



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ  
INSTITUTO DE BIODIVERSIDADE E FLORESTAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS**

**IVAN ALVES DOS SANTOS JÚNIOR**

**AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO E DO CRESCIMENTO INICIAL DE ESPÉCIES  
FLORESTAIS ARBÓREAS FRENTE EXPOSIÇÃO A PESTICIDAS**

**SANTARÉM, PA  
2022**

**IVAN ALVES DOS SANTOS JÚNIOR**

**AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE ESPÉCIES  
FLORESTAIS ARBÓREAS FRENTE EXPOSIÇÃO A PESTICIDAS**

Dissertação de mestrado apresentado  
ao Programa de Pós-Graduação em  
Biociências da Universidade Federal  
do Oeste do Pará, para obtenção do  
título de Mestre em Biociências.

**Orientador:** Prof. Dr. Ruy Bessa Lopes

**Coorientador:** Prof. Dr. Túlio Silva Lara

**SANTARÉM, PA  
2022**

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**  
**Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/UFOPA**

---

- S237a Santos Júnior, Ivan Alves dos  
Avaliação da germinação e crescimento inicial de espécies florestais arbóreas frente exposição a pesticidas./ Ivan Alves dos Santos Júnior. – Santarém, 2022.  
99 p. : il.  
Inclui bibliografias.
- Orientador: Ruy Bessa Lopes.  
Coorientador: Túlio Silva Lara.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Biodiversidade e Florestas, Programa de Pós-Graduação em Biociências.
1. Espécies florestais. 2. Substâncias químicas. 3. Ensaio ecotoxicológicos.  
I. Lopes, Ruy Bessa, *orient.* II. Lara, Túlio Silva, *coorient.* III. Título.

CDD: 23 ed. 632.950 42

**IVAN ALVES DOS SANTOS JÚNIOR**

**AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE ESPÉCIES  
FLORESTAIS ARBÓREAS FRENTE EXPOSIÇÃO A PESTICIDAS**

Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Biociências da Universidade Federal do Oeste do Pará, para obtenção do título de Mestre em Biociências.

Conceito: Aprovado

Data da aprovação: 12/08/2022



Prof. Dr. Ruy Bessa Lopes.  
Orientador - Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA)



Prof. Dr. Túlio Silva Lara.  
Coorientador - Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA)

gov.br

Documento assinado digitalmente  
MAXWELL BARBOSA DE SANTANA  
Data: 08/09/2022 13:32:17-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Maxwell Barbosa de Santana.  
Avaliador - Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA)

gov.br

Documento assinado digitalmente  
LUCINEWTON SILVA DE MOURA  
Data: 08/09/2022 13:16:54-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Lucinewton Silva de Moura.  
Avaliador - Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA)

Aos meus familiares pelo apoio e amparo  
ao longo de toda a jornada, por todo  
incentivo e direcionamento.

## AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus, pela oportunidade de avançar em mais uma etapa mesmo em meio a momentos difíceis.

Em seguida a minha família; pai, mãe, irmão e principalmente minha irmã Andervânia por me dá apoio em todos os momentos no decorrer dessa jornada.

Agradeço também a Universidade Federal do Oeste do Pará -UFOPA e aos meus orientadores Ruy Bessa e Túlio Lara pelo auxílio ao longo de todo trabalho.

Agradeço a toda ajuda dos meus amigos pesquisadores, principalmente Darlison Souza e Tássio Coelho no desenrolar dos dados de trabalho.

Agradeço grandemente ao meu amigo Zaqueu Santos, que com suas habilidades me ajudou na ilustração científica de maneira espetacular e também a Haroldo Miranda que me ajudou na obtenção de material de pesquisa e suporte técnico.

Agradeço a minha namorada Mayse Malcher e meu querido amigo Daniel Guedes por todo apoio, ajuda e incentivo.

Agradeço a todos os amigos e colaboradores que ajudaram na construção do trabalho de ecotoxicologia. Em especial ao Sr. Pedro Paulo e Dyennef Moraes responsáveis pela ONG BADERNA que nos deram apoio em na coleta do material de pesquisa e em muitos outros aspectos.

Agradeço também a equipe de apoio ao projeto de ecotoxicologia Millene Farias, Bruna Shaienny, Aldeize Viana, Reinilza Cardoso, Athilson Almeida, Matheus Mesquita, Beatriz Costa, Marcos Santana, Ludyanne da Silva, ressalto ainda que sem essa ajuda não seria possível a realização desse projeto.

Agradeço a FAPESPA pela concessão da minha bolsa.

Agradeço aos meus avaliadores por todas as contribuições ao trabalho, que foram de grande ajuda.

Agradeço ao Programa de pós Graduação em Biociências e todos os professores e colaboradores em especial ao Sr. Euclides e ao professor Paulo Sergio Taube que desde o início desempenharam um excelente trabalho no programa, sempre disponíveis e prontificados a resolver qualquer dificuldade apontada pelos alunos.

E por último agradeço a oportunidade do ensino público. Viva a democracia, viva as universidades públicas.

“Acredito no Deus de Spinoza, que se revela por si mesmo na harmonia de tudo o que existe, não no Deus que se interessa pela sorte e pelas ações dos homens”.

**Albert Einstein**

## RESUMO

O uso de pesticidas avança rapidamente no mundo, em parte, justificado pelo crescimento populacional. Contudo, muitas vezes essas substâncias são usadas de maneira indiscriminada, acima das doses recomendadas, propiciando a contaminação do solo, águas superficiais e subterrânea, e conseqüentemente, a deterioração do meio ambiente afetando os organismos não-alvos. É possível avaliar os efeitos nocivos de pesticidas em organismos com auxílio da ecotoxicologia, uma área de estudo que utiliza diversas metodologias através de bioensaios com organismos-testes sensíveis ao efeito da substância tóxica testada. O objetivo do presente estudo é verificar a resposta das espécies botânicas *Hymenolobium petraeum* Ducke e *Enterolobium schomburgkii* Benth frente a exposição de diferentes concentrações dos pesticidas cipermetrina, atrazina, glifosato e 2,4-D na germinação das sementes e na fase de crescimento inicial. As concentrações utilizadas foram  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{2}$ , concentração média recomendada, 2x e 4x. As sementes foram coletadas e submetidas a tratamentos pré-germinativos de desinfecção e escarificação química. O estudo foi conduzido em ambiente controlado e dividido em duas etapas: ensaio I – avaliação morfolométrica e de exposição das sementes a diferentes concentrações dos pesticidas, onde foram avaliados o Índice de velocidade de germinação - IVG, porcentagem de germinação - G (%) e mortalidade final - MF (%) das sementes e ensaio II - avaliação de variáveis em plântulas durante 30 dias exposição a concentração dos pesticidas, onde foram avaliados o comprimento do caule -CC, comprimento da raiz -CR, diâmetro do coleto -DC, massa da matéria seca da parte aérea – MSPA, massa da matéria seca da raiz-MSR, massa da matéria seca total – MST. Complementarmente foram estimados os valores da concentração efetiva média (CE50) baseado na porcentagem de mortalidade dos organismos-teste. No ensaio I, observou-se os resultados médios para largura, espessura e comprimento das sementes que foram de 7,48, 1,70 e 13,54 mm para *H. petraeum* e 4,31, 2,43 e 7,51mm para *E. schomburgkii*, respectivamente. O peso de 1000 sementes foi de 155,79 g para *H. petraeum* e 64,6 g para *E. schomburgkii*. No ensaio I, a CE50 para *H. petraeum* foi de 2,34 mg/L para glifosato e 1,49 mg/L para 2-4-D, enquanto que para *E. schomburgkii* a CE50 foi de 6,38 mg/L para 2,4-D. No ensaio II, para *H. petraeum* e *E. schomburgkii* as CE50 foram respectivamente de 26,72 e 9,66 mg/L para atrazina, 11,96 e 20,20 mg/L para glifosato e, 5,34 e 9,67 mg/L para 2,4D. As concentrações de pesticidas podem afetar negativamente organismos não-alvo como as espécies *Hymenolobium petraeum* e *Enterolobium schomburgkii* retardando e inibindo o IVG e a G (%) e, provocando a MF (%) dos organismos principalmente pelas formulações de atrazina, glifosato e mais severamente por 2,4-D. O experimento II mostrou que as variáveis de crescimento como a massa da matéria seca das plantas foram as mais afetadas pelas concentrações dos pesticidas estudados.

**Palavras-Chave:** Espécies florestais. Substâncias químicas. Ensaios ecotoxicológicos.

## ABSTRACT

The use of pesticides is advancing fastly in the world, partly, justified by population growth. However, these substances are often used indiscriminately, above the recommended doses, leading to ground contamination, surface and groundwater, and consequently, the environment damage, affecting non-target organisms. It is possible to estimate the harmful effects of pesticides on organisms using ecotoxicology support, which is an area of study that uses different methodologies through bioassays with organisms sensitive tests to the toxic substance effect tested. The aim of this study is to verify the response of botanical species *Hymenolobium petraeum* Ducke and *Enterolobium schomburgkii* Benth exposed to concentrations of cypermethrin, atrazine, glyphosate and 2,4-D pesticides in seed germination and in the early growth phase. The concentrations used were  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{2}$ , recommended average concentration, 2x and 4x. The seeds were collected and submitted to pre-experiment treatment of disinfection and chemical scarification. The study was developed in a controlled environment and divided into two stages: test I - morphometric evaluation and seeds exhibition to different pesticides concentration, where the germination speed index - GSI, germination percentage - G (%) and final mortality - FM (%) of seeds were evaluated; and test II - evaluation of variables in seedlings during 30 days exhibiting to pesticide concentration, where stem length -SL, root length -RL, collar diameter -CD, air part dry material mass – APDM, root dry material mass – RDM, total dry material mass – TDM were estimated. In addition, the mean effective concentration (CE50) values were estimated based on the percentage of test organisms mortality. In test I, the average results for width, thickness and length of seeds were observed, which were 7.48, 1.70 and 13.54 mm for *H. petraeum* and 4.31, 2.43 and 7.51 mm for *E. schomburgkii*, respectively. The weight of 1000 seeds was 155.79 g for *H. petraeum* and 64.6 g for *E. schomburgkii*. In assay I, the CE50 for *H. petraeum* was 2.34 mg/L for glyphosate and 1.49 mg/L for 2,4-D, while for *E. schomburgkii* the CE50 was 6.38 mg/L to 2,4-D. In assay II, for *H. petraeum* and *E. schomburgkii* the CE50s were respectively 26.72 and 9.66 mg/L for atrazine, 11.96 and 20.20 mg/L for glyphosate and 5.34 and 9.67 mg/L for 2,4D. The pesticide concentration can affect non-target organisms such as *Hymenolobium petraeum* and *Enterolobium schomburgkii* delaying and inhibiting GSI and G (%) and, causing MF (%) of organisms mainly affected by atrazine, glyphosate and more severely by 2,4-D formulations. The test II showed that growth variables as plant dry material mass were the most affected by pesticides concentration studied.

**Keywords:** Forest species. Chemical substances. Ecotoxicological tests.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Deslocamento dos pesticidas no meio ambiente e impacto ambiental provocado.....	20
<b>Figura 2:</b> Mapa demonstrativo (A) área plantada ou destinada a colheita 2019 (B) consumo de agrotóxicos das principais culturas (abacaxi, algodão, arroz, cana-de-açúcar, feijão, fumo, girassol, melancia, melão, milho, soja, tomate, trigo, banana, café, mamão, manga, uva e cítricos (somatório de laranja, limão e tangerina) em litros por estado em 2015. ....	21
<b>Figura 3:</b> Ilustração das possíveis rotas de acesso dos pesticidas a órgãos das plantas.....	24
<b>Figura 4:</b> Curva concentração -resposta de glifosato para espécie <i>Hymenolobium petraeum</i> . ....	42
<b>Figura 5:</b> Curva concentração -resposta de 2,4-D para espécies: (A) - <i>Hymenolobium petraeum</i> e (B) – <i>Enterolobium schomburgkii</i> .....	42
<b>Figura 6:</b> Efeito dos pesticidas sobre o Índice de Velocidade de Germinação (IVG) na germinação das sementes de (A) <i>Hymenolobium petraeum</i> e (B) <i>Enterolobium schomburgkii</i> . ....	44
<b>Figura 7:</b> Efeito dos pesticidas sobre a porcentagem de germinação em sementes de (A) <i>Hymenolobium petraeum</i> e (B) <i>Enterolobium schomburgkii</i> . ....	46
<b>Figura 8:</b> Efeito dos pesticidas sobre a mortalidade final (MF%) na germinação das sementes de (A) <i>Hymenolobium petraeum</i> e (B) <i>Enterolobium schomburgkii</i> . ....	48
<b>Figura 9:</b> Curva concentração - resposta de Atrazina para espécies: (A) - <i>Hymenolobium petraeum</i> e (B) – <i>Enterolobium schomburgkii</i> .....	56
<b>Figura 10:</b> Curva concentração-resposta de glifosato para espécies: (A) - <i>Hymenolobium petraeum</i> e (B) – <i>Enterolobium schomburgkii</i> .....	57
<b>Figura 11:</b> Curva concentração-resposta de 2,4-D para espécies: (A) - <i>Hymenolobium petraeum</i> e (B) – <i>Enterolobium schomburgkii</i> .....	58

<b>Figura 12:</b> Efeito da cipermetrina sobre variáveis de crescimento das plântulas de (A) <i>Hymenolobium petraeum</i> e (B) <i>Enterolobium schomburgkii</i> .....	62
<b>Figura 13:</b> Efeito da atrazina sobre variáveis de crescimento das plântulas de (A) <i>Hymenolobium petraeum</i> e (B) <i>Enterolobium schomburgkii</i> .....	66
<b>Figura 14:</b> Efeito do glifosato sobre variáveis de crescimento das plântulas de (A) <i>Hymenolobium petraeum</i> e (B) <i>Enterolobium schomburgkii</i> .....	70
<b>Figura 15:</b> Efeito do 2,4-diclorofenoxiacético sobre variáveis de crescimento das plântulas de (A) <i>Hymenolobium petraeum</i> e (B) <i>Enterolobium schomburgkii</i> .....	74

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Pesticidas e informações sobre Classificação toxicológica (Agência Nacional de Vigilância – Anvisa) e Periculosidade ambiental (Ibama). .....	22
<b>Tabela 2:</b> Substâncias que foram utilizadas, informações de registro, classificação e propriedades químicas. ....	25
<b>Tabela 3:</b> Pesticidas e volumes da dose média recomendada. ....	33
<b>Tabela 4:</b> Pesticidas utilizados e suas respectivas concentrações com base na concentração média recomendada. ....	33
<b>Tabela 5:</b> Dados analíticos do substrato orgânico utilizado no experimento para cultivo de duas espécies florestais. ....	35
<b>Tabela 6:</b> Medidas morfométricas e massa de mil sementes das espécies utilizadas no experimento.....	39
<b>Tabela 7:</b> Valores do coeficiente de correlação de Spearman entre as concentrações dos pesticidas e variáveis avaliadas no ensaio I para as espécies <i>Hymenolobium petraeum</i> e <i>Enterolobium schomburgkii</i> . ....	40
<b>Tabela 8:</b> Valores do coeficiente de correlação de Spearman entre pesticida e variáveis avaliadas no experimento II para as espécies <i>Hymenolobium petraeum</i> e <i>Enterolobium schomburgkii</i> . ....	53

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária;

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento;

IBAMA - Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis;

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>16</b>
2.1	geral	16
2.2	específicos	16
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b>	<b>17</b>
<b>4</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b>	<b>18</b>
4.1	pesticidas, toxicologia e impactos ao meio ambiente	18
4.2	pesticidas, consumo e mecanismos de ação	20
4.3	influência dos pesticidas nos ecossistemas florestais	26
4.4	bioensaios e testes de toxicidade	27
<b>5</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>28</b>
5.1	coleta e preparação de sementes	29
5.2	organismos-teste	29
5.3	tratamentos pré-germinativos	30
5.3.1	quebra de dormência	30
5.3.2	desinfecção das sementes	31
5.4	condução de ensaios	31
5.5	soluções dos pesticidas	32
5.5.1	volume de aplicação (VA)	32
5.5.2	concentração média recomendada (CMR)	33
5.6	aplicação das soluções de pesticidas	34
5.7	ensaio I - exposição de sementes	34
5.8	ensaio II – exposição de plântulas	35
5.9	variáveis analisadas	36
5.9.1	mortalidade final (MF), (SBCPD, 1995; MARTINS et al., 2020);	36
5.9.2	índice de velocidade de germinação (IVG), (MAGUIRE 1962);	36

5.9.3	porcentagem de germinação (G%) (LABOURIAU E VALADARES, 1976);.....	37
5.9.4	comprimento do Caule (CC), comprimento de raiz (CR), diâmetro do coleto (DC);.....	37
5.9.5	massa da matéria seca da parte aérea (MSPA), massa da matéria seca da raiz (MSR) e massa da matéria seca total (MST); .....	38
5.10	<b>análises estatísticas</b> .....	38
<b>6</b>	<b>RESULTADOS - ENSAIO I</b> .....	<b>38</b>
6.1	<b>morfometria das sementes e padrão de crescimento em laboratório</b> .....	<b>38</b>
6.2	<b>coeficiente de correlação de Spearman</b> .....	<b>39</b>
6.3	<b>curva concentração-resposta e concentração efetiva média - CE50</b> .....	<b>41</b>
6.4	<b>índices de velocidade de germinação - (IVG)</b> .....	<b>43</b>
6.5	<b>porcentagem de germinação – G (%)</b> .....	<b>45</b>
6.6	<b>mortalidade final de sementes – (MF%)</b> .....	<b>47</b>
<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO ENSAIO I</b> .....	<b>49</b>
<b>8</b>	<b>RESULTADOS ENSAIO II</b> .....	<b>53</b>
8.1	<b>coeficiente de correlação de Spearman</b> .....	<b>53</b>
8.2	<b>curva concentração – resposta e concentração efetiva média - CE50</b> .....	<b>55</b>
8.3	<b>cipermetrina</b> .....	<b>59</b>
8.4	<b>atrazina</b> .....	<b>64</b>
8.5	<b>glifosato</b> .....	<b>68</b>
8.6	<b>2,4-diclorofenoxiacético - (2,4-D)</b> .....	<b>72</b>
<b>9</b>	<b>DISCUSSÃO ENSAIO II</b> .....	<b>76</b>
<b>10</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>80</b>
<b>11</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>82</b>
<b>APÊNDICE A</b>	<b>- Pranchas com padrão de desenvolvimento diário das espécies (A) <i>Hymenolobium petraeum</i> Ducke e (B) <i>Enterolobium schomburgkii</i> Benth em laboratório.</b> .....	<b>95</b>

<b>APÊNDICE B - Prancha de germinação da espécie <i>Hymenolobium petraeum</i> Ducke. comparação entre controle e tratamentos com pesticidas utilizados no experimento I.....</b>	<b>96</b>
<b>APÊNDICE C - Prancha de germinação da espécie <i>Enterolobium schomburgkii</i> Benth. comparação entre controle e tratamentos com pesticidas utilizados no experimento I.....</b>	<b>97</b>
<b>APÊNDICE D - Prancha de desenvolvimento inicial das plântulas da espécie <i>Hymenolobium petraeum</i> Ducke. comparação entre controle e tratamentos com pesticidas utilizados no experimento II. ....</b>	<b>98</b>
<b>APÊNDICE E - Prancha de desenvolvimento inicial das plântulas da espécie <i>Enterolobium schomburgkii</i> Benth. comparação entre controle e tratamentos com pesticidas utilizados no experimento II. ....</b>	<b>99</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O uso de pesticidas no mundo avança rapidamente, devido a demanda provocada pelo crescimento populacional, sendo assim a utilização do controle químico se justifica pela combinação dos fatores rapidez, praticidade e eficiência (CAETANO, 2009; RIBEIRO; PEREIRA, 2016). Por outro lado, substâncias apolares, como os pesticidas, são utilizadas no ambiente muitas vezes de maneira indiscriminada e inábil, com concentrações ambientais acima das recomendadas. Tais práticas, afetam a dinâmica de populações não-alvo, o que aumenta populações de pragas resistentes e maior acumulação de resíduos nos solos, bem como provoca perturbações no ecossistema e na biodiversidade no entorno de áreas agrícolas (BAIG et al., 2012).

Mesmo quando aplicados conforme as recomendações dos fabricantes, resíduos dessas substâncias permanecem no ambiente até que o tempo de degradação de cada molécula seja atingido. O Brasil possui uma extensa área de plantio de diversas culturas, isso colabora para que seja um dos maiores consumidores de pesticidas do mundo. Ingredientes ativos como atrazina, 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), cipermetrina e glifosato, estão entre os mais frequentemente utilizados (IBAMA, 2010; PIGNATI et al., 2017, DE MORAES, 2019).

Os efeitos provocados pelos pesticidas, não estão restritos apenas aos organismos alvos, podendo afetar também organismos não-alvo (DOBSIKOVA, 2003; RACHID et al., 2008). Dessa forma, é pouco esclarecido os efeitos dos pesticidas em espécies florestais nativas, uma vez que as florestas prestam diversos serviços ao ambiente, entre os quais estão, a redução da erosão, manutenção da qualidade da água, manutenção da biodiversidade, restauração dos ecossistemas, manutenção da qualidade química e biológica do solo, regulação climática e muitos outros (MACEDO et al., 2016; LAZZARETTI et al., 2019).

É indispensável a recomposição e recuperação de áreas degradadas pelo uso de pesticidas na atividade agrícola. Através de estudos em espécies florestais, é possível verificar sob condições controladas se a exposição indireta a agrotóxicos, no entorno das áreas florestais da Amazônia, conduz a passivos sobre o pleno desenvolvimento das espécies florestais. Considerando o avanço da fronteira

agrícola sobre a Amazônia, neste estudo, foram escolhidas duas espécies nativas presentes na região oeste do Pará, sendo *Enterolobium schomburgkii* Benth. (orelha de macaco) e *Hymenolobium petraeum* Ducke (Angelim Pedra), com o objetivo de avaliar se as formulações dos pesticidas em diferentes concentrações podem afetar as espécies não-alvo no estágio de sementes e no crescimento inicial das plântulas.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 geral

- Avaliar parâmetros germinativos e de crescimento das espécies botânicas *E. schomburgkii* e *H. petraeum*, frente a exposição de diferentes concentrações dos pesticidas cipermetrina, atrazina, glifosato e 2,4-D

### 2.2 específicos

- Coletar informações referentes a morfometria de sementes e estimar um padrão de crescimento em laboratório para as plântulas das espécies *E. schomburgkii* e *H. petraeum*;
- Estimar e avaliar índice de velocidade de germinação, porcentagem de germinação e mortalidade final de sementes das espécies *E. schomburgkii* e *H. petraeum* submetidas a diferentes concentrações de cipermetrina, atrazina, glifosato e 2,4-D.
- Identificar a concentração efetiva média (CE50) ao final do período teste, para as espécies *E. schomburgkii* e *H. petraeum* submetidas a exposição dos pesticidas;
- Realizar a análise das variáveis referente ao crescimento das espécies *E. schomburgkii* e *H. petraeum* submetidas a diferentes concentrações de cipermetrina, atrazina, glifosato e 2,4-D.

### 3 JUSTIFICATIVA

A crescente demanda pela produção agrícola, induz uma utilização cada vez maior de pesticidas em áreas cultiváveis. Essas substâncias, permitem o controle de insetos e plantas daninhas, com objetivo de proporcionar maior produtividade. Pesticidas em geral, podem provocar diversos efeitos crônicos ao ambiente, devido sua aplicação contínua em áreas cultiváveis que conseqüentemente atingem áreas adjacentes de matas nativas. É reconhecida a avaliação dos efeitos desses compostos e os impactos causados por seus resíduos em diversos organismos, (BOUTIN, 2013; BOUTIN et al., 2014; FAIRBROTHER et al., 2014; FRYDAY et al., 2015; DEREUMEUX et al., 2020), principalmente de compostos com maior mobilidade ambiental, que são lixiviáveis e podem atingir organismos não alvo.

As espécies arbóreas florestais, proporcionam diversos serviços econômicos, ambientais e ecológicos como: manutenção da qualidade da água, atuando como componentes no ciclo da água na atmosfera, principalmente através dos processos de evapotranspiração; estes organismos, são capazes de manter a umidade do solo, proporcionando processos que melhoram a qualidade química e biológica; atuam na regulação do clima e na redução da erosão.

Desta maneira, são organismos que promovem a restauração dos ecossistemas (MACEDO et al., 2016; LAZZARETTI et al., 2019). A utilização de pesticidas em lavouras, principalmente quando fora do padrão recomendado, permite que resíduos dessas substâncias permaneçam ou se acumulem no ambiente. Essas substâncias, de forma geral, apresentam características químicas específicas que permitem sua permanência ou sua mobilidade dependendo das condições e parâmetros ambientais. De modo geral, podem ser lixiviáveis, podendo atingir lençóis freáticos e se dispersar mais facilmente atingindo diversos organismos não-alvo. Ainda assim, em substâncias de maior massa molecular, a mobilidade é reduzida, entretanto tais substâncias químicas podem provocar impactos ambientais de forma pontual como a bioconcentração e bioacumulação em diferentes matrizes ambientais. (SILVA; SANTOS, 2007; OLIVEIRA, 2018; LOPES et al., 2018).

Dessa forma, é imprescindível conhecer as características químicas dos pesticidas e associá-las aos testes ecotoxicológicos. Estudos com organismos não-alvo,

são importantes para determinar o perigo potencial de diferentes substâncias em diversos ecossistemas, possibilitando a avaliação de impacto morfológico, morfométrico e fisiológico dessas espécies frente a exposição.

## **4 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **4.1 pesticidas, toxicologia e impactos ao meio ambiente**

É denominada ecotoxicologia a ciência que estuda os efeitos nocivos de substâncias químicas sobre organismos vivos (ZAKRZEWSKI, 1994; HODGSON, 2004). Tem como objetivo analisar e identificar em que condições de exposição uma determinada substância provoca riscos (COSTA e OLIVI, 2008). A ecotoxicologia estuda o comportamento e destino de agentes tóxicos, seus metabólitos e produtos de degradação relacionados as cadeias alimentares e de efeitos, derivados da toxicidade sobre os organismos e populações de animais e plantas (OLIVI e ESPINDOLA, 2008).

Pesticidas, praguicidas, biocidas, fitossanitários, agrotóxicos, defensivos agrícolas, venenos e remédios são denominações dadas para descrever um mesmo grupo de substâncias químicas (SILVA et al., 2005). Esses termos descrevem substâncias, compostos químicos, agentes biológicos, ou suas misturas, advindos de processos químicos, físicos ou biológicos, usados como ingredientes ativos com função de controlar pestes e doenças de plantações, ectoparasitas de animais, pestes da saúde pública, setores de produção, armazenamento, beneficiamento de produtos agropecuários, pastagens, culturas florestais e de muitas outras atividades (SOUZA CRUZ, 1989; MANO, 1991).

Ingredientes ativos são classificados como inseticidas (controle de insetos), fungicidas (controle de fungos), herbicidas (controle de plantas invasoras), desfolhantes (controle de folhas indesejadas), fumigantes (controle de bactérias do solo), rodenticidas ou raticidas (controle de roedores/ratos), nematocidas (controle de nematóides) e acaricidas (controle de ácaros). Sua aplicação é abrangente incluindo florestas (nativas e plantadas), áreas urbanas e industriais, ambientes hídricos e,

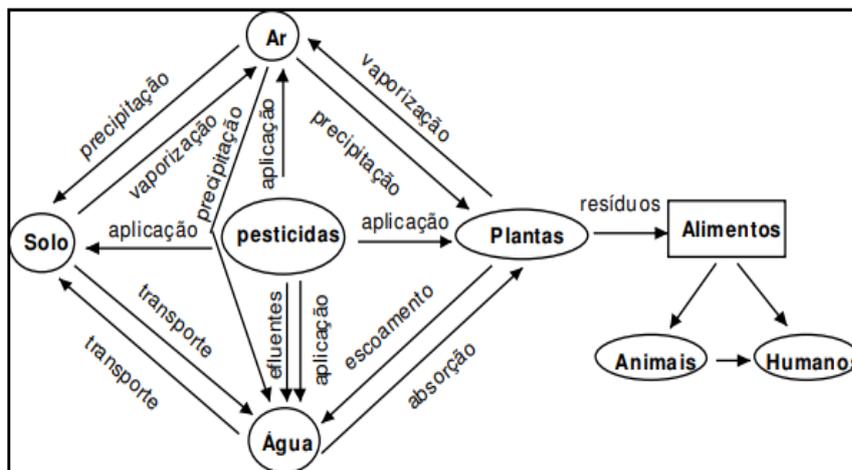
mais comumente e em larga escala, na agricultura e pastagens para pecuária (RUZICKA, 1973; RIBAS e MATSUMURA, 2009).

Os pesticidas são avaliados e classificados também quanto ao seu potencial de periculosidade ambiental e seu potencial toxicológico. A periculosidade ambiental é fundamentada em estudos físico-químicos, toxicológicos e ecotoxicológicos (RIBAS e MATSUMURA, 2009), enquanto o potencial toxicológico segue os testes ou estudos realizados em laboratório que tentam determinar por valores de concentração letal (CL) dos xenobióticos em 50% dos organismos utilizados em testes de toxicidade (agudos e crônicos) (DUARTE, 2004). A caracterização de periculosidade ambiental é definida pelo Instituto Brasileiro de Meio Ambiente (Ibama) e, leva em consideração o grau de risco à biodiversidade sendo dividido em quatro classes: produto altamente perigoso (classe I), produto muito perigoso (classe II), produto perigoso (classe III) e produto pouco perigoso (classe IV) (REBELO et al., 2010). A classificação toxicológica é determinada pela Agência Nacional de Vigilância (Anvisa) com informações para quem os manuseia ou entra em contato de forma direta ou indireta, estão divididos em quatro classes: extremamente tóxico (I), altamente tóxico (II), medianamente tóxico (III) e pouco tóxico (IV) (ANVISA, 2020).

