrima* quando cultivada como testemunha (Tabela 3). Além dessa característica, *M. aterrima* não apresentou sintomas visuais de fitointoxicação e manteve alta produção de massa seca da parte aérea e raiz, critérios utilizados neste estudo para a identificação das espécies tolerantes ao imazapic.

Tabela 3. Massa seca das espécies bioindicadoras cultivadas como testemunhas.

Table 3. Dry mass of bioindicator species grown as controls.

Espécies bioindicadoras	Massa seca (g por planta)
<i>Panicum maximum</i> cv. Tanzânia (Capim-colônia)	13,78
<i>Crotalaria juncea</i> cv. Comum (Crotalaria)	12,74
<i>Stylosanthes spp.</i> cv. Campo Grande (Estilosantes)	1,80
<i>Cajanus cajan</i> cv. Fava Larga (Feijão guandu)	9,65
<i>Dolichos lablab</i> cv. Rongai (Lablab)	9,88
<i>Pennisetum glaucum</i> cv. BRS 1501 (Milheto)	16,64
<i>Mucuna aterrima</i> cv. Mucuna Preta (Mucuna-preta)	23,55
<i>Raphanus sativus</i> cv. Comum (Nabo forrageiro)	16,20

DISCUSSÃO

As espécies *M. aterrima*, *C. cajan* e *D. lablab* não apresentaram sintomas visuais de intoxicação com o incremento das doses de imazapic, independentemente da época avaliada. Alguns trabalhos relatam o potencial de *C. cajan* quanto à tolerância aos herbicidas diclosulam, tebuthiuron e sulfentrazone (PIRES et al. 2008, MADALÃO et al. 2012, MONQUERO et al. 2013). *D. lablab* foi uma das espécies selecionadas por MADALÃO et al. (2013) como tolerante ao sulfentrazone em doses até 400 g ha⁻¹.

Entre as espécies tolerantes, *M. aterrima* foi a que apresentou maior produção de massa seca quando cultivada como testemunha, sendo esse parâmetro 2,4 vezes superior ao verificado em *C. cajan* e *D. lablab*. A exposição ao imazapic pouco afetou essa característica em *M. aterrima* que apresentou reduções inferiores a 25% na biomassa na maior dose do herbicida, contrariamente às espécies suscetíveis.

Em campo experimental, *M. aterrima* apresentou potencial em fitorremediar fomesafen e sulfentrazone (ALVES et al. 2018). A capacidade de fitoextração de hidrocarbonetos associada ao maior acúmulo de biomassa também foi reportada para essa espécie (NWAICHI et al. 2009, NWAICHI & AYALOGU 2010). A alta produção de biomassa e tolerância ao composto alvo a ser removido são requisitos necessários para a eficiência da fitorremediação (MARCACCI et al. 2006).

Nesse estudo, a tolerância pode ser atribuída ao metabolismo diferencial apresentado pelas espécies ao imazapic. Um estudo sobre o metabolismo do imazapic em seis cultivares de soja mostrou que a cultivar tolerante apresentou maior absorção e rápida translocação do herbicida. No entanto, em função das diferenças que ocorreram entre 48 e 96 h da aplicação foi atribuído ao metabolismo a resposta diferencial (NEWSOM et al. 1995). Em cultivar tolerante de trigo foi relatado que 67,74% de imazamox foi rapidamente metabolizado na maior dose do herbicida (200 g ha⁻¹) às 120 horas após a aplicação, enquanto na cultivar sensível apenas 0,64% foi metabolizado nesse mesmo período (ROJANO-DELGADO et al. 2015). O metabolismo reduz a quantidade de herbicida intracelular que pode inibir a enzima ALS promovendo maior tolerância às plantas tratadas com imidazolinonas (ROJANO-DELGADO et al. 2012).

