

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA

BRUNA PIAIA RAMBORGER

FITORREMEDIÇÃO DO 2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO (2,4-D) PELO
Plectranthus neochilus

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Uruguaiiana

2017

BRUNA PIAIA RAMBORGER

FITORREMEDIAÇÃO DO 2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO (2,4-D) PELO
Plectranthus neochilus

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Bioquímica da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA-RS), como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Bioquímica.

Orientador: Prof^o. Dr. Rafael Roehrs

Uruguaiana

2017

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

R894f Ramborger, Bruna Piaia
Fitorremediação do 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D) pelo
Plectranthus neochilus / Bruna Piaia Ramborger.
85 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Pampa,
MESTRADO EM BIOQUÍMICA, 2017.
"Orientação: Rafael Roehrs".

1. Fitorremediação. 2. 2,4-D. 3. Chá. 4. Atividade
antioxidante total. 5. Compostos fenólicos. I. Título.

BRUNA PIAIA RAMBORGER

FITTORREMEDIAÇÃO DO 2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO (2,4-D) PELO
Plectranthus neochilus

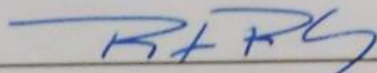
Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Bioquímica da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA-RS), como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Bioquímica.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Roehrs

Área de concentração: Bioprospecção
Molecular

Dissertação defendida e aprovada em: 20 de março de 2017.

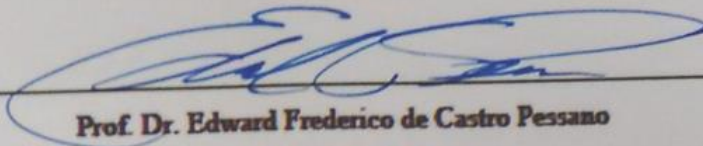
Banca examinadora:



Prof. Dr. Rafael Roehrs

Orientador

(UNIPAMPA)



Prof. Dr. Edward Frederico de Castro Pessano

(UNIPAMPA)



Prof. Dr. Horácio Heinzen Gonzalez

(UDELAR)

Dedico este trabalho aos meus pais, Telmo e Neusa, que nunca medem esforços para me apoiar, ensinar, educar e me compreender. Vocês são a base da minha vida.

AGRADECIMENTO

Agradeço à minha família, em especial aos meus pais Telmo e Neusa, por todo amor, carinho, incentivo, conversas e apoio mesmo estando longe. Serei sempre grata por tudo. Tenho muito orgulho de vocês, saibam que são responsáveis por esta conquista. Amo muito vocês!

Ao meu irmão Diego pelo carinho, por me ouvir nos momentos mais difíceis e incentivar para seguir sempre em frente. Também agradeço à minha avó Anna que sempre procurou as palavras certas nos momentos certos e rezou muito por mim. Amo vocês!

Agradeço ao meu namorado João que sempre esteve presente no decorrer deste trabalho acreditando em mim, me ouvindo, incentivando e me acalmando. Obrigada pelo teu amor e tua paciência comigo. Te amo, meu amor!

À minha amiga Larissa que mesmo longe me ajudou, ouviu e motivou para seguir em frente.

Ao meu orientador Prof. Dr. Rafael Roehrs pelo incentivo em fazer pesquisa desde a graduação e por aceitar me orientar no mestrado. Obrigada pela tua confiança, amizade paciência e ensinamento, serei sempre grata!

Meu agradecimento aos membros da banca, Edward Pessano e Horácio Heinzen Gonzalez, como também à María Verónica Césio Cesconi pela disponibilidade e contribuições para este trabalho.

Agradeço aos meus amigos do Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em Práticas de Ensino (GIPPE) e Laboratório de Estudos Físico-Químicos e Produtos Naturais (LEFQPN) por estarem presentes nos meus dias para a realização desta pesquisa, me alegrando e ajudando. Cada um foi fundamental no desenvolvimento deste trabalho. Vou levar vocês sempre comigo!

Á todos os professores e servidores envolvidos com o Programa de Pós-Graduação em Bioquímica da Unipampa, e, àqueles que de uma forma ou de outra me ajudaram e possibilitaram o desenvolvimento deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica
Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA-RS)

Fitorremediação do 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D) pelo *Plectranthus neochilus*

AUTOR: Bruna Piaia Ramborger

ORIENTADOR: Rafael Roehrs

Data e Local da Defesa: Uruguaiana, 20 de Março de 2017

A utilização de pesticidas visa o aumento da produção e qualidade dos produtos agrícolas. Porém, estes compostos podem ocasionar danos ao meio ambiente e ao ser humano devido a sua vasta utilização e toxicidade. O 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D) é um herbicida muito utilizado para diversas culturas no Brasil e no mundo para combater ervas daninha de folha larga. Possui características de alta solubilidade em água, mobilidade e persistência levando a contaminação de água e solo e em sua fórmula comercial, utilizada em lavoura, apresenta a classificação toxicológica I (extremamente tóxico). Desta forma, para a recuperação de áreas contaminadas com o 2,4-D, a utilização de plantas com capacidade de degradar, estabilizar e/ou remover contaminantes, conhecida como fitorremediação, torna-se extremamente importante devido o baixo custo e diversidade vegetal para tal fim. O presente estudo avaliou a possível capacidade de fitorremediação do *Plectranthus neochilus* (boldo) exposto ao pesticida comercial (Aminol) em solo e água através de extrações consecutivas (intervalo de dias). Após esse período de exposição, foram analisadas as respostas dessa planta em termos da presença do 2,4-D no chá das folhas, capacidade antioxidante total (DPPH), análise de polifenóis totais e flavonoides para as plantas expostas ao composto em solo e água. Nas plantas expostas na água também foi verificado a capacidade antioxidante total pelo método do fosfomolibdênio e a quantificação de compostos fenólicos. Após 15 dias de experimento, o 2,4-D não foi mais detectado nas amostras de solo e a planta não foi necessária na descontaminação desta matriz devido a degradação do composto ocorrer nesse mesmo período. Diferentemente, na água, o 2,4-D permaneceu até 67% em 60 dias de experimento, o que proporcionou a utilização de dois grupos de tratamento com a planta (um grupo de plantas por 30 dias e um novo grupo nos 30 dias restantes no mesmo sistema), e assim, obteve-se uma descontaminação de até 49% do 2,4-D. O composto não foi detectado no chá das folhas da planta e a capacidade antioxidante total, polifenóis e flavonóides apresentaram-se diminuídos

em solo (todo experimento) e água (primeiros 30 dias). Entretanto para aquelas plantas que estavam na água nos 30 dias restantes, houve um aumento nessas análises próximo ao nível basal (grupo branco). Na quantificação dos compostos fenólicos (ácido caféico, ácido cumárico e ácido ferúlico) presente no chá dessas plantas observou-se que no grupo de plantas dos primeiros 30 dias houve um aumento do ácido cumárico e ácido ferúlico, comparado ao grupo de plantas não expostas ao 2,4-D no tratamento 1 e uma diminuição do ácido caféico no tratamento 2. Nos 30 dias restantes com as novas mudas, observou-se uma diminuição do ácido cumárico e aumento dos ácidos caféico e ferúlico no tratamento 1 e 2. Os resultados indicaram que a planta teve capacidade de fitorremediar o 2,4-D na água e, embora o composto tenha causado danos no sistema antioxidante, obteve aumento dos compostos fenólicos quantificados tornando o chá da planta útil após a fitorremediação.