A demanda na produção de alimentos, provocada pelo crescimento populacional, exige práticas modernas de gestão, novas máquinas e tecnologias. O aumento da produtividade agrícola garante a produção, entretanto cria uma excessiva relevância ao uso de pesticidas. Por outro lado, pouca importância é dada a contaminação de seres vivos e a bioacumulação verificada nos segmentos bióticos e abióticos dos diferentes compartimentos ecossistêmicos (biota, água, ar, solo, sedimentos) (PERES e MOREIRA, 2003; BORSOI et al., 2014; RIBEIRO; PEREIRA, 2016).

No ambiente, após a aplicação, o deslocamento dos pesticidas é determinado pela natureza química de seus compostos, suas características e condições ambientais. Cerca de 50% de todos os pesticidas sofrem modificações através dos processos físicos, químicos, biológicos, como retenção (adsorção e absorção), transformação (decomposição, degradação) e transporte (vaporização, precipitação, deriva, volatilização, lixiviação e escoamento superficial) (MURTI e NAG, 1991; PINTO, 2015; FRAGA et al., 2016).

**Figura 1:** Deslocamento dos pesticidas no meio ambiente e impacto ambiental provocado.



Fonte: (MURTI e NAG, 1991)

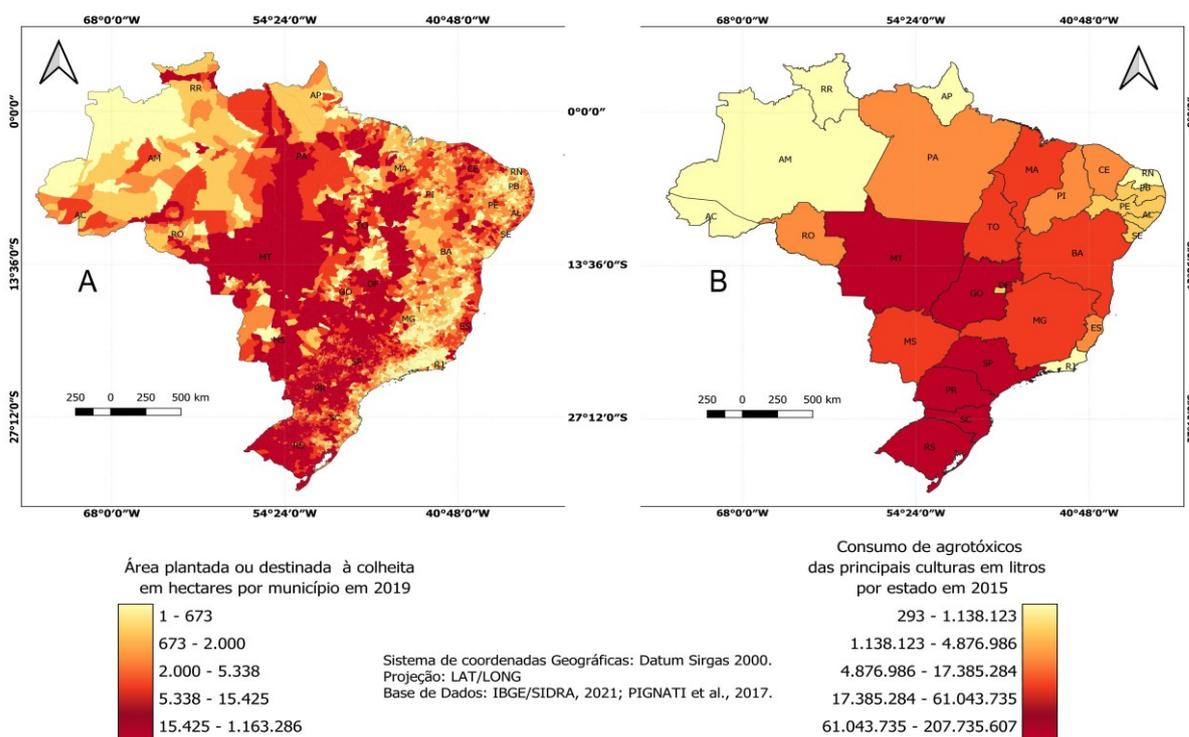
Dentre esses segmentos, o solo consegue absorver grandes quantidades de contaminantes sem apresentar impactos ou alterações significativas, contudo, o uso gradativo e a longo prazo provoca danos irreversíveis ou de difícil recuperação (OLIVEIRA, 2018; MELLO et al., 2019). Uma elevada quantidade de agrotóxicos é usada nos cultivos agrícolas no Brasil, essas substâncias possuem efeitos variáveis, podendo atingir facilmente organismos não alvos e ocasionar desequilíbrio ecológico (BELCHIOR et al., 2017). Diversos estudos descrevem a implicação e o impacto da exposição de pesticidas em populações de organismos não-alvo, como por exemplo, em abelhas e outros insetos polinizadores (PINHEIRO e FREITAS, 2010; BLACQUIÈRE et al., 2012; FAIRBROTHER et al., 2014; FRYDAY et al., 2015), peixes e outros organismos aquáticos (SILVA e SANTOS, 2007; COPATTI et al., 2009), plantas terrestres (BOUTIN et al., 2010; BOUTIN et al., 2014; VIECELLI, et al., 2019), microrganismos (ZILLI et al., 2008) e humanos (LOPES et al., 2018; DEREUMEUX et al., 2020).

## 4.2 pesticidas, consumo e mecanismos de ação

Na atualidade o Brasil, é um dos maiores consumidores de agrotóxicos do mundo, de 1985 a 2015 ocorreu um aumento do consumo da ordem de 700%, assim como um crescimento de 78% da área agrícola no mesmo período. Em apenas oito anos entre 2009 e 2016, o aumento do volume utilizado foi de 80%, e, desde 2014, o

país ultrapassou a marca de uso de 500 mil toneladas por ano, com destaque para região norte, onde o aumento do volume foi de 401%. Conseqüentemente, no Estado do Pará, o consumo desses produtos por habitante e por áreas cultivadas também cresceu nos últimos anos expondo a contaminação áreas de alta produtividade biológica primária (SPADOTO e GOMES, 2005; IBAMA, 2018; DE MORAES, 2019) como verificado na (Fig.2).

**Figura 2:** Mapa demonstrativo (A) área plantada ou destinada a colheita 2019 (B) consumo de agrotóxicos das principais culturas (abacaxi, algodão, arroz, cana-de-açúcar, feijão, fumo, girassol, melancia, melão, milho, soja, tomate, trigo, banana, café, mamão, manga, uva e cítricos (somatório de laranja, limão e tangerina) em litros por estado em 2015.



Fonte: Sistema IBGE de Recuperação Automática do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE-SIDRA), Pignati et al., 2017

Pesticidas como glifosato, 2,4 D e atrazina são herbicidas e estão entre as dez substâncias mais consumidas no Brasil, apenas esses três ingredientes ativos juntos correspondem a 49,6% do uso de pesticidas no país. No entanto, os

piretróides como a cipermetrina são, atualmente, os inseticidas mais utilizados na agricultura, (VILELA et al., 2010). A (Tab.1) oferece informações gerais sobre os toxicantes, glifosato, 2,4 D, atrazina e cipermetrina. e a classificação toxicológica desses pesticidas.

**Tabela 1:** Pesticidas e informações sobre Classificação toxicológica (Agência Nacional de Vigilância – Anvisa) e Periculosidade ambiental (Ibama).

Ingrediente ativo	Classificação	Grupo Químico	Classificação toxicológica	Periculosidade ambiental
Glifosato	Herbicida	Glicina substituída	IV	III
2,4-diclorofenoxiacético	Herbicida	Ácido ariloxialcanóico	I	III
Atrazina	Herbicida	Triazinas	III	II
Cipermetrina	Inseticida	Piretróides	I	II

Fonte: 1. Classificação toxicológica (Agência Nacional de Vigilância – ANVISA); 2. Periculosidade ambiental (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA).

A molécula glifosato pertence ao grupo químico glicina substituída, sendo utilizado em diversos cultivares como algodão, ameixa, arroz, aveia-preta, banana, cacau, café, cana-de-açúcar, citros, coco, feijão, florestas de eucalipto e pinus, fumo, maçã, mamão, milho, nectarina, pastagens, pera, pêssego, seringueira, soja, trigo e uva (MAPA, 2020). Esta substância tem sido relacionada com a imobilização de nutrientes no solo e nas plantas (BERNARDS et al., 2005). Entre seus passivos pode provocar a inibição bioquímica da síntese de aminoácidos aromáticos cuja síntese exerce função essencial nas plantas. O glifosato é facilmente absorvido pela folhagem e conduzido pelo floema até os drenos metabólitos. Os sintomas de injúria podem ser visíveis entre o terceiro e quinto dia apresentando nanismo, folhas amarela-

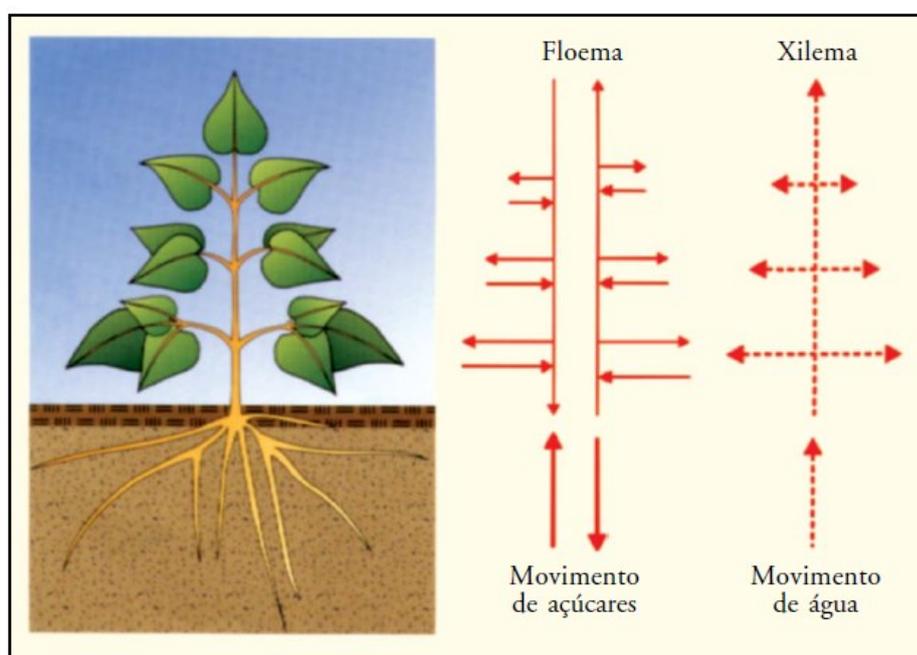
das e a morte do vegetal (EMBRAPA, 2008). No Brasil, é um dos agrotóxicos mais utilizado por possuir uma rápida degradação, desta forma, é considerado mais seguro biologicamente quando comparado com outros pesticidas (CERDEIRA e DUCKE, 2006; MARIA et al., 2018). É um herbicida não seletivo e sistêmico, pode ser utilizado durante pós-emergência ou pré-emergência em alguns tipos de cultivares, no manejo da vegetação de cultivos perenes, e no controle de plantas daninhas em ambientes aquáticos (RODRIGUES e ALMEIDA, 2005).

O ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) é um herbicida e pertence ao grupo químico ácido ariloxialcanóico. Suas moléculas, são consideradas muito persistentes e altamente lixiviáveis tornando-o perigoso para o ambiente, além de ser potencialmente tóxico para organismos aquáticos. Sua aplicação é realizada em pré ou pós-emergência no controle de plantas daninhas em alguns cultivares como aveia, café, cana-de-açúcar, centeio, cevada, milho, arroz, pastagens, soja, sorgo e trigo (MAPA, 2020). Por ser um mimetizador de auxina, pode alterar o processo de germinação de sementes, também pode ser absorvido tanto pelas raízes como pelas folhas, ocorrendo a translocação pelo sistema vascular da planta. Esse ativo induz a produção da enzima RNA-polimerase, estimulando a produção de DNA, RNA e muitas proteínas, esse processo promove a produção de auxinas e giberelinas que provocam a divisão e o alongamento celular desordenado interrompendo o fluxo de fotoassimilados das folhas para o sistema radicular. Os principais sinais visíveis desse viés fisiológico são a epinastia de folhas e caule, e nas regiões meristemáticas presença de clorose e murchamento com posteriores necrose (THILL, 2003; ROMAN, 2007; EMBRAPA, 2008).

A atrazina apresenta registro agrícola para diversas culturas como cana-de-açúcar, milho, pinus, seringueira, sisal, milheto, sorgo entre outros (MAPA, 2020). Este composto, pertence ao grupo químico das triazinas que são consideradas contaminantes ambientais, sendo tóxica para abelhas, aves e organismos aquáticos. Este toxicante tem solubilidade em água e persistência no solo. A atrazina, especificamente é suscetível a lixiviação e já foi diagnosticada em mananciais e em águas pluviais (IBAMA, 2010; SANTOS et al., 2013). Sua ação consiste na inibição do fotosistema II. Sua aplicação pode ser feita no solo ou após a emergência, a absorção ocorre por meio das raízes ou folhas onde é conduzido através do xilema. Os sinais de efeito se desenvolvem vagarosamente acelerando quando as plantas

estão expostas à alta umidade e calor. Inicialmente as plantas tratadas podem desenvolver clorose, e posteriormente necrose, com a aparência de queimaduras na folha. Diversas dicotiledôneas e algumas monocotiledôneas sofrem a ação efetiva deste herbicida, porém, espécies como milho e sorgo não são afetadas pois apresentam metabolismo secundário diferenciado possuindo o auxílio da enzima glutathione-S-transferase que metaboliza a atrazina em formas não tóxicas (EMBRAPA, 2008). Apenas a título de ilustração a Figura 3 apresenta as possíveis rotas sistêmicas de acesso de pesticidas em plantas.

**Figura 3:** Ilustração das possíveis rotas de acesso dos pesticidas a órgãos das plantas.



Fonte: (Roman et al., 2005)

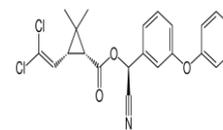
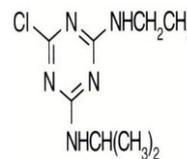
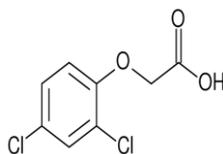
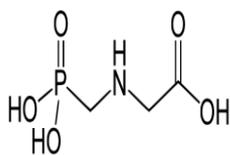
Os pesticidas piretróides são, atualmente, os inseticidas mais utilizados na agricultura, por apresentarem menor toxicidade sistêmica quando comparado a pesticidas de classes mais antigas, baixo impacto ambiental comparativamente aos outros agrotóxicos, tais como organoclorados e organofosforados (VILELA et al., 2010). Por outro lado, a cipermetrina, também um inseticida é considerado altamente tóxico para organismos aquáticos, abelhas e aves (IBAMA, 2010). Tanto nos insetos quanto nos vertebrados provoca alterações significativas na abertura e no fechamento dos canais de sódio, prolongando o tempo de entrada de íons  $\text{Na}^+$  para o interior da célula (SANTOS et al., 2007). Seu emprego na agricultura, também

apresenta registro para diversas culturas como algodão, amendoim, arroz, batata, café, cebola, ervilha, feijão, feijão-vagem, fumo, melancia, milho, pepino, repolho, soja e tomate entre outros (MAPA, 2020). A (**Tab. 2**) dispõem sobre a identificação e características químicas dessas substâncias.

**Tabela 2:** Substâncias que foram utilizadas, informações de registro, classificação e propriedades químicas.

Características	Glifosato	2,4-D	Atrazina	Cipermetrina
Classe	Herbicida	Herbicida	Herbicida	Inseticida
Coefficiente de sorção (Kd)	209,4	0,70	-	5435
Interpretação Kd	Ligeiramente Móvel	Móvel	Moderadamente móvel	Não móvel
Nº CAS	1071-83-6	94-75-7	1912-24-9	52315-07-8
P. mol	169,07 g/mol	221,03 g/mol	215,68 g/mol	416,03 g/mol
Solubilidade - Em água a 20 ° C (mg l <sup>-1</sup> )	10,5	24,3	35	0,009
log Kow	-3,2	-0,82	2,7	5,55
Interpretação kow	Baixo	Baixo	Moderado	Alto
Constante de dissociação pKa) a 25 ° C	2,34	3,40	1,7	Não aplicável
Pressão de vapor a 20 ° C (mPa)	0,0131	0,009	0,039	6,78 X 10 <sup>-03</sup>
Interpretação vapor	Baixa volatilidade	Baixa volatilidade	Baixa volatilidade	Baixa volatilidade
Constante da lei de Henry a 25 ° C (Pa m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> )	2,10 X 10 <sup>-07</sup>	4,0 X 10 <sup>-06</sup>	1,50 X 10 <sup>-04</sup>	0,31
Interpretação Henry	Não volátil	Não volátil	Não volátil	Moderadamente Volátil
DT <sub>50</sub> (laboratório a 20 ° C)	15	4,4	66	22,1
DT <sub>50</sub> (campo)	23,79	28,8	29	21,9

## F. Estrutural



Fonte: PUBCHEM, 2004; MAPA, 2020, Banco de dados de propriedades de pesticidas University of Hertfordshire 2021.

### 4.3 influência dos pesticidas nos ecossistemas florestais

Na prática de pulverização em campos agrícolas espécies de plantas não-alvo presentes em habitats adjacentes podem ser atingidas por resíduos de pesticidas. Efeitos bio-ecológicos para funcionalidade das plantas podem ser observados, como a alteração na produção de sementes. Tais efeitos trazem como consequência o prejuízo à composição de espécies e, desta forma, ocasionam alteração de outros níveis tróficos (BOUTIN et al., 2010; BOUTIN et al., 2013; BOUTIN et al., 2014). Portanto, a exposição lateral a pesticidas no entorno de áreas de floresta tem gerado preocupações crescentes sobre o declínio de essências florestais quanto a sua riqueza, abundância e diversidade (FRIED et al., 2009; BOUTIN et al., 2014). Além disso os pesticidas atingem organismos essenciais para dispersão de espécies florestais como é o caso de insetos polinizadores. Nos últimos anos, o uso de pesticidas, tem provocado um declínio alarmante da população de polinizadores (PIRES et al., 2016; BERINGER et al., 2019).

A exposição a pesticidas provoca alterações nos componentes bióticos e abióticos. Em especial, nas plantas, ocorrem mudanças tanto fisiológicas quanto ecológicas como injúria no crescimento de folhas e raízes em diferentes estágios de crescimento, o que pode reduzir os serviços ambientais prestados por plantas que compõem o estrato florestal (DE JONG et al., 2008; BORSOI et al., 2014; BOUTIN et al., 2014), principalmente em florestas que desempenham papéis que garantem a manutenção e qualidade dos ecossistemas (MACEDO et al., 2016; LAZZARETTI et al., 2019).

O interesse da ecotoxicologia por espécies botânicas de vida livre intensificou-se nos últimos anos devido à preocupação com surgimento de problemas ambientais, especialmente no que diz respeito a contaminação química dos ambientes naturais. Dessa maneira, estudar a resposta da morfometria e

fisiologia de sementes e plântulas, além do processo reprodutivo, principalmente no que se refere aos estádios iniciais de crescimento frente a exposição de diferentes contaminantes é essencial no diagnóstico dos efeitos. Estes estudos podem aumentar a compreensão sobre a ecofisiologia e a nova dinâmica da paisagem florestal na Amazônia. Quando existe a prática de pulverização, parte dos produtos aplicados a lavouras pode perder-se para o ambiente por deriva (CUNHA, 2008). O processo de deriva acontece principalmente quando a pulverização do produto aplicado atinge organismos ou áreas não-alvos. A depender da característica química e de seus componentes o pesticida pode ter suas micropartículas carregadas pelo vento e se dispersar em maiores proporções podendo atingir outras culturas, áreas vizinhas, corpos hídricos, florestas, fragmentos marginais e até mesmo zonas residenciais; contudo, esse alcance vai depender de alguns fatores como: método de aplicação, temperatura, umidade do ar e velocidade do vento (LONDRES, 2011).

Plantas de forma geral são organismos que se adaptam e respondem muito bem a efeitos de contaminantes. Utilizar espécies vegetais nativas em estudo de toxicidade por exposição a pesticidas pode se tornar uma alternativa para mensurar a agressividade desses compostos no meio ambiente (SILVA et. al. 2016). Oliveira (2014) verificou o crescimento inicial de *Bowdichia virgilioides* Kunth, submetida aos herbicidas paraquat e glifosato, apresentou alterações morfométricas e anatômicas. Dessa maneira, Silva et. al., (2016) e Araújo (2018) acreditam ser interessante criar medidas para recuperação de áreas degradadas e recomposição da paisagem atingida por agrotóxicos, visto que os efeitos da exposição a resíduos de pesticidas por deriva, em espécies de plantas florestais nativas ainda é pouco conhecido no Brasil. Levando esses fatores em consideração, estudos dos possíveis efeitos de pesticidas sobre espécies de plantas florestais e também sobre o manejo e análise das sementes da maioria dessas espécies, é relevante para que possam fornecer informações sobre os efeitos que a exposição por agrotóxicos exerça sobre atributos morfológicos, físicos e fisiológicos destes organismos (ARAÚJO-NETO et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2010).

#### **4.4 bioensaios e testes de toxicidade**

Quando a qualidade de um ambiente sofre alterações, os organismos podem manifestar sensibilidade a nível bioquímico, fisiológico, genético, morfológico ou

comportamental, contudo, isso depende das características individuais de cada espécie e de diversos fatores ambientais e bio-ecológicos que são importantes para a definição e padronização de um organismo como bioindicador. (MAGALHÃES e FERRÃO FILHO, 2008; BELDEN, 2020).

Para que um ensaio de toxicidade seja considerado confiável é necessário a utilização de organismos sensíveis a uma diversidade de agentes químicos, contudo, essa sensibilidade deve ser relativamente constante para possibilitar a obtenção de dados precisos, garantindo a boa repetibilidade e reprodutibilidade dos testes (PENIDO, 2010).

Para Harmel (2004) testes de toxicidade são experimentos, onde organismos vivos são expostos a compostos ou substâncias químicas e suas reações são observadas e registradas e posteriormente avaliadas comparando-se com o um grupo controle. Os testes de toxicidade podem ser de dois tipos: crônico ou agudo, os testes agudos avaliam uma resposta severa e rápida dos organismos enquanto os testes crônicos são realizados por um período que pode abranger parte ou todo o ciclo de vida do organismo-teste, avaliando condições de exposição mais prolongadas a concentrações que possibilitam a sobrevivência dos organismos, mas que afetam suas funções biológicas (RAND e PETROCELLI, 1985; COSTA et al., 2008). Estes testes têm por objetivo determinar a Concentração Letal Média (CL<sub>50</sub>) ou a Concentração Efetiva Média (CE<sub>50</sub>), isto é, a concentração do agente tóxico que causa mortalidade ou imobilidade, respectivamente, a 50% dos organismos-teste depois de um determinado tempo de exposição (MAGALHÃES e FERRÃO FILHO, 2008; ANDRADE, 2004).

A classificação de um teste ou ensaio de toxicidade é determinada pelo tempo de exposição, pela concentração utilizada e pelo efeito observado (RAMSDORG, 2011). Estes testes funcionam como instrumentos ecotoxicológicos e são importantes ferramentas em estudos ambientais, pois conseguem integrar dados biológicos, químicos e físico-químicos para uma análise mais abrangente, diferindo-se de estudos baseados em evidências puramente químicas, onde o processo de interpretação dos resultados muitas vezes é prejudicado e dificultado (RODRIGUES et al., 2009).

## **5 MATERIAL E MÉTODOS**

## 5.1 coleta e preparação de sementes

Todas as sementes foram obtidas por meio de coleta com ajuda da ONG - Brigada de Amigos Defensores da Ecologia e de Recursos Naturais da Amazônia (BADERNA) ou por meio de coletas em matrizes localizadas no campus da Universidade Federal do oeste do Pará (UFOPA), ambas as instituições estão localizadas no município de Santarém-PA. As sementes foram acondicionadas no Laboratório de Fisiologia Vegetal e Crescimento de Plantas (LFVCP) da UFOPA, em bandejas plásticas esterilizadas para atingir equilíbrio higroscópico. Em seguida foi determinado a massa de 1000 sementes, subdivididas por 10 repetições cada em conformidade com os padrões estabelecidos por Brasil (2009).

## 5.2 organismos-teste

Conhecida popularmente como angelim-pedra, *Hymenolobium petraeum* Ducke é uma espécie arbórea pertencente à família Fabaceae, nativa no Brasil, possui indivíduos de até 55 m de altura e 2m de diâmetro e destaca-se na Amazônia pela sua exploração, (FERREIRA e HOPKINS, 2004; FERREIRA et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2010). No Brasil, sua distribuição é conhecida nas regiões norte (Amazonas, Amapá, Pará, Roraima) e nordeste (Maranhão) (FLORA DO BRASIL, 2020; LIMA, 2015). A semente é semiepígea criptocotiledonar, onde os cotilédones ficam no nível do substrato, encobertos pelo tegumento e pericarpo com o hipocótilo bastante reduzido. A germinação ocorre sob uma temperatura de 25°C a 35°C, onde é observado por volta de oito dias o rompimento tegumentar (OLIVEIRA et al., 2010). De forma geral, indivíduos pertencentes a essa família são utilizados na alimentação humana e animal, frutos e sementes são matéria prima para a fabricação de corantes, óleos, perfumes, inseticidas, e ainda apresenta uso medicinal e ornamental. É muito utilizada também para a produção de madeiras nobres usadas na marcenaria e construção civil em geral (LIMA et al., 1994; RIBEIRO et al., 1999; FERREIRA et al., 2004).

A espécie *Enterolobium schomburgkii* Benth possui seu centro de origem na Amazônia, sendo conhecida popularmente como orelha-de-macaco é pertencente à família Fabaceae (LORENZI, 2002; BRAGA et al. 2009). É uma espécie florestal que pode alcançar portes de 10 a 50 metros de altura. Planta heliófila, de aptidão a as-

sociação com bactérias fixadoras de nitrogênio, que a confere potencial para inserção em sistemas para recuperação de áreas degradadas e recomendação para o reflorestamento de áreas com solos pobres. (ALLEN e ALLEN 1981, MESQUITA, 1990). Sua madeira possui características que são indicadas para movelaria, construção civil e naval. Anualmente, produz abundantes quantidades de sementes que apresentam dormência tegumentar (exógena) à água quando condicionadas por longos períodos (LORENZI, 2009). A germinação é do tipo epígea, fanerocotiledonar, sob temperatura de  $30 \pm 2$  °C, em câmara de crescimento, possui altas taxas de germinação iniciando-se de dois a três dias após sementeira com a protrusão da raiz primária de coloração esbranquiçada a perolada (RAMOS et al., 2008).

Foram realizados pré-testes baseados em informações da literatura para definir o melhor substrato para realizar os testes de germinação e crescimento inicial das espécies em laboratório. Para determinação da técnica de germinação, utilizouse o método de germinação em rolos utilizando papel germitest como substrato. Para o teste de crescimento foi utilizado um substrato composto por uma mistura na proporção de 1:1 (v/v) de substrato orgânico autoclavado e areia lavada.

### 5.3 tratamentos pré-germinativos

#### 5.3.1 quebra de dormência

Em algumas espécies, em razão da impermeabilidade do tegumento, a germinação pode se tornar lenta e desuniforme, fato comum em sementes de espécies de leguminosas, embora ocorra em sementes de outras famílias botânicas (SCHMIDT, 2007). As sementes de *Enterolobium schomburgkii* e *Hymenolobium petraeum* apresentam essas condições o que dificulta a visualização provocada pela ação do pesticida na germinação, por este motivo as sementes foram submetidas a quebra de dormência pelo método de escarificação ácida.

Para as sementes de *Hymenolobium petraeum* foi utilizada escarificação em ácido sulfúrico por 20 minutos onde em sementes de *Dinizia excelsa* (Angelim-vermelho) proporcionou uma germinação acima de 90% mostrando-se uma técnica eficiente (CRUZ e PEREIRA, 2015). As sementes de *Enterolobium schomburgkii* foram submetidas a escarificação em ácido sulfúrico por 12 minutos, este tempo se

demonstrou eficiente na superação da resistência tegumentar e proporcionou aumento no processo e velocidade de germinação, além de maior vigor no crescimento das plântulas como observado por Araújo et al. (2018).

### 5.3.2 desinfecção das sementes

Para assepsia as sementes foram imersas em etanol 70% por 1 minuto, seguido do enxague em água destilada por 5 minutos, e posterior imersão em hipoclorito de sódio com concentração de 2,5% por 5 minutos e novamente enxague em água destilada por 5 minutos.

Diversos agentes desinfetantes podem ser utilizados nesse processo, a concentração e o tempo de exposição das sementes são fatores relevantes e podem variar de acordo com a espécie vegetais (MONTARROYOS, 2000). Entre as substâncias desinfetantes o etanol e o hipoclorito de sódio possuem eficiência para superfícies como de sementes, eliminando fungos e bactérias (NASCIMENTO et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2012).

