

FITORREMEDIAÇÃO DE SUBSTRATO COM RESÍDUOS DE ATRAZINE E 2,4-D POR ESPÉCIES FLORESTAIS

SANTOS, J.B. (PPGCF – UFVJM, Diamantina/MG – barbosa@pq.cnpq.br), FIORE, R.A. (PPGCF – UFVJM – rebecca.floresta@gmail.com), FERREIRA, E.A. (PPGPV – UFVJM – evanderlves@yahoo.com.br), CABRAL, C.M. (PPGCF – UFVJM – mtchells@yahoo.com.br), LAIA, M.L. (PPGCF – UFVJM – marcelolaia@gmail.com), BATISTA, M.C. (PPGCF – UFVJM – maia_crisb2@hotmail.com)

RESUMO: A técnica da fitorremediação pode ser usada para sítios com resíduos de herbicidas, contudo, em se tratando de compostos lixiviáveis, uma alternativa é sua interceptação antes de atingir os cursos hídricos. Assim sendo, objetivou-se neste trabalho avaliar o potencial de remediação por espécies florestais de ambientes contaminados com resíduos de 2,4-D e atrazine. Foram avaliados 36 tratamentos compostos pela combinação das espécies: ingá, guapuruvu, ipê amarelo, carobinha, cedro, landin, goiabinha, quaresmeira, pau-ferro, sibipiruna, capitão e braúna, e três soluções simulando o composto lixiviado em metade da dose comercialmente recomendada (atrazine, 2,4-D e água – controle), com quatro repetições cada. O ingá apresentou bons resultados de remediação para ambos herbicidas, assim como o ipê amarelo, apesar da sua sensibilidade aos produtos. Observaram-se, por meio do Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) que a diversidade microbiana associada à rizosfera de ingá é diferenciada, principalmente quando submetida à ação de atrazine, identificando essa espécie vegetal como opção de plantio para recomposição de matas ciliares à jusante das áreas de cultivos onde se aplicam tais herbicidas.

Palavras-chave: Diversidade microbiana; T-RFLP; biorremediação; herbicidas lixiviáveis

INTRODUÇÃO

O interesse pelo uso sustentável de herbicidas na agricultura brasileira, principalmente em áreas próximas aos mananciais hídricos, tem se tornado cada vez maior, em vista da necessidade de uso contínuo e crescente desses produtos no controle efetivo de plantas daninhas nos plantios, em áreas de grande extensão. Várias pesquisas sugerem a fitorremediação como eventual solução para o problema gerado pelos resíduos de herbicidas (PIRES et al, 2003). Contudo, uma limitação ao uso da fitorremediação *in situ* se refere à permanência da molécula no solo quando se trata de produtos lixiviáveis, pois eventual resíduo se desloca para outras camadas até os cursos hídricos. Nesse sentido, técnicas de recomposição de matas ciliares com espécies arbóreas capazes de acumular e degradar esses compostos, principalmente pelo estímulo aos microrganismos da rizosfera constitui

excelente inovação no Manejo sustentável de plantas daninhas.

Conhecer essa diversidade de micro-organismos de forma exitosa demanda o uso de técnicas aprimoradas, como as que englobam a extração de DNA total de amostras, com posterior amplificação e análise do material genético. O uso de tal técnica é vantajoso, pois se obtém dados mais aproximados da abundância da população na comunidade microbiana, além de estimativas a cerca da diversidade filogenética das comunidades em diferentes ambientes (CAFFARO-FILHO et al., 2007).

Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo selecionar espécies florestais remediadoras, que sejam alvo de programas de recuperação de áreas degradadas ou plantadas à jusante de campos agrícolas cultivados com espécies onde se recomenda o uso de atrazine e 2,4-D.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi dividido em três etapas. Na primeira, avaliou-se a sensibilidade de 12 espécies arbóreas [*Inga marginata* (ingá), *Schizolobium parahyba* (guapuruvu), *Handroanthus serratifolius* (ipê amarelo), *Jacaranda puberula* (carobinha), *Cedrela fissilis* (cedro), *Calophyllum brasiliensis* (landin), *Psidium mirsinoides* (goiabinha), *Tibouchina glandulosa* (quaresmeira), *Caesalpinia ferrea* (pau-ferro), *Caesalpinia pluviosa* (sibipiruna), *Terminalia argentea* (capitão) e *Schinopsis brasiliensis* (braúna)] aos herbicidas atrazine e 2,4-D. Plantas das espécies vegetais nativas utilizadas foram semeadas em condições apropriadas e se desenvolveram por oito meses no Horto do Instituto Estadual de Florestas (IEF) de Diamantina-MG, sendo posteriormente selecionadas por altura e números de folhas, visando a padronização. Em seguida, foram plantadas em vasos de polietileno com capacidade de 8 dm³ e área de 0,0314 m². A dose total proposta para os herbicidas foi fracionada em três aplicações com intervalos de 20 dias (aos 60, 80 e 100 dias após o plantio das mudas), sendo cada aplicação equivalente à metade da dose comercial da formulação Primóleo® (1,25 kg ha⁻¹ de atrazine), e metade da dose comercial da formulação DMA 806 BR® (0,4 kg ha⁻¹ de 2,4-D). Esse fracionamento foi feito a fim de simular elevada lixiviação dos herbicidas a jusante da área de aplicação.