O mecanismo de tolerância é baseado na capacidade da planta em rapidamente metabolizar o herbicida, convertendo-o a um produto não fitotóxico (YU et al. 2004). Uma vez absorvido, o herbicida pode ser ativado por enzimas monooxigenases ou peroxidases do citocromo P₄₅₀ responsável por mediar reações de oxidação e hidroxilação, aumentando a polaridade da molécula e reduzindo sua toxicidade. Essas reações fornecem sítios de ligação para a conjugação com carboidratos (SIMINSZKY 2006, KASPAR et al. 2011, SCHWITZGUÉBEL 2017). No entanto, poucos genes associados ao metabolismo desses herbicidas foram identificados (ZHAO et al. 2017).

Nas espécies suscetíveis ao imazapic, os sintomas visuais de fitointoxicação incluíam deformações na parte aérea, clorose e necrose foliar. Clorose em folhas de girassol tratadas com imazamox foi relacionado ao seu conteúdo de clorofila significativamente reduzido (BALABANOVA et al. 2016). Nas espécies suscetíveis, *P. maximum*, *C. juncea* e *Stylosanthes*, as lesões aumentaram com as doses de imazapic e reduziram com o tempo após a aplicação. GARCÍA-GARIJO et al. (2013) relataram 50% de inibição da atividade de ALS em tecidos jovens aos sete dias após o tratamento com imazamox, enquanto nas folhas maduras esse efeito não foi observado. Em cada órgão da planta, os aminoácidos de cadeia ramificada são sintetizados principalmente nos tecidos jovens. Assim, os primeiros efeitos promovidos pelos herbicidas inibidores da ALS ocorrem nos tecidos meristemáticos. Tecidos maduros possuem maiores quantidades de aminoácidos e reservas de proteína que podem ser catabolizadas, resultando em maior tempo de exposição para a ocorrência do efeito tóxico (ZHOU et al. 2007).

Conforme os resultados, a exposição ao imazapic influenciou de forma distinta o crescimento e a biomassa das plantas. Em plantas de *P. maximum*, *Stylosanthes*, *P. glaucum*, *R. sativus* e *C. juncea*, a redução da altura e massa seca foi alta nas menores doses de imazapic. Nessas espécies, a massa seca foi mais sensível às doses do herbicida do que a altura das plantas. Resultados semelhantes foram relatados por SU et al. (2016) com mudas de milho expostas à concentrações de até 800 µg kg⁻¹ de imazapic. Enquanto nas demais espécies, a redução desses parâmetros exigiu doses maiores, embora os resultados não tenham sido estatisticamente significativos para *D. lablab* e *C. cajan*.

A resposta diferencial das espécies ao imazapic pode ser explicada por diferentes mecanismos físicos, moleculares e fisiológicos envolvidos na tolerância ao herbicida (TAN et al. 2005). A recuperação da clorofila favorecida pelo metabolismo, a restituição de proteínas dos cloroplastos, a exclusão do herbicida, além da possível substituição de aminoácido no sítio de ação, são alguns dos mecanismos envolvidos na tolerância às imidazolinonas (JIMÉNEZ et al. 2015). Efeitos negativos apresentados por algumas espécies de plantas à diferentes níveis de imidazolinonas têm sido relatados. MATOCHA et al. (2003) verificaram redução na altura de plantas de algodão nas doses entre 140 e 210 g ha⁻¹ de imazapic no ano seguinte da aplicação. YORK et al. (2000) observaram 58% de lesões, atraso na maturação e 44% de redução do rendimento do algodão na dose de 140 g ha⁻¹ de imazapic quando aplicado em pré emergência. A dose de 140 g ha⁻¹ da mistura formulada com imazapic e imazapyr também reduziu em 72% a massa seca da parte aérea em plantas de azevém semeadas em sucessão ao arroz Clearfield® (SANTOS et al. 2014). ALISTER & KOGAN (2005) verificaram efeito residual do imazapic na dose de 119,7 g ha⁻¹ sobre o crescimento e rendimento de grãos em plantas de azevém e cevada aos 300 dias após a aplicação.