## 5.4 condução de ensaios

Foram realizados dois ensaios no Laboratório de Fisiologia Vegetal e Crescimento de Plantas (LFVCP) da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA). Os ensaios de toxicidade aguda foram conduzidos em diferentes estágios da vida dos organismos testados e foram divididos em Ensaio I que corresponde a exposição das sementes e, Ensaio II que corresponde a exposição de plântulas aos pesticidas. Os ensaios foram realizados em ambiente controlado em uma câmara de germinação. A temperatura foi mantida a 30°C conforme as recomendações de Brancalion et al. (2010) para testes de germinação em espécies do bioma Amazônia. O fotoperíodo ocorreu em uma proporção 16/8 claro/escuro e a umidade foi mantida em 60% ao longo do ensaio. A aplicação das soluções dos pesticidas foi realizada com base em cálculos de área das superfícies de cada substrato, para o ensaio I foi utilizado papel germitest e para o ensaio II recipientes de 5L ambos com a mesma proporção de área 30 cm x 40 cm totalizando 1200 cm<sup>2</sup>. Durante a realização dos ensaios foi realizado registro fotográfico dos espécimes teste para estimar o desenvolvimento das plântulas em laboratório.

## 5.5 soluções dos pesticidas

Foram utilizadas quatro formulações comerciais de pesticidas: cipermetrina, atrazina, glifosato e 2,4 – D. A escolha dos pesticidas foi baseada na literatura, levando em consideração as culturas mais utilizadas na região oeste do Pará e a alta demanda de consumo desses produtos. Como não existem recomendações desses pesticidas para as espécies estudadas, estimou-se a dose média recomendada a partir de doses indicadas para organismos-alvo, após isso, foram definidos os volumes de aplicação proporcionais a área de 1200 cm<sup>2</sup> (**Tab.3**). Além disso, a concentração contida na dose média recomendada foi calculada com base no equivalente de ácido do ativo contido em cada formulação, essas informações estão disponíveis via bula e podem ser visualizados na (**Tab.4**). Os cálculos complementares estão descritos abaixo:

### 5.5.1 volume de aplicação (VA)

$$VA = \frac{VMR \times APT}{APR}$$

Onde:

VMR= Volume médio recomendado em µL;

APT= Área de aplicação do teste em cm<sup>2</sup>;

APR= Área de aplicação para dose média recomendada em cm<sup>2</sup>;

Exemplo:

Formulação: Glifosato;

Dose média recomendada – 3L/Ha;

VMR = 3L;

APT = 1200 cm<sup>2</sup>;

APR = 1 Ha = 100000000 cm<sup>2</sup>;

Logo,

$$VA = \frac{3000000 \times 1200}{100000000}$$

VA= 36  $\mu$ L

**Tabela 3:** Pesticidas e volumes da dose média recomendada.

Produto comercial	Ingrediente ativo	Aplicação	Dose média recomendada	Volume $\mu$ L - (área 1200cm <sup>2</sup> )
HERO®	Cipermetrina	-	0,2 L/ha	0,24
GESAPRIM 500 Ciba - Geigy	Atrazina	Pré e Pós emergência	4,5 L/ha	54
Crucial	Glifosato	Pós-emergência	3,0 L/ha	36
DMA® 806 BR	2,4-D	Pré e Pós emergência	1,5 L/ha	18

Fonte: Elaborado pelos autores com base em (MAPA, 2020).

#### 5.5.2 concentração média recomendada (CMR)

A concentração média recomendada (CMR), foi calculada pela razão entre a proporção do equivalente ácido do ingrediente ativo (disponível na bula do produto) e o volume de aplicação (VA). Para os ensaios de exposição de sementes e crescimento inicial das plântulas foram estabelecidas diferentes concentrações como base na concentração média recomendada: 1/4 da concentração recomendada, 1/2 da concentração recomendada, concentração média recomendada, duas vezes a concentração recomendada e quatro vezes a concentração recomendada conforme (Tab. 4).

**Tabela 4:** Pesticidas utilizados e suas respectivas concentrações com base na concentração média recomendada.

Produto comercial <sup>®</sup>	Pesticidas	Controle mg/L	1/4 mg/L	1/2 mg/L	CMR mg/L	2x mg/L	4x mg/L
HERO®	Cipermetrina	0	0.012	0.024	0.048	0.096	0.192

GESAPRIM 500 Ciba – Geigy	Atrazina	0	7	14	27	54	108
Crucial	Glifosato	0	5	10	20	40	80
DMA® 806 BR	2,4- diclorofenoxiacético	0	3	6	12	24	48

Fonte: Ministério da Agricultura, pecuária e Abastecimento (MAPA, 2020).

## 5.6 aplicação das soluções de pesticidas

As soluções de aplicação foram criadas a partir do estabelecimento de uma solução estoque padrão, contendo a concentração média recomendada. O volume do solvente (50 ml de água) foi mantido fixo, variando apenas a dose aplicada do produto, possibilitando aumentar e diminuir as concentrações conforme estabelecidas. No ensaio I - (substrato papel germitest) e experimento II – Substrato composto por uma mistura na proporção de 1:1 (v/v) de substrato orgânico autoclavado e areia lavada. As soluções dos pesticidas foram aplicadas diretamente na área correspondente a 30x40 cm = 1200 cm<sup>2</sup>, utilizando um borrifador manual de pressão acumulada para garrafa pet – DUCAMPO, com as seguintes especificações altura do pulverizador manual x largura do pulverizador manual x comprimento do pulverizador manual: 28.5 cm x 3.5 cm x 30 cm, com pressão máxima de 3 bar.

## 5.7 ensaio I - exposição de sementes

O experimento com sementes foi realizado baseado nas normas descritas no RAS - Regras para Análise de Sementes Brasil, (2009), através da metodologia de rolos, onde as sementes foram colocadas para germinar entre três folhas de papel germitest com dimensões 30x40 cm. Sendo aplicada solução com as concentrações estabelecidas para cada pesticida estudado (**Tab. 4**). As sementes foram então distribuídas no papel de maneira uniforme mantendo o espaçamento necessário variando de 1,5 a 5,0 vezes a largura conforme o morfotipo da espécie. Para cada espécie foi montado cinco tratamentos conforme (**Tab. 4**), incluindo o controle, que foi irrigado com apenas água destilada. Utilizou-se de três repetições de 27 sementes por rolo, totalizando 81 sementes por tratamento. As folhas de papel com

as sementes foram embrulhadas em forma de rolos e colocadas em garrafas pet em posição vertical e vedadas com plástico transparentes para manutenção da umidade. Para critério de avaliação da germinação foi adotado que uma semente é considerada germinada quando se observou a protusão de 2 mm de radícula (SHAKIR et al. 2015). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) onde foram avaliados os efeitos das concentrações crônicas ou sub-letais.

### 5.8 ensaio II – exposição de plântulas

O experimento com plântulas foi realizado em vasos com capacidade de 5L utilizando um substrato composto por uma mistura na proporção de 1:1 (v/v) de substrato orgânico autoclavado e areia lavada, o substrato utilizado foi submetido a análise de fertilidade a fim de identificar os componentes e concentrações de seus macros e micro nutrientes (**Tab. 5**).

**Tabela 5:** Dados analíticos do substrato orgânico utilizado no experimento para cultivo de duas espécies florestais.

Substrato orgânico									
MO	K	P	Ca	H	H+Al	Mg	pH (H <sub>2</sub> O)		
dag kg <sup>-1</sup>	mg dm <sup>-3</sup>		cmolc dm <sup>-3</sup>						
15,22	354	49,8	6,6	3	3	1,43	5,9		

Fonte: Autores (2022)

Após 30 dias de germinação as soluções com os pesticidas foram aplicadas. A avaliação do crescimento ocorreu 30 dias após a aplicação. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, contudo, no ensaio II, foi adicionado juntos as soluções um adjuvante não iônico Assist<sup>®</sup> EC composto de óleo mineral na dosagem mínima de 0,25 % na calda de pulverização, objetivando aumentar a eficiência do produto ou modificar determinadas propriedades da solução, visando facilitar a aplicação ou minimizar possíveis problemas como o efeito de deriva. Também foi adicionado um novo tratamento referente a aplicação de água e

adjuvante, este tratamento foi considerado um complemento ao controle principal, com intuito de visualizar o comportamento das plantas frente ao adjuvante.

## 5.9 variáveis analisadas

Inicialmente foi realizado a biometria do lote de semente utilizado, onde se avaliou a Largura, espessura e comprimento das sementes; A morfometria das sementes foi obtida por meio de um paquímetro digital, os resultados foram expressos em milímetros (mm).

### 5.9.1 mortalidade final (MF), (SBCPD, 1995; MARTINS et al., 2020);

Após a implantação dos ensaios a porcentagem de mortalidade dos organismos foi verificada no final do período de teste dos ensaios. Apenas a questão de identificação da mortalidade, foram realizadas avaliações visuais de intoxicação por meio de deformidades e injúrias existentes nas estruturas das sementes e plântulas, desta forma, uma semente foi considerada morta, quando não houve indicio de germinação após termino do período teste. Por outro lado, a mortalidade das plantas foi estimada na atribuição de notas de injúrias na escala de zero a 100%, em que zero significa nenhuma deformidade ou injúria e 100%, morte das plantas. Os resultados foram utilizados na elaboração das curvas CE50.

No ensaio I (sementes sob exposição) as avaliações e coleta de dados dos efeitos de toxicidade foram realizadas diariamente durante um período de 10 dias em ambas as espécies. Neste ensaio foram medidos o índice de velocidade de germinação - IVG, porcentagem de germinação – G (%) e mortalidade final dos organismos - MF (%).

### 5.9.2 índice de velocidade de germinação (IVG), (MAGUIRE 1962);

$$IVG = \frac{N1}{D1} + \frac{N2}{D2} + \frac{N3}{D3} + \dots + \frac{Nn}{Dn}$$

Onde:

IVG = índice de velocidade de germinação;

$N_1, N_2, N_3, N_n$  = número de plântulas emergidas no dia 1, 2, 3, ...n; e

$D_1, D_2, D_3, D_n$  = número de dias para as plântulas germinarem

O índice de velocidade de germinação é obtido somando-se o número de sementes germinadas a cada dia, divididas pelo respectivo número de dias transcorridos desde a semeadura (NAKAGAWA, 1999).

5.9.3 porcentagem de germinação (G%) (LABOURIAU E VALADARES, 1976);

$$G(\%) = \frac{N \times 100}{A}$$

Onde:

N = número de sementes germinadas; e

A = número total de sementes colocadas para germinar.

No ensaio II (crescimento de plântulas sob exposição) as avaliações e coleta de dados dos efeitos de toxicidade foram avaliados no final do período de 30 dias. Neste ensaio foram avaliadas as variáveis comprimento do caule - CC, comprimento de raiz - CR, diâmetro do coleto - DC, massa da matéria seca da parte aérea - MSPA, massa da matéria seca da raiz- MSR, massa da matéria seca total (MST). Ressalta-se que nos ensaios I e II foram estabelecidos quando possível os valores de CE50 para as formulações testadas.

5.9.4 comprimento do Caule (CC), comprimento de raiz (CR), diâmetro do coleto (DC);

Após o período de 30 dias de exposição do ensaio II as plantas foram divididas em raiz e parte aérea e seu comprimento foi medido através do uso de paquímetro digital.

5.9.5 massa da matéria seca da parte aérea (MSPA), massa da matéria seca da raiz (MSR) e massa da matéria seca total (MST);

Após o período de 30 dias de exposição do ensaio II as plantas foram divididas em raiz e parte aérea e submetidas a secagem em estufa com circulação de ar a 60°C até atingirem um peso constante. A massa da matéria seca de cada planta foi mensurada a com auxílio de uma balança analítica de precisão.

## 5.10 análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R versão 4.0.3 (R TEAM CORE, 2020). Para verificar o nível relação entre as variáveis e pesticidas foi realizado o teste de correlação de Spearman a nível de significância ( $p \leq 0,05$ ). Os dados foram testados quanto a normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e homogeneidade pelo teste de Bartlett a nível de significância ( $p \leq 0,05$ ), quando não atendido esses pressupostos, os dados foram tratados por meio da remoção de outliers. Para verificação de diferença entre as médias dos grupos foi realizada uma (ANOVA) a nível de significância ( $p \leq 0,05$ ). Após a ANOVA apontar diferença entre as médias foi realizada a aplicação do teste Dunnett a nível de significância ( $p \leq 0,05$ ) para verificar a diferença entre os tratamentos e o controle. Para o cálculo resposta dependente da concentração (valores de CE50) foi realizado método de regressões-logística, utilizando as frequências de mortalidade para cada concentração ao final do período teste dos ensaios. Os valores de CE50 foram considerados preponderantes e significativos quando a estimativa de regressão obteve nível de significância ( $p \leq 0,05$ ).

## 6 RESULTADOS - ENSAIO I

### 6.1 morfometria das sementes e padrão de crescimento em laboratório

Os padrões de crescimento das espécies estudadas em laboratório estão representados no **APÊNDICE A**. Deformidades e injúrias mecânicas observadas nas das sementes e plântulas provocadas pelas concentrações testadas nos ensaios I e

II estão demonstradas nos **APÊNDICES B, C, D e E**. As medidas morfométricas: largura, espessura e comprimento das sementes foram estimados para ambas as espécies, além de estimativa de massa apresentadas na **(Tab.6)**.

**Tabela 6:** Medidas morfométricas e massa de mil sementes das espécies utilizadas no experimento

<i>Hymenolobium petraeum</i>			
	Largura (mm)	Espessura (mm)	comprimento (mm)
Média	7,48	1,70	13,54
Desvio Padrão	0,47	0,14	0,86
Mínimo	6,37	1,16	11,47
Máximo	8,77	2,06	15,92
Massa média de mil sementes (g)	155,79		
<i>Enterolobium schomburgkii</i>			
	Largura (mm)	Espessura (mm)	comprimento (mm)
Média	4,31	2,43	7,51
Desvio Padrão	0,28	0,16	0,30
Mínimo	3,76	1,50	6,53
Máximo	4,94	2,87	8,21
Massa média de mil sementes (g)	64,6		

Fonte: Autores (2022)

## 6.2 coeficiente de correlação de Spearman

O coeficiente de correlação de Spearman é uma medida não paramétrica, que descreve a relação entre as variáveis por meio de uma função monotética, ou seja, verifica como as variáveis aumentam ou diminuem quando relacionadas. Os valores de correlação, podem variar entre -1 e 1, quanto mais próximos aos extremos, maior é a força de correlação, seja ela negativa ou positiva. Valores próximos de 0 remetem a correlações fracas ou inexistentes. Os resultados do coeficiente correlação de Spearman entre as variáveis e as concentrações dos pesticidas estudados no ensaio I estão apresentados na **(Tab.7)**.

**Tabela 7:** Valores do coeficiente de correlação de Spearman entre as concentrações dos pesticidas e variáveis avaliadas no ensaio I para as espécies *Hymenolobium petraeum* e *Enterolobium schomburgkii*.

<i>Hymenolobium petraeum</i>				
<b>Experimento I</b>				
Descritores	$\rho$ (rho)	p-valor	Significância	Interpretação - RUMSEY (2019)
Cipermetrina				
IVG	-0,06	0,8237	ns	correlação fraca
G (%)	-0,14	0,145	ns	correlação fraca
MF (%)	0,14	0,145	ns	correlação fraca
Atrazina				
IVG	-0,42	0,0845	ns	correlação fraca
G (%)	-0,51	0,0310	*	correlação moderada
MF (%)	0,77	0,0002	*	correlação forte
Glifosato				
IVG	-0,62	0,0062	*	correlação moderada
G (%)	-0,68	0,0018	*	correlação moderada
MF (%)	0,97	0,0000	*	correlação forte
2,4-diclorofenoxiacético				
IVG	-0,75	0,0004	*	correlação forte
G (%)	-0,83	0,0207	*	correlação forte
MF (%)	0,87	0,0032	*	correlação forte
<i>Enterolobium schomburgkii</i>				
Cipermetrina				
IVG	0,42	0,0859	ns	correlação fraca
G (%)	-0,13	0,5940	ns	correlação fraca
MF (%)	-0,01	0,9794	ns	correlação fraca
Atrazina				
IVG	0,61	0,0067	*	correlação moderada
G (%)	0,29	0,2509	ns	correlação fraca
MF (%)	-0,29	0,2509	ns	correlação fraca
Glifosato				
IVG	0,42	0,0861	ns	correlação fraca
G (%)	-0,32	0,1909	ns	correlação fraca
MF (%)	0,37	0,1315	ns	correlação fraca
2,4-diclorofenoxiacético				
IVG	-0,81	0,0410	*	correlação forte
G (%)	-0,98	0,0000	*	correlação forte
MF (%)	0,97	0,0000	*	correlação forte

Fonte: Autores (2022)

(IVG) - índice de velocidade de germinação, G (%) – porcentagem de germinação, MF (%) – Mortalidade final. Asterisco (\*) indica ( $p \leq 0,05$ ), (ns) – não significativo.

A espécie *H. petraeum* foi influenciada negativamente pelas concentrações testadas, é possível verificar correlações negativas de intensidade média a forte em sua maioria para os parâmetros IVG e G (%), principalmente em relação as formulações dos pesticidas glifosato e 2,4D. A MF (%) mostrou uma correlação forte em relação aos quatro pesticidas testados variado de  $\rho = 0,77$  a  $0,97$ . É relevante comentar sobre os resultados do coeficiente para as variáveis G (%) e MF (%) para o inseticida cipermetrina que indicam correlação fraca com  $\rho = -0,14$  e  $0,14$  respectivamente para sementes de *H. petraeum*. Além disso, os valores de correlação para o IVG nos pesticidas cipermetrina e atrazina demonstram fraca correlação.

Por outro lado, em *E. schomburgkii* foram identificadas interações fortes apenas no pesticida 2,4D em que as concentrações se mostraram muito fortemente correlacionadas com as variáveis avaliadas. A ação do pesticida atrazina no IVG de *E. schomburgkii* mostrou-se positiva, o valor do coeficiente foi estimado em  $\rho = 0,61$  e o valor de  $p = 0,0067$  inferindo estatisticamente que existe uma correlação positiva entre as concentrações e a velocidade da germinação das sementes. De maneira geral, os resultados estimados demonstraram que o pesticida 2,4D foi o mais correlacionado negativamente em ambas as espécies, e os coeficientes indicam uma maior susceptibilidade para espécie *H. petraeum* nas variáveis avaliadas.

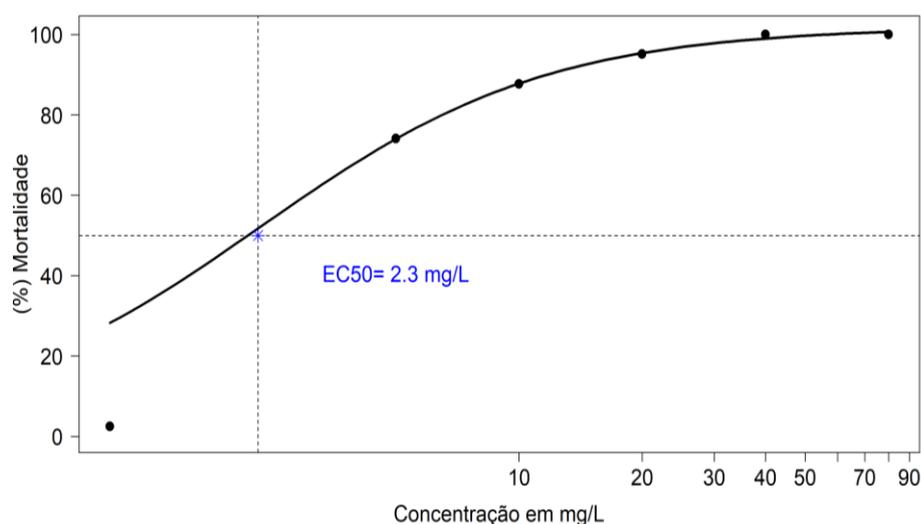
### **6.3 curva concentração-resposta e concentração efetiva média - CE50**

Para o ensaio I, a concentração efetiva média - CE50 mostrou que as formulações dos pesticidas cipermetrina e atrazina não possibilitaram a estimativa da CE50 devido aos baixos percentuais de eficiência letal. Dessa forma, mesmo com a utilização da concentração mais alta do protocolo experimental que correspondente a quatro vezes a concentração recomendada pelo fabricante, não foi possível verificar uma correspondência entre concentração e mortalidade. Este comportamento foi observado para ambas as espécies *E. schomburgkii* e *H. petraeum*.

Quanto a formulação de glifosato, para *E. schomburgkii* as concentrações testadas não obtiveram resultados significantes, devido à baixa letalidade, o que

impossibilitou a inferência da CE50. Todavia, em *H. petraeum* as concentrações calculadas para curva logística obtiveram resultado significativo com valor de  $p=0,001$  estimando uma CE50 de 2,34 mg/L, que representa 11,7 % da concentração média recomendada (**Fig.4**).

**Figura 4:** Curva concentração -resposta de glifosato para espécie *Hymenolobium petraeum*.

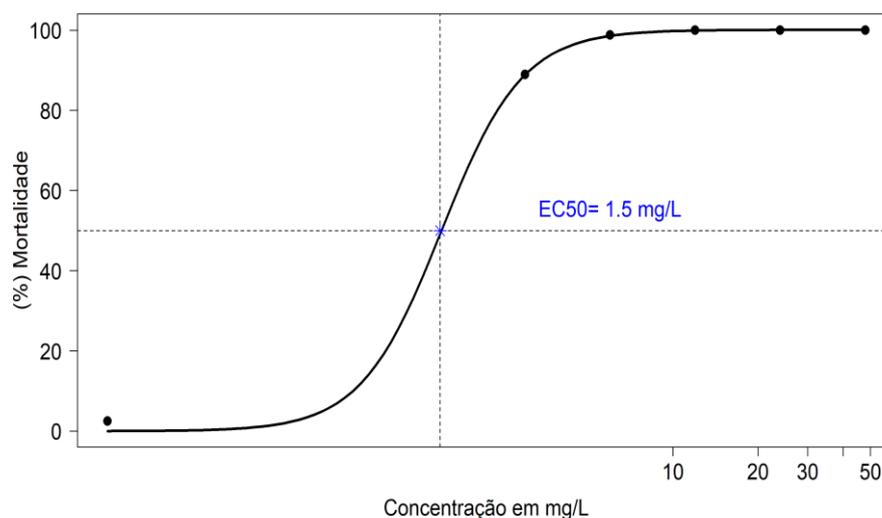


Fonte: Autores (2022)

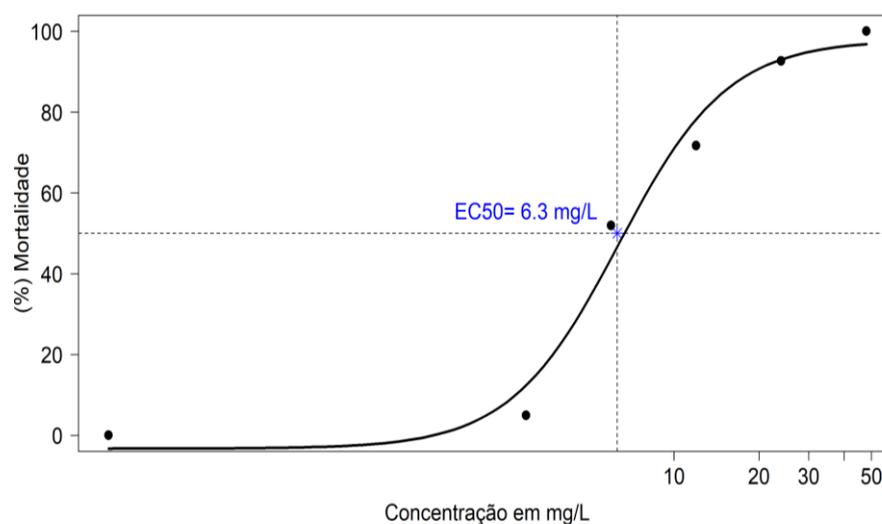
As concentrações de 2,4-D em *H. petraeum* estimaram pela curva logística uma CE50 de 1,49 mg/L com valor de  $p=0,01$ , correspondendo a 12,42% da concentração média recomendada (**Fig.5A**). Para *E. schomburgkii* a CE50, foi estimada em 6,38 mg/L que corresponde 53% da concentração recomendada. (**Fig.5B**). A formulação do pesticida 2,4-D mostrou-se de maior toxicidade aguda para sementes de *H. petraeum* quando comparada a *E. schomburgkii*.

**Figura 5:** Curva concentração -resposta de 2,4-D para espécies: (A) - *Hymenolobium petraeum* e (B) - *Enterolobium schomburgkii*.

A



B



Fonte: Autores (2022)

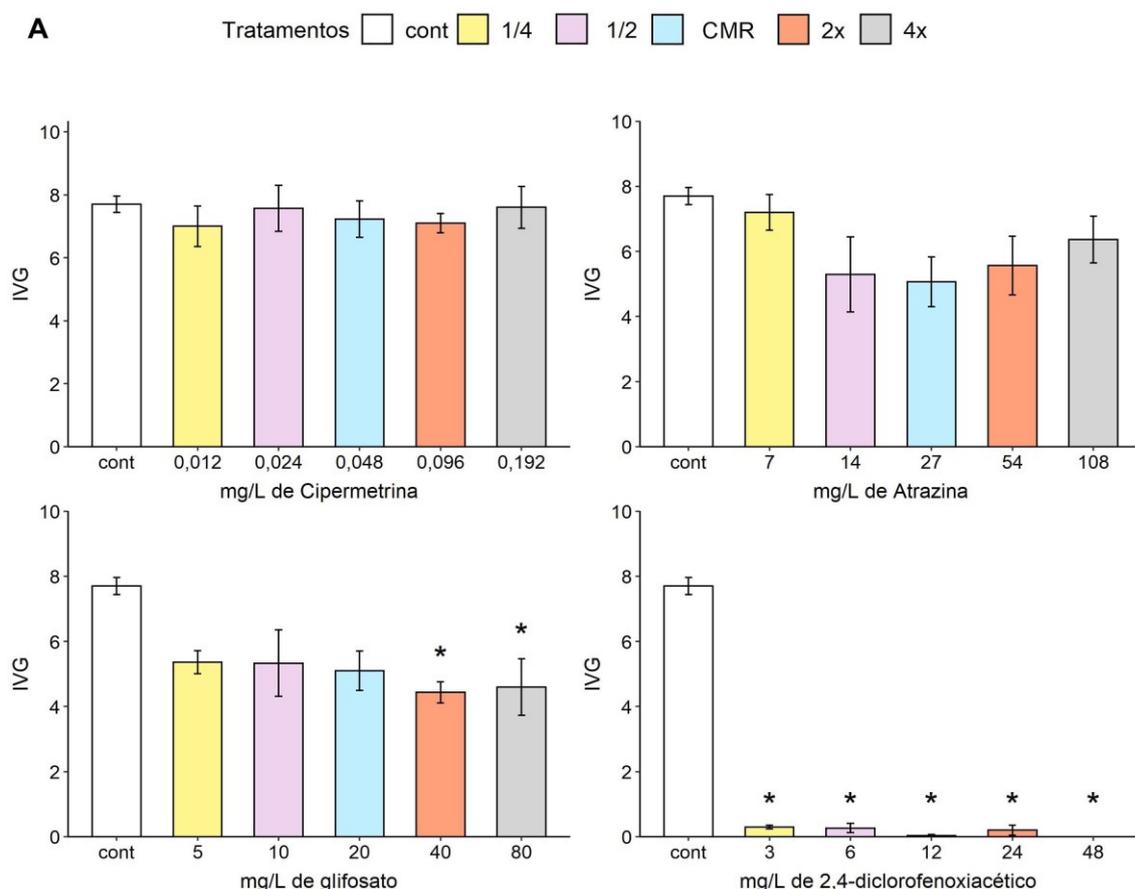
#### 6.4 índices de velocidade de germinação - (IVG)

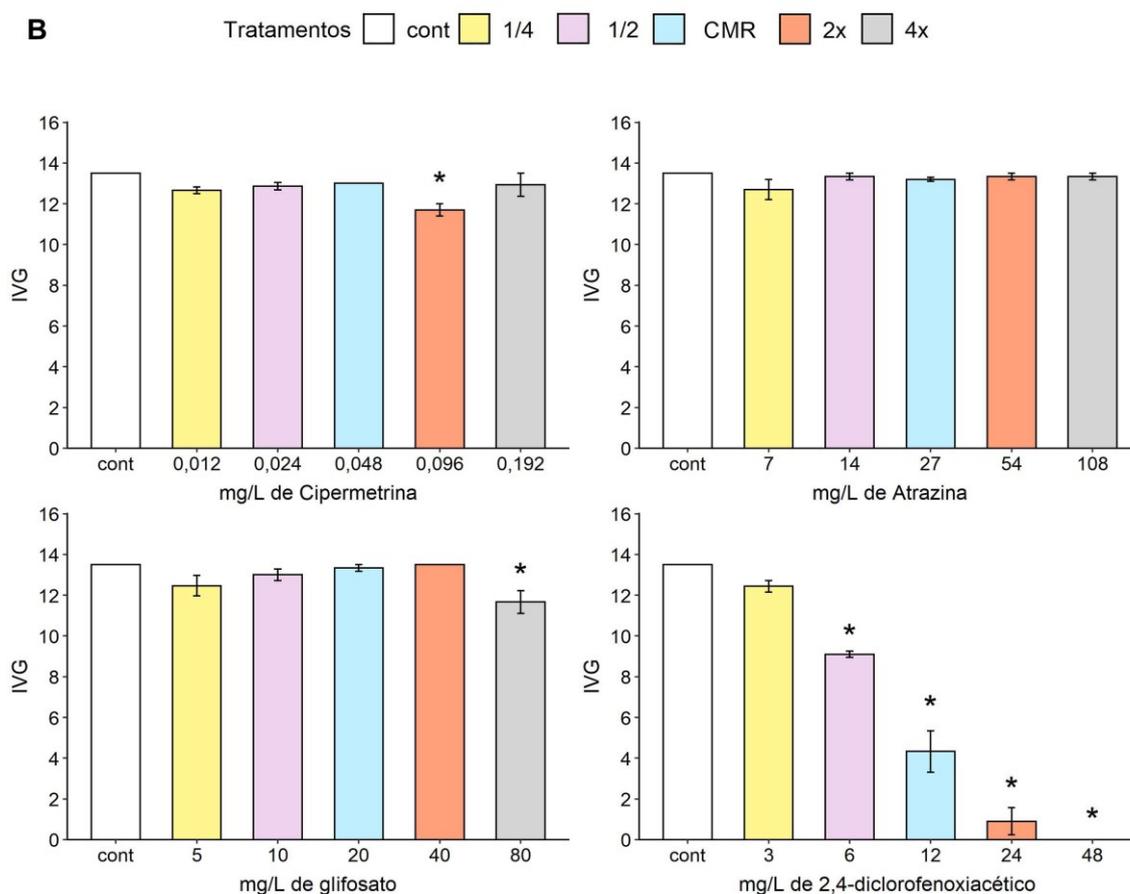
O índice de velocidade de germinação mostrou alterações estatisticamente significativas entre as concentrações em comparação com o tratamento controle, principalmente entre as formulações dos pesticidas 2,4-D e glifosato. Para espécie *H. petraeum* o IVG foi afetado pelo pesticida glifosato nas concentrações de 40 e 80 mg/L com redução de 42,4% e 40,3% respectivamente. Já o pesticida 2,4-D afetou o IVG em todas as concentrações testadas correspondentes a 3, 6, 12, 24 e 48 mg/L com redução muito significativa de 96,1%, 96,5%, 99,6%, 97,4% e 100% respectivamente (Fig.6A).