Palavras-chave: 2,4-D, chá, atividade antioxidante total, polifenóis totais, flavonóides totais, compostos fenólicos.

ABSTRACT

Dissertation of Master's Degree
Program of Post-Graduation in Biochemistry
Federal University of Pampa (UNIPAMPA-RS)

Phytoremediation of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) by *Plectranthus neochilus*

AUTHOR: Bruna Piaia Ramborger

ADVISOR: Rafael Roehrs

Date and Place of Defense: Uruguaiana, March 20th, 2017

The use of pesticides is aimed at increasing the production and quality of agricultural products. However, these compounds can cause harm to the environment and to humans due to their wide use and toxicity. 2,4-Dichlorophenoxyacetic (2,4-D) is a widely used herbicide for various crops in Brazil and the world to combat broadleaf weeds. It has characteristics of high solubility in water, mobility and persistence leading to contamination of water and soil and in its commercial formula, used in farming, it presents toxicological classification I (extremely toxic). Thus, for the recovery of areas contaminated with 2,4-D, the use of plants capable of degrading, stabilizing and /or removing contaminants, known as phytoremediation, becomes extremely important due to the low cost and plant diversity for this purpose. The present study evaluated the possible phytoremediation capacity of *Plectranthus neochilus* (boldo) exposed to the commercial pesticide (Aminol) in soil and water through consecutive extractions (interval of days). After this period, the plant's responses were analyzed in terms of the presence of 2,4-D in leaf tea, total antioxidant capacity (DPPH), total polyphenols and flavonoids analysis for plants exposed to soil and water. In the plants exposed in the water it was also verified the total antioxidant capacity by the phosphomolybdenum method and the quantification of phenolic compounds. After 15 days of experiment, 2,4-D was no longer detected in the soil samples and the plant was not necessary in the decontamination of this matrix due to degradation of the compound occurring in the same period. Differently, in water, 2,4-D remained up to 67% in 60 days of experiment, which provided the use of two treatment groups with the plant (a group of plants for 30 days and a new group in the remaining 30 days in the same system), and thus a decontamination of up to 49% of 2,4-D was obtained. The compound was not detected in tea leaves of the plant and total antioxidant capacity, polyphenols and flavonoids were decreased in soil (whole experiment) and water (first 30 days). However, for those plants that were in the water in the remaining 30 days,

there was an increase in these analyzes near the basal level (compared to blanc - plants in contact with water only). In the quantification of the phenolic compounds (caffeic acid, coumaric acid and ferulic acid) present in the tea of these plants, it was observed that in the group of plants of the first 30 days there was an increase of the coumaric acid and ferulic acid, compared to the group of plants not exposed to 2,4-D in treatment 1 and a decreased in caffeic acid in treatment 2. In the remaining 30 days with the new seedlings, there was a decrease of the coumaric acid and increase of the caffeic and ferulic acids (treatment 1 and 2). The results indicated that the plant had the capacity of phytoremediation of the 2,4-D in water and, although the compound caused damages in the antioxidant system, it obtained an increase of the quantified phenolic compounds, making tea of the plant useful after phytoremediation.

Keywords: 2,4-D, tea, total antioxidant activity, total polyphenols, total flavonoids, phenolic compounds.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Revisão bibliográfica e Apêndices

Figura 1. Principais rotas de transporte e degradação de pesticidas no ambiente.....	19
Figura 2. Fórmula estrutural do 2,4-D.....	23
Figura 3. Mecanismos envolvidos na fitorremediação.....	30
Figura 4. Mecanismo geral da planta frente aos poluentes.....	33
Figura 5. Principais vias metabólicas do 2,4-D nas plantas.....	34
Figura 6. Foto da planta <i>Plectranthus neochilus</i>	38
Figura 7. Foto do experimento no solo, 1º dia da fitorremediação.....	85
Figura 8. Foto do experimento na água, 1º dia da fitorremediação.....	86
Figura 9. Foto do experimento na água após 30 dias de tratamento.....	87
Figura 10. Foto do experimento na água após 60 dias de tratamento.....	88

LISTA DE TABELAS

Revisão bibliográfica

Tabela 1 – Sinalização da cor nos rótulos de pesticidas de acordo com a classe toxicológica.....	21
Tabela 2 – Tipo de tratamento: Biológico.....	26
Tabela 3 – Tipo de tratamento: Físico químico.....	26
Tabela 4 – Tipo de tratamento: Térmico.....	27
Tabela 5 – Tipo de tratamento: Outros.....	27
Tabela 6 – Enzimas de plantas que têm um papel na transformação de compostos orgânicos.....	34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

λ – Comprimento de onda

2,4-D - 2,4-Diclorofenoxiacético, herbicida

ACN - Acetonitrila

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BChE – Enzima butirilcolinesterase

C18 – Sílica modificada com hidrocarboneto linear C-18, octadecilsilano

DAD – Detecção por Arranjo de Diodos, do inglês, *Diode Array Detection*

EPA – Agência de Proteção Ambiental, do inglês *Environmental Protection Agency*

ERO/ROS - Espécies reativas de oxigênio, do inglês, *reactive oxygen species*

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*

Kg.ha⁻¹ – Quilograma por hectare

Kg/ha⁻¹ - Quilograma por hectare

K_{ow} - Coeficiente de partição octanol-água

K_{oc} – Coeficiente de partição de carbono orgânico, ou, coeficiente de partição solo/água ou coeficiente de adsorção

L.ha⁻¹ – Litro por hectare

MeOH – Metanol

mg/Kg – Miligrama por Quilograma

pH – Potencial hidrogeniônico

pKa – Potencial de constante de ionização ácida

r² – Coeficiente de determinação

v/v – volume por volume

SUMÁRIO

RESUMO.....	VII
ABSTRACT	IX
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	XI
LISTA DE TABELAS	XII
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	XIII
1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1 O uso de pesticidas e a contaminação ambiental	17
2.2 Toxicidade dos pesticidas	19
2.3 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D).....	22
2.3.1 Características gerais e propriedades físico-químicas	22
2.3.2 Modos de exposição ao 2,4-D	23
2.4 Processos de remediação.....	24
2.4.1 Fitorremediação e seus processos	27
2.4.2 Vantagens e desvantagens do processo de fitorremediação	34
2.4.3 Escolha da planta fitorremediadora.....	36
2.4.4 Planta selecionada para o estudo	36
3 OBJETIVOS.....	38
3.1 Objetivo Geral.....	38
3.2 Objetivos específicos	38
4 ARTIGO CIENTÍFICO	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
6 CONCLUSÕES	71
7 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	72
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
9 APÊNDICES	85

1 INTRODUÇÃO

O aumento da produtividade agrícola está ligado a uma série de técnicas, as quais se destacam a mecanização, técnicas de irrigação e o uso de produtos químicos, como, os fertilizantes, corretivos e os pesticidas. A utilização de pesticidas para a agricultura visa cumprir o papel de proteger as culturas agrícolas das pragas, doenças e plantas daninhas. No entanto, ao mesmo tempo em que esses compostos podem aumentar a produtividade dos alimentos, também podem oferecer riscos à saúde humana e ao ambiente principalmente quando sua aplicação é indiscriminada ou incorreta (SPADOTTO et al., 2004). Dependendo de sua composição, os pesticidas podem persistir em solos e sedimentos aquáticos, bioconcentrar nos tecidos de invertebrados e vertebrados, e, afetar a cadeia alimentar, levando aos efeitos tóxicos nestes organismos (BAIRD, 2011).