É reconhecida que a atividade microbiana é a principal via de degradação dos herbicidas imidazolinonas (SU et al. 2019). A tolerância ao imazapic também pode ser atribuída à capacidade dessas plantas em associar-se com bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos e fitoestimar a microbiota do solo por meio da liberação de exsudatos radiculares (SPOHN et al. 2013, ALVES et al. 2018).

A tolerância de *L. multiflorum* e *V. sativa* à mistura de imazapyr e imazapic foi atribuída à fitoestimulação da microbiota associada à rizosfera destas espécies (GALON et al. 2014). SOUTO et al. (2015) relataram em média, 94% de remoção de imazetapyr e imazapic (4000 mL ha⁻¹) em solo rizosférico de *S. atterimum* aos 63 dias de tratamento. LIU et al. (2016) identificaram a cepa *A. baumannii* IB5, coletada de campo agrícola com histórico de aplicação de imazamox e altamente adaptada a utilizar o herbicida como a única fonte de carbono. Em contraste, amostras de solo coletadas de área com histórico de dois anos de aplicação de imidazolinonas, enriquecidas com misturas formuladas de imazethapyr e imazapic (75 + 25 g L⁻¹) ou imazapyr e imazapic (525 + 175 g L⁻¹) e incubadas por 90 dias, não apresentaram degradação acelerada (BUNDT et al. 2015).

CONCLUSÃO

Nesse estudo, as espécies *Mucuna aterrima*, *Dolichos lablab* e *Cajanus cajan* apresentaram tolerância ao imazapic, característica requerida na seleção de plantas com potencial fitorremediador. Todavia, embora a exposição ao herbicida promova efeito nas maiores doses sobre a altura e produção de massa seca de *Mucuna aterrima*, esta espécie é a que mais se destacou pela alta produção de biomassa, sendo esta a mais promissora na fitorremediação do imazapic.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG), pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- ALISTER CA & KOGAN M. 2005. Efficacy of imidazolinone herbicides applied to imidazolinone resistant maize and their carryover effect on rotational crops. *Crop Protection* 24: 375-379.
- ALLAN HL et al. 2017. Analysis of sugarcane herbicides in marine turtle nesting areas and assessment of risk using in vitro toxicity assays. *Chemosphere* 185: 656-664.
- ALVES C et al. 2018. Selection of species with soil phytoremediation potential after the application of Protox inhibiting herbicides. *Planta Daninha* 36: e018174765.
- BALABANOVA DA et al. 2016. Photosynthetic performance of the imidazolinone resistant sunflower exposed to single and combined treatment by the herbicide imazamox and an amino acid extract. *Frontiers in Plant Science* 7: 1-10.
- BELO AF et al. 2011. Potencial de espécies vegetais na remediação de solo contaminado com sulfentrazone. *Planta Daninha* 29: 821-828.
- BUNDT AC et al. 2015. Imidazolinone degradation in soil in response to application history. *Planta Daninha* 33: 341-349.
- COUTINHO HD & BARBOSA AR 2007. Fitorremediação: considerações gerais e características de utilização. *Silva Lusitana* 15: 103-117.
- DAVIS AM et al. 2014. The potential benefits of herbicide regulation: a cautionary note for the Great Barrier Reef catchment area. *Science Total Environment* 490: 81-92.
- DOR E et al. 2016. Characterization of the novel tomato mutant HRT, resistant to acetolactate synthase-inhibiting herbicides. *Weed Science* 64: 348-360.
- GALON L et al. 2014. Potential of plant species for bioremediation of soils applied with imidazolinone herbicides. *Planta Daninha* 32: 719-726.
- GARCÍA-GARIJO A et al. 2013. Physiological and biochemical responses of common vetch to the imazamox accumulation. *Plant Physiology and Biochemistry* 73: 321-325.
- GERHARDT KE et al. 2017. Opinion: Taking phytoremediation from proven technology to accepted practice. *Plant Science* 256: 170-185.
- GOLOMBIESKI JI et al. 2016. Imazapyr + imazapic herbicide determines acute toxicity in silver catfish *Rhamdia quelen*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 128: 91-99.
- JIMÉNEZ F et al. 2015. Resistance to imazamox in Clearfield soft wheat (*Triticum aestivum* L.). *Crop Protection* 78: 15-19.
- KASPAR M et al. 2011. Selection of a sunflower line with multiple herbicide tolerance that is reversed by the P450 inhibitor malathion. *Weed Science* 59: 232-237.
- KAWAHIGASHI H. 2009. Transgenic plants for phytoremediation of herbicides. *Current Opinion in Biotechnology* 20: 225-230.
- LIU C et al. 2016. Imazamox microbial degradation by common clinical bacteria: *Acinetobacter baumannii* IB5 isolated from black soil in China shows high potency. *Journal of Integrative Agriculture* 15: 1798-1807.
- LUO J et al. 2017. Improvement effects of cytokinin on EDTA assisted phytoremediation and the associated environmental risks. *Chemosphere* 185: 386-393.
- MADALÃO JC et al. 2013. Susceptibilidade de espécies de plantas com potencial de fitorremediação do herbicida sulfentrazone. *Revista Ceres* 60: 111-121.