A espécie *E. schomburgkii*, mostrou resultados similares, sendo o IVG afetado pela cipermetrina na concentração de 0,096 mg/L com redução de 13,3%, pelo glifosato na concentração de 80 mg/L com redução de 13,6% e pelo 2,4-D nas concentrações de 6, 12, 24 e 48 mg/L com redução de 32,6%, 67,9%, 93,3% e 100% respectivamente (**Fig.6B**).

É importante ressaltar que a formulação do pesticida 2,4-D se mostrou muito influente na diminuição da velocidade de germinação para duas espécies, no caso de *H. petraeum*, até mesmo nas menores concentrações. Além disso, no tratamento com quatro vezes a concentração média recomendada é possível observar na formulação de 2,4-D a redução total do IVG para as duas espécies com 100% de redução.

**Figura 6:** Efeito dos pesticidas sobre o Índice de Velocidade de Germinação (IVG) na germinação das sementes de (A) *Hymenolobium petraeum* e (B) *Enterolobium schomburgkii*.





Fonte: Autores (2022).

Cada barra representa o valor médio de três réplicas e a barra de erro mostra o erro padrão. Asterisco (\*) indica diferença significativa em comparação com o controle (cont) pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ) de significância.

## 6.5 porcentagem de germinação – G (%)

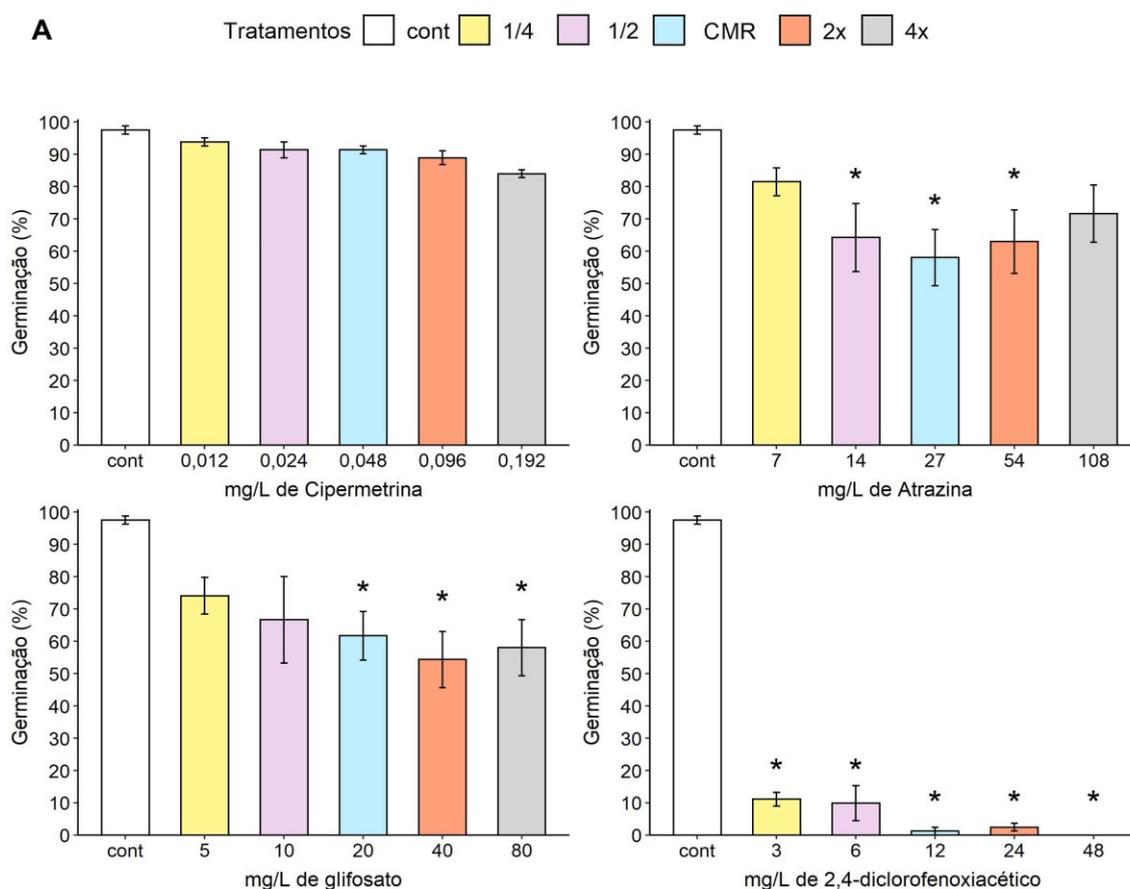
A porcentagem de germinação G (%) foi afetada pelos pesticidas. Para espécie *H. petraeum* pelo teste Dunnett ( $p \leq 0,05$ ) é verificada diferença estatística significativa entre os tratamentos. Na atrazina as concentrações 14, 27 e 54 mg/L provocaram redução da G (%) correspondente a 34,1%, 40,5% e 35,4% respectivamente. No glifosato as concentrações 20, 40 e 80 mg/L reduziram a G (%) em 36,7%, 44,3% e 40,5% respectivamente e o 2,4-D nas concentrações 3, 6, 12, 24 e 48 mg/L reduziu significativamente a G (%) em 88,6%, 89,9%, 98,7%, 97,5% e 100% respectivamente (**Fig.7<sup>a</sup>**).

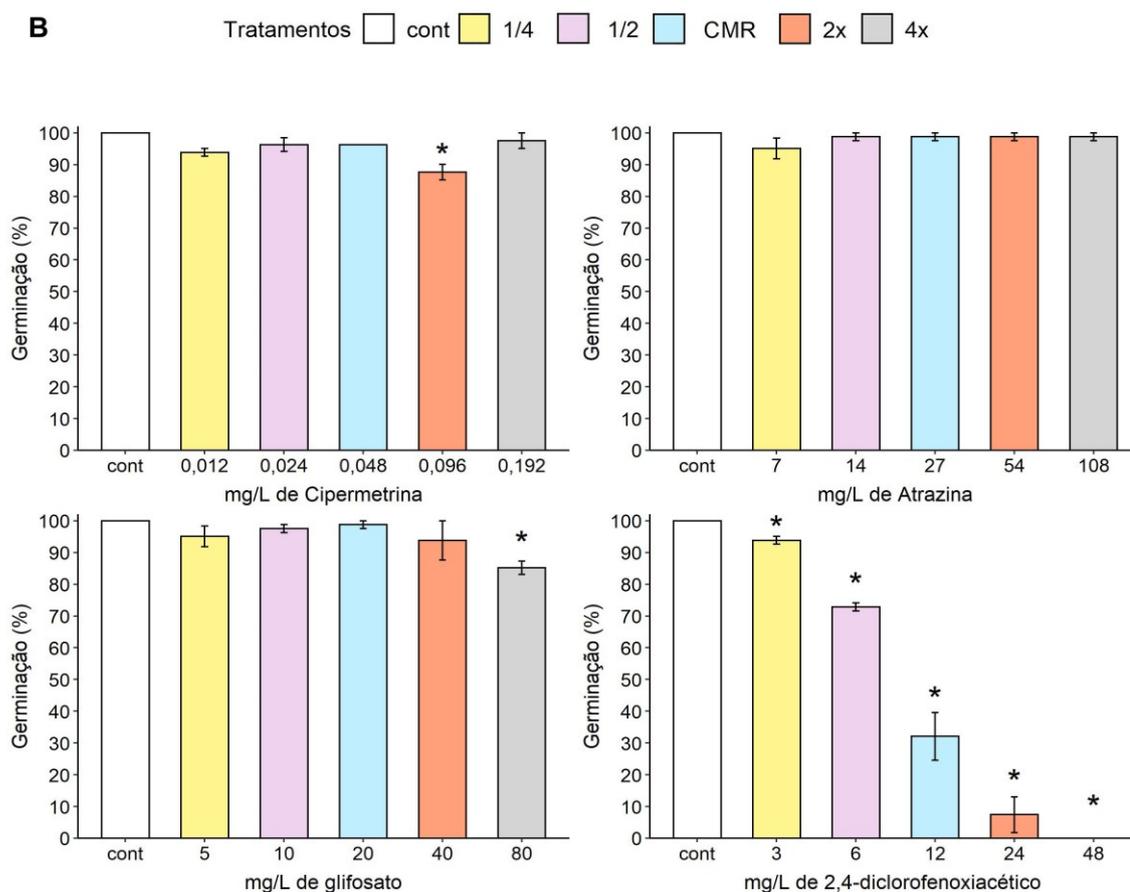
Para *E. schomburgkii* os pesticidas afetaram estatisticamente a G (%) na concentração 0,096 mg/L de cipermetrina provocando uma redução de 12,3%, na concentração 80 mg/L de glifosato induzindo redução de 14,8% e nas concentrações

3, 6, 12, 24 e 48 mg/L as quais provocaram redução de 6,2%, 27,2%, 67,9%, 92,6% e 100% respectivamente (**Fig.7B**).

As concentrações do pesticida 2,4-D foram as que mais afetaram as sementes. Nas duas espécies as médias do percentual de germinação apresentaram diferença estatística significativa em relação ao controle em todas as concentrações testadas, inclusive nas concentrações 12 e 24 mg/L com valores abaixo de 10% de germinação e 48 mg/L que corresponde a quatro vezes a concentração média induzindo 100% de inibição da G (%).

**Figura 7:** Efeito dos pesticidas sobre a porcentagem de germinação em sementes de (A) *Hymenolobium petraeum* e (B) *Enterolobium schomburgkii*.





Fonte: Autores (2022).

Cada barra representa o valor médio de três réplicas e a barra de erro mostra o erro padrão. Asterisco (\*) indica diferença significativa em comparação com o controle (cont) pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ) de significância.

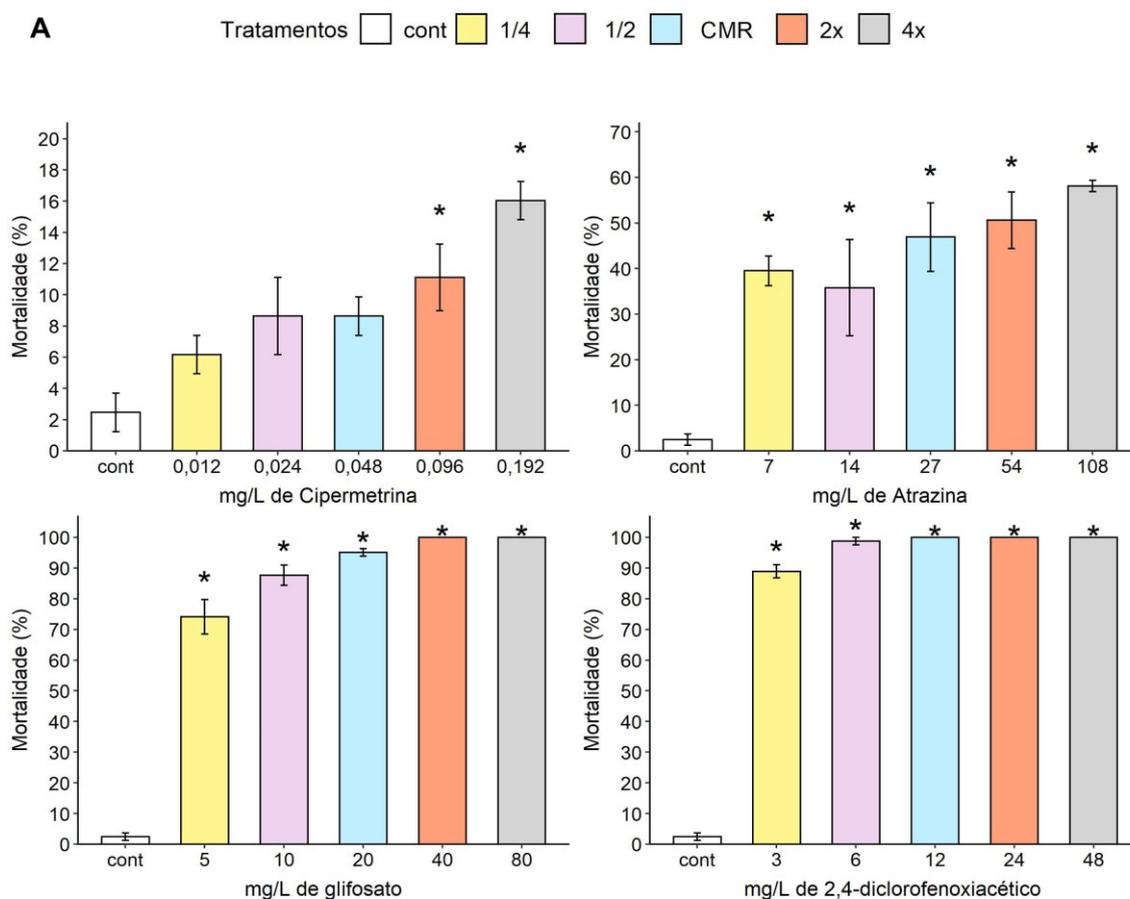
## 6.6 mortalidade final de sementes – (MF%)

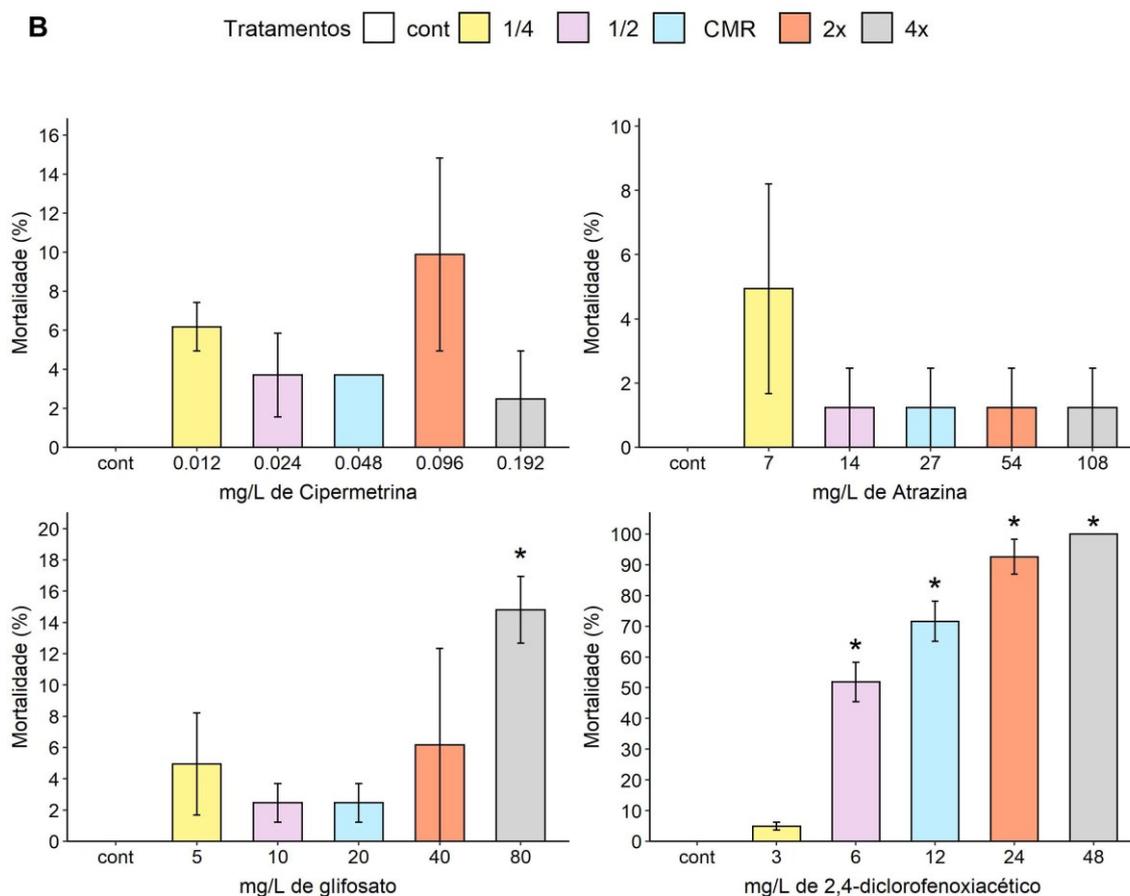
A MF (%) das sementes de *H. petraeum* apontaram diferenças significativas pelo teste Dunnett ( $p \leq 0,05$ ) entre os tratamentos e o controle para as formulações de pesticidas estudadas. A cipermetrina nas concentrações de 0,096 e 0,192 mg/L provocou a mortalidade 11,1 % e 16% das sementes respectivamente. A atrazina nas concentrações de 7, 14, 28, 54, 108 mg/L provocou a mortalidade de 39,5%, 35,8%, 46,9%, 50,6% e 58,1% das sementes respectivamente. O glifosato nas concentrações de 5, 10, 20, 40 e 80 mg/L provocou a mortalidade de 74,1%, 87,7%, 95,1%, 100% e 100% das sementes respectivamente e o 2,4-D nas concentrações de 3, 6, 12, 24, 48 provocou a mortalidade de 88,9%, 98,8%, 100%, 100% e 100% das sementes respectivamente (**Fig.8<sup>a</sup>**).

Para *E. schomburgki* apenas as formulações de glifosato e 2,4-D mostraram diferença entre os tratamentos e o controle. O glifosato na concentração de 80 mg/L causou a mortalidade de 14,8 % das sementes. O 2,4-D nas concentrações de 6, 12, 24 e 48 mg/L provocou a mortalidade de 51,9%, 71,6%, 92,6% e 100% respectivamente. (Fig.8B).

É importante enfatizar a relação entre as concentrações e MF (%) nas duas espécies. Em *H. petraeum* nas formulações dos pesticidas atrazina, glifosato e 2,4-D é observado MF (%) significativa em todos os tratamentos testados em relação ao controle. Por outro lado, *E. schomburgki* mostrou significância apenas nas formulações de glifosato e 2,4-D indicando uma maior tolerância das sementes dessa espécie.

**Figura 8:** Efeito dos pesticidas sobre a mortalidade final (MF%) na germinação das sementes de (A) *Hymenolobium petraeum* e (B) *Enterolobium schomburgkii*.





Fonte: Autores (2022).

Cada barra representa o valor médio de três réplicas e a barra de erro mostra o erro padrão. Asterisco (\*) indica diferença significativa em comparação com o controle (cont) pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ) de significância.

## 7 DISCUSSÃO ENSAIO I

A morfometria das sementes de *H. petraeum* obtidas no presente estudo corroboram os resultados encontrados por Oliveira et al. (2010), que obteve medidas semelhantes com  $1,6 \pm 0,2$  (2,2-1,2cm) de comprimento e  $0,5 \pm 0,1$ cm (0,8-0,4cm) de largura em sementes coletadas no Município de Macapá no Estado do Amapá (Tab.6).

Em relação a variabilidade morfométrica das sementes, é possível que sejam influenciadas por fatores físicos, químicos e biológicos, como a plasticidade fenotípica inerente aos indivíduos (RAMOS e FERRAZ, 2008; CAMARGO et al., 2010). As medidas morfométricas e de massa das sementes para a espécie *E. schomburgkii* (Tab.6), são muito semelhantes as observadas por Ramos e Ferraz

(2008) em sementes provenientes da região norte do Brasil no estado do Amazonas. Além disso, esse mesmo estudo aponta que existe uma variação na morfometria das sementes durante os períodos do ano.

O IVG, G (%) e MF (%) das sementes de *H. petraeum* e *E. schomburgkii* foram influenciados pelas concentrações testadas. De modo geral, informações sobre as sementes das espécies estudadas sob exposição a pesticidas são escassas, principalmente em relação a parâmetros germinativos, contudo, confrontando os resultados observados é possível inferir que as variações ocorridas no IVG, G (%) e MF(%) dependem de alguns fatores como a composição e estrutura química em particular de cada um dos ingredientes ativos, dos mecanismos de ação para indivíduos alvo, da susceptibilidade dos organismos e da concentração utilizada (SILVA et al., 2012).

Levando em consideração as concentrações utilizadas e o tempo de exposição das sementes que durou apenas 10 dias, alguns pesticidas podem não inibir a germinação nas concentrações subletais ou acima da média recomendada, contudo, podem atrasar. Em relação a cipermetrina, existem poucos estudos relacionados ao seu mecanismo de ação em plantas. Neste estudo, não foi verificada uma relação bem definida entre as concentrações e o percentual de germinação. Todavia, resultados semelhantes foram descritos por Shakir et al. (2015) em bioensaios utilizando cipermetrina em sementes de tomate da espécie *Lycopersicon esculentum*. Destaca-se ainda, que neste mesmo estudo de Shakir e et al. (2015), é observado um aumento mesmo que a curto prazo nas taxas de germinação em doses sub-letais.

As concentrações mostraram resultados mais evidentes da ação da atrazina em *H. petraeum*. A atrazina é transportada principalmente via xilema e tem como principal mecanismo de ação a inibição do fotossistema II (EMBRAPA, 2008, VENTRELLA et al., 2010), dessa forma, afeta as plantas quando se inicia os processos da fotossíntese. Isso explica a pouca influência dos pesticidas nas sementes, principalmente para a espécie *E. schomburgkii*. No estágio avaliado as sementes utilizam como fonte energética as reservas, por meio da ação da enzima amilase que atua na hidrólise do amido (JOSÉ et al., 2004). Entretanto, neste estudo, foi observado em *H. petraeum* a redução da germinação em concentrações intermediárias, levantando a hipótese que o processo utilizado para quebra de dormência do tegumento e assepsia das sementes podem ter prejudicado a

integridade do embrião e diminuído o vigor germinativo por meio de injúrias mecânicas e assim, interferindo nos parâmetros germinativos. Além disso, a influência verificada na MF (%) das sementes que variou de 39,5% a 58,1% pode ser explicada pela mortalidade ser contabilizada no final do período teste de 10 dias onde as 51 lântulas de *H. petraeum* já possuem as primeiras folhas (OLIVEIRA et al., 2010).

O IVG, G (%) e MF (%) de ambas as espécies estudadas foram afetados nas maiores concentrações do pesticida glifosato. Os efeitos mais severos foram observados em *H. petraeum* principalmente em relação MF (%) mostrando maior susceptibilidade para esta espécie quando exposta as concentrações. O glifosato é um herbicida pós-emergente não seletivo, e sofre alta ação de adsorção, por este motivo não é utilizado na pré-emergência. No entanto, quando utilizado em altas dosagens ou concentrações pode provocar germinação desuniforme (ROMAN et al, 2005; COUTINHO; MAZO, 2005; BERVALD et al., 2010). Os percentuais observados para a MF (%) das sementes frente a exposição ao glifosato, induziram em até 100% a mortalidade das sementes nos tratamentos de duas (40 mg/L) e quatro (80 mg/L) vezes a concentração média, esse fenômeno pode ter sido ocasionado pelo contato inicial pós-germinativo do pesticida com as zonas meristemáticas, após o surgimento da radícula. De acordo com Oliveira Junior (2011) o glifosato pode ser absorvido e transcola-se rapidamente pelo simplasto onde se acumula nas áreas de crescimento ativo (meristemas) inibindo algumas proteínas essenciais para o desenvolvimento do vegetal.

O 2,4-D faz parte do grupo de pesticidas mimetizadores da auxina, que atua na regulação do crescimento baseada em alterações hormonais (ROMAN et., 2005; EMBRAPA, 2008). Seu mecanismo de ação envolve alterações no o metabolismo de ácidos nucleicos e na plasticidade da parede celular (OLIVEIRA JUNIOR, 2011). Neste estudo, o efeito mais severo foi observado nas espécies estudadas quando expostas as concentrações do pesticida 2,4-D. Em *H. petraeum* as concentrações desse pesticida inibiram drasticamente o IVG e a G (%) das sementes mesmo nas menores concentrações testadas, além disso, provocou altos percentuais na MF (%) variando de 88,9% a 100% no final do período teste. Para *E. schomburgkii* foram verificadas relações inversamente proporcionais entre as concentrações e as variáveis IVG e G (%) e diretamente proporcionais para MF (%), ambas bem definidas. Esses efeitos podem ser explicados pela ação do 2,4-D no desequilíbrio

hormonal dos organismos teste. Sabe-se que as auxinas e giberelinas também são biossintetizadas e envolvidas durante os processos de germinação das sementes (SILVA et al., 2008; PEDROSO et al., 2016). Além disso, diversos autores apontam o 2,4-D como inibidor de germinação e até mesmo fungitóxico, podendo afetar diversos organismos que realizam simbiose com plantas como é o caso dos fungos micorrizicos arbusculares (FARIAS et al., 2003; MACHADO et al., 2007).

De modo geral, os valores para o IVG mostram que *E. schomburgkii* possui maior velocidade de germinação que *H. petraeum*, essa variação é proveniente das características em particular para cada espécie, dessa maneira, a redução ou inibição do IVG é específico para cada semente frente a exposição aos pesticidas.

Essa relação foi descrita de forma sucinta por Keffer e et al., (2021) onde verificaram variações no IVG de sementes florestais tropicais sob efeito de agentes químicos retardantes de fogo. Além disso, o G (%) sementes de plantas dicotiledóneas são mais sensíveis a pesticidas, principalmente organofosfatados, que são frequentemente relatados como uma das principais causas de fraco poder germinativo das sementes (Hanley e Whiting, 2005). Deve-se levar em consideração, a capacidade de tolerância para cada uma das espécies testadas. Foi observado nesse estudo, que as maiores concentrações inibiram a germinação. Resultados semelhantes foram relatados Sammaiah et al. (2011) em que altas doses dos pesticidas endosulfan e kitazin inibiram a germinação em berinjela (*Solanum melongena* L.).

A MF (%) e os valores do coeficiente de correlação de Spearman no ensaio I demonstraram uma forte correlação entre as formulações e variáveis avaliadas, corroborando com os resultados observados nos cálculos de CE50 estimados para as formulações de glifosato e 2,4-D (Tab.7), (Fig.4), (Fig.5<sup>a</sup>) e (Fig.5B).

A espécie *H. petraeum* estimou uma CE50= 2,3 mg/L para a formulação de glifosato e obteve um valor de correlação para MF (%) onde  $\rho = 0,97$ , indicando uma relação muito forte entre as concentrações e a MF (%) das sementes, esse mesmo padrão é observado na formulação de 2,4-D para as duas espécies, onde *H. petraeum* obteve CE50= 1,5 mg/L e *E. schomburgkii* CE50= 6,3 mg/L e valores de correlação para MF (%) onde  $\rho = 0,87$  e  $0,97$  respectivamente. Esses resultados são refletidos e facilmente observados no gráfico de MF (%) para sementes (Fig.8<sup>a</sup>) e (Fig.8B). As variações nos percentuais de mortalidade provocada por herbicidas, já

foram demonstradas em outros organismos vegetais e estão associadas a susceptibilidade dos organismos ao pesticida (SILVA et al., 2012).

Neste estudo, as sementes foram dispostas em contato direto com a solução de pesticida utilizada no papel germitest. Além disso, o processo de escarificação acida realizado para permitir a permeabilidade do tegumento pode ter facilitado a entrada e acesso dos toxicantes, inibindo a germinação das sementes, condições essas que não ocorreriam em ambiente natural. Herbicidas de uso pré-emergente podem inibir a ação enzimática das sementes e desencadear uma série de eventos que levam o organismo a morte (VIDAL, 1997; ROMAN et al., 2005, EMBRAPA, 2008).

## 8 RESULTADOS ENSAIO II

### 8.1 coeficiente de correlação de Spearman

O experimento II buscou avaliar alterações nas variáveis de efeito em plântulas durante 30 dias de exposição as concentrações das formulações testadas. Os valores para o coeficiente de correlação de Spearman entre pesticida e variáveis avaliadas é apresentado na **(Tab.8)**.

**Tabela 8:** Valores do coeficiente de correlação de Spearman entre pesticida e variáveis avaliadas no experimento II para as espécies *Hymenolobium petraeum* e *Enterolobium schomburgkii*.

