

ATIVIDADE FOTOSSINTÉTICA DE PLANTAS CULTIVADAS EM SOLO CONTAMINADO COM SULFENTRAZONE

BELO, A.F.¹; COELHO, A.T.C.P.²; TIRONI, S.P.³; FERREIRA, E.A.⁴; FERREIRA, L.R.⁵; SILVA, A.A.⁶

1 Universidade Federal de Viçosa - UFV; (31) 38991164; ferreiragro@yahoo.com.br

2 Universidade Federal de Viçosa - UFV; (31) 38993255; alextcpcoelho@hotmail.com

3 Universidade Federal de Viçosa - UFV; (31) 38991164; siumar.tironi@gmail.com

4 Universidade Federal de Viçosa - UFV; (31) 38991164; evanderalves@yahoo.com.br

5 Universidade Federal de Viçosa - UFV; (31) 38991119; lroberto@ufv.br

6 Universidade Federal de Viçosa - UFV; (31) 38991420; aasilva@ufv.br

Resumo

Atualmente há grande preocupação com o impacto ambiental gerado pelos agrotóxicos. Para reduzir a persistência desses compostos no ambiente estão sendo realizadas pesquisas com o uso de plantas que proporcionam a descontaminação do solo. Essa técnica é conhecida como fitorremediação. No entanto, os herbicidas são compostos que apresentam toxicidade às plantas, o que pode reduzir a capacidade dessas na descontaminação. Com isso, desenvolveu-se este trabalho com o objetivo de avaliar os efeitos do residual de sulfentrazone no solo sobre as características associadas à atividade fotossintética de *Helianthus annuus*, *Canavalia ensiformis*, *Dolichos lab lab* e *Arachis hypogaea* consideradas espécies com potencial de remediação de solo contaminado por esse herbicida. O experimento foi conduzido em esquema fatorial 4 x 3 em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. O primeiro fator constou do cultivo das espécies *H. annuus*, *C. ensiformis*, *D. lab lab* e *A. hypogaea* e o segundo de três doses (0, 250 e 500 g ha⁻¹) de sulfentrazone aplicadas em pré-emergência. Após o preenchimento dos vasos com 6,0 kg de solo, classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo, fez-se a irrigação e aplicou-se o herbicida sob a superfície do solo. Um dia após a aplicação, procedeu-se a semeadura das espécies vegetais. Aos 40 dias após a emergência das mesmas, foram avaliadas a concentração de CO₂ na câmara subestomática (C_i - µmol mol⁻¹), a taxa fotossintética (A - µmol m⁻² s⁻¹) e o gradiente de CO₂ (ΔC - µmol mol⁻¹), utilizando-se analisador de gases no infravermelho (IRGA). De modo geral, os resíduos de sulfentrazone no solo afetaram negativamente as variáveis fisiológicas estudadas, com maiores efeitos nas maiores concentrações desse herbicida no solo. Todavia, a taxa fotossintética de *C. ensiformis* não foi influenciada pela ação do herbicida, independentemente das doses aplicadas.

Palavras-Chave: fitorremediação, herbicida, impacto ambiental.

Abstract

Currently there is the great preoccupation with the environmental impact generated by pesticides. Research has been carried to reduce the persistence of these compounds in the environment with the use of plants that provide the soil decontamination. This technique is known as phytoremediation. However, herbicides are toxic compounds to plants, which can reduce the ability of these in the decontamination. The goal of this work was to evaluate the sulfentrazone effects on the characteristics associated with photosynthetic activity of *Helianthus annuus*, *Canavalia ensiformis*, *Dolichos lab lab* and *Arachis hypogaea* regarded species with potential of remediation of contaminated soil with this herbicide. The experiment was conducted in factorial 4 X 3, completely randomized design, with four replications. The first factor consisted by cultivation of species *H. annuus*, *C. ensiformis*, *D. lab lab* and *A. hypogaea*; the second factor by three sulfentrazone doses (0, 250 and 500 g ha⁻¹) applied in pre-emergence. After filling the pots with 6.0 kg of soil, classified with red-yellow Hapludalf, it was done the irrigation and it was done the herbicide application herbicide in soil surface. One day after this application, proceeded the sowing of vegetal species. At 40 days after the emergency of the vegetal species, were evaluated the stomatal gas flow rate (U - µmol s⁻¹), sub-stomatal CO₂ concentration (C_i - µmol mol⁻¹), photosynthetic rate (A - µmol m⁻² s⁻¹) and the CO₂ gradient (ΔC - µmol mol⁻¹). These evaluations were performed using an infrared gas analyzer (IRGA). In a general way, sulfentrazone residues in soil affected negatively the physiological variables studied, with greater effects in the higher concentrations of this herbicide in the