O pesticida 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) do grupo dos ácidos fenoxialcanóicos clorados (ou fenoxiácidos) é um dos herbicidas mais usados no mundo (HARRISON et al., 1998), sendo a fronteira oeste do Rio Grande do Sul (onde o estudo foi conduzido) uma região que utiliza esse composto devido a alta produtividade da cultura do arroz irrigado (SOSBAI, 2014). Os herbicidas fenoxialcanóicos são considerados como graves contaminantes de córregos, lagos e rios, uma vez que são espécies aniônicas, possuem alta solubilidade em água e baixa tendência a acumular em matéria orgânica (HARRISON et al., 1998). Dessa forma, sua detecção já foi relatada em corpos de água em várias regiões do mundo (CHINGOMBE et al., 2006; KOLPIN et al., 1998). Além disso, embora seja um herbicida, já se sabe que o 2,4-D apresenta um grave impacto ecológico, pois existem relatos dos seus efeitos tóxicos sobre algas, peixes e invertebrados aquáticos (toxicidade varia dependendo da forma química) (DELORENZO et al., 2001; EPA, 2005).

Levando em consideração a alta aplicação do 2,4-D no Brasil para diversas culturas juntamente com o pouco controle ambiental que se tem neste país, é necessário desenvolver técnicas para remediá-lo. Dessa forma, é possível compreender o importante papel desempenhado pela fitoremediação de solo e água, pois, esta técnica promove a degradação de poluentes através do metabolismo secundário das plantas (pelas enzimas esterases, citocromo P-450, glutatona S-transferases (GSTs), glucosiltransferases (GTs), maloniltransferases e transportadores vacuolares dirigidos por ATP) capazes de promover a detoxificação de compostos (KARAVANGELI et al., 2005). Assim, a fitoremediação possibilita a diminuição do impacto ambiental de poluentes de uma forma mais lenta, porém

com custos mais baixos do que outras formas de remediação, pois se trata de uma técnica *in situ*, e abrange uma grande variedade de poluentes, como metais pesados e radionuclídeos, ou poluentes orgânicos (hidrocarbonetos aromáticos polinucleares, bifenilos policlorados, e pesticidas) (PILON-SMITS, 2005; EAPEN et al., 2007). Além disso, a planta pode ter um destino final após promover a fitorremediação. No caso das plantas medicinais (muito utilizadas como tratamento alternativo aos medicamentos), elas podem ser utilizadas posteriormente à descontaminação através de seu consumo em forma de chá (porém, se na presença do contaminante, o mesmo deve estar dentro dos limites estabelecidos) (OLOWOYO et al., 2011). Mas para isso, deve-se levar em conta os efeitos causados por esses compostos, em nível de atividade antioxidante e compostos fenólicos, uma vez que os contaminantes podem induzir estresse nas plantas, por desencadear efeitos tóxicos através da perturbação da integridade da membrana ou vias metabólicas (EDWARDS et al., 2005).

Neste contexto, a planta popularmente conhecida no Brasil como boldo ou boldo gambá (*Plectranthus neochilus*), possui característica marcante de crescimento durante todo o ano (o que favorece ser uma forte candidata para fins de fitorremediação) e é empregado no tratamento de insuficiência hepática e dispepsia na medicina popular em substituição ao *Peumus boldus* (“boldo do chile”) (DUARTE & LOPES, 2007).

Considerando a importância do uso de pesticidas para atender a crescente demanda mundial por alimentos e a consequente possibilidade destes contaminarem o meio ambiente e o homem, os objetivos deste trabalho foram: (I) avaliar a possível capacidade de fitorremediação do *Plectranthus neochilus* para descontaminação de solo e água com o pesticida comercial Aminol (2,4-D) através de análises de extração do pesticida nestas matrizes; (II) verificar se há a detecção do composto (2,4-D) nos chás da planta após o tratamento; (III) analisar se há variação da atividade antioxidante, flavonóides totais, polifenóis totais e na composição dos compostos fenólicos presentes nos chás desta cultura ao final do experimento para analisar se há interferência pelo composto 2,4-D.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O uso de pesticidas e a contaminação ambiental

Com a finalidade de minimizar as perdas e aumentar a produção agrícola surgiu a utilização de técnicas de plantios diferenciados por meio da aplicação de fertilizantes e pesticidas (HIMEL et al., 1990). A atual capacidade dos países desenvolvidos para plantar e amadurecer grande quantidade de alimentos em uma área relativamente pequena de terra, com quantidade relativamente baixa de trabalho humano, tem sido possível pelo uso de pesticidas (BAIRD, 2011).

Os pesticidas são substâncias utilizadas para matar ou controlar um organismo indesejável através da propriedade em comum de interferir no metabolismo vital dos organismos aos quais eles são tóxicos. O termo pesticida inclui: acaricidas (combate ácaros), algicida (combate algas), avicidas (combate aves), bactericidas (combate bacterias), cupicidas (combate cupins), desinfetante (combate microrganismos), fungicidas (controle de fungos), herbicidas (combate plantas invasoras), inseticidas (controle de insetos), larvicidas (combate larvas de insetos), moluscicidas (combate moluscos), nematicidas (combate nematoides), piscicidas (combate peixes) e raticidas (combate roedores) (BAIRD, 2011).

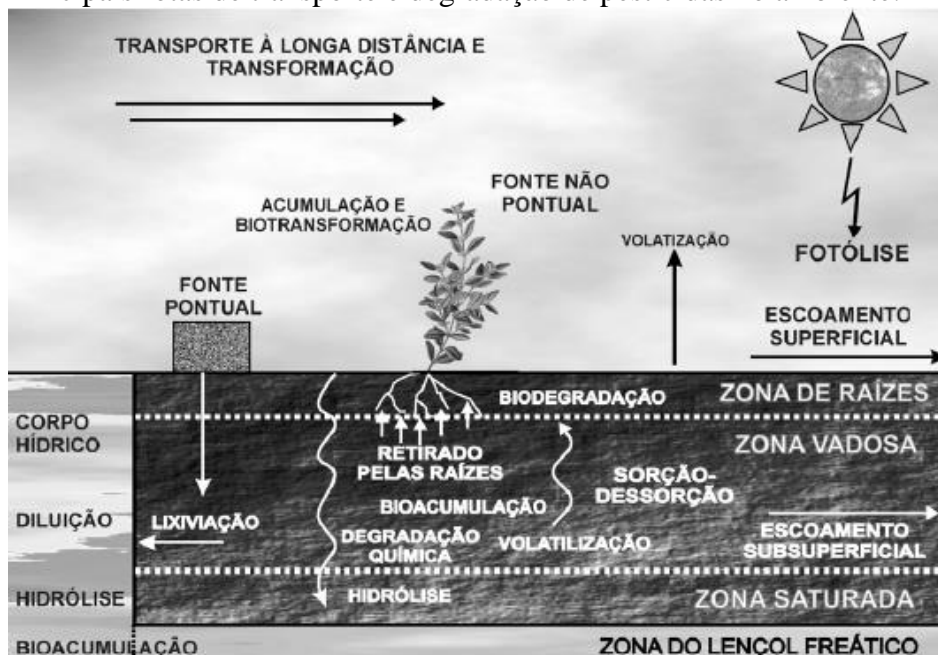
Segundo Baird (2011), certas substâncias como enxofre (queima de enxofre por fumigação - inseticida que penetra nos insetos por inalação), fluoretos inorgânicos (NaF - usados domesticamente para controlar formigas), óleos derivados do petróleo ou de fontes vivas (peixes e baleias - inseticidas e aerossóis paralisantes para matar ovos de insetos) e arsênio (inseticida), são alguns dos registros encontrados como primeiras formas de controlar insetos e pragas. Porém, foi somente a partir do século XX que os primeiros agrotóxicos passaram a ser comercialmente produzidos. A partir da Segunda Guerra Mundial somado ao crescimento populacional, houve a necessidade de tornar a produção agrícola no planeta proporcional à demanda da população, necessitando buscar produtos mais eficientes. Após um lento desenvolvimento tecnológico, houve a introdução dos primeiros produtos orgânicos com a finalidade de agir como agrotóxicos, destacando-se o ano de 1939 que marca uma brusca transição na metodologia do controle das pragas com a descoberta das propriedades inseticidas do dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) (VEIGA et al., 2006). Assim, a alegação era de que os pesticidas garantiriam a produção de alimentos para combater a fome. Com o inofensivo nome de “defensivos agrícolas”, eles eram incluídos compulsoriamente, junto com adubos e fertilizantes químicos, nos financiamentos agrícolas para adquirir essas substâncias.