<i>Hymenolobium petraeum</i>				
Experimento II				
Descritores	$\rho$ (rho)	p-valor	Significância	Interpretação RUMSEY (2019)
Cipermetrina				
CC	-0,21	0,0427	*	correlação fraca
CR	-0,34	0,0010	*	correlação fraca
DC	-0,23	0,0309	*	correlação fraca
MSPA	-0,09	0,4027	ns	correlação fraca
MSR	-0,21	0,0458	*	correlação fraca
MST	-0,12	0,2780	ns	correlação fraca
Atrazina				
CC	-0,10	0,3518	ns	correlação fraca
CR	-0,08	0,4338	ns	correlação fraca
DC	0,17	0,1089	ns	correlação fraca

MSPA	-0,22	0,0383	*	correlação fraca
MSR	-0,48	0,0014	*	correlação fraca
MST	-0,24	0,0236	*	correlação fraca
Glifosato				
CC	-0,51	0,0003	*	correlação moderada
CR	-0,22	0,0372	*	correlação fraca
DC	-0,18	0,0955	ns	correlação fraca
MSPA	-0,61	0,0000	*	correlação moderada
MSR	-0,62	0,0000	*	correlação moderada
MST	-0,61	0,0000	*	correlação moderada
2,4-diclorofenoxiacético				
CC	-0,10	0,331	ns	correlação fraca
CR	0,02	0,861	ns	correlação fraca
DC	-0,47	0,000	*	correlação fraca
MSPA	-0,49	0,001	*	correlação fraca
MSR	-0,61	0,000	*	correlação moderada
MST	-0,50	0,000	*	correlação moderada
<i>Enterolobium schomburgkii</i>				
Cipermetrina				
CC	-0,33	0,0016	*	correlação fraca
CR	-0,65	0,0000	*	correlação moderada
DC	-0,32	0,0021	*	correlação fraca
MSPA	-0,76	0,0000	*	correlação forte
MSR	-0,71	0,0000	*	correlação forte
MST	-0,79	0,0000	*	correlação forte
Atrazina				
CC	-0,50	0,0006	*	correlação fraca
CR	-0,13	0,2330	ns	correlação fraca
DC	-0,45	0,0075	*	correlação fraca
MSPA	-0,46	0,0048	*	correlação fraca
MSR	-0,43	0,0226	*	correlação fraca
MST	-0,47	0,0030	*	correlação fraca
Glifosato				
CC	-0,62	0,0000	*	correlação moderada
CR	-0,79	0,0000	*	correlação forte
DC	-0,76	0,0000	*	correlação forte
MSPA	-0,54	0,0001	*	correlação moderada
MSR	-0,88	0,0000	*	correlação forte
MST	-0,68	0,0000	*	correlação moderada
2,4-diclorofenoxiacético				
CC	-0,28	0,0087	*	correlação fraca
CR	-0,51	0,0003	*	correlação moderada
DC	-0,77	0,0000	*	correlação forte
MSPA	-0,55	0,0000	*	correlação moderada

MSR	-0,66	0,0000	*	correlação moderada
MST	-0,59	0,0000	*	correlação moderada

Fonte: Autores (2022)

(CC) – Comprimento do caule, (CR) – Comprimento da raiz, (DC) – Diâmetro do coleto, (MSPA) – Massa da matéria seca da parte aérea, (MSR) – Massa da matéria seca da raiz, (MST) – Massa da matéria seca total. Asterisco (\*) indica ( $p \leq 0,05$ ), (ns) – não significativo.

Para espécie *H. petraeum* os resultados apontam fraca correlação das concentrações nas formulações de cipermetrina e atrazina, no entanto, é observado correlações negativas de maior intensidade das formulações de glifosato e 2,4D, principalmente nos marcadores relacionados a massa da matéria seca. Nas concentrações de glifosato é observado correlações negativas para MSPA, MSR e MST com valores de  $\rho = -0,61, -0,62$  e  $-0,61$  e nas concentrações de 2,4-D com valores de  $\rho = -0,49, -0,61$  e  $-0,50$  respectivamente, assim, corroborando com a hipótese de que as formulações provocaram mesmo que moderadamente perda de massa nos organismos.

Na espécie *E. schomburgkii* as concentrações das formulações de cipermetrina, glifosato e 2,4D provocaram correlações negativas de intensidade moderada a forte. Na cipermetrina é observado nos marcadores MSPA, MSR e MST valores de  $\rho = -0,76, -0,71$  e  $-0,79$  indicando uma correlação negativa na massa dos organismos teste. As concentrações das formulações de glifosato e 2,4D provocaram efeito negativos em todos os parâmetros avaliados reforçando que a ação dessas duas formulações provoca efeitos mais severos nesta espécie.

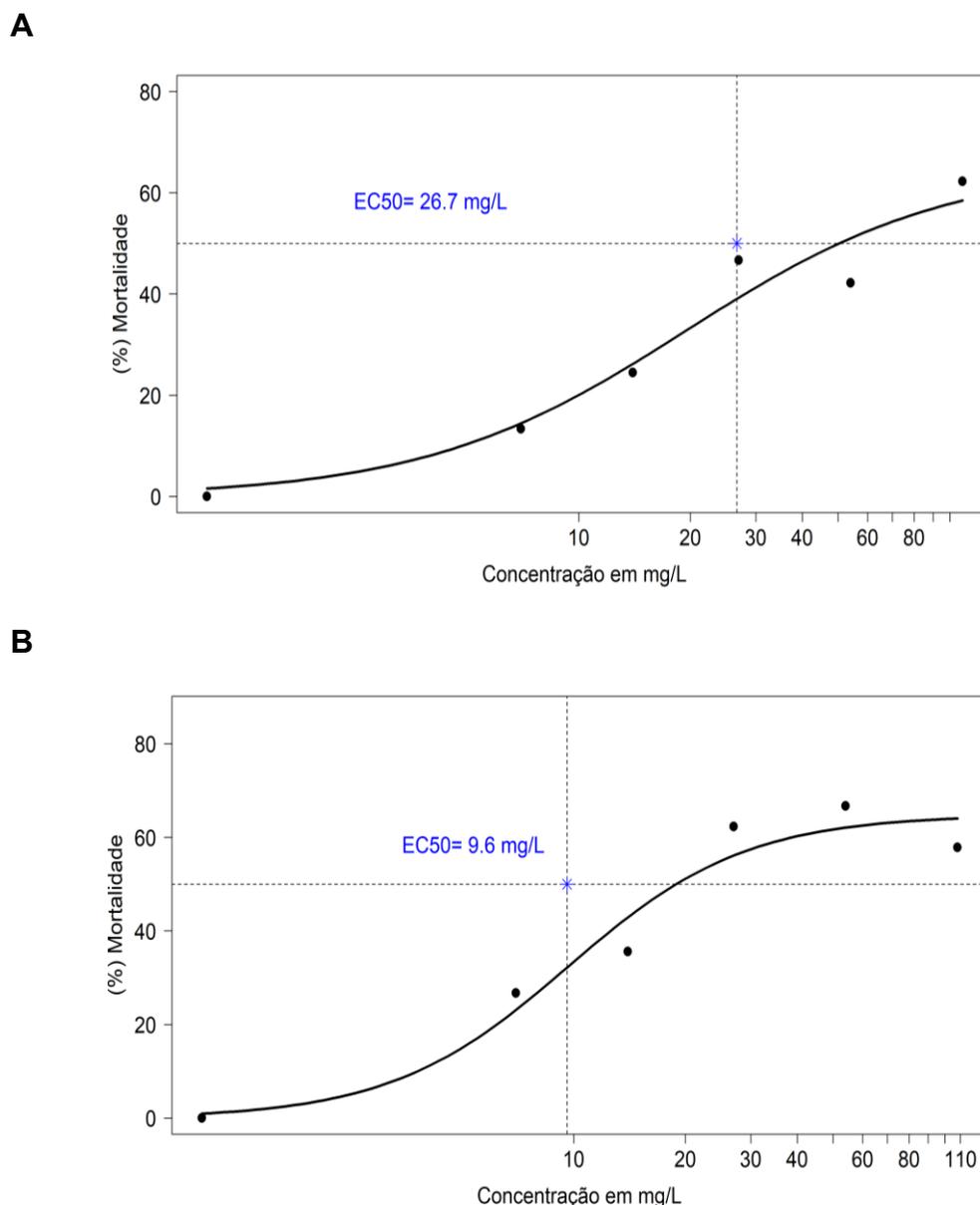
## 8.2 curva concentração – resposta e concentração efetiva média - CE50

Quanto ao experimento II que utilizou plântulas como modelo experimental, com 30 dias de desenvolvimento a partir da semeadura, a cipermetrina não apresentou resultados que possibilitassem a estimativa da CE50, devido as baixas taxas de mortalidade para ambos os organismos-teste.

A formulação com ingrediente ativo atrazina em ação sobre *H. petraeum*, estimou uma CE50 de 26,72 mg/L, concentração muito próxima à da concentração média recomendada (**Fig.9<sup>a</sup>**). Para os espécimes de *E. schomburgkii*, o CE50 de

atrazina foi estimado em 9,66 mg/L, o que representa 35,77% da concentração média recomendada pelo fabricante (**Fig.9B**).

**Figura 9:** Curva concentração – resposta de Atrazina para espécies: (A) – *Hymenolobium petraeum* e (B) – *Enterolobium schomburgkii*.



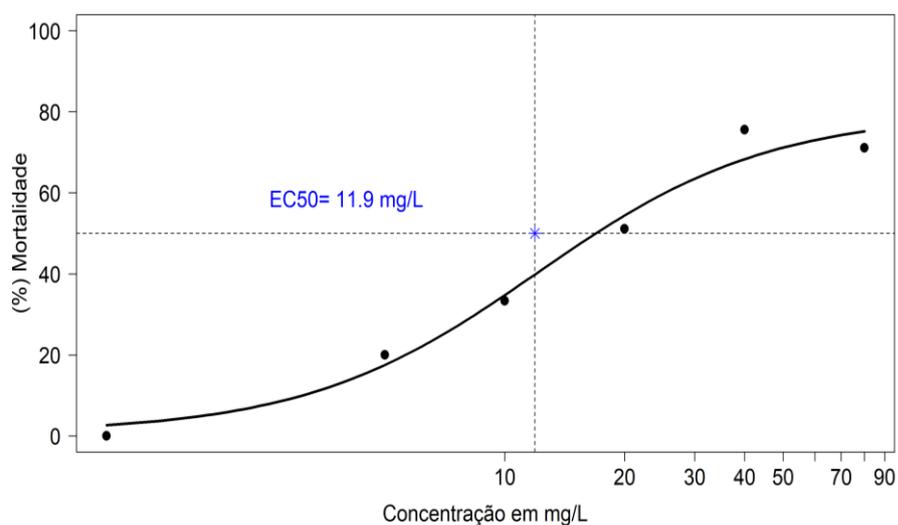
Fonte: Autores (2022).

A CE50 estimada para as concentrações de glifosato foi de 11,96 mg/L para indivíduos da espécie *H. petraeum*, correspondendo a 59,8% da concentração recomendada pelo fabricante (**Fig.10A**). Já em *E. schomburgkii* a CE50 para as

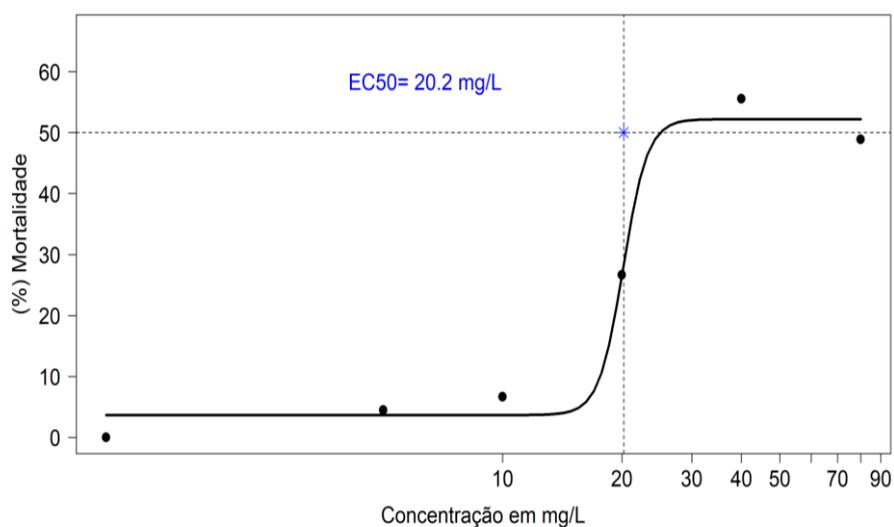
concentrações de glifosato foi estimada em 20,20 mg/L correspondendo a 101% da concentração da dose recomendada (**Fig.10B**).

**Figura 10:** Curva concentração-resposta de glifosato para espécies: (A) - *Hymenolobium petraeum* e (B) – *Enterolobium schomburgkii*.

**A**



**B**



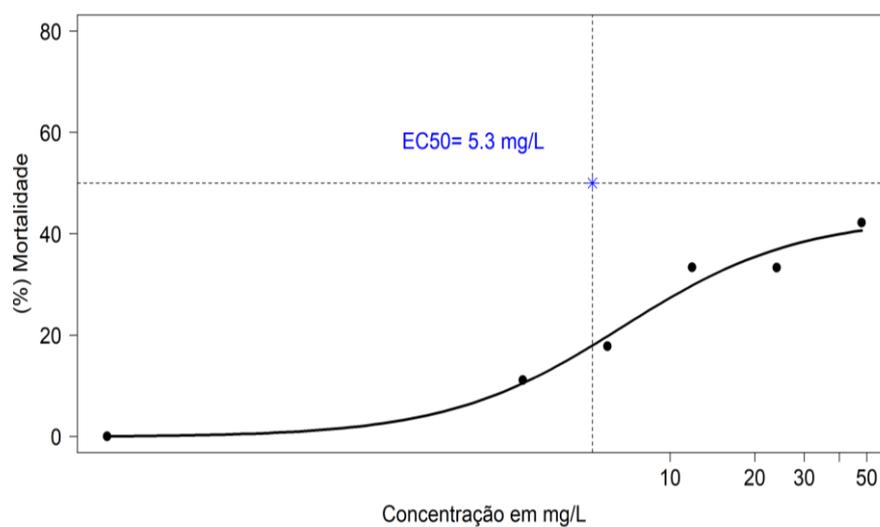
Fonte: Autores (2022).

O 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) em experimento com plântulas de *H. petraeum* apresentou uma CE50 estimada em 5,34 mg/L (**Fig.11A**), enquanto que nos espécimes de *E. schomburgkii* foi estimada em 9,67 mg/L que corresponde

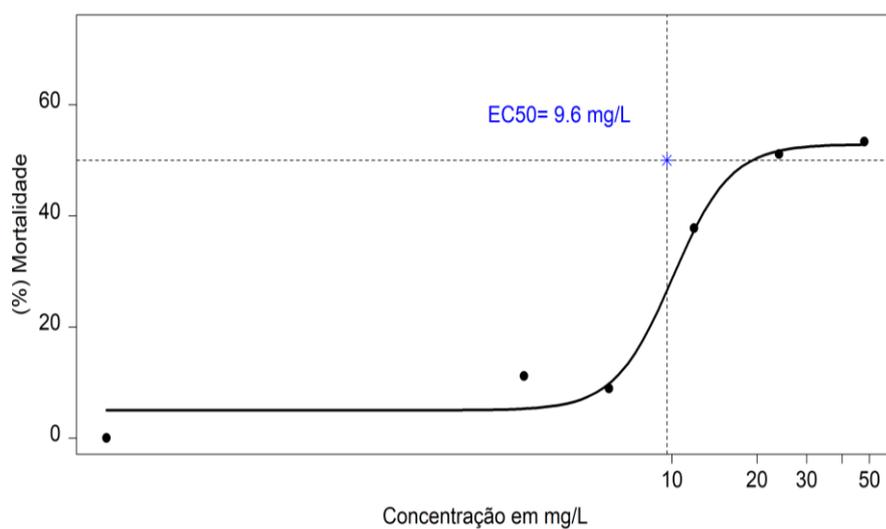
respectivamente a 44,5% e 80,5% da concentração média recomendada pelo fabricante (**Fig.11B**).

**Figura 11:** Curva concentração-resposta de 2,4-D para espécies: (A) - *Hymenolobium petraeum* e (B) – *Enterolobium schomburgkii*.

**A**



**B**



Fonte: Autores (2022).

### 8.3 cipermetrina

A espécie *H. petraeum* teve o crescimento afetado pela formulação do pesticida cipermetrina nas variáveis verificadas em plântulas. O tratamento controle para a variável CC obteve comprimento médio de 101,7 mm, valor este que se mostrou diferente estatisticamente em comparação com as concentrações de (0,012, 0,024, 0,096 e 0,192 mg/L) apresentando valores médios de (85,2, 89,5, 85,2 e 87,4 mm) respectivamente, mostrando uma redução variando de 12% a 16%. Além disso, o tratamento com adjuvante não apresentou diferenças em comparação ao controle (**Fig.12A**).

O comprimento médio do controle para variável CR foi de 55 mm. Não foi observada diferença entre o controle e o adjuvante que atingiu média de 52 mm. Em relação aos tratamentos e foi verificada diferença estatística em relação ao controle nas concentrações de (0,012, 0,096 e 0,192 mg/L) que tiveram comprimento médio de (42,6, 43,5 e 37,7 mm) e redução de (22,6%, 20,8% e 31,4 %) respectivamente em comparação ao controle (**Fig.12A**).

A média do controle para o DC foi de 1,5 mm e não se mostrou diferente do controle com adjuvante que alcançou média de 1,4 mm. Ademais, foram observadas diferenças estatísticas para as concentrações de (0,012, 0,024, 0,048 e 0,192 mg/L) que obtiveram mesma média correspondente a 1,2 mm e redução de 17% em comparação ao controle (**Fig.12A**).

Para variável MSPA das plantas de *H. petraeum* o tratamento controle alcançou média de 115 mg, não variando estatisticamente em relação ao tratamento com adjuvante que atingiu massa média 109,1 mg. Contudo, os tratamentos correspondentes as concentrações de (0,012, 0,024, 0,096 e 0,192 mg/L) indicaram perda de massa significativa para parte aérea das plantas atingindo médias de (56,2, 75,6, 78,1 e 88 mg) que correspondem a uma redução de (51,1%, 34,2% 32% e 23,4%) mutuamente em relação ao controle (**Fig.12A**).

As médias de massa para os tratamentos controle e adjuvante na variável MSR foram de 18,2 e 17 mg mutuamente, não sendo observada diferença estatística significativa entre esses tratamentos. Por outro lado, as concentrações de (0,012, 0,024, 0,048, 0,096 e 0,192 mg/L) obtiveram médias de (7,4, 6,8, 12, 9,4 e 9,3 mg) nessa ordem, indicando redução de massa nas raízes em comparação ao controle que correspondem reciprocamente (59,4 %, 62,5%, 34,3%, 48,5% e 49%) (**Fig.12A**).

Quando verificada a variável MST os valores para o controle e os adjuvantes foram (133,3 e 126,1 mg), contudo não foram estatisticamente diferentes. Em relação aos tratamentos com as concentrações de (0,012, 0,024, 0,096 e 0,192 mg/L) as médias obtidas foram (63,6, 82,4, 87,5 e 97,3 mg) com porcentagem de redução da massa de (52,2%, 38,1%, 34,3% e 26,9%) respectivamente (**Fig.12A**).

Para espécie *E. schomburgkii* o CC mostrou pequenas variações. A média do tratamento controle para a variável foi 88,3 mm não diferente estatisticamente do adjuvante que alcançou em média 80,1 mm. Todavia, as concentrações de (0,012, 0,024, 0,048, 0,096 e 0,192 mg/L) foram diferentes do controle nessa ordem com valores (66,3, 78,2, 73,7, 77,8 e 67,5 mm) que correspondem respectivamente a uma redução de (24,8%, 11,4%, 16,4%, 11,7% e 23,5%) em comparação ao controle (**Fig.12B**).

O CR não evidenciou diferença entre os tratamentos controle e adjuvante que obtiveram médias 123,4 e 106 mm mutuamente. Entretanto, as concentrações de (0,012, 0,024, 0,096 e 0,192 mg/L) mostraram-se diferentes do controle estatisticamente com valores médios nessa ordem (73,6, 90,5, 46,3 e 36 mm) que equivalem respectivamente a redução no CR de (40,3%, 26,6%, 62,4% e 70,8%) (**Fig.12B**).

A média do controle para DC em *E. schomburgkii* foi estimada em 1mm e não foi diferente estatisticamente do adjuvante que estimou 0,96 mm. Os tratamentos mostraram diferença em relação ao controle nas concentrações (0,012, 0,048, 0,096 e 0,192 mg/L) onde os valores médios observado na mesma ordem foram (0,59, 0,74, 0,61, 0,77 mm) inferindo redução do DC correspondente respectivamente a (41,8%, 26,7%, 39,8%, 24,1%) (**Fig.12B**).

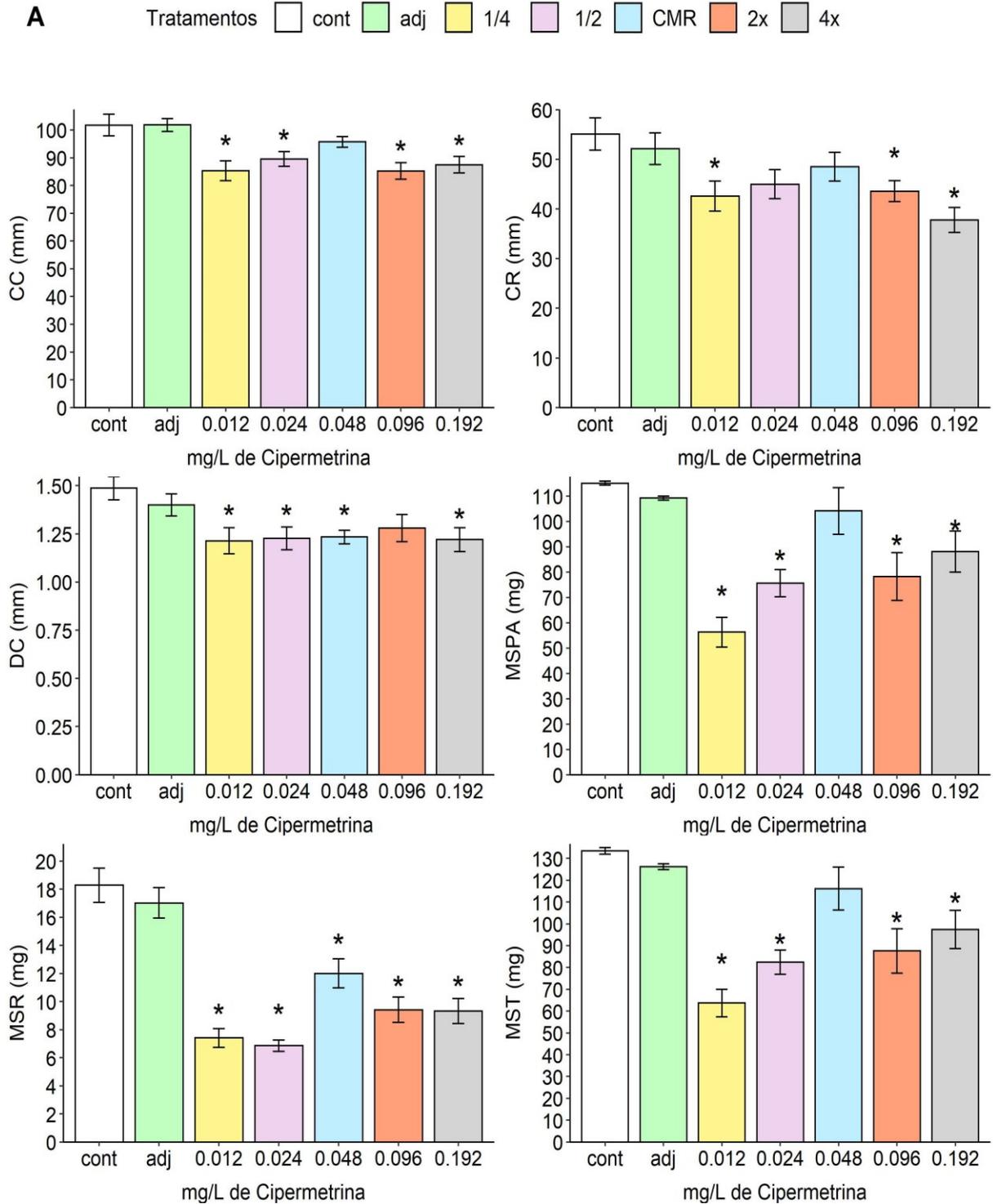
Para MSPA o tratamento controle obteve a média de 79,4 mg mostrando-se diferente estatisticamente do tratamento com adjuvante de média 62 mg. Ademais, as concentrações de (0,012, 0,048, 0,096 e 0,192 mg/L) também indicaram diferença significativa em relação ao controle, os valores médios obtidos foram (68,4, 69,4, 47 e 37,4) apontando redução na MSPA que correspondem nessa mesma ordem a (41,8%, 26,7%, 39,8%, 24,1%) (**Fig.12B**).

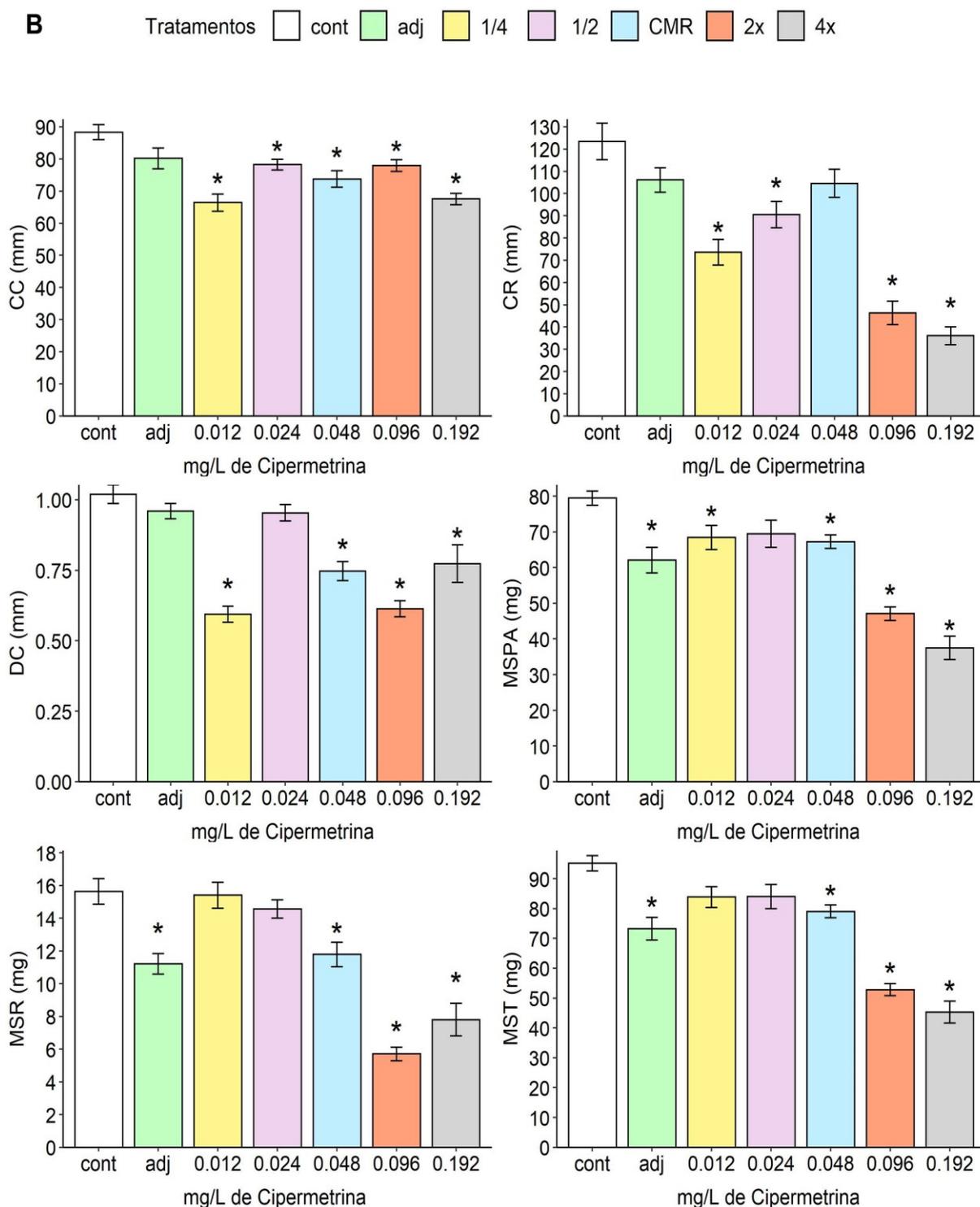
A MSR apontou diferença entre o controle e o adjuvante com médias correspondentes a (15,6 e a 11,2) mutuamente. As concentrações foram diferentes do controle nos tratamentos (0,048, 0,096 e 0,192 mg/L), onde as médias foram

nessa mesma ordem (11,7, 5,7 e 7,8 mg) correspondendo respectivamente a uma redução de massa de 24,6%, 63,4% e 50,1% em comparação ao controle (**Fig.12B**).

Na variável MST o controle teve média igual a 95,1 mg e, mostrou variação significativa com o tratamento de adjuvante de média 73,2 mg. As concentrações testadas foram diferentes do controle nos tratamentos com (0,048, 0,096 e 0,192 mg/L), as médias foram (79, 52,8 e 45,2 mg) e as porcentagens de redução (16,9%, 44,4% e 52,3%) respectivamente (**Fig.12B**).

**Figura 12:** Efeito da cipermetrina sobre variáveis de crescimento das plântulas de (A) *Hymenolobium petraeum* e (B) *Enterolobium schomburgkii*.





Fonte: Autores (2022).