- MADALÃO JC et al. 2012. Uso de leguminosas na fitorremediação de solo contaminado com sulfentrazone. Pesquisa Agropecuária Tropical 42: 390-396.
- MAPA/AGROFIT. 2019. Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários - Consulta Aberta. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit/>. Acesso em: 14 dez. 2019.
- MARCACCI S et al. 2006. Conjugation of atrazine in vetiver (*Chrysopogon zizanioides* Nash) grown in hydroponics. Environmental and Experimental Botany 56: 205-215.
- MARCHESAN E et al. 2010. Carryover of imazethapyr and imazapic to nontolerant rice. Weed Technology 24: 6-10.
- MATOCHA MA et al. 2003. The persistence of imazapic in peanut (*Arachis hypogaea*) crop rotations. Weed Technology 17: 325-329.
- MAZLAN AZ et al. 2016. Assessment of imazapic presence surface water and groundwater in paddy field area. Jurnal Teknologi 78: 33-37.
- MITTON FM et al. 2018. DDTs-induced antioxidant responses in plants and their influence on phytoremediation process. Ecotoxicology and Environmental Safety 147: 151-156.
- MONQUERO PA et al. 2013. Seleção de espécies de adubos verdes visando à fitorremediação de diclosulam. Planta Daninha 31: 127-135.
- NEWSOM LJ et al. 1995. Absorption, translocation, and metabolismo of AC 263,222 in selected soybean (*Glycine max*) cultivars. Weed Science 43: 536-540.
- NISSIM WG et al. 2018. Phytoremediation of sewage sludge contaminated by trace elements and organic compounds. Environmental Research 164: 356-366.
- NWAICHI OE & AYALOGU OE 2010. Allelopathy as expressed by *Mucuna pruriens* and the possibility for weed management. International Journal of Plant Physiology and Biochemistry 2: 1-5.
- NWAICHI EO et al. 2009. Phytoextracting Cadmium and Copper Using *M. pruriens*. African Journal Plant Science 3: 277-282.
- PÉREZ-IGLESIAS JM et al. 2018. Are the damaging effects induced by the imazethapyr formulation Pivot® H in *Boana pulchella* (Anura) reversible upon ceasing exposure? Ecotoxicology and Environmental Safety 148: 1-10.
- PIRES FR et al. 2008. Avaliação da fitorremediação de tebuthiuron utilizando *Crotalaria juncea* como planta indicadora. Revista Ciência Agronômica 39: 245-250.
- REIMCHE GB et al. 2015. Imazethapyr and imazapic, bispyribac-sodium and penoxsulam: Zooplankton and dissipation in subtropical rice paddy water. Science of the Total Environment 514: 68-76.
- RIBEIRO TS et al. 2015. Avaliação do potencial de biorremediação de solos contaminados: método de hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) como indicador de atividade microbiana. Revista Aquila 13: 105-120.
- ROJANO-DELGADO AM et al. 2012. Limited uptake, translocation and enhanced metabolic degradation contribute to glyphosate tolerance in *Mucuna pruriens* var. *utilis* plants. Phytochemistry 73: 34-41.
- ROJANO-DELGADO AM et al. 2015. Mechanism of imazamox resistance of the Clearfield® wheat cultivar for better weed control. Agronomy for Sustainable Development 35: 639-648.