soil. However, the photosynthetic activity of *C. ensiformis* weren't influenced by the herbicide action, independently of the doses applied.

Key Words: phytoremediation, herbicide, environmental impact.

Introdução

A fitorremediação consiste no método de descontaminação de solo ou água utilizando-se plantas. Essas devem apresentar tolerância aos contaminantes e possuir habilidade para remover, extrair e, ou, mesmo mineralizá-los no ambiente (Wilson et al., 2000; Accioly e Siqueira, 2000).

Devido a maior preocupação com o impacto ambiental e econômico da contaminação, como por exemplo, a intoxicação de culturas sensíveis cultivadas após a aplicação de herbicidas persistentes (Robinson, 2008), atualmente estão sendo realizados estudos com o uso da fitorremediação na descontaminação de áreas tratadas com herbicidas de elevada persistência no solo (Santos et al., 2004; Carmo et al., 2008; Procópio et al., 2005, 2008). Dentre os herbicidas de elevada persistência, e consequentemente, elevado potencial de contaminação ambiental, encontra-se o sulfentrazone. O qual apresenta como mecanismo de ação a inibição da rota metabólica de síntese da enzima protoporfirinogênio oxidase (PROTOX), atuando indiretamente na síntese de clorofila em plantas sensíveis (Silva et al., 2007).

O sulfentrazone pode afetar a atividade fotossintética de plantas consideradas tolerantes a este herbicida (Li et al., 2000; Carretero, 2008). Sendo assim, as variáveis associadas à fotossíntese podem ser utilizadas como indicadores da tolerância das espécies ao sulfentrazone. Característica esta que é um dos pré-requisitos para as plantas com potencial de remediação de solos contaminados com este herbicida.

Sendo assim, objetivou-se com esse trabalho, avaliar as características relacionadas a atividade fotossintética das espécies *Helianthus annuus*, *Canavalia ensiformis*, *Dolichos lab lab* e *Arachis hypogaea* quando cultivadas em solo contaminado com diferentes concentrações de sulfentrazone.

Material e Métodos

O trabalho foi conduzido em casa de vegetação, na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, no período de novembro de 2007 a janeiro de 2008. O experimento constou de um fatorial 4 x 3, no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. O primeiro fator foi constituído pelo cultivo das espécies *Heliantum annuus*, *Canavalia ensiformis*, *Dolichos lab lab* e *Arachis hypogaea* e o segundo de três doses (0, 250 e 500 g ha⁻¹) de sulfentrazone, aplicadas em pré-emergência.

Como substrato, para o cultivo das plantas, utilizou-se amostras de solo classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo. As amostras do solo em estudo foram coletadas na profundidade de 0-20 cm, em área sem histórico de aplicação de herbicidas. Estas foram passadas em peneira com malha de 4 mm e adubadas com superfosfato simples na proporção de 10,0 g kg⁻¹ de solo.

Antes do preenchimento, os vasos foram revestidos com filme de polietileno para evitar a perda do herbicida por lixiviação. Após o preenchimento dos vasos com 6,0 kg do substrato, esses foram irrigados ajustando-se a umidade em valor próximo a 80% da capacidade de campo, procedendo-se em seguida a aplicação do herbicida com um pulverizador de precisão.