Sua utilização na agricultura nacional em larga escala ocorreu a partir da década de 70, do século passado (BARBOSA, 2004).

As características dos primeiros pesticidas, de maneira geral, eram: compostos estáveis frente à decomposição ou degradação no ambiente, possuíam baixa solubilidade em água e tinham forte capacidade de se aderir ao solo. Com a evolução tecnológica, eles passaram a ser mais solúveis em água, mais voláteis e com baixa capacidade de adesão. Essas inovações tecnológicas, que eram baseadas na manipulação de compostos químicos, criaram pesticidas cada vez mais tóxicos, persistentes e eficazes para combater as pragas da agricultura. Como consequência, aumentaram e prolongaram o potencial nocivo dos pesticidas para causar danos à saúde humana e ao meio ambiente (VEIGA et al., 2006).

Quando esses compostos são aplicados na superfície do solo, eles podem passar tanto por processos físicos, químicos, físico-químicos como também biológicos, determinando seu comportamento. Já o seu destino no ambiente será dado pelos processos de retenção (adsorção, absorção), transformação (decomposição, degradação) e transporte (deriva, volatilização, lixiviação, escoamento superficial) os quais determinam sua persistência e eficiência agrônômica de acordo com as diferenças nas estruturas e propriedades das substâncias químicas, e condições ambientais (SPADOTTO et al., 2004) (Figura 1).

Figura 1 - Principais rotas de transporte e degradação de pesticidas no ambiente.



Fonte: Jardim, Andrade & Queiroz, 2009 *apud* Gebler 2004.

Dessa forma, seu uso frequente ou incorreto pode gerar contaminações não apenas no solo, onde é aplicado, mas também, na atmosfera, alimentos, águas superficiais e subterrâneas. Como consequência, essas contaminações podem proporcionar intoxicações nos organismos presentes nessas áreas. No caso do ser humano essa intoxicação pode ser tanto por contato direto na aplicação, quanto indireto por meio de organismos intoxicados (SPADOTTO et al., 2004).

Sob o aspecto da contaminação ambiental é importante destacar que alguns pesticidas possuem a capacidade de se bioacumular em numerosas espécies (se concentram no tecido de animais) e podem ser biomagnificados (capacidade de o composto químico aumentar sua concentração ao longo da cadeia alimentar). Neste sentido os seres humanos também se tornam alvos desta bioacumulação uma vez que, ao se alimentar de vegetais e animais contaminados por pesticidas, são capazes de acumulá-los nos tecidos lipídicos, fígado, rins, cérebro e coração. Como um agravante, muitos dos alimentos que fazem parte da dieta humana sofrem enriquecimento em relação à concentração inicial de pesticidas, como o leite, peixes, crustáceos e vegetais (BAIRD, 2011).

O uso intensivo de pesticidas é atualmente um importante problema de saúde pública, pois, são muitas vezes aplicados em combinação com várias classes de compostos lavando as interações sinérgicas. O Brasil tem sido o maior consumidor mundial de agrotóxicos nos últimos dez anos (ANVISA, 2012). Além disso, esse uso intensivo não se restringe a grandes monoculturas, eles também são comuns em agricultura familiar (PORTO & SOARES, 2012), que são responsáveis por uma grande parte do abastecimento do mercado interno nacional (BRASIL, 2009). No entanto, apesar de amplo uso de pesticidas, esses trabalhadores não recebem assistência técnica adequada, o que aumenta o risco da exposição aos pesticidas (PERES et al., 2001).

2.2 Toxicidade dos pesticidas

A intoxicação por pesticidas em trabalhadores rurais é desencadeada por uma série de fatores, como por exemplo: o uso descontrolado, o medo de perda da produtividade da safra, a não utilização de equipamentos de proteção e o pouco conhecimento dos riscos (SILVA & FAY, 2004). Porém, salienta-se aqui que esses riscos de intoxicações não estão atrelados apenas àquelas pessoas que trabalham no campo, uma vez que os resíduos das aplicações atingem os mananciais de água, solo, ar e alimentos comercializados (SANCHES et al., 2003).

No Rio Grande do Sul, vários casos de intoxicação humana e animal com pesticidas por uso agrícola, doméstico e raticidas já foram noticiados e tem aumentado ao longo dos anos (SINITOX, 2013). Porém, é de conhecimento de cada cidadão que utiliza qualquer tipo de pesticida o risco que o mesmo pode causar, uma vez que a legislação brasileira (decreto 4.074) alerta sobre o perigo das formulações dos pesticidas, pois ela obriga que as formulações apresentem no seu rótulo a cor correspondente à classe de sua toxicidade, conforme demonstrado na tabela 1 (BRASIL, 2002).

Tabela 1 - Sinalização da cor nos rótulos de pesticidas de acordo com a classe toxicológica.

Classe do produto	Grau de toxidade	Cor da faixa no rótulo
Classe I	Extremamente tóxico	Vermelho
Classe II	Altamente tóxico	Amarelo
Classe III	Moderadamente tóxico	Azul
Classe IV	Pouco tóxico	Verde

Fonte: Adaptado OPAS, 1997.

No Brasil, essa classificação toxicológica está a cargo do Ministério da Saúde e é fundamental para o conhecimento da toxicidade aguda de um produto. Ela relaciona as classes toxicológicas com a dose letal 50 (DL₅₀- dose que se mostra letal para 50% da população de animais testados), comparando-a com a quantidade suficiente para matar uma pessoa adulta (GRISOLIA, 2005). Sendo assim, a classe I representa DL₅₀ < 5 mg/Kg; classe II entre 5-50 mg/Kg; classe III entre 50 -500 mg/Kg e, classe IV entre 500-5000 mg/Kg (BAIRD, 2011).

Embora se tenha conhecimento sobre essa legislação, um estudo realizado por Yamashita (2008) sobre a interpretação de rótulos e bulas de pesticidas por agricultores mostrou que a compreensão destes impressos ainda é problemática. Segundo o estudo, o uso de cores na classificação toxicológica é ineficaz, sendo que certas classes são comumente confundidas entre si. Além disso, as fontes dos textos dificultam sua visualização e, que metade dos pictogramas analisados mostraram-se ineficazes e em tamanhos pequenos, sendo interpretados de maneira errônea pela maioria dos agricultores com baixo grau de escolaridade. Dessa forma, a diminuição dos riscos inerentes ao manuseio de agrotóxicos e o desconhecimento de informações importantes, como a classificação toxicológica dos produtos, tornam o agricultor vulnerável e propenso a danos à sua saúde e ao meio-ambiente.