Controle (cont), Adjuvante (adj), Concentração média recomendada (CMR), Comprimento do Caule (CC), Comprimento da Raiz (CR), Diâmetro do coleto (DC), Massa da Matéria Seca da Parte área (MSPA), Massa da Matéria Seca da Raiz (MSR), Massa da Matéria Seca Total (MST). Cada barra representa o valor médio  $n=15$  e a barra de erro mostra o erro padrão. Asterisco (\*) indica diferença significativa em comparação com o controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ) de significância.

#### 8.4 atrazina

O pesticida atrazina reduziu o crescimento das plantas de *H. petraeum* nas variáveis avaliadas. As médias para o CC nas concentrações de (7, 27 e 54 mg/L) foram na mesma ordem (89,2, 86,4 e 81,6) mm, quando em comparação ao tratamento controle de média 101,7 mm foi constatada diferença estatística, mostrando redução no comprimento de (12,2%, 15% e 19,7%) mutuamente. O tratamento com adjuvante alcançou em média 101,8 mm e não demonstrou diferenças frente ao controle (**Fig.13A**).

O CR foi influenciado negativamente pelo pesticida atrazina. O tratamento controle atingiu média de 55 mm e não variou significativamente em relação ao tratamento com adjuvante de média 52,1 mm. Entretanto, quando comparados ao controle os tratamentos com as concentrações de (7, 14, 27, 54 mg/L) mostraram redução no comprimento correspondente nessa mesma ordem a (25,1%, 24,1%, 31,1%, 25,8%) e as médias obtidas foram de (41,2, 41,7, 37,9, 40,8 mm). O DC para *H. petraeum* teve valor médio para o controle de 1,5 mm e evidenciou diferença estatística apenas no tratamento de 14 mg/L onde a média foi 1,2 mm (**Fig.13A**).

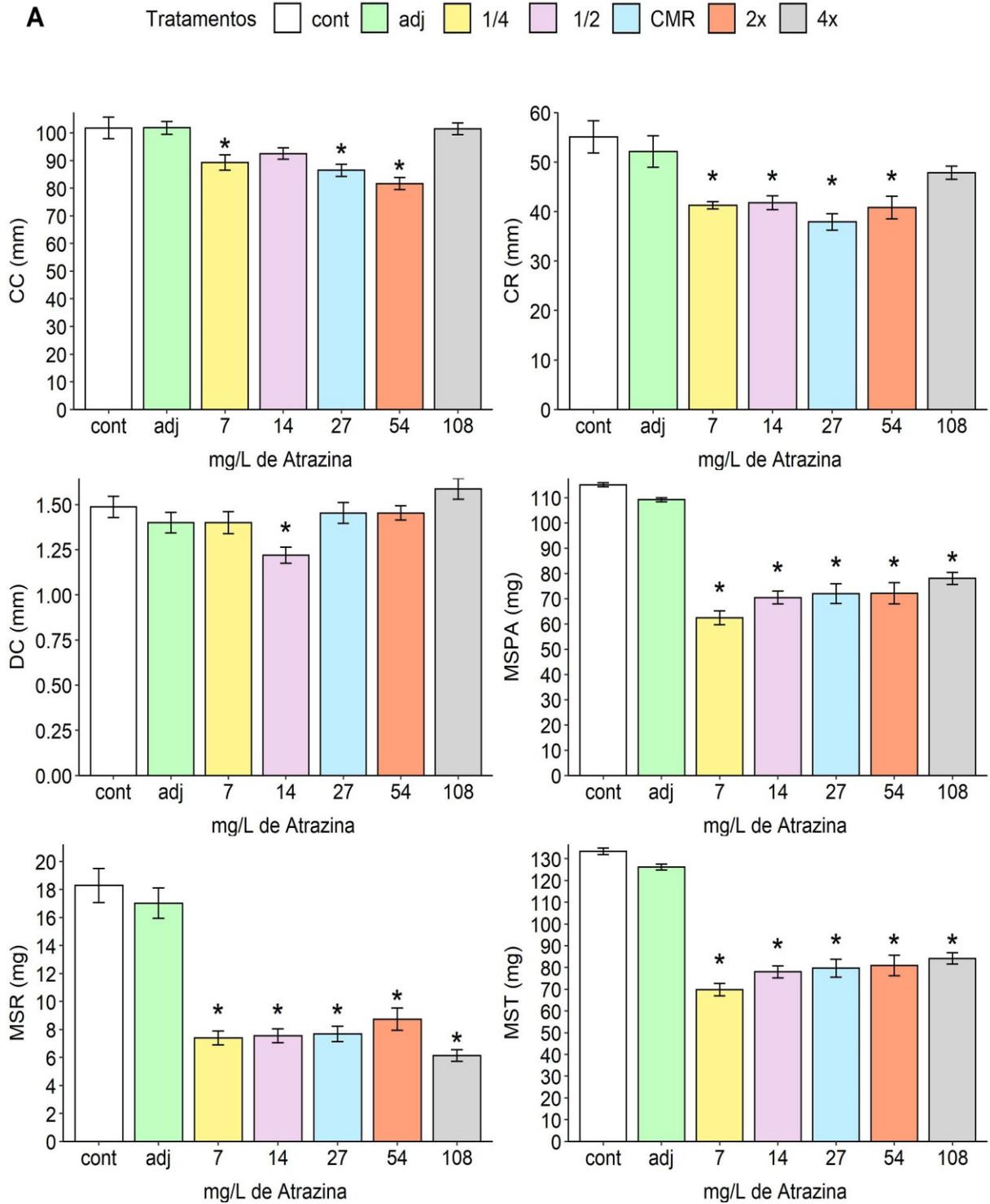
Os resultados para as variáveis MSPA, MSR e MST mostraram influência negativa na massa das plântulas provocada pelas concentrações de atrazina, afetando o crescimento de *H. petraeum*. As médias do controle para essas variáveis foram de 115 mg para MSPA, 18,2 mg para MSR e 133,3 mg para MST. Ressalta-se que não houve diferença estatística entre os controles e o adjuvante. Contudo, as relações entre os controles e as concentrações (7, 14, 27, 54, 108 mg/L) foram significativas. Seguindo a ordem das concentrações, as médias e o percentual de redução da massa para os tratamentos em comparação ao controle de MSPA, MSR e MST foram respectivamente: MSPA (62,4, 70,4, 71,9, 72,1 e 78 mg) e (45,7%, 38,7%, 37,4%, 37,3% e 32,1%), MSR (7,3, 7,5, 7,6, 8,7 e 6,1 mg) e (59,5%, 58,7%, 58%, 52,2% e 66,4%) e MST (69,7, 77,9, 79,6, 80,8 e 84,1 mg) e (47,6%, 41,5%, 40,2%, 39,3% e 41,5%) (**Fig.13A**).

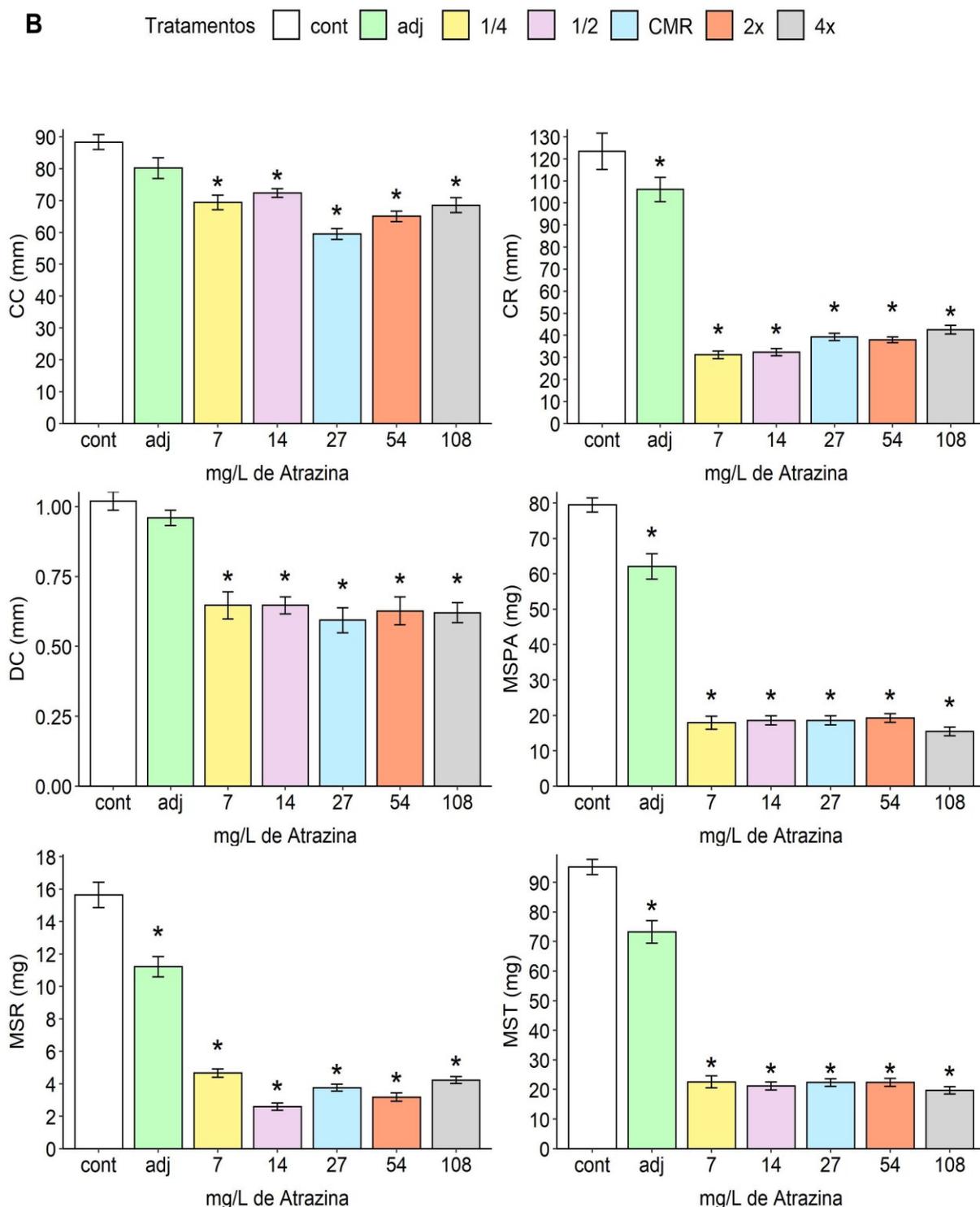
Sobre a ação das concentrações de atrazina em *E. schomburgkii* as variáveis CC, CR e DC mostraram reduções significativas em comparação aos controles. As médias do controle para essas variáveis foram de 88,3 mm no CC, 123,4 mm no CR e 1mm no DC. O tratamento com adjuvante mostrou diferença frente ao controle para a variável CR. Quando comparadas ao tratamento controle, as concentrações

de (7, 14, 27, 54 e 108 mg/L) diferenciaram significativamente pelo teste estatístico. Seguindo a ordem das concentrações, as médias e o percentual de redução no comprimento para os tratamentos em comparação com o controle nas variáveis CC, CR e DC foram respectivamente: CC (69,3, 72,3, 59,4, 65 e 68,5 mm) e (21,4%, 18%, 32,6%, 26,3% e 22,3%), CR (31,1, 32,2, 39,2, 37,9 e 32,2 mm) e (74,7%, 73,8%, 68,2%, 69,2% e 65,5%) e DC (0,64, 0,64, 0,59, 0,62, e 0,62 mm) e (36,6%, 36,6%, 41,8%, 38,5% e 39,2%) (**Fig.13B**).

Em relação as variáveis MSPA, MSR e MST, a atrazina se mostra potencialmente severa, sendo observadas as diminuições de massa de forma significativa em todas as concentrações utilizadas no protocolo experimental. As médias para o tratamento controle nessas variáveis foram de 79,4 mg na MSPA, 15,6 mg na MSR e 95,1 mg na MST. O tratamento com adjuvante obteve média de 62 mg na MSPA, 11,2 mg na MSR e 73,2 mg para MST, mostrando variância significativa estatisticamente comparado ao controle para essas variáveis. Nas concentrações de (7, 14, 27, 54 e 108 mg/L) a MSPA, MSR e MST mostraram redução em comparação ao controle. Prosseguindo na mesma ordem das concentrações, os valores médios obtidos e o percentual de redução para cada um dos tratamentos em comparação ao controle foram respectivamente: MSPA (17,9, 18,5, 18,5, 19,2 e 15,4 mg) e (77,4%, 76,6%, 76,6%, 75,8% e 80,5%), MSR (4,6, 2,5, 3,7, 3,1 e 4,2 mg) e (70,1%, 83,4%, 75,9%, 79,7% e 72,9%) e MST (22,5, 21,1, 22,3, 22,3 e 19,6 mg) e (76,2%, 77,7%, 76,5%, 76,4% e 79,3%) (**Fig.13B**).

**Figura 13:** Efeito da atrazina sobre variáveis de crescimento das plântulas de (A) *Hymenolobium petraeum* e (B) *Enterolobium schomburgkii*.





Fonte: Autores (2022).

Controle (cont), Adjuvante (adj), Concentração média recomendada (CMR), Comprimento do Caule (CC), Comprimento da Raiz (CR), Diâmetro do coleto (DC), Massa da Matéria Seca da Parte área (MSPA), Massa da Matéria Seca da Raiz (MSR), Massa da Matéria Seca Total (MST). Cada barra representa o valor médio  $n=15$  e a barra de erro mostra o erro padrão. Asterisco (\*) indica diferença significativa em comparação com o controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ) de significância.

## 8.5 glifosato

Na espécie *H. petraeum* O pesticida glifosato quanto testado em diferentes concentrações afetou as variáveis de crescimento. O tratamento controle para o CC obteve média de 101,7 mm e não se mostrou estatisticamente diferente do tratamento com adjuvante que alcançou média de 101,8 mm. As concentrações de (5, 20, 40 e 80 mg/L) se mostraram diferentes estatisticamente em comparação ao controle e atingiram respectivamente médias de (89,4, 85,3, 79,3 e 79,6 mm) indicando perda de comprimento correspondente a (12%, 16,1%, 21,9% e 21,7%) respectivamente (**Fig.14A**).

No CR o tratamento controle atingiu média de 55 mm e não se diferenciou do tratamento com adjuvante que obteve média de 52 mm. As diferenças significativas em comparação ao controle foram observadas apenas nos tratamentos com as concentrações de (10 e 80 mg/L) que obtiveram as médias (38,7 e 43 mm). As reduções observadas no CR nestes dois tratamentos foram mutuamente de (29,5% e 21,8%). O tratamento controle para a variável DC atingiu média de 1,5 mm e não se diferenciou do tratamento com adjuvante que obteve média de 1,4 mm. Ademais, para o DC, apenas a concentração de 80 mg/L mostrou alteração significativa com média 1,26 mm indicando uma redução de 15,2% nessa concentração (**Fig.14A**).

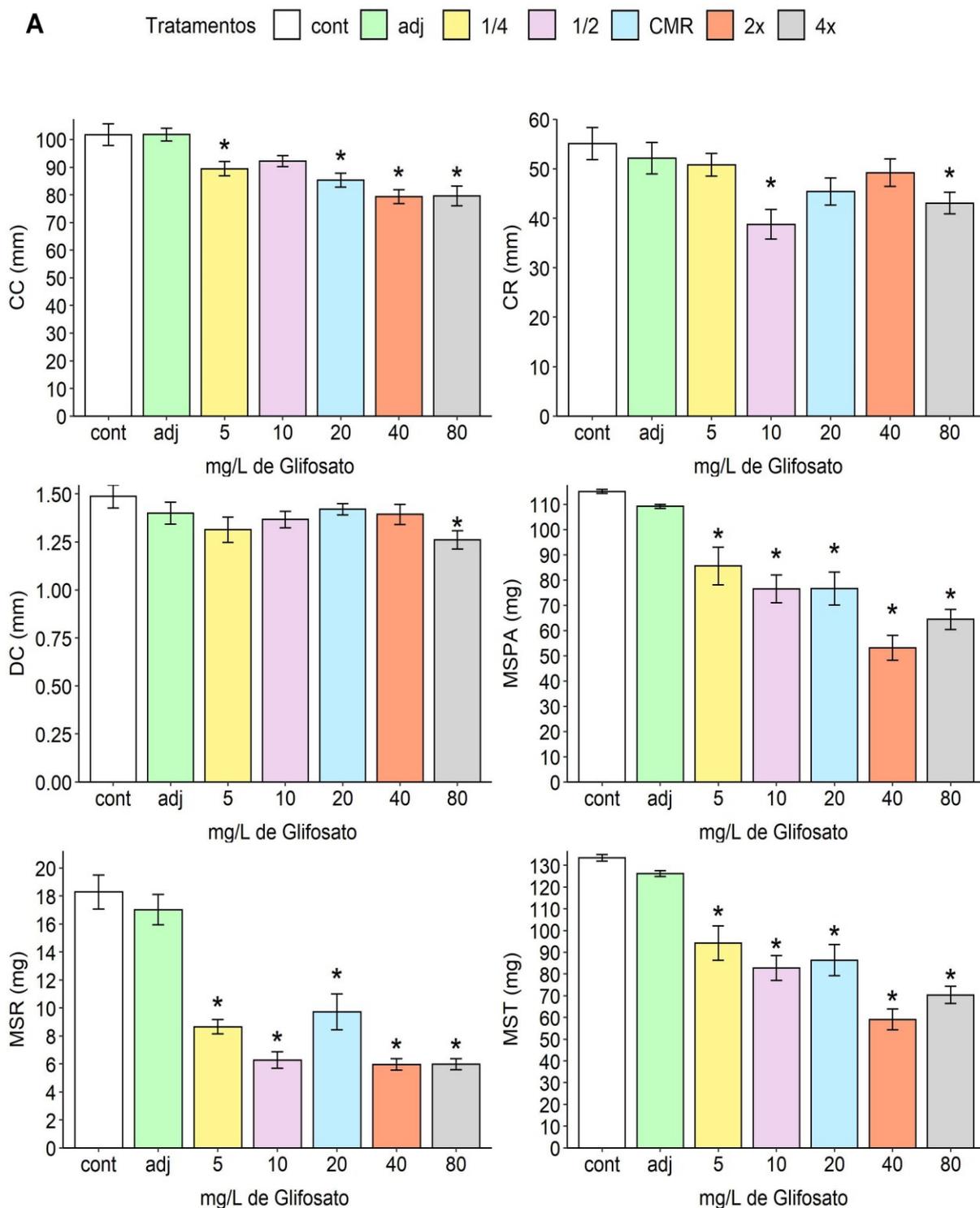
Para as variáveis MSPA, MSR e MST em *H. petraeum*, todas as concentrações apresentaram perdas significantes em relação controle. A média do tratamento controle foi de 115 mg para MSPA, 18,2 mg para MSR e 133,3 mg para MST. O tratamento com adjuvante não se mostrou significativo para essas variáveis em *H. petraeum*. No entanto, as concentrações (5, 10, 20, 40 e 80 mg/L) para essas variáveis indicaram uma forte redução no ganho de massa em comparação ao controle. Apresentando as médias na mesma sequência dos tratamentos temos para MSPA (85,5, 76,4, 76,6, 53,1 e 64,3 mg), para MSR (8,6, 6,2, 9,7, 5,9 e 5,9 mg) e para MST (94,1, 82,7, 86,3, 59 e 70,3 mg) as reduções das médias dos tratamentos confrontadas com o controle na mesma ordem foram (25,6%, 33,5%, 33,4%, 53,8% e 44%) para variável MSPA, (52,6%, 65,6%, 46,8%, 67,3% e 67,2%) para MSR e (29,3%, 37,9%, 35,2%, 55,6% e 47,2%) para MST (**Fig.14A**).

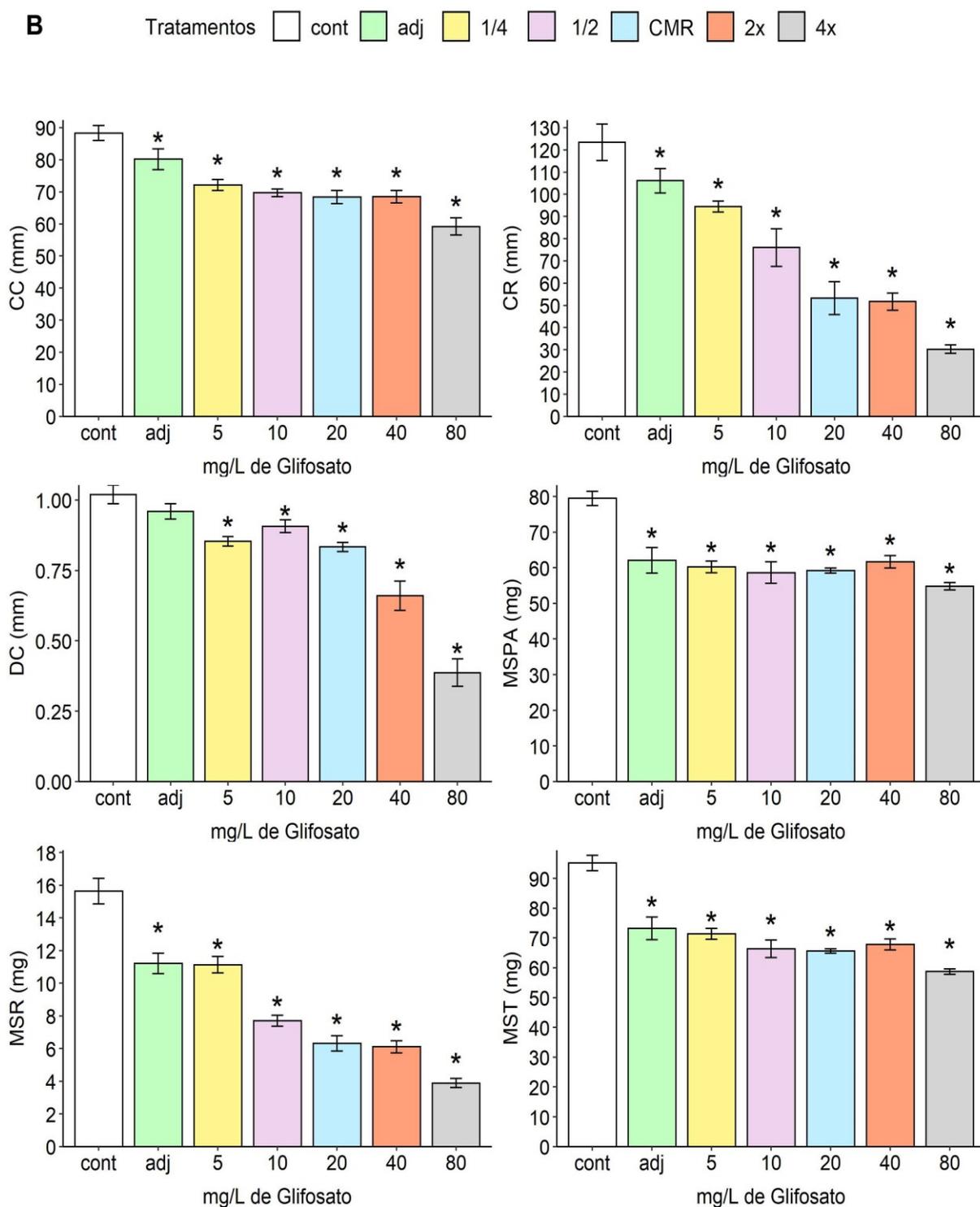
Em *E. schomburgkii* as médias para as variáveis CC e CR no tratamento controle obtiveram valores de 88,3 mm e 123,4 mm respectivamente. O tratamento com adjuvante mostrou-se diferente do controle com média de 80,1 mm para CC e

de 106 mm para CR. Os resultados mostraram que as concentrações de (5, 10, 20, 40, 80 mg/L) do pesticida glifosato provocaram a redução do comprimento apontando diferença estatísticas em todos os tratamentos para as variáveis CC, CR e DC. Prosseguindo na mesma ordem das concentrações, os valores médios obtidos e o percentual de redução para cada um dos tratamentos em comparação ao controle foram respectivamente: CC (72, 69,6, 68,3, 68,4 e 59,2 mm) e (18,3%, 21%, 22,5%, 22,4% e 32,9%), CR (94,5, 76, 53,2, 51,6 e 30,2 mm) e (23,4%, 38,4%, 56,8%, 58,1% e 75,4%) e DC (0,85, 0,90, 0,83, 0,66 e 0,38 mm) e (16,3 %, 11,1%, 18,3%, 35,2% e 62%). **(Fig.14B)**.

Para as variáveis MSPA, MSR e MST em *E. schomburgkii* todas as concentrações apresentaram perdas significantes em relação controle. A média do tratamento controle foi de 79,4 mg para MSPA, 15,6 mg para MSR e 95,3 mg para MST. Os tratamentos com adjuvante mostraram-se diferentes do controle para MSPA com média de 62 mg, para MSR com média de 11,2 mg e para MST com média de 73,2 mg. As concentrações de (5, 10, 20, 40, 80 mg/L) do pesticida glifosato provocaram a redução de massa apontando diferença estatísticas em todos os tratamentos para as variáveis MSPA, MSR e MST. Seguindo na mesma ordem das concentrações, os valores médios obtidos e o percentual de redução para cada um dos tratamentos em comparação ao controle foram respectivamente: MSPA (60,2, 58,6, 59,2, 61,6 e 54,8 mg) e (24,2%, 26,2%, 25,4%, 22,3% e 31%), MSR (11,1, 7,7, 6,3, 6,1 e 3,8 mg) e (28,8%, 50,7%, 59,5%, 60,8% e 75,1%) e MST (71,3, 66,3, 65,5, 67,8 e 58,7 mg) e (24,9%, 30,2%, 31%, 28,7% e 38,2 %) **(Fig.14B)**.

**Figura 14:** Efeito do glifosato sobre variáveis de crescimento das plântulas de (A) *Hymenolobium petraeum* e (B) *Enterolobium schomburgkii*.





Fonte: Autores (2022).

Controle (cont), Adjuvante (adj), Concentração média recomendada (CMR), Comprimento do Caule (CC), Comprimento da Raiz (CR), Diâmetro do coleto (DC), Massa da Matéria Seca da Parte área (MSPA), Massa da Matéria Seca da Raiz (MSR), Massa da Matéria Seca Total (MST). Cada barra representa o valor médio  $n=15$  e a barra de erro mostra o erro padrão. Asterisco (\*) indica diferença significativa em comparação com o controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ) de significância.

## 8.6 2,4-diclorofenoxiacético - (2,4-D)

Os resultados observados entre as concentrações de 2,4-D e variáveis de crescimento, evidenciam uma maior tolerância das plântulas de *H. petraeum*. Para o CC a média do controle atingiu 101,7 mm não variando em relação ao tratamento com adjuvante. Ainda na variável CC, é observada diferença estatística apenas nos tratamentos com as concentrações de 3, 6 e 24 mg/L em comparação ao controle, apresentando valores médios de (86,2, 81 e 86,8 mm) que correspondem a uma redução de comprimento de (15,2%, 20,3% e 14,6%) respectivamente (**Fig.15A**).

O CR obteve no controle média de 55 mm e no tratamento com adjuvante média de 52,1 mm, dessa maneira, não sendo evidenciada diferença significativa entre esses tratamentos. Por outro lado, a concentração de 6 mg/L reduziu em 20,6% o CR equiparado ao controle. Resultados semelhantes foram observados na variável DC, onde o tratamento controle atingiu média de 1,4 mm não se mostrando diferente do tratamento com adjuvante. Todavia, foi reduzido em 19,2% na concentração de 48 mg/L (**Fig.15A**).

As variáveis MSPA, MSR e MST em *H. petraeum* obtiveram médias no tratamento controle de 115 mm para MSPA, 18,2 mm para MSR e 133,3 mm para MST. Não foi observada diferenças entre o controle e tratamento com adjuvante nessas variáveis. No entanto, foram observadas diferenças significativas em comparação ao controle apenas nas concentrações de 24 e 48 mg/L para MSPA, MSR e MST. Nessa mesma ordem as médias dos tratamentos e o percentual de redução das variáveis em comparação ao controle foram (69 e 77,5 mg) e (39,9% e 32,5%) para MSPA, (7,9 e 10,1 mg) e (56,3% e 44,3%) para MSR e de (77 e 87,7 mg) e (42,1% e 34,1%) para MST (**Fig.15A**).