Na segunda etapa de avaliação do trabalho, foi feita a retirada das espécies florestais dos vasos, aos 60 dias após a terceira aplicação dos herbicidas (14^o mês após a semeadura), e foi determinada a capacidade de remediação de cada espécie analisada, por meio da técnica de bioensaio, trabalhando com a espécie bioindicadora pepino (*Cucumis sativus* (L.)).

Em terceira etapa executou-se as análises de Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) para a espécie mais promissora, comparando com os substratos mantidos sem cultivo durante todo o período experimental. Para isso, o DNA total contido nas amostras de solo foi extraído e purificado com o auxílio do PowerSoil™ DNA Isolation Kit

(MoBio Laboratories, Carlsbad, CA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De maneira geral todas as espécies toleraram os herbicidas. Os percentuais de intoxicação foram mais evidentes para as espécies cedro e ipê amarelo sob efeito do atrazine e para pau ferro e braúca, sob efeito do 2,4-D. Por outro lado, o ingá foi a espécie com menor sensibilidade aos produtos.

Observou-se que o cultivo prévio das espécies arbóreas foi positivo quanto á diminuição dos resíduos de atrazine na maioria dos tratamentos, uma vez que a intoxicação das plantas de pepino crescidas nos substratos previamente cultivado foi inferior ao valor observado naquelas sobre substrato sem cultivo prévio (Tabela 1). No entanto, nos tratamentos que anteriormente foram cultivados com carobinha e cedro, a intoxicação observada foi superior ao observado pelo vaso sem cultivo de plantas, cerca de 20% e 10%, respectivamente. O ingá foi a espécie que apresentou maior potencial na fitorremediação do substrato com os herbicidas, considerando que além de tolerar muito bem estes produtos, possibilitou excelente crescimento das plantas de pepino no solo anteriormente contaminado (Tabela 1).

Tabela 1. Equações de regressão relacionando ao grau de intoxicação (%) e dias após a semeadura (DAS), das plantas de pepino (*Cucumis sativus*) cultivadas em vasos que foram previamente cultivados, ou não, com espécies florestais submetidas á ação do herbicida atrazine e 2,4-D

Tratamento	Equação ajustada	r ²	Intoxicação final (% aos 26 DAS)
-----atrazine-----			
Sem Planta	$f = -10,5811 + 3,3880 * x$	0,9226	77,51
Ingá	$f = -7,7413 + 1,5886 * x$	0,9366	33,56
Guapuruvu	$f = 4,5164 + 2,4649 * x$	0,9039	68,60
Capitão	$f = -21,8707 + 3,2943 * x$	0,9470	63,78
Quaresmeira	$f = -5,2858 + 2,7554 * x$	0,9644	66,35
Carobinha	$f = -20,1125 + 4,5267 * x$	0,8998	97,58
Cedro	$f = -5,6795 + 3,5989 * x$	0,9092	87,89
Landim	$f = -2,8397 + 1,7994 * x$	0,9092	43,94
Goiabinha	$f = 2,1742 + 2,4836 * x$	0,9538	66,74
Pau-Ferro	$f = -0,4967 + 2,4930 * x$	0,8961	64,81
Sibipiruna	$f = -10,4171 + 3,0366 * x$	0,9282	68,53
Ipê amarelo	$f = -17,2540 + 1,9728 * x$	0,9280	34,03
Braúna	$f = -7,9569 + 2,7648 * x$	0,9164	63,92
-----2,4-D-----			
Sem Planta	$f = -17,0947 + 3,0600 * x$	0,8861	62,46
Ingá	$f = -22,3055 + 2,7976 * x$	0,9003	50,43
Guapuruvu	$f = -17,4039 + 3,0084 * x$	0,9197	60,81
Capitão	$f = -22,2259 + 3,3411 * x$	0,8839	64,64
Quaresmeira	$f = -21,2062 + 3,2990 * x$	0,8792	64,56
Carobinha	$f = -22,2259 + 3,3411 * x$	0,8839	64,64
Cedro	$f = -24,7329 + 2,9991 * x$	0,9228	53,24
Landim	$f = -24,2324 + 3,3552 * x$	0,9217	63,00
Goiabinha	$f = -22,1275 + 3,1303 * x$	0,8570	59,26
Pau-Ferro	$f = -19,8313 + 3,2099 * x$	0,9417	63,62
Sibipiruna	$f = -22,1275 + 3,1303 * x$	0,8570	59,26
Ipê amarelo	$f = -24,7329 + 2,9991 * x$	0,9228	53,24

*significativo a 5% de probabilidade pelo teste "T".