Sendo assim, além da contaminação ambiental, esses fatores também se tornam comuns as exposições de longo prazo a pesticidas que podem acarretar em danos à vida humana por perturbar o funcionamento de vários órgãos do corpo. Os danos causados sobre a saúde incluem câncer, dor de cabeça, irritação cutânea e ocular, problemas no sistema imunológico, estômago, rim, doença de Parkinson e Alzheimer, problemas reprodutivos, defeitos de nascimento, diabetes, catarata e anemia (ABDOLLAHI et al., 2004; SOUZA et al., 2011; MOSTAFALOU & ABDOLLAHI, 2012).

Estes danos no organismo humano são evidenciados e comprovados em uma série de estudos científicos, como é o caso das pesquisas realizadas por Lee et al. (a, 2004; b, 2007) que encontraram uma associação entre a exposição a pesticidas e a incidência de câncer, particularmente câncer linfomatoide para o pesticida alacloro, câncer do pulmão pelo clorpirifós e câncer do colorretal pelo aldicarbe. Eles afirmam que a exposição a baixas doses crônicas a pesticidas é considerada como um dos fatores de risco importantes para a expansão do câncer. Outro estudo conduzido por Chen et al. (2016), na China, comprovou novamente os efeitos cancerígenos de outros pesticidas, nesse caso, foi possível identificar que uma relação entre a exposição a pesticidas piretróides com um risco aumentado no desenvolvimento de tumores cerebrais na infância em crianças.

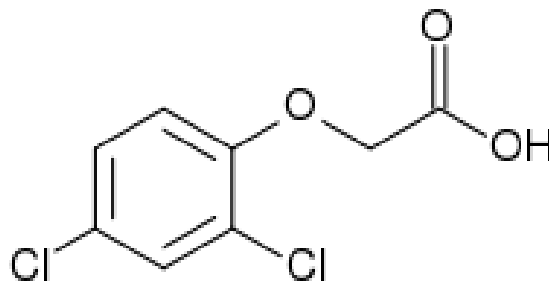
Muitos estudos relatam que a exposição aos pesticidas é um fator de risco para o desenvolvimento de transtornos mentais, particularmente a depressão (BEARD et al., 2013; BESELER et al, 2006, 2008; STALLONES & BESELER, 2002). De acordo com o estudo de Wruck (2015), onde foi avaliado o tempo de exposição de indivíduos com depressão e indivíduos não deprimidos, foi possível observar que aqueles que estavam com depressão foram aqueles que tiveram um tempo de exposição muito maior aos pesticidas comparado aos indivíduos que não possuíam a doença. Além disso, os sintomas da síndrome colinérgica para efeitos muscarínicos, efeitos nicotínicos, e os efeitos centrais foram intensos nos indivíduos com depressão maior do que nos indivíduos não deprimidos, respectivamente. A análise de correlação mostrou que os sintomas da síndrome colinérgica que afetam o sistema nervoso central foi positivamente correlacionada com a atividade BChE e com os níveis de óxido nítrico, apenas em indivíduos depressivos. Então, esse trabalho constatou que o uso de pesticidas não aumentou o risco de depressão, mas os indivíduos depressivos apresentaram aumento nos sintomas do sistema colinérgico provavelmente devido a um aumento do estresse oxidativo e alterações no sistema colinérgico, decorrentes do tempo de exposição aos pesticidas que foi maior comparado ao grupo de indivíduos não depressivos.

Além dos efeitos causados no organismo humano, muitos estudos abordam a capacidade dos pesticidas serem absorvidos por mulheres grávidas e passarem pela barreira placentária, levando então a complicações nos fetos. Esse fato pode ser visto no trabalho realizado por Vera et al. (2012) que avaliaram o impacto da exposição de organofosforados sobre a atividade da colinesterase sanguínea e carboxilesterases placentária (indicadores sensíveis de exposição ambiental à organofosforados) e composição lipídica utilizando 40 mulheres saudáveis que viviam em fazendas agrícolas. As coletadas foram feitas durante o período de pulverização e período de recesso. A colinesterase plasmática e atividade da carboxilesterase da placenta diminuíram no período de pulverização, sugerindo que as mulheres foram expostas aos organofosforados e que estes pesticidas chegaram à placenta. Quanto à composição fosfolipídica mitocondrial (a mitocôndria é uma organela alvo da toxicidade dos organofosforados), houve um teor aumentado de cardioplipina e diminuição de fosfatidiletanolamina na fração da luz mitocondrial, enquanto o colesterol total e esfingomiélinea aumentaram na fração nuclear no período de pulverização. Essas mudanças no perfil lipídico sugerem reparação por hiperplasia do citotrofoblasto (camada que envolve o embrião). A diminuição da atividade da carboxilesterase pode ter implicações clínicas e toxicológicas podendo levar a riscos potenciais para danificar o crescimento e desenvolvimento fetal.

2.3 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D)

2.3.1 Características gerais e propriedades físico-químicas

Figura 2 - Fórmula estrutural do 2,4-D.



O 2,4-D é um herbicida regulador de crescimento de plantas. As formulações incluem ésteres, ácidos e vários sais, que variam nas suas propriedades químicas, comportamento ambiental, e em menor grau, a toxicidade. Nesse sentido, serão expostas as características da forma ácida deste composto, segundo EPA 2005.

Classe: Herbicida

Grupo químico: Ácido ariloxialcanóico

Nome comum: 2,4-D

Nome químico (IUPAC): Ácido 2,4-diclorofenóxiacético

Classificação do pesticida: Herbicida e regulador de crescimento de plantas

Número no CAS: 94-75-7

Fórmula molecular: $C_8H_6Cl_2O_3$

Massa molar: 221,04 g/mol

pKa: 2,73

Pressão de vapor: 1.9×10^{-5} Pa 1.4×10^{-7} mmHg

Constante de Henry: 8.6×10^{-6} atm.m³/mol

Solubilidade em água: pH 5: 29,934 mg/L; pH 7: 44,558 mg/L; pH 9: 43,134 mg/L

Log K_{ow}: 0.001 M sol'n pH5: 2.14; pH 7: 0.177; pH 9:0.102

K_{oc}: 20-136

Classe toxicológica: I

Nomes comerciais: Aminol 806, Capri, Deferon, DMA 806 BR, Esteron, 400 BR, Herbi D-480, U 46 D Fluid.

O herbicida 2,4-D pertence ao grupo dos ácidos fenoxialcanóicos clorados ou ácido fenoxiacético e é usado para controle de ervas daninhas de folha larga em ambientes agrícolas e não agrícolas, sendo também registrado para uso em ambientes terrestres e aquáticos. As principais aplicações incluem as pastagens e pastos, gramados residenciais, estradas e terras cultiváveis, sendo aprovado para o uso de uma variedade de culturas das plantas infestantes como nas culturas de: arroz, aveia, café, cana-de-açúcar, centeio, cevada, milho, pastagem, soja, sorgo e trigo (ANVISA, 2014). Ambientalmente, este composto possui baixa biodegradabilidade e é frequentemente encontrado em rios e cursos d'água, como relata um estudo conduzido em 2007 no Canadá que detectou 89% deste herbicida em 19 amostras de córregos urbanos oriundos de sua aplicação doméstica (GLOZIER et al., 2012).