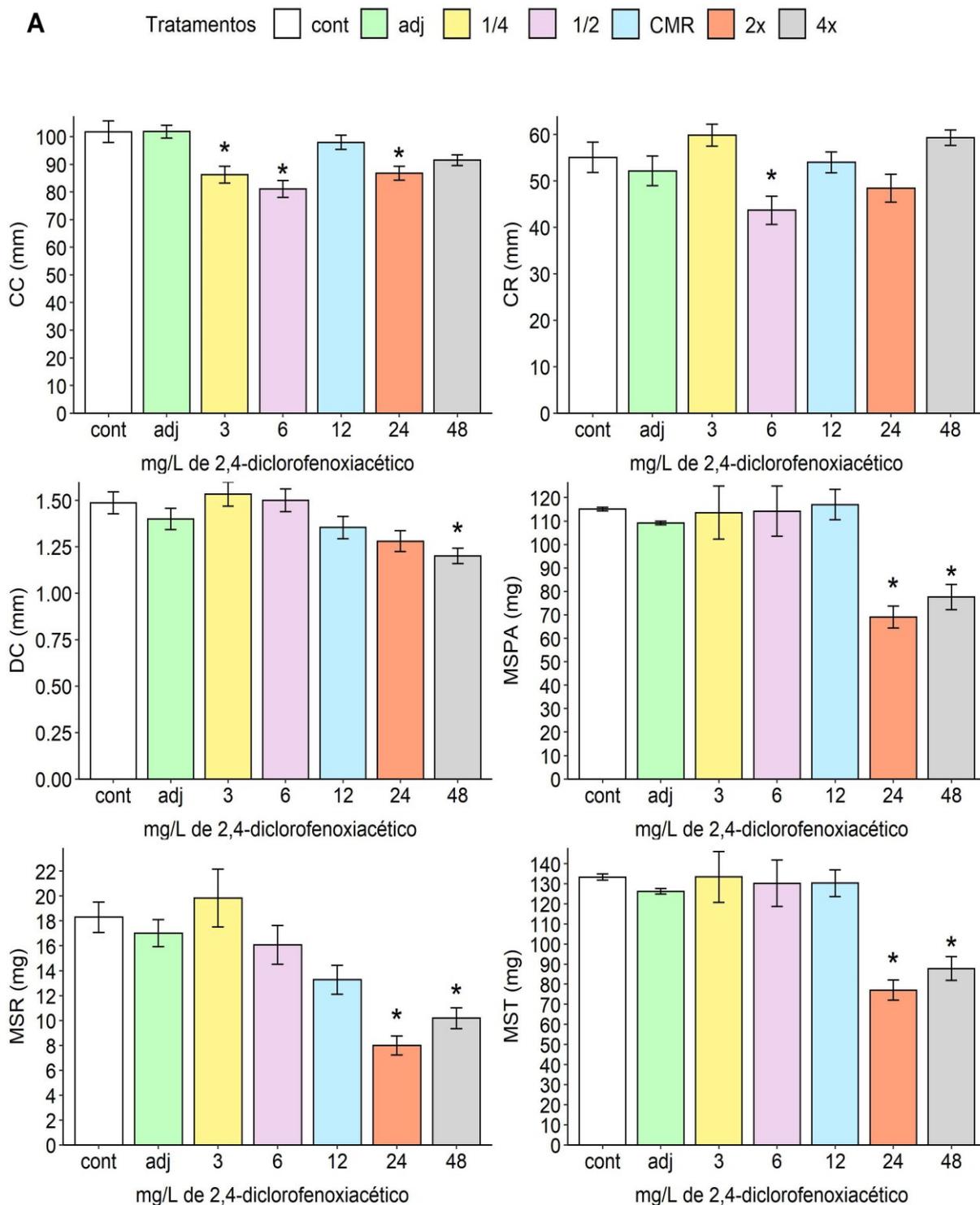
Para espécie *E. schomburgkii* o 2,4-D afetou CC. A média do tratamento controle para a variável foi 88,3 mm não diferente estatisticamente do adjuvante que alcançou em média 80,1 mm. Todavia, as concentrações de (3, 6, 12, 24, 48 mg/L) foram diferentes do controle nessa ordem com valores (65,7, 70,1, 70,2, 68,6 e 71,7 mm) que correspondem respectivamente a uma redução de (25,5%, 20,5%, 20,5%, 22,3% e 18,7%) em comparação ao controle (**Fig.15B**).

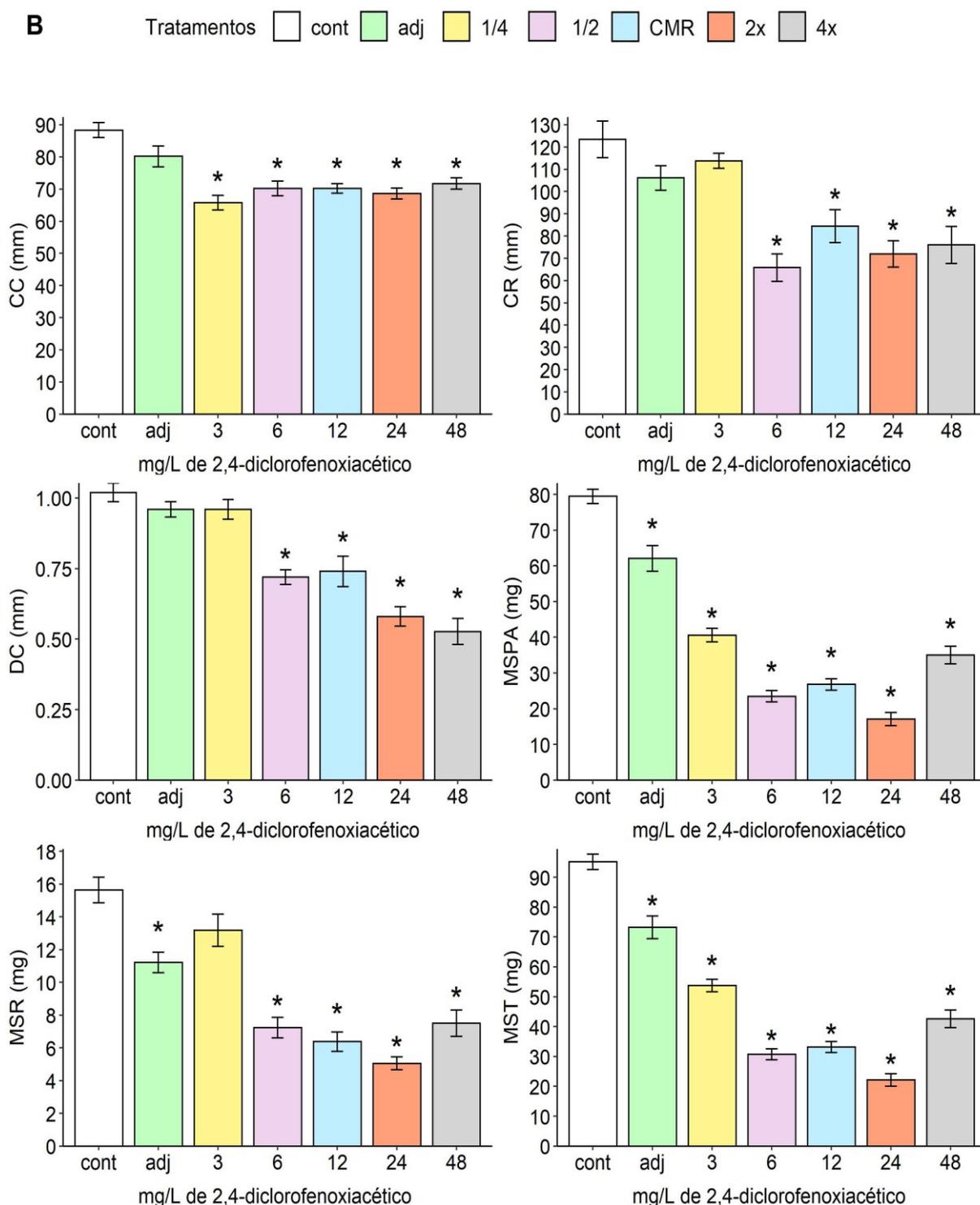
As variáveis CR e DC mostraram resultados semelhantes em relação as concentrações, os valores médios do controle para essas variáveis foram de (123,4 mm e 1mm) mutuamente não sendo observada diferença significativas em

comparação com o tratamento de adjuvante. Para CR e DC as concentrações de (6, 12, 24 e 48 mg/L) mostraram-se significativas em comparação com o controle as médias obtidas e o percentual de redução para cada tratamento nessa ordem foram respectivamente (65,8, 84,4, 71,9 e 75,9 mm) e (46,6%, 31,6%, 41,7% e 38,4%) para CR e, (0,72, 0,74, 0,58 e 0,52 mm) e (29,4%, 27,4%, 43,1% e 48,3%) para o DC (**Fig.15B**).

Para as variáveis MSPA, MSR e MST em *E. schomburgkii*, as concentrações apresentaram perdas significantes em relação controle. A média do tratamento controle foi de 79,4 mg para MSPA, 15,6 mg para MSR e 95,1 mg para MST. O tratamento com adjuvante se mostrou diferente significativamente em comparação ao controle para essas variáveis em *E. schomburgkii*. A MSPA nas concentrações de (3, 6, 12, 24, 48 mg/L) indicou redução na massa das plântulas em relação ao controle, as médias obtidas para os tratamentos e o percentual de redução para essa variável frente ao controle em ordem crescente das concentrações foram (40,6, 23,4, 26,8, 17 e 35 mg) e (48,9%, 70,4%, 66,2%, 78,5% e 55,8%). A MSR indicou diferença com o tratamento controle nas concentrações de (6, 12, 24, 48 mg/L) as médias e o percentual de redução em comparação com o controle foram respectivamente (7,2, 6,3, 5 e 7,5 mg) e (53,6%, 59,1%, 67,6% e 52%). De modo geral, esses resultados refletiram na MST que se mostrou significativamente diferente em todas as concentrações em comparação com o controle, obtendo médias e percentual de redução mesma ordem crescente das concentrações (3, 6, 12, 24, 48 mg/L) com (53,7, 30,7, 33,1, 22,1 e 42,5 mg) e (43,4%, 67,7%, 65,1%, 76,7% e 55,2%) (**Fig.15B**).

**Figura 15:** Efeito do 2,4-diclorofenoxiacético sobre variáveis de crescimento das plântulas de (A) *Hymenolobium petraeum* e (B) *Enterolobium schomburgkii*.





Fonte: Autores (2022).

Controle (cont), Adjuvante (adj), Concentração média recomendada (CMR), Comprimento do Caule (CC), Comprimento da Raiz (CR), Diâmetro do coleto (DC), Massa da Matéria Seca da Parte área (MSPA), Massa da Matéria Seca da Raiz (MSR), Massa da Matéria Seca Total (MST). Cada barra representa o valor médio  $n=15$  e a barra de erro mostra o erro padrão. Asterisco (\*) indica diferença significativa em comparação com o controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ) de significância.

## 9 DISCUSSÃO ENSAIO II

O coeficiente de correlação de Spearman apontou correlações de intensidade forte a moderada principalmente para as variáveis MSPA, MSR e MST das plantas frente as concentrações dos pesticidas estudados. Os valores estimados de CE50 descritos para o ensaio II mostraram-se mais expressivos em relação as formulações de atrazina, glifosato e 2,4D. De acordo com Roman et al. (2005), isso pode ser explicado por conta da seletividade e mecanismo de ação de cada ingrediente ativo, visto que, cada molécula possui uma característica própria (**Tab.2**). Além disso, essas três formulações são da classe herbicida, portanto, a concentração utilizada em cada formulação, a susceptibilidade e tolerância em particular de cada espécie são fatores preponderantes (SILVA et al., 2012).

O estágio de desenvolvimento das plantas e suas características são fatores importantes na atuação de cada pesticida. A cipermetrina é um inseticida de contato e ingestão, não sendo utilizado especificamente no controle de plantas daninhas. Em relação aos principais efeitos evidenciados nas variáveis para a formulação de cipermetrina podemos apontar a relação pesticida-solo. O coeficiente de correlação de Spearman apontou relações negativas, porém de fraca intensidade para espécie *H. petraeum*. Por outro lado, a espécie *E. schomburgkii* obteve valores de correlação forte em relação aos marcadores MSPA, MSR e MST constatando a perda de massa observada na (**Fig.12A e Fig.12B**).

O solo é constituído de diferentes tipos de partículas e componentes, sendo assim, solos com altos teores de matéria orgânica e/ou argila têm alta capacidade adsorptiva. O esgotamento da capacidade adsorptiva do solo, permite que as moléculas se tornem disponível para absorção pelas plantas. (Roman et al., 2005). As condições do ambiente e adsorção das moléculas principalmente dos herbicidas no solo é um fator preponderante para eficiência (VIEIRA et al., 1999). Portanto, é possível inferir que neste experimento realizado em substrato de origem orgânica que os componentes de maior peso molecular como a cipermetrina (**Tab.2**), pudessem estar mais ou menos biodisponíveis pelas plantas organismos-teste. Além disso, esse pesticida não pertence a classe herbicida, sendo as plantas organismos não-alvo. Dessa maneira, a curto prazo, não exhibe injurias aparentes e, dependendo da interação e do metabolismo das plantas a parte aérea e a raiz podem ser afetadas

em proporções diferentes. De acordo com Bragança et al. (2018) inseticidas podem atingir tecidos vegetais quando aplicados, afetando a sobrevivência e desenvolvimento normal das plantas, e ainda, seus resíduos podem se espalhar ao longo da cadeia alimentar prejudicando outros organismos.

As concentrações da formulação de atrazina mostraram efeitos negativos no crescimento das plantas de forma mais severa em relação a massa da matéria seca. **(Fig.13A e Fig.13B)**. A atrazina é um composto seletivo de ação sistêmica que pode ser aplicado na pré ou pós emergência das plantas. Sua ação consiste na inibição do fotosistema II, interferindo no fluxo de elétrons para o fotosistema I nos cloroplastos. Dessa maneira, não ocorre a transferência de elétrons provenientes da captação de energia solar, sobrecarregando as clorofilas e resultando na produção de radicais livres que atuam desencadeando a peroxidação de lipídios de membrana, provocando clorose e necrose dos tecidos (MARCHI et al., 2008; AGOSTINETTO et al., 2016). Com base nessas informações, é possível que a ação sistêmica da atrazina tenha induzido a produção de radicais livres que dificultaram a troca metabólica entre a parte aérea e raiz, assim, impedindo o redirecionamento da sacarose produzida a partir da fotossíntese para as raízes, conseqüentemente diminuindo a massa celular e dificultando o crescimento, uma vez que os açúcares podem impedir alterações estruturais nas proteínas solúveis, manter o equilíbrio osmótico nas células vegetais e proteger a integridade da membrana (BAKI et al., 2000). Ademais, deve ser levado em consideração a seletividade dos inibidores do FSII baseada nas taxas de metabolização, visto que algumas espécies não conseguem transformar a molécula desses pesticidas em formas não tóxicas (EMBRAPA, 2008). Os resultados observados mostraram que as concentrações da atrazina atuaram severamente na redução das variáveis, principalmente em relação a MSPA, MSR e MST, indicando que as espécies estudadas não foram eficientes em decompor ou metabolizar a molécula do pesticida antes de sua ação.

As concentrações da formulação de glifosato afetaram e inibiram o crescimento das plantas. Foram observadas reduções no CC, CR e DC, e principalmente na massa da matéria seca nas duas espécies estudadas. Os resultados indicam que *E. schomburgkii* foi mais sensível que *H. petraeum* à ação das concentrações **(Fig.14A e Fig.14B)**. O glifosato é um herbicida que não apresenta seletividade, possuindo variação na quantidade volumétrica a ser aplicado para o controle de determinadas culturas, desta forma, o volume final a ser utilizado

tem ação específica sobre os organismos vegetais (ROMAN et al., 2005). Sua absorção se dá através da parte clorofilada das plantas (folhas e tecidos verdes), de onde é transportado pelo floema e tende a se acumular nas regiões meristemáticas como rizomas e meristemas apicais (GALLI; MONTEZUMA. 2005). Seu mecanismo de ação consiste na inibição enzimas específicas, como a enolpiruvil shikimato-3-fosfato sintase (EPSP) provocando a diminuição de aminoácidos aromáticos e compostos fenólicos secundários, assim, atua como inibidor na organogênese, impedindo a diferenciação das raízes (NAGATA et al., 2000, OLIVEIRA JUNIOR et al., 2011), dessa maneira, explicando as reduções nas variáveis CC, CR e DC. Além disso, diversos autores relatam efeitos inibitórios do glifosato no comprimento das plântulas, parte aérea e raiz, além de inibição a emissão de raízes secundárias (MIRANDA, 2004; BERTAGNOLLI, 2005 e BERVALD et al. 2010). Por outro lado, os resultados observados ligados a perda de massa, na parte aérea e da raiz podem ser justificadas pelo fato desta substância ser um herbicida não seletivo e sistêmico ligado a imobilização de nutrientes nas plantas, que pode atuar sobre a taxa fotossintética (BERNANDS, 2005; OLIVEIRA et al., 2016). A atuação mais expressiva das concentrações do glifosato em *E. schomburgkii* está relacionado sua sensibilidade, tanto a perda de comprimento quanto o aumento das medidas em raízes podem estar relacionadas a sensibilidade ao glifosato, espécies tolerantes ao pesticida não apresentam variações relevantes comparando com aquelas que são sensíveis (PEREIRA et al., 2009; ZONETTI et al., 2011).

Os resultados nesse estudo corroboram com os observados Rusin et al. (2017) em teste de toxicidade com glifosato em mudas de pessegueiro, onde foi observada diferença estatística para as variáveis comprimento da parte aérea e massa seca de raiz. Além disso, no estudo de Rusin et al. (2017), o efeito negativo do herbicida foi visualizado principalmente na diminuição da massa seca da raiz.

Em relação as concentrações de 2,4-D *H. petraeum* mostrou-se mais tolerante, as principais mudanças foram observadas apenas nas maiores concentrações. Por outro lado, *E. schomburgkii* foi mais sensível a ação do pesticida, sendo os efeitos mais severos observados nas variáveis.

O mecanismo de ação do 2,4-D envolve o metabolismo dos ácidos nucleicos e a plasticidade da parede celular. Em baixas concentrações o 2,4-D pode induzir aumentos subsequentes de RNA e DNA. Aumentos desses ácidos levam a alterações nos níveis dos hormônios auxinas e giberelinas, sendo estes

responsáveis pelo alongamento celular acelerado e desordenado nas novas parte da planta, ativando as atividades metabólicas em excesso. Em contrapartida concentrações mais altas inibem a divisão celular e o crescimento geralmente em regiões meristemáticas (SENSEMAN, 2007). A diminuição de medida e massa das plantas pode ser resultante da ação inibitória da fotossíntese realizada pelo herbicida. Em concentrações baixas o 2,4-D pode causar intoxicações leves e temporárias nas plântulas, enquanto que, em maiores concentrações, promove redução no crescimento caracterizado pela redução das variáveis relacionadas às folhas e conseqüentemente à massa seca total das plantas (TAVARES et al., 2017). Contudo, não se deve descartar os efeitos de plasticidade, especificidade e variabilidade de cada organismo-teste, visto que o 2,4-D possui formulações a base de amina e éster que são muito utilizadas no controle de plantas (JUNIOR, 2002).

Em espécies florestais, aplicações de glifosato acima de 180 g ha<sup>-1</sup> e 2,4-D, isolados ou em mistura, mostrou prejudicar o desenvolvimento inicial de plantas de *Schilozobium amazonicum* e *Ceiba pentandra* como observado por Yamashita et al. (2009). Os resultados obtidos neste estudo revelaram que a aplicação de diferentes concentrações de pesticidas, principalmente as maiores, provocaram efeitos severos e inibitórios nas variáveis medidas tanto para *Hymenolobium petraeum* quanto *Enterolobium schomburgkii*. Relações semelhantes de respostas em plantas expostas a pesticidas já foram observadas por Siddiqui e Ahmed (2006). A redução na produção de biomassa, desenvolvimento da parte aérea e produção do eixo radicular por pesticidas já foi observada por Montfort et al. (1996) sob exposição aos pesticidas triadimenol e triticonazol e por Shakir et al. (2015) sob exposição aos pesticidas emamectin benzoate, alpha-cypermethrin, lambda-cyhalothrin e Imidacloprid.

Diversas são as explicações sugeridas para esses efeitos adversos em culturas não-alvo. Os pesticidas podem inibir processos fisiológicos como a germinação e o crescimento de plantas, influenciar nos processos de divisão, alongamento e alargamento celular além de diferenciação dos tecidos (AKOBUNDU, 1987; SHAKIR et al., 2015), e ainda, a acumulação de pesticidas no solo pode prejudicar o desenvolvimento das plantas por fitotoxicidade (SHABALA, 2010).

A presença de partículas dos pesticidas no solo pode diminuir o crescimento e o rendimento de vegetais afetando a microflora benéfica do solo. Alguns compostos promovem rapidamente o esgotamento da capacidade adsortiva do solo

e podem afetar o crescimento e desenvolvimento das plantas por meio da interrupção da relação solo-água-plantas (MISRA e MANI 1994; MARTINS et al., 2020).

Outros fatores propiciados pela ação dos pesticidas também podem contribuir na inibição do crescimento das plantas, por exemplo, o aumento do vazamento de eletrólitos e a redução de hidroxil fenil piruvato desidrogenase que desempenha um papel vital no crescimento e desenvolvimento meristemático (LUSCOMBE et al. 1995; PARWEEN et al. 2011; YILDIZTEKIN et al. 2015).

## 10 CONCLUSÃO

No ensaio I as concentrações testadas principalmente em relação aos herbicidas atrazina, glifosato e 2,4D mostram efeitos inibitórios no IVG, G (%) e MF (%) das sementes. Os valores de CE50 foram estabelecidos para a formulação de glifosato em *Hymenolobium petraeum* e para a formulação de 2,4-D em ambos os organismos-teste. O 2,4-D revelou-se como o pesticida de ação mais severa nos parâmetros germinativos, sendo *Hymenolobium petraeum* mais sensível que *Enterolobium schomburgkii* nesta etapa.

No ensaio II as variáveis de crescimento possibilitaram visualizar ação das formulações em diferentes concentrações. Foram estabelecidas as CE50 para atrazina, glifosato e 2,4-D em ambos os organismos-testes. Tanto *Hymenolobium petraeum* quanto *Enterolobium schomburgkii* sofreram inibição pela ação dos pesticidas, com destaque na perda de massa de matéria seca. Contudo, no ensaio II *Enterolobium schomburgkii* mostrou-se mais sensível a ação das concentrações dos pesticidas estudados.

As variáveis avaliadas permitiram visualizar os efeitos provocados pelos pesticidas em espécies não-alvo, demonstrado em alguns casos, que concentrações subletais e acima do recomendado pelos fabricantes interferem na germinação e crescimento inicial dessas espécies em laboratório. É importante ressaltar a importância da realização de mais estudos ecotoxicológicos avaliando outras variáveis em espécies florestais nativas, visto que dessa maneira, pode ser possível compreender como os pesticidas estão afetando os organismos em diversas escalas

e, até que ponto isso pode ser influente na ecologia e na dispersão desses organismos.

**Nota:** Agradecemos a ONG Brigada De Amigos Defensores Da Ecologia E Dos Recursos Naturais Da Amazonia – BADERNA, por toda ajuda no decorrer do projeto, principalmente na coleta e identificação do material utilizado em pesquisa. Agradecemos também à Fundação Amazônia de Amparo a Estudos e Pesquisas- FAPESPA pela concessão bolsa de estudos.

## 11 REFERÊNCIAS

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Listas de ingredientes ativos com uso autorizado e banidos no Brasil. **Anvisa**, 2020. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/>. Acessado em set./2020.

AKOBUNDU, I. O. **Weed science in the tropics. Principles and practices**. John Wiley, 1987.

MOTA, Diego Azevedo; DE ARAÚJO, Katharine Vinholte; DOBBS, Leonardo Barros. Escarificação Ácida Na Superação De Dormência De *Enterolobium schomburgkii*. **AGRI-ENVIRONMENTAL SCIENCES**, v. 4, n. 2, p. 16-23, 2018.

ANDRADE, Rui Miguel Sanches Linhares de. **Efeitos da exposição de peixe zebra, *Danio rerio*, a um efluente têxtil**. 2004. 100f. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aplicada) - Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Porto, 2004.

BAKI, GK Abd-El *et al.* Nitrate reductase in *Zea mays* L. under salinity. **Plant, Cell & Environment**, v. 23, n. 5, p. 515-521, 2000.

AGOSTINETTO, D. *et al.* Changes in photosynthesis and oxidative stress in wheat plants submitted to herbicides application. **Planta Daninha**, v. 34, p. 01-09, 2016.

ARAÚJO, Esmeralda Pereira de. **Efeitos da deriva de agrotóxicos oriunda de atividade agrícola no município de Rio Sono (TO) e avaliação da legislação quanto à deriva dessas substâncias para a flora de áreas protegidas de imóveis rurais**. 2018. 85f. Dissertação. (Mestrado em Biodiversidade, Ecologia e Conservação) – Faculdade federal do Tocantins, Porto Nacional – Tocantins, 2018.

ARAÚJO NETO, João C.; AGUIAR, Ivor B.; FERREIRA, Vilma M. Efeito da temperatura e da luz na germinação de sementes de *Acacia polyphylla* DC. **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo, v.26, n.2, p.249-256, 2003.

ALLEN, O.N., ALLEN, E.K. **The leguminosae**. A source book of characteristics, uses and nodulation. University of Wisconsin Press, Wisconsin. 1981.

BRAGANÇA, Idalina *et al.* Ecotoxicological effects of insecticides in plants assessed by germination and other phytotoxicity tools. In: **Biotic and abiotic stress tolerance in plants**. Springer, Singapore, 2018. p. 47-76.

BERTAGNOLLI, Carla Medianeira. **Deteção e quantificação de sementes de soja geneticamente modificada resistente ao glifosato em sistema hidropônico**. 2005. 73f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes) – Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2005.

Banco de dados de propriedades de pesticidas (BDPP). **University of Hertfordshire**, 2021. Disponível em: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/>.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes /Ministério da Agricultura,Pecuária e Abastecimento. **Secretaria de Defesa Agropecuária**. – Brasília: Mapa/ACS, 399 p. 2009.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**- MAPA. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/informacoes-tecnicas>. Acessado em set./2020.

BELDEN, J. Introduction to ecotoxicology. In: **An Introduction to Interdisciplinary Toxicology**. Academic Press, 2020. p. 381-393. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128136027000284>.

BERINGER, Juliana; MACIEL, Fábio Luis; TRAMONTINA, Francine Fioravanso. O declínio populacional das abelhas: causas, potenciais soluções e perspectivas futuras. **Revista Eletrônica Científica Da UERGS**, v. 5, n. 1, p. 18-27, 2019.

BELCHIOR, Diana Cléssia Vieira *et al.* Impactos de agrotóxicos sobre o meio ambiente e a saúde humana. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 34, n. 1, p. 135-151, 2017.

BORSOI, Augustinho *et al.* Agrotóxicos: histórico, atualidades e meio ambiente. **Acta Iguazu**, v. 3, n. 1, p. 86-100, 2014.

BRAGA, L. F.; SOUSA, M. P.; ALMEIDA, T. A. Germinação de sementes de *Enterolobium schomburgkii* (Benth.) Benth. submetidas a estresse salino e aplicação de poliamina. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 1, p. 63-70, 2009.

BOUTIN, Céline; WHITE, Andrea L.; CARPENTER, David. Measuring variability in phytotoxicity testing using crop and wild plant species. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 29, n. 2, p. 327-337, 2010.

BOUTIN, Céline *et al.* Herbicide impact on non-target plant reproduction: What are the toxicological and ecological implications? **Environmental Pollution**, v. 185, p. 295-306, 2014.

BOUTIN, C. **Herbicides**: non-target species effect. In: Jorgensen, S.E. (Ed.), *Encyclopedia of Environmental Management*, vol II. Taylor and Francis, New York, pp. 1406e1417. 2013.

BLACQUIERE, Tjeerd *et al.* Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. **Ecotoxicology**, v. 21, n. 4, p. 973-992, 2012.

BIBI, A. *et al.* Screening of sorghum (*Sorghum bicolor* var Moench) for drought tolerance at seedling stage in polyethylene glycol. **J. Anim. Plant Sci**, v. 22, n. 3, p. 671-678, 2012.

BAIG, Sajjad Ahmad *et al.* Imidacloprid residues in vegetables, soil and water in the southern Punjab, Pakistan. **Journal of Agricultural Technology**, v. 8, n. 3, p. 903-916, 2012.

BRANCALION, Pedro Henrique Santin; NOVENBRE, Ana Dionísia Da Luz Coelho; RODRIGUES, Ricardo Ribeiro. Temperatura ótima de germinação de sementes de espécies arbóreas brasileiras. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 4, p. 15-21, 2010.

BERNARDS, Mark L.; THELEN, Kurt D.; PENNER, Donald. Glyphosate efficacy is antagonized by manganese. **Weed Technology**, Lacombe, v. 19, n. 1, p. 27-34, 2005.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas**: noções básicas. Jaboticabal: FUNEP, p. 42, 2003.

BERVALD, Clauber Mateus Priebe *et al.* Desempenho fisiológico de sementes de soja de cultivares convencional e transgênica submetidas ao glifosato. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, p. 09-18, 2010.

COUTINHO, Cláudia FB; MAZO, Luiz Henrique. Complexos metálicos com o herbicida glifosato: revisão. **Química Nova**, v. 28, p. 1038-1045, 2005.

CRUZ, E. D.; PEREIRA, A. G. Germinação de sementes de espécies amazônicas: angelim-vermelho (*Dinizia excelsa* Ducke). **Embrapa Amazônia Oriental- Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2015.

CALVI, Geângelo Petene; FERRAZ, Isolde Dorothea Kossmann. Levantamento das espécies florestais de interesse econômico e o cenário da produção de sementes e mudas na Amazônia Ocidental. **Informativo Abrates**, v. 24, n. 2, p. 24-75, 2014.

CAMARGO, Flora Ferreira *et al.* Variabilidade genética para caracteres morfométricos de matrizes de castanha-do-brasil da Amazônia Mato-grossense. **Acta Amazonica**, v. 40, p. 705-710, 2010.

COSTA, Carla Regina *et al.* A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

CUNHA, João Paulo Arantes Rodrigues da. Simulação da deriva de agrotóxicos em diferentes condições de pulverização. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.5, 2008.

COPATTI, Carlos Eduardo; GARCIA, Luciano de Oliveira; BALDISSEROTTO, Bernardo. Uma importante revisão sobre o impacto de agroquímicos da cultura de arroz em peixes. **Biota Neotropica**, v. 9, n. 4, p. 235-242, 2009.

CAETANO, M. S. **Análise das estruturas nativa e mutante GLI96ALA da 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase via ancoramento molecular *in silico* com inibidores e estudo mecanístico**. 2009, 116f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) –Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2009.

COSTA, Carla Regina *et al.* toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de Avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820- 1830, 2008.

CERDEIRA, Antonio L.; DUKE, Stephen O. The current status and environmental impacts of glyphosate-resistant crops: A review. **Journal Environmental Quality**, Madison, v. 35, n. 5, p. 1633-1658, 2006.