A semeadura das espécies vegetais foi realizada um dia após a aplicação do sulfentrazone. Sete dias após a emergência dessas foi realizado o desbaste, deixando três plantas por vaso. Os vasos foram irrigados periodicamente, mantendo-se a umidade do solo próxima a 80% da capacidade de campo.

Aos 30 dias após emergência (DAE) das espécies vegetais adicionou-se em cada vaso 0,3 g de uréia visando o fornecimento de nitrogênio. Aos 40 DAE foram realizadas as avaliações na folha mais jovem com limbo foliar totalmente expandido das quatro espécies fitorremediadoras do sulfentrazone, utilizando-se analisador de gases no infravermelho (IRGA), marca ADC, modelo LCA PRO (Analytical Development Co. Ltd, Hoddesdon, UK), em casa de vegetação aberta, permitindo livre circulação do ar. Nessa ocasião, foram determinadas a concentração de CO₂ na câmara subestomática (C_i - μmol mol⁻¹), a taxa fotossintética (A - μmol m⁻² s⁻¹) e o gradiente de CO₂ (ΔC - μmol mol⁻¹). Essas avaliações foram realizadas entre 7 e 9 horas da manhã, em dia de céu limpo e com iluminação artificial de 1.200 μmol m⁻² s⁻¹, de forma a manter as condições ambientais homogêneas.

Os dados foram submetidos à análise de variância e regressão, comparando somente o fator doses, pois, devido as diferenças fisiológicas não se justifica a comparação entre as espécies estudadas. Os modelos foram escolhidos com base na significância dos coeficientes de regressão, utilizando-se o teste “t” a 5% de probabilidade, no fenômeno biológico e no coeficiente de determinação (r^2).

Resultados e Discussão

Para *H. annuus* não foi observada diferenças na concentração de CO_2 na câmara subestomática (C_i) independentemente das concentrações do herbicida no solo (Tabela 1). No entanto, para *C. ensiformis*, *D. lab lab* e *A. hypogaea* foi observado correlação negativa da C_i com a concentração do sulfentrazone no solo, havendo redução do valor da C_i com o aumento da concentração desse herbicida no solo. Estes resultados demonstram haver menor influxo de CO_2 para o espaço subestomático com aumento da concentração do herbicida no solo.

A redução da C_i é ocasionada, geralmente por fatores que reduzem o influxo de CO_2 para o espaço interno das folhas devido a redução da condutância estomática. Isso geralmente ocorre pelo fechamento dos estômatos que são influenciados por alguns fatores ambientais como disponibilidade hídrica, luz e energia, entre outros (Ometto et al., 2003). Essa variável fisiológica também pode ser influenciada pelas espécies reativas de oxigênio, que atuam como mensageiros secundários na ativação de canais da membrana plasmática, possibilitando o influxo de cálcio, que se concentra no citosol causando fechamento estomático (Taiz e Zeiger, 2004), reduzindo assim a condutância estomática (menor influxo de CO_2).

Tabela 1. Concentração de CO_2 na câmara subestomática (C_i) de espécies fitorremediadoras, cultivadas por 40 dias em solo tratado ou não com sulfentrazone, com as respectivas equações de regressão e coeficientes de determinação

Espécies fitorremediadoras	C_i ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)			Equação de regressão	r^2
	Doses (g ha^{-1})				
	0	250	500		
<i>Helianthus annuus</i>	240,00	239,50	234,25	$\hat{Y} = 237,92$	-
<i>Canavalia ensiformis</i>	227,25	239,00	211,00	$\hat{Y} = 239,750 - 0,056 * D$	0,596
<i>Dolichos lab lab</i>	229,25	232,25	186,75	$\hat{Y} = 238,833 - 0,091 * D$	0,707
<i>Arachis hypogaea</i>	201,68	193,00	181,25	$\hat{Y} = 202,187 - 0,041 * D$	0,637
C.V. (%)	4,16				

* Significativo a 5% pelo teste t.