2.3.2 Modos de exposição ao 2,4-D

As características físico-químicas do composto 2,4-D permitem que este herbicida possa estar presente em diferentes quantidades no solo, água e ar (EPA, 2005), o que possibilita a exposição de pessoas que residem próximas a áreas onde ele é pulverizado.

Pelo fato de que seu uso também pode ser feito em pastagens, pode contaminar a carne e o leite e outros derivados de animais que sejam criados nesses locais. Porém, segundo Friedrich (2014), não há resultados a respeito do monitoramento do 2,4-D nesses alimentos

(alimentos processados, de origem animal ou vegetal) realizados no Brasil. Todavia, alguns estudos têm mostrado que seres humanos em diferentes faixas etárias e diferentes modos de exposição (ambiental, residencial, ocupacional, dietética) apresentam níveis detectáveis desse agrotóxico no organismo (MORGAN et al., 2008; WILSON et al., 2010). Um estudo realizado na Polônia mostrou que esposas de fazendeiros apresentaram níveis detectáveis de 2,4-D na urina, sendo que as mesmas não estavam envolvidas na atividade de pulverização de pesticidas, evidenciando que a contaminação pode ter ocorrido pelo contato com superfícies ou roupas contaminadas dos seus maridos, ou, pelo ar através da aplicação dos mesmos, próximo às suas residências (JUREWICZ et al., 2012).

A partir destas análises observa-se que os efeitos tóxicos podem ter tipologia ou magnitudes distintas, dependendo da via e da idade em que a exposição ocorra. Sendo assim, os estudos têm demonstrado que a população brasileira, onde o consumo de agrotóxicos está entre os maiores do mundo, está sob elevado de risco de manifestar todos os efeitos tóxicos decorrentes do uso do 2,4-D descritos na literatura científica (FRIEDRICH, 2014).

De acordo com o exposto, a maneira de evitar o problema da contaminação ambiental em casos de acidentes ou dosagens inadequadas, que podem contaminar o meio ambiente, é através de processos de remediação desses ambientes.

2.4 Processos de remediação

Segundo a Resolução do CONAMA N° 420, de 28 de dezembro de 2009, a remediação ambiental é um conjunto de ações de intervenção que consiste em retirar ou diminuir a concentração do contaminante nos solos ou nas águas subterrâneas a limites aceitáveis de risco ao meio ambiente e à saúde humana.

Os processos utilizados para remover os contaminantes podem ser químicos (quelatos e reagentes), físicos (retirada da camada contaminada e injeção de ar) ou biológicos (microrganismos e plantas) e são classificados como *in situ*, ou *ex situ*. Quando *in situ*, tratam solo e, ou, a água subterrânea sem a remoção destes, e, *ex situ*, necessitam da remoção da matriz (solo ou água) para que o tratamento ocorra (HUANG et al., 2005; PROCÓPIO et al., 2009). A abordagem *in situ* apresenta a vantagem de eliminar custos de remoção e reduzir riscos de impactos ambientais (NASCIMENTO & XING, 2006), porém, como desvantagem apresenta manipulação limitada do meio contaminado. Tal fato já não ocorre na técnica *ex situ* que permite maior controle dos processos, aumentando a eficácia de seu uso (USEPA, 2001). As tabelas 2, 3, 4 e 5 apresentarão resumidamente as técnicas de remediação mais

difundidas baseadas no levantamento de tecnologias de remediação que foi adaptado por Moraes et al. (2014).

Tabela 2 - Tipo de tratamento: Biológico.

Tecnologia	Meio Tratado		Aplicação	
	Solo	Água	In situ	Ex situ
Biorremediação	x		x	x
Bioventing	x		x	
Compostagem (considerando escavação)	x			x
Tratamento biológico controlado fase sólida (considerando escavação)	x			x
Landfarming (assumindo escavação)	x			x
Processos co-metabólicos		x	x	
Enriquecimento em nitrato		x	x	
Enriquecimento em oxigênio por Air Sparging		x	x	
Enriquecimento em oxigênio por peróxido de hidrogênio		x	x	
Fitorremediação	x	x	x	x
Biorreatores		x	x	x

Fonte: Adaptado de Moraes et al., 2014.

Tabela 3 - Tipo de tratamento: Físico químico.

Tecnologia	Meio Tratado		Aplicação	
	Solo	Água	In situ	Ex situ
Fraturamento pneumático	x		x	
Lavagem do solo	x		x	
Extração de vapores do solo	x		x	x
Solidificação/estabilização	x		x	x
Redução /oxidação química	x	x	x	x
Decomposição por desalogenação com catalisadores básicos	x			x
Desalogenação com glicolato	x			x
Lavagem de solo	x			x
Air sparging		x		x
Filtragem		x		x
Troca de íons		x		x
Adsorção de carbono em fase líquida		x		x
Precipitação		x		x
Oxidação UV		x		x

Fonte: Adaptado de Moraes et al., 2014.

Tabela 4 - Tipo de tratamento: Térmico.

Tecnologia	Meio Tratado		Aplicação	
	Solo	Água	In situ	Ex situ
Extração de vapor do solo forçada termicamente	x		x	
Dessorção térmica a alta temperatura	x			x
Incineração	x			x
Descontaminação com gás quente	x			x
Pirólise	x			x
Vitrificação	x		x	x

Fonte: Adaptado de Moraes et al., 2014.

Tabela 5 - Tipo de tratamento: Outros.

Tecnologia	Meio Tratado		Aplicação	
	Solo	Água	In situ	Ex situ
Escavação e disposição	x		x	x
Atenuação natural	x	x	x	

Fonte: Adaptado de Moraes et al., 2014.

Salienta-se aqui que a escolha final da técnica ou conjunto delas para uma área depende da razão custo-benefício e, portanto: do uso previsto para a área após a remediação; da natureza da contaminação (tipo de contaminante); de características relacionadas aos riscos (proximidade de grupos populacionais e de mananciais, migração potencial dos vapores, hidrogeologia, uso de água subterrânea e localização de poços) (USEPA, 2001). Nesse sentido, as alternativas biológicas vêm levando destaque nas técnicas de remediação, pelo fato de que, muitas vezes, as técnicas físicas ou químicas se tornam inviáveis pelo elevado custo e algumas de difícil execução, já as biológicas, por outro lado, são menos dispendiosas e ambientalmente aceitas (PROCÓPIO et al., 2009). Muitos estudos têm dado destaque para as alternativas biológicas, em especial a biorremediação e a fitorremediação apresentadas na tabela 2. A biorremediação consiste na utilização de microrganismos vivos ou seus derivativos (ex.: enzimas) para degradar compostos poluentes. Nesse sentido, a biorremediação inclui, biopilhas estáticas (in situ), reatores (ex situ) e várias inovações biotecnológicas (van DILLEWIJN et al., 2009). Já a fitorremediação é uma estratégia que usa plantas para degradar, estabilizar e/ou remover contaminantes. Nessa técnica são empregados processos naturais pelos quais as plantas e muitas vezes junto com a flora microbiana, presente na rizosfera, degradam ou sequestram poluentes orgânicos e inorgânicos (RASKIN

et al., 1994). Sua grande vantagem perante biorremediação está na facilidade com que os vegetais se adaptam a ambientes extremamente diversos, e/ou possuem a capacidade de interagir simbioticamente com diversos organismos, facilitando sua adaptação em ambientes salinos, ácidos, pobres e ricos em nutrientes ou excessivamente contaminado em elementos químicos. Além disso, está gerando grande interesse mundial, por apresentar custos financeiros viáveis e produzir menor impacto ao ambiente (SUSARLA et al., 2002; MEGATELI et al., 2009; JAGTAP et al., 2014).