DEREUMEAUX, Clémentine *et al.* Pesticide exposures for residents living close to agricultural lands: A review. **Environment international**, v. 134, p. 105210, 2020.

DE MORAES, Rodrigo Fracalossi. **Agrotóxicos no Brasil: Padrões de uso, política da regulação e prevenção da captura regulatória**. Texto para Discussão, 2019.

OLIVEIRA, Jakson Domingos de *et al.* Métodos para detecção de fungos e assepsia de sementes de *Schizolobium amazonicum* (Caesalpinioideae). **Bioscience Journal**, v. 28, n. 6, 2012.

DE JONG, Frank MW; DE SNOO, Geert R.; VAN DE ZANDE, Jan C. Estimated nationwide effects of pesticide spray drift on terrestrial habitats in the Netherlands. **Journal of Environmental Management**, v. 86, n. 4, p. 721-730, 2008.

DO NASCIMENTO KIELSE, Paula Vargas; FRANCO, Elci Terezinha Henz; FRASSETTO, Eduardo Garcia. Desinfestação e Germinação *in vitro* de Sementes de *Parapiptadenia rigida* Bentham (Brenam). **Revista brasileira de Biociências**, v. 5, n. S2, p. 141-143, 2007.

SILVA, Joelmir Marques da; SANTOS, Josilane Rodrigues dos. Toxicologia de agrotóxicos em ambientes aquáticos. **Oecologia brasiliensis**, v. 11, n. 4, p. 565-573, 2007.

DUARTE, M. Normas gerais sobre o uso de agrotóxicos. **Embrapa Amazônia Oriental-Capítulo em livro técnico (INFOTECA-E)**, 2004.

DOBSIKOVA, Radka. Acute toxicity of carbofuran to selected species of aquatic and terrestrial organisms. **Plant Protect Sci.** v.39, n.3, p.103–108, 2003.

DISCHE, Zacharias. General color reactions. **Methods in carbohydrate chemistry**, v. 1, p. 478-512, 1962.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Herbicidas: mecanismos de ação e uso**. Embrapa Cerrados. Planaltina-DF, Documentos 227. ISSN 1517-5111, 2008.

FARIAS, Clóvis A. *et al.* Inibição de germinação de sementes de trigo e milho em teste de sanidade em substrato de papel. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 9, n.2, p. 141-144, 2003.

**FLORA DO BRASIL 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> . Acessado em: fev./ 2021.

FRAGA, William G. *et al.* Identificação dos principais ingredientes ativos em agrotóxicos ilegais apreendidos pela polícia federal do Brasil e quantificação do mestufurom-metilico e tebuconazol. **Revista Virtual Quím**, v.8, n.3, p.561-575, 2016.

FRYDAY, Steve; TIEDE, Karen; STEIN, Jonathan. Scientific services to support EFSA systematic reviews: **lot 5 systematic literature review on the neonicotinoids (namely active substances clothianidin, thiamethoxam and imidacloprid) and the risks to bees** (Tender specifications RC/EFSA/PRAS/2013/03): final report. EFSA Supporting Publication, v. 12, n. 2, EN-756, 2015.

FAIRBROTHER, Anne *et al.* Risks of neonicotinoid insecticides to honeybees. **Environmental, Toxicology and Chemistry**, v. 33, n. 4, p. 719-731, 2014.

FRIED, Guillaume *et al.* Arable weed decline in Northern France: crop edges as refugia for weed conservation?. **Biological Conservation**, v. 142, n. 1, p. 238-243, 2009.

FERREIRA, Gracialda Costa; HOPKINS, Michael John Gilbert; SECCO, Ricardo de S. Contribuição ao conhecimento morfológico das espécies de leguminosae comercializadas no estado do Pará, como "angelim". **Acta Amazonica**, v. 34, p. 219-232, 2004.

FERREIRA, Gracialda Costa; HOPKINGS, Michael JG. **Manual de identificação botânica e anatômica-angelim**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 101p., 2004.

GUERRA, Maria Elane de Carvalho; MEDEIROS FILHO, Sebastião; GALLÃO, Maria Izabel. Morfologia de sementes, de plântulas e da germinação de *Copaifera langsdorffii* Desf. (LeguminosaeCaesalpinioideae). **Cerne**, v.12, n.4, p.322-328, 2006.

GALLI, A. J. B.; MONTEZUMA, M. C. **Alguns aspectos do uso do glifosato na agricultura**. 1 ed. São Paulo. Acadcom. 2005. p. 12-49.

HARMEL, V. C. **Padronização de um Teste de Toxicidade Crônica com a Bactéria Luminescente *Vibrio fischeri* para Análise da Qualidade de Águas Superficiais**. 2004. 100f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Regional de Blumenau, Santa Catarina, 2004.

HODGSON, E. **A Textbook of Modern Toxicology**; Hodgson, E., (ed.); 3rd ed., John Wiley & Sons: New Jersey, cap. 1, 2004.

HANLEY, M. E.; WHITING, M. D. Insecticides and arable weeds: effects on germination and seedling growth. **Ecotoxicology**, v. 14, n. 4, p. 483-490, 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. **Relatórios de Comercialização de Agrotóxicos**. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>. Acessado em set./2020.

INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS - IBAMA. **Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 2009 no Brasil: uma abordagem ambiental**. Brasília, Brasil, 2010.

JOSÉ, Solange Carvalho Barrios Roveri *et al.* Padrões eletroforéticos da enzima alfa-amilase em sementes de milho submetidas a alta temperatura de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 26, p. 77-83, 2004.

AMARANTE JUNIOR, O. P. *et al.* Revisão das propriedades, usos e legislação do ácido 2, 4-Diclorofenoxiacético (2, 4-D). **Cadernos de Pesquisa**, v. 13, n. 1, p. 60-70, 2002.

KEFFER, Josiane Fernandes *et al.* Efeito de retardantes de fogo sobre a germinação de espécies florestais tropicais. **Ciência Florestal**, v. 31, p. 725-748, 2021.

LAZZARETTI, Giuvana *et al.* Impacto de diferentes sistemas agrícolas e florestal na qualidade química e biológica do solo de uma propriedade rural. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 8, n. 4, p. 330-350, 2019.

LOPES, Carla Vanessa Alves; ALBUQUERQUE, Guilherme Souza Cavalcanti de. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde em debate**, v. 42, p. 518-534, 2018.

LIMA, H.C. *Hymenolobium* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB79088>. Acessado em fev./2021.

LONDRES, F. **Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida**. Rio de Janeiro: AS-PTA – Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 2011. 190p. Disponível em: <http://aspta.org.br/wp-content/uploads/2011/09/Agrotoxicos-no-Brasilmobile.pdf>.

LORENZI, H. **Arvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum. v.1, 368 p. 2002.

LORENZI, H. **Arvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum. v.3, 14 p. 2009.

LIMA, H. C. DE; CORREIA, C.M.B.; FARIAS, D. S. Leguminosae. In: M.P.M. de LIMA; R.R. Guedes-Bruni (eds). Reserva Ecológica de Macaé de Cima: Nova Friburgo-RJ: **Aspectos Florísticos das Espécies Vasculares**. Jard. Bot. do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. p.167-228, 1994.

LUSCOMBE, B. M. *et al.* **A novel herbicide for broad leaf cane and grass weed control in maize and sugar cane**. vol. 1. 1995.

LICHTENTHALER, Hartmut K. Chlorophylls and carotenoids: pigment photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v.148, p. 362-385, 1987.

LABOURIAU, L. G.; VALADARES, M. E. B. On the germination of seeds *Calotropis procera* (Ait.) Ait.f. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, RJ, v. 48, n. 2, p. 263-284, 1976.

MARTINS, Gabriel Caixeta *et al.* Assessing the most sensitive and reliable endpoints in plant growth tests to improve arsenic risk assessment. **Science of The Total Environment**, v. 708, p. 134753, 2020.

MACHADO, Andréia Q. *et al.* Potencial do uso da restrição hídrica em testes de sanidade de sementes de algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 408-414, 2007.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA. E ABASTECIMENTO (MAPA). **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT)**. 2020. Disponível em: [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: 20 de abril 2020.

MELLO, Fabiola Azevedo *et al.* Agrotóxicos: impactos ao meio ambiente e à saúde humana. In **Colloquium Vitae**, v.11, n.2, p. 37-44, 2019.

MARIA, Marina Andrada *et al.* Avaliação da concentração de efeito do glifosato para controle de *Eichhornia crassipes* e *Salvinia* sp. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 23, n. 5, p. 881-889, 2018.

MACEDO, R. C., ALMEIDA, C. M., SANTOS, J. R. Valoração ambiental e geotecnologias: integração entre ciências sociais e geociências. **Revista Brasileira de Cartografia**, v. 68, n. 2, 2016.

MONTARROYOS, A. V. V. Contaminação in vitro. **ABCTP Notícias**, v. 36, n. 37, p. 5-10, 2000.

MISRA S.G., MANI D. Adverse effects of Pesticides. In: Misra SG, Mani D (eds) **Agricultural pollution II**. Ashish Publisher, New Delhi, 1994.

MONTFORT, Françoise; KLEPPER, Betty L.; SMILEY, Richard W. Effects of two triazole seed treatments, triticonazole and triadimenol, on growth and development of wheat. **Pesticide science**, v. 46, n. 4, p. 315-322, 1996.

MURTI, C.R.K.; NAG, D. Human Health Impact of Pesticides in the Environment. In RICHARDSON, M.L. (Ed.). **Chemistry, Agriculture and the Environment**, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, p. 491-510, 1991.

MANO, M. Toxicology and Risk Assessment of Pesticides. In RICHARDSON, M.L. (Ed.). **Chemistry, Agriculture and the Environment**, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, p. 466-490, 1991.

MARCHI, Giuliano; MARCHI, Edilene Carvalho Santos; GUIMARÃES, Tadeu Gracioli. **Herbicidas: mecanismos de ação e uso**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2008. 36 p.

MESQUITA, A.L. **Revisão taxonômica do Gênero *Enterolobium* Mart. (Mimosoideae) para a região neotropical**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.1990.

MAGUIRE, James D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p.176-77, 1962.

MAGALHÃES, Danielly de Paiva *et al.* A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecol. Bras.**, Rio de Janeiro, Brasil, v.12, n.3, p. 355-381, 2008.

MIRANDA, Denise Meza de *et al.* **Bioensaios na detecção e quantificação de sementes de soja geneticamente modificada resistente ao glifosato em amostras convencionais de sementes**. 2004. 44f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Sementes) – Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2004.

NAGATA, Russell T. *et al.* Evaluation of glyphosate resistance in transgenic lettuce. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 125, n. 6, p. 669-672, 2000.

NAKAGAWA, João *et al.* Testes de vigor baseados na avaliação de plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina, PR: ABRATES, v. 1, p. 1-24, 1999.

OLIVEIRA, Ana Paula Augusta de. **Respostas fisiológicas e morfoanatômicas de *Bowdichia virgilioides* Kunth. (Fabaceae) exposta a herbicidas**. 2014. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Ecótonos) - Universidade Federal do Tocantins, Porto Nacional, TO, 2014.

OLIVEIRA, Luciene Zagalo de *et al.* Aspectos morfológicos de frutos, sementes, germinação e plântulas de *Hymenolobium petraeum*. **Ciência Rural**, v. 40, n. 8, p. 1732-1740, 2010.

OLIVEIRA, José Lucas *et al.* Usos, efeitos e potencial tóxico dos agrotóxicos na qualidade do solo. **Agrarian Academy**, v. 5, n. 09, p. 454–467, 2018.

COSTA, Carla Regina *et al.* A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química nova**, v. 31, p. 1820-1830, 2008.

PIRES, Carmen Sílvia Soares *et al.* Enfraquecimento e perda de colônias de abelhas no Brasil: há casos de CCD?. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, p. 422-442, 2016.

PUBCHEM [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004-. **PubChem Compound Summary for CID 2256, Atrazine;** Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Atrazine>. Acessado em set./2020.

PUBCHEM [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004-. **PubChem Compound Summary for CID 3496, Glyphosate.** Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Glyphosate>. Acessado em out./2020.

PUBCHEM [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004-. **PubChem Compound Summary for CID 1486, 2,4-Dichlorophenoxyaceticacid.** Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1486>. Acessado em nov./2020.

PUBCHEM [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004-. **PubChem Compound Summary for CID 2912, Cypermethrin.** Disponível em : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2912>. Acessado em nov./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.

PARWEEN, Talat *et al.* Alteration in nitrogen metabolism and plant growth during different developmental stages of green gram (*Vigna radiata* L.) in response to chlorpyrifos. **Acta physiologiae plantarum**, v. 33, n. 6, p. 2321-2328, 2011.

PEDROSO, Luana *et al.* Avaliação dos fitorreguladores auxina e giberelina na germinação e crescimento do arroz. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**, v. 19, n. 4, p. 241-245, 2016.

PINTO, Glaucia Maria Ferreira. Os pesticidas, seus riscos e movimento no meio ambiente. **Revista Eletrônica FACP**, n. 8, 2015.

PINHEIRO, José Nunes; FREITAS, Breno Magalhães. Efeitos letais dos pesticidas agrícolas sobre polinizadores e perspectivas de manejo para os agroecossistemas brasileiros. **Oecologia Australis**, v. 14, n. 1, p. 266-281, 2010.

PERES, Frederico; MOREIRA, Josino Costa. **É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente**. Editora Fiocruz, 2003.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. 2020. Acessado em jul./2020.

RUMSEY, D. How to Interpret a Correlation Coefficient r-dummies. *Dummies*. Retrieved On, v. 13, n. 07, p. 2019, 2019.

RIBEIRO, Dayane Santos; PEREIRA, Tatiana da Silva. O agrotóxico nosso de cada dia. **VITTALLE-Revista de Ciências da Saúde**, v. 28, p. 14-26, 2016.

RAMSDORG, W. **Avaliação da toxicidade dos compostos fipronil, nitrato de chumbo e naftaleno em peixes**. 2011. 178f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

RIBAS, Priscila Pauly; MATSUMURA, Aida Terezinha Santos. A química dos agrotóxicos: impacto sobre a saúde e meio ambiente. **Revista Liberato**, v. 10, n. 14, p. 149-158, 2009.

RUSIN, Carine *et al.* Desenvolvimento de mudas de pessegueiros submetidas a doses de glifosato. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science/Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v. 10, n. 1, 2017.

RODRIGUES, Déborah Oliveira; SILVA, Sergio Luiz Rodrigues da; SILVA, Maria do Socorro Rocha da. Avaliação ecotoxicológica preliminar das águas das bacias hidrográficas dos rios Tarumã, São Raimundo e Educandos. **Acta Amazonica**, v. 39, p. 935-942, 2009.

RACHID, Rouabhi; DJEBAR-BERREBBAH, H.; DJEBAR, M. R. Growth, chitin and respiratory metabolism of *Tetrahymena pyriformis* exposed to the insecticide Novaluron. **Am Euras J Agric Environ Sci**, v. 3, p. 873-881, 2008.

RAMOS, Michele Braule Pinto; FERRAZ, Isolde Dorothea Kossmann. Estudos morfológicos de frutos, sementes e plântulas de *Enterolobium schomburgkii* Benth. (Leguminosae-Mimosoideae). **Brazilian Journal of Botany**, v. 31, n. 2, p. 227-235, 2008.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 5. ed. Londrina: Grafmarke, 2005. 591 p. SANTOS, J. B. et al. Avaliação de formulações de glifosato sobre soja Roundup Ready. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 25, n. 1, p. 165-171, 2007.

ROMAN, Erivelton Scherer *et al.* **Como funcionam os herbicidas: da biologia à aplicação**. Passo Fundo: Berthier, 158p, 2007.

RIBEIRO, J.E.L.S. et al. **Flora da reserva Ducke: guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central**. Manaus-AM: INPA, 819p. 1999.

RAND, G.M.; PETROCELLI, S.R. **Fundamentals of aquatic toxicology**. Washington. 1985. 665p.

RUZICKA, J.H. **Analysing for Pesticides Residues in the Environment**. In EDWARDS, C.A., (Ed.). **Environmental Pollution by Pesticides**, Plenum Press, London, p. 12-41, 1973.

RIZZINI, C.T. **Árvores e madeiras úteis do Brasil**. São Paulo: Edgar Blucher, 240p. 1971.

SILVA, Lailla Queiroz *et al.* Morpho-anatomical changes of pequi leaves (*Caryocar brasiliense* Cambess.) exposed to simulated drift of glyphosate. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 40, n. 4, p. 669-677, 2016.

SHAKIR, Shakirullah Khan *et al.* Effect of some commonly used pesticides on seed germination, biomass production and photosynthetic pigments in tomato (*Lycopersicon esculentum*). **Ecotoxicology**, v. 25, n. 2, p. 329-341, 2016.

SAMMAIAH, D. *et al.* Pesticides induced alterations in physiological responses in *Solanum melongena* L. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 2, n. 1, 2011.

SANTOS, Edson Aparecido dos; CORREIA, Núbia Maria; BOTELHO, Rafael Grossi. Resíduos de herbicidas em corpos hídricos-Uma revisão. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 12, n. 2, p. 188-201, 2013.

SIDDIQUI, Zamin Shaheed; AHMED, Soaliha. Effect of systemic fungicide on nutritive composition of diseased and healthy plant of *Triticum aestivum* L. **Pak. J. Biol. Sci**, v. 3, p. 2148-2150, 2000.

SHABALA, Sergey. Physiological and cellular aspects of phytotoxicity tolerance in plants: the role of membrane transporters and implications for crop breeding for waterlogging tolerance. **New Phytologist**, v. 190, n. 2, p. 289-298, 2011.

SOUZA, Luiz Augusto Gomes de. **Guia da biodiversidade de Fabaceae do Alto Rio Negro**. Manaus, 118p. 2012.

SILVA, Tanismare Tatiana de Almeida *et al.* Qualidade fisiológica de sementes de milho na presença de bioestimulantes. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, p. 840-844, 2008.

PENIDO, Juliana Sundfeld. **Estudos limnológicos e ecotoxicológicos com amostras de água e sedimento do Ribeirão Limeira**. 2010. 147f. Tese (Doutorado em ciências) - Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, Piquete/Lorena SP, 2010.

SANTOS, MAT dos; AREAS, Miguel Arcanjo; REYES, Felix Guillermo Reyes. Piretróides—uma visão geral. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 18, n. 3, p. 339-349, 2007.

SCHMIDT, L. **Tropical Forest Seed**. New York: Springer, 409 p. 2007.

SILVA, Jandira Maciel da *et al.* Agrotóxico e trabalho: uma combinação perigosa para a saúde do trabalhador rural. **Ciência & saúde coletiva**, v. 10, n.4, p. 891-903, 2005.

SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F. **Agrotóxicos no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa, 2005.

SILVA, A. F. *et al.* Ecotoxicidade de herbicidas para a macrófita aquática (*Azolla caroliniana*). **Planta Daninha**, v.30, p.541-546, 2012.

SOCIEDADE BRASILEIRA DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS - SBCPD. **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas**. Londrina: 1995. 42 p.

SOUZA CRUZ. **Agrotóxicos - Uso e cuidados**. Florianópolis, 1989.

SPADOTTO, Claudio A. Comportamento e destino ambiental de herbicidas. **Comitê de Meio Ambiente, Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas**, 2002.

SENSEMAN, S.A. (Ed.), **Herbicide Handbook**. 9a edi o. Lawrence, EUA: Weed Scienc Society of America, 2007. 458 p.

TAVARES, Cássio Jardim *et al.* Crescimento inicial de plantas de pequi após aplicação de 2, 4-D. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 37, n. 89, p. 81-87, 2017.

THILL, D. **Growth regulator herbicides**. In: WELLER, S. C. et al. (Eds.) *Herbicide action course*. West Lafayette: Purdue University, p. 267-291. 2003.

VENTRELLA, Andrea; CATUCCI, Lucia; AGOSTIANO, Angela. Herbicides affect fluorescence and electron transfer activity of spinach chloroplasts, thylakoid membranes and isolated photosystem II. **Bioelectrochemistry**, v.79, n. 1, p.43-49, 2010.

VIECELLI, M. *et al.* Response of Wheat Plants to Combinations of Herbicides with Insecticides and Fungicides. **Planta Daninha**, v. 37, 2019.

VILELA, Rodolfo Andrade de Gouveia; MALAGOLI, Maria Elizabeth; MORRONE, Luiz Carlos. Gerenciamento participativo em saúde do trabalhador: uma experiência na atividade de controle de vetores. **Saúde e Sociedade**, v. 19, p. 969-980, 2010.

VIEIRA, Eny Maria *et al.* Estudo da adsorção/dessorção do ácido 2, 4 diclorofenoxiacético (2, 4D) em solo na ausência e presença de matéria orgânica. **Química Nova**, v. 22, p. 305-308, 1999.

VIDAL, R.A. **Herbicidas: mecanismos de ação e resistência de plantas**. Porto Alegre: Palotti, 1997, 165p

YAMASHITA, Oscar Mitsuo *et al.* Influence of glyphosate and 2, 4-D in initial development of forest species. **Scientia Forestalis**, v. 37, n. 84, p. 359-366, 2009.

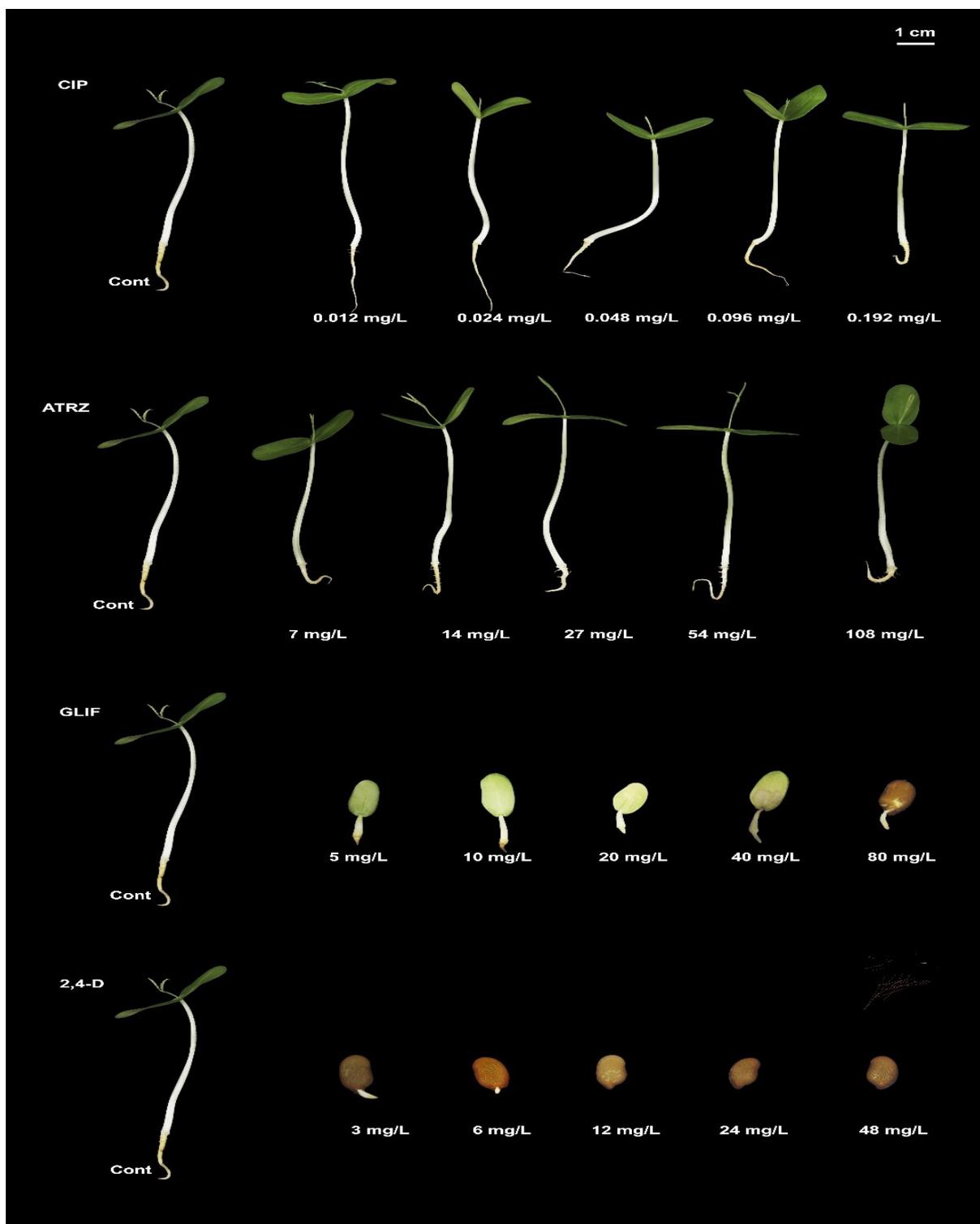
YILDIZTEKIN, Mahmut *et al.* Oxidative stress and antioxidative mechanisms in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants sprayed with different pesticides. 2015.

ZILLI, Jerri Édson *et al.* Efeito de glyphosate e imazaquin na comunidade bacteriana do rizoplane de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) e em características microbiológicas do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 2, p. 633-642, 2008.

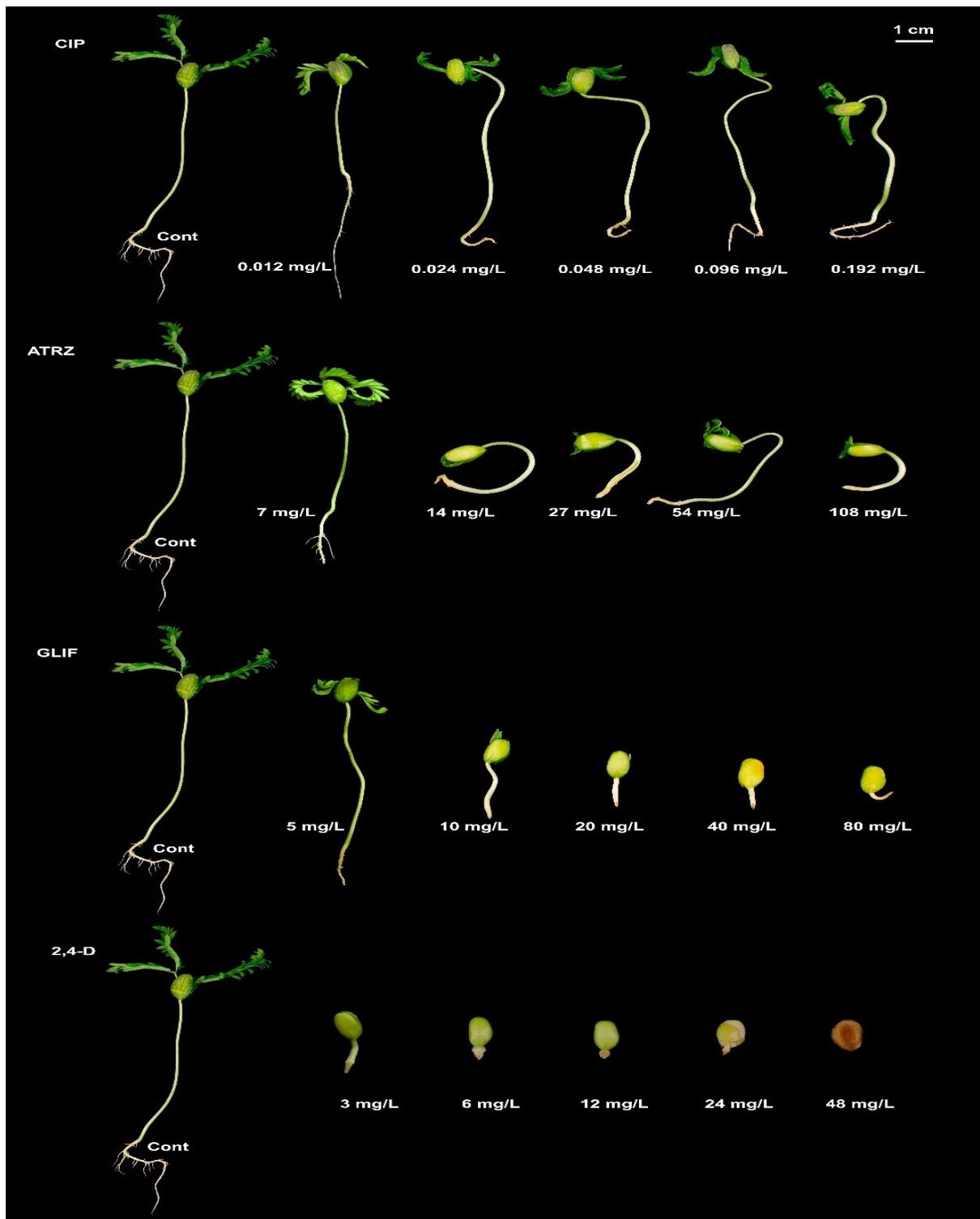
ZAKRZEWSKI, S. F. **Principles of Environmental Toxicology**, American Chemical Society: Washington, 1994.



**APÊNDICE B** - Prancha de germinação da espécie *Hymenolobium petraeum* Ducke. comparação entre controle e tratamentos com pesticidas utilizados no experimento I.



**APÊNDICE C** - Prancha de germinação da espécie *Enterolobium schomburgkii* Benth. comparação entre controle e tratamentos com pesticidas utilizados no experimento I.



**APÊNDICE D** - Prancha de desenvolvimento inicial das plântulas da espécie *Hymenolobium petraeum* Ducke. comparação entre controle e tratamentos com pesticidas utilizados no experimento II.



**APÊNDICE E** - Prancha de desenvolvimento inicial das plântulas da espécie *Enterolobium schomburgkii* Benth. comparação entre controle e tratamentos com pesticidas utilizados no experimento II.