Observou-se redução no gradiente de CO_2 (ΔC) para plantas de *H. annuus*, *C. ensiformis* e *A. hypogaea* quando estas espécies foram cultivadas em solo tratado com sulfentrazone em relação ao tratamento sem herbicida, com menores valores com aumento da concentração desse herbicida no solo. Já para *D. lab lab* não houve redução do ΔC independentemente da dose de sulfentrazone aplicada (Tabela 2).

Tabela 2. Gradiente de CO_2 (ΔC) de espécies fitorremediadoras, cultivadas por 40 dias em solo tratado ou não com sulfentrazone, com as respectivas equações de regressão e coeficientes de determinação

Espécies fitorremediadoras	ΔC ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)			Equação de regressão	r^2
	Doses (g ha^{-1})				
	0	250	500		
<i>Helianthus annuus</i>	114,75	96,75	101,75	$\hat{Y} = 113,417 - 0,036 * D$	0,877
<i>Canavalia ensiformis</i>	109,50	110,00	100,75	$\hat{Y} = 111,125 - 0,018 * D$	0,535
<i>Dolichos lab lab</i>	80,25	83,00	74,25	$\hat{Y} = 79,17$	-
<i>Arachis hypogaea</i>	125,00	120,75	83,00	$\hat{Y} = 130,583 - 0,084 * D$	0,801
C.V. (%)	2,96				

* Significativo a 5% pelo teste t.

A redução do ΔC foi observada em cana-de-açúcar após a aplicação do ametryn, herbicida este que atua diretamente na fotossíntese (Galon et al., 2010). Segundo esses mesmos autores, o ΔC , está

diretamente relacionado à intensidade fotossintética da planta no momento da avaliação, ou seja, quanto mais lento for o metabolismo da planta, menor o consumo de CO₂ por unidade de tempo, reduzindo a diferença entre a concentração de carbono da atmosfera e do espaço interno da folha (ΔC). Como o sulfentrazone atua inibindo a atividade fotossintética, mesmo de forma indireta, os efeitos tendem a ser semelhantes.

As plantas de *H. annuus* apresentaram redução da taxa fotossintética (A) quando cultivadas em solos contaminado com sulfentrazone, com maiores reduções nas maiores concentrações do herbicida (Tabela 3). Para esta espécie não foi observada influência do herbicida na Ci (Tabela 1), evidenciando que a fotossíntese provavelmente não foi reduzida pela deficiência do substrato CO₂. Para *A. hypogaea* e *D. lab lab* a taxa fotossintética também foi proporcionalmente reduzida com aumento da concentração de sulfentrazone no solo. Houve redução de aproximadamente 34% e 21% para *A. hypogaea* e *D. lab lab* respectivamente, ao se comparar a dose de 500 g ha⁻¹ do sulfentrazone com a ausência desse herbicida. No entanto para *C. ensiformis* não foi observada influência na atividade fotossintética por nenhuma das doses testadas do herbicida (Tabela 3).

Considerando o mecanismo de ação dos herbicidas inibidores da PROTOX, a atividade fotossintética é comprometida por alguns distúrbios relacionados com a peroxidação de lipídios e pigmentação foliar, pois os herbicidas deste grupo atuam na redução dos teores de clorofila e carotenóides foliares, efeitos esses que podem ser observados também em plantas tolerantes (Carretero, 2008). Com a redução, especialmente, dos teores de carotenóides há dificuldade na dissipação de energia (Sherman et al., 1991; Mostowska et al., 1996; Triphany et al., 2007), levando a um estresse oxidativo, causando destruição de membranas e redução da maquinaria fotossintética. Esses herbicidas podem atuar também na liberação de etileno, etano e aldeído malônico (Kenyon et al. 1985), que podem atuar no balanço hormonal, e conseqüentemente em várias atividades fisiológicas das plantas.