2.4.1 Fitorremediação e seus processos

A técnica da fitorremediação tem por base a fisiologia vegetal, a bioquímica do solo e a química dos contaminantes, ajuda a melhorar a fertilidade do solo com as entradas de matéria orgânica como também, evitando a erosão e lixiviação de poluentes (MERKL et al., 2006). Quando o processo é realizado no solo, a utilização das plantas promove trocas gasosas e o desenvolvimento dos microrganismos, inclusive os biorremediadores. O interessante da fitorremediação é que ela permite a remoção de poluentes tanto orgânicos quanto inorgânicos. Os orgânicos são aqueles produzidos pelo homem e causam danos aos organismos por serem tóxicos e alguns carcinogênicos. Dependendo de suas propriedades, os poluentes orgânicos podem ser degradados na zona radicular das plantas e quando absorvidos podem ser degradados, sequestrados ou volatilizados pela mesma, como é o caso dos pesticidas. Já os inorgânicos ocorrem como elementos naturais na crosta terrestre ou na atmosfera e não podem ser degradados, mas sim fitorremediados via estabilização ou sequestro pelos tecidos de plantas que são tratadas posteriormente (PILON-SMITHS, 2005). Dessa forma, os estudos científicos trazem como exemplo a fitorremediação para metais tóxicos, solventes clorados, hidrocarbonetos de petróleo, bifenilas policloradas, TNT, radionuclídeos, entre outros (HALL, 2002; WONG, 2003; MORIKAWA & ERKIN, 2003; KAUTSKY & GREGER, 2005; KULAKOW & PIDLISNYUK, 2010; SANTOS & RODELLA, 2007; KADIAN et al., 2008; CARMO et al., 2008; SICILIANO et al., 2003; KAIMI, 2006; AGUIAR et al., 2007; VAN AKEN et al., 2010; RYLOTT & BRUCE, 2009; CERNE et al., 2010).

A fitorremediação utiliza-se dos processos naturais das plantas (absorção de água e outras substâncias, metabolismo, ação dos exsudatos no solo e impactos físicos e físico-químicos das raízes no solo) (PIVETZ, 2001) e dependem das características dos compostos e propriedades das plantas. Dessa forma, existem diversos fatores que afetam a captura e distribuição dos compostos nas plantas como: a) propriedades físicas e químicas do composto (solubilidade em água, pressão de vapor, peso molecular, especiação química, coeficiente de

repartição óleo-água- K_{ow}); b) características ambientais (temperatura, pH, teor de matéria orgânica, redox, salinidade e umidade); c) características das plantas (espécie, tipo e forma do sistema radicular, enzimas envolvidas, mecanismos específicos e taxas de transpiração) (SUSARLA et al., 2002; DHIR et al., 2009; RAI, 2009). Por tanto, existem diversos tipos de fitorremediação e Yang, et al. (2005) os classificaram da seguinte maneira:

Fitoextração: Acumulação direta de contaminantes nas plantas com subsequente remoção das plantas.

Rizofiltração (fitofiltração): Absorção e adsorção dos poluentes nas raízes das plantas.

Rizoestabilização: Exsudatos radiculares causam a precipitação de compostos e a biomassa torna-se menos biodisponível.

Fitovolatilização: Plantas volatilizam alguns íons metálicos e compostos orgânicos voláteis.

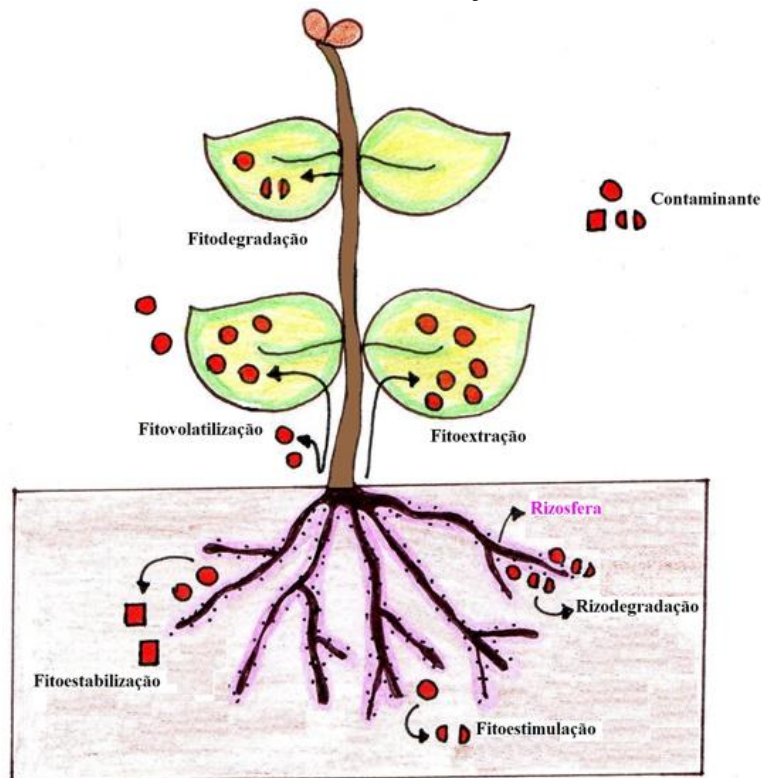
Rizodegradação: Degradação microbiana na região da rizosfera.

Fitodegradação: Absorção e degradação pela planta de contaminantes.

Remoção de contaminantes do ar: Absorção de diversos contaminantes pelas folhas.

A figura 3 ilustra esses processos pela planta.

Figura 3 - Mecanismos envolvidos na fitorremediação.



Fonte: Adaptado de Pilon-Smits, 2005.

Fitoextração: Mecanismo onde a planta absorve contaminantes do solo, água ou do ar, não havendo necessidade de degradação, resultando em acumulação na planta (USEPA, 2000). As espécies são plantadas e após a fitorremediação são colhidas, possibilitando que o vegetal tenha um destino final, como: incineração, depositado em aterro, co-processado na fabricação de cimento, ou, utilizado para produção de fibras (ANDRADE et al., 2007).

O ideal é que neste caso a planta seja hiperacumuladora (capacidade de acumular contaminantes nos tecidos), assim ela pode concentrar naturalmente elementos químicos em maior quantidade às demais espécies de um mesmo habitat (BALI et al., 2010; SILVA et al., 2014). As plantas hiperacumuladoras podem ser encontradas no local onde determinado dano ambiental tenha ocorrido, ou, produzidas por meio de modificações genéticas, com a inserção de genes (isolados a partir de outras plantas, animais ou bactérias) (ANDRADE et al., 2007).

Para a fitoextração, as plantas mais utilizadas atualmente são da família das *Brassicaceae*, *Asteraceae*, *Laminaceae* ou *Scrophulariaceae*. Podem-se destacar dentro dessas famílias as seguintes espécies utilizadas para fitorremediação: *Brassica juncea* (mostarda da Índia), *Brassica napus* (canola), *Híbrido poplar tress*, *Helianthus annuus* (girassol) e *Medicago sativa* (alfafa) (PARRA et al., 2014; CHEN et al., 2015; NIKOLIC & STEVOVIC, 2015; SIDHUA et al., 2017).