A partir dos dados obtidos com a seleção de plantas e avaliação com a planta indicadora, a espécie *I. marginata* (ingá) foi considerada a mais promissora e selecionada para estudo do T-RFLP. Foram analisados os dados de riqueza de Unidades Taxonômicas Operacionais (UTO's), onde, para cada T-RF encontrado no perfil de uma comunidade, uma Unidade Taxonômica Operacional (UTO) foi considerada.

Nota-se a presença de UTO's exclusivas em cada um dos ambientes amostrados (Figura 1). Essas diferenças na diversidade das amostras estão relacionadas com os papéis ecológicos de Archaea, Bacteria e Fungi (Mendes, 2009). É possível notar uma menor riqueza de UTO's para o domínio Fungi em relação aos demais, devido a uma menor quantidade T-RFs (ou picos detectados nos eletroferogramas). Admitindo-se que o ingá possui a capacidade de associar-se com bactérias endossimbiontes do gênero *Rhizobium* sp. (FARIA et al., 1984), é possível a contribuição dessa associação ao resultado observado.

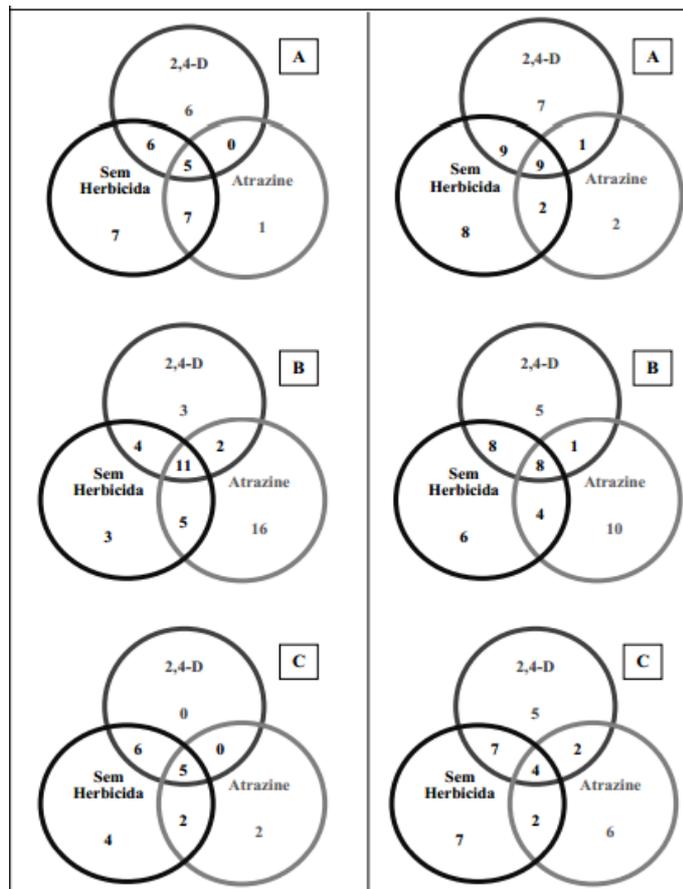


Figura 1. Número de UTOs exclusivas de cada tratamento, em diagrama de Venn, para as amostras com cultivo prévio de ingá (coluna da esquerda) e sem o cultivo prévio (coluna da direita) em vaso, para cada grupo microbiológico. (A- Archaea, B- Bacteria e C- Fungi).

CONCLUSÕES

Observou-se tendência maior de tolerância a ação dos herbicidas atrazine e 2,4-D para as espécies florestais do grupo das pioneiras ingá e ipê-amarelo. Tal fato não exclui a capacidade das demais espécies para programas de fitorremediação, visto que todas toleraram a ação dos produtos;

O ingá foi capaz de remediar melhor o solo com os herbicidas, com maior efetividade para o substrato contendo o atrazine;

Na rizosfera de ingá, sob a ação do atrazine, foi possível verificar maior número de bactérias, inclusive maior número de espécies exclusivas;

Os ambientes que continham as moléculas de atrazine e 2,4-D apresentaram similaridade quanto à diversidade microbiana.

AGRADECIMENTO

À FAPEMIG, ao CNPq e à CAPES pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAFFARO-FILHO, R. A., FANTINATTI-GARBOGGINI, F., DURRANT, L.R. 2007. Quantitative analysis of terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) microbial community profiles: peak height data showed to be more reproducible than peak area. **Brazilian Journal of Microbiology**. 38: 736-738.

FARIA, S. M., FRANCO, A. A., MENANDRO, M. S., JESUS, R. M., BAITELLO, J. B., AGUIAR, O. T., DÖBEREINER, J. 1984. Levantamento da nodulação de leguminosas florestais nativas na Região Sudeste do Brasil. **Pesq. Agro. Bras.** 19: 143-153.

MENDES, L. W. **Análise molecular das estruturas e diversidade de comunidades microbianas em solo de manguezal preservado da Ilha do Cardoso-SP**. 2009. 141 f. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

PIRES, F.R.; SOUZA, C.M.; SILVA, A.A., PROCÓPIO, S.O., FERREIRA, L.R. 2003. Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. **Planta Daninha**. 21, 335-341.