Tabela 3. Taxa fotossintética (A) de espécies fitorremediadoras, cultivadas por 40 dias em solo tratado ou não com sulfentrazone, com as respectivas equações de regressão e coeficientes de determinação

Espécies fitorremediadoras	A ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)			Equação de regressão	r ²
	Doses (g ha ⁻¹)				
	0	250	500		
<i>Helianthus annuus</i>	35,66	31,03	31,66	$\hat{Y} = 34,780 - 0,008 * D$	0,445
<i>Canavalia ensiformis</i>	31,79	35,09	34,15	$\hat{Y} = 33,68$	-
<i>Dolichos lab lab</i>	28,38	26,92	22,46	$\hat{Y} = 28,878 - 0,012 * D$	0,477
<i>Arachis hypogaea</i>	41,22	39,62	27,18	$\hat{Y} = 43,026 - 0,028 * D$	0,741
C.V. (%)		6,73			

* Significativo a 5% pelo teste t.

De modo geral, os resíduos de sulfentrazone no solo afetaram negativamente as variáveis fisiológicas estudadas, com maiores efeitos nas maiores concentrações desse herbicida no solo. Todavia, a taxa fotossintética de *C. ensiformis* não foi influenciada pela ação do herbicida, independentemente das doses aplicadas.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro.

Literatura Citada

ACCIOLY, A. M. A. e SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V. V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R. (Ed.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. p.299-352.

CARMO, M.L. et al. Influência do período de cultivo de *Panicum maximum* (Cultivar Tanzânia) na fitorremediação de solo contaminado com picloram. **Planta Daninha**, v.26, p.315-322, 2008.

CARRETERO, D.M. **Efeitos da inibição da protoporfirinogênio IX oxidase sobre as trocas gasosas e fluorescência da clorofila a em plantas de soja (*Glycine max* L. Merrill)**. 2008. 57f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

GALON, L. et al. Influência de herbicidas na atividade fotossintética de genótipos de cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, no prelo, 2010.

KENYON, W.H. e DUKE, S.O. Effects of acifluorfen on endogenous antioxidants and protective enzymes in cucumber (*Cucumis sativus* L.) cotyledons. **Plant Physiology**, v.79, p.862-866, 1985.

LI, Z. et al. Using electrolyte leakage to detect soybean (*Glycine max*) cultivars sensitive to sulfentrazone. **Weed Technology**, v.14, p.699-704, 2000.

MOSTOWSKA, A. et al. Effect to 2,22-bipyridyl, a photodynamic herbicide, on chloroplast ultrastructure, pigment content and photosynthesis rate in pea seedlings. **Acta physiology plant**, v.18, p.153-164, 1996.

OMETTO J. P. H. B. et al. Variação temporal do isótopo estável do carbono em material arbóreo em florestas da região Amazônica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ECOLOGIA, 4., 2003, Fortaleza. **Anais...** Rio Claro: Sociedade de Ecologia do Brasil, [2003]. CD-ROM.

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

PROCÓPIO, S.O. et al. Fitorremediação de solo contaminado com picloram por capim-pé-de-galinha-gigante (*Eleusine coracana*). **Rev. Bras. Ci. Solo**, v.32, p.2517-2524, 2008.

ROBINSON, D.E. Atrazine accentuates carryover injury from mesotrione in vegetable crops. **Weed Technol.**, v.22, p.641-645, 2008.

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

SHERMAN et al. Physiological basis for differential sensitivities of plant species to protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicide. **Plant physiology**, v.97, p.280-287, 1991.

SILVA, A. A. et al. Herbicidas: Classificação e mecanismo de ação. In: SILVA, A.A.; SILVA, J.F. Ed. **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa: Ed. UFV, 2007. p.63-81.

TAIZ, L. e ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.449-484.

TRIPATHY, B.C.; MOHAPATRA, A.; GUPTA, I. Impairment of the photosynthetic apparatus by oxidase stress induced by photosensitization reaction of protoporphyrin IX. **Biochimica et Biophysica Acta**. v.1767, p.860-868, 2007.

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