- SÁNCHEZ V et al. 2017. Assessing the phytoremediation potential of crop and grass plants for atrazine-spiked soils. Chemosphere 185: 119-126.
- SANTOS LO et al. 2014. Carryover effect of imidazolinone herbicides for crops following rice. American Journal of Plant Sciences 5: 1049-1058.
- SCHWITZGUÉBEL JP. 2017. Phytoremediation of soils contaminated by organic compounds: hype, hope and facts. Journal of Soils and Sediments 17: 1492-1502.
- SHAIFUDDIN SNM. 2016. Optimization of extraction and detection method for imazapyr and imazapic residues in water, soil and fish tissue samples using high performance liquid chromatography. Jurnal Teknologi 78: 43-48.
- SILVA DRO et al. 2011. Ocorrência de agrotóxicos em águas subterrâneas de áreas adjacentes a lavouras de arroz irrigado. Química Nova 34: 748-752.
- SIMINSZKY B. 2006. Plant cytochrome P₄₅₀-mediated herbicide metabolism. Phytochemistry Reviews 5: 445-458.
- SBCPD. 1995. Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas. Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas. Londrina: SBCPD. 42p.
- SOUSA CP et al. 2012. Growth of residual herbicide (imazethapyr+imazapic) bio-indicators sown in rotation with Clearfield® rice. Planta Daninha 30: 105-111.
- SOUTO KM et al. 2015. Phytoremediation of lowland soil contaminated with a formulated mixture of imazethapyr and imazapic. Revista Ciência Agronômica 46: 185-192.
- SPOHN M et al. 2013. Microbial gross organic phosphorus mineralization can be stimulated by root exudates - A ³³P isotopic dilution study. Soil Biology and Biochemistry 65: 254-263.
- SU W et al. 2019. Adsorption and degradation of imazapic in soils under different environmental conditions. PloS one 14: 1-11.
- SU W et al. 2016. Effect of imazapic residues on photosynthetic traits and chlorophyll fluorescence of maize seedlings. Photosynthetica 55: 294-300.
- TAN S et al. 2005. Imidazolinone tolerant crops: history, current status and future. Pest Management Science 61: 246-257.
- VEGA T et al. 2012. Acetohydroxyacid synthase (AHAS) *in vivo* assay for screening imidazolinone-resistance in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Plant Physiology and Biochemistry 61: 103-107.

- ZANELLA R et al. 2012. Herbicides persistence in rice paddy water in southern Brazil. *Herbicides - mechanisms and mode of action*. 1.ed. Rijeka: InTech. 23p.
- ZHAO B et al. 2017. Non-target site resistance to ALS-inhibiting herbicides in a *Sagittaria trifolia* L. population. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 140: 79-84.
- ZHOU Q et al. 2007. Action mechanisms of acetolactate synthase inhibiting herbicides. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 89: 89-96.
- YORK AC et al. 2000. Cotton response to imazapic and imazethapyr applied to a preceding peanut crop. *The Journal of Cotton Science* 4: 210-216.
- YU Q et al. 2004. Tolerance to acetolactate synthase and acetyl-coenzyme A carboxylase inhibiting herbicides in *Vulpia bromoides* is conferred by two co-existing resistance mechanisms. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 78: 21-30.