A fitoextração também é o principal mecanismo da *rizofiltração*, (contaminantes acumulam-se apenas nas raízes), dessa forma, utilizam-se sistemas hidropônicos de crescimento para as plantas. Então, águas subterrâneas bombeadas para a superfície, águas superficiais e águas residuais podem ser tratadas fazendo-se o uso desta tecnologia (USEPA, 2000; ITRC, 2001; ANDRADE et al., 2007). Huang et al. (2004) relataram a eficiência significativamente alta para a remoção de arsênio através da rizofiltração usando samambaias hiperacumuladoras para limpar água potável contaminada com arsênio. Estudos de rizofiltração para descontaminação de águas com radionuclídeos, como o cézio, também foram realizados com as plantas capim-elefante (*Pennisetum purpureum*), calendula (*Calendula alata*), amarantus (*Amaranthus hybridus*), *Chenopodium álbum* e girassol (*Helianthus annuus*) (KANG et al., 2012, LI et al., 2012; MOOGOUEI et al., 2011; VINICHUK et al., 2013).

Fitoestimulação: É o mecanismo que envolve microrganismos associados à planta. As raízes em crescimento mudam as condições do solo, aumentando a aeração, ajustando a umidade e produzindo exsudatos (açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos, ácidos graxos, esteróides, nucleotídeos, enzimas e outros) e assim, promovem a proliferação de microrganismos degradativos na rizosfera, (ANDRADE et al., 2007; GIARDINI, 2010). Esse processo também é conhecido como *rizodegradação* porque as raízes das plantas e os microrganismos decompõem o contaminante.

Plantas utilizadas neste processo: *Salix nigra* usada para rizodegradação de perclorato (YIFRU & NZENGUNG, 2008); *Dactylis glomerata*, *Bromus inermis*, *Festuca arundinacea*, *Desmanthus linoensis*, *Lolium perenne*, *Panicum irgatum* e *Tripsacum dactyloides* foram usados para descontaminação do herbicida atrazina (LIN et al., 2011); *Kandelia candel* foi usado para descontaminação dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, fenantreno e pireno (LU et al., 2011); e *Sesbania cannabina* foi usada para hidrocarbonetos (MAQBOOL et al., 2012). Os exemplos dos microrganismos que associados as plantas realizam a fitoestimulação são: *Alcaligenes eutrophus* H850, *Cornybacterium sp* MBI e *Pseudomonas* LB400 (ANDRADE et al., 2007).

Fitoestabilização: Os processos de fitoestabilização envolvem a imobilização no solo, humificação (enzimas das plantas e dos microrganismos ligam os contaminantes ao húmus do solo) e lignificação (ocorre a imobilização do contaminante em ligninas das paredes celulares nos tecidos vegetais) (ACCIOLY & SIQUEIRA, 2000). Dessa forma esse processo promove a imobilização de contaminantes em solos ou sedimentos por adsorção, precipitação e complexação. Assim, é possível prevenir a lixiviação e a poluição das águas subterrâneas e

minimizar a erosão do solo e migração de sedimentos (BARCELÓ & POSCHENRIEDER, 2003; ALI et al., 2013). Este processo não remove o contaminante a partir do solo, mas reduz o risco do contaminante (LI et al., 2000).

Como exemplo de plantas que podem ser utilizadas nesse processo existe o *Sorghum sp.* que mostrou fitoestabilizar Cd, Cu Ni, Pb e Zn (JADIA & FULEKAR, 2008); *Solanum nigrum* para Ni (FERRAZ et al., 2012.); *Eucalyptus urophylla* e *Eucalyptus saligna* para o Zn (MAGALHÃES et al., 2011); *Vigna unguiculata* para o Pb e Zn (KSHIRSAGAR & AERY, 2007).

Fitodegradação ou Fitotransformação: É a eliminação de poluentes orgânicos que entraram nos tecidos das plantas ou da rizosfera e são degradados através de enzimas internas ou que são secretadas pelas plantas (BARCELÓ & POSCHENRIEDER, 2003; PILON-SMITS, 2005). Os subprodutos gerados, pela degradação na planta, são armazenados em vacúolos ou incorporados ao tecido vegetal (ANDRADE et al., 2007; USEPA, 2000; ITRC, 2001).

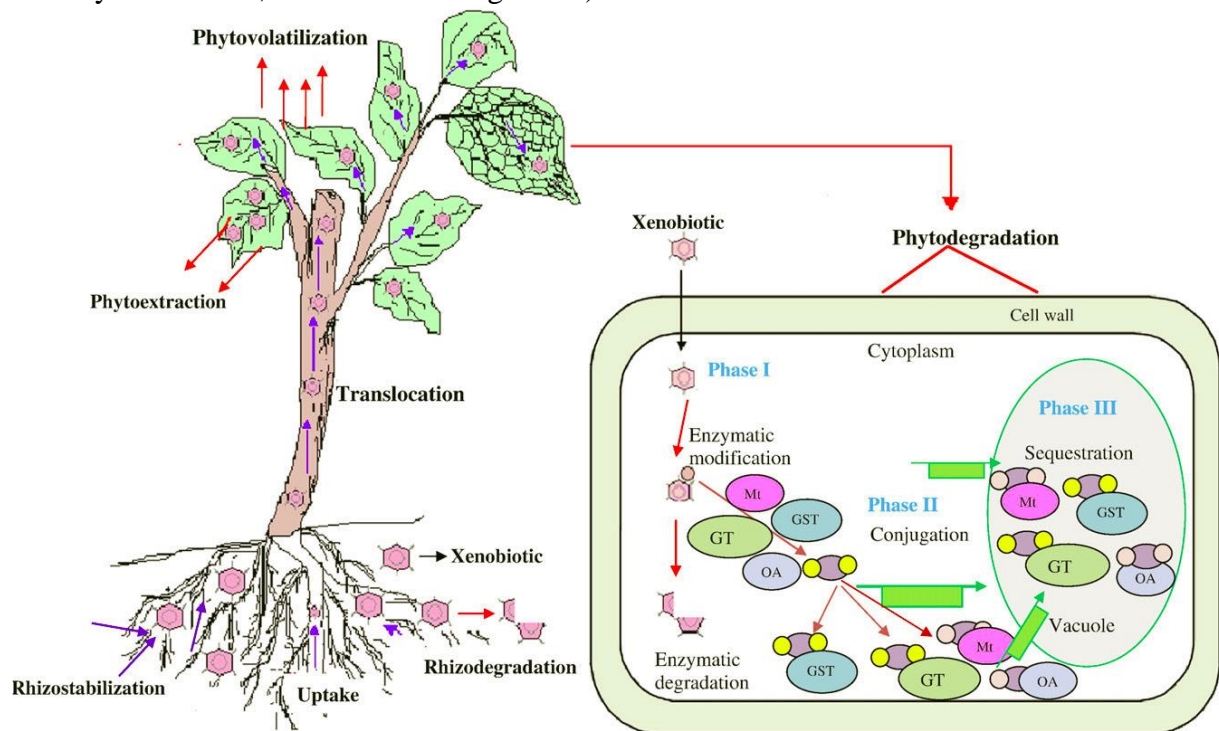
Os herbicidas como muitos outros poluentes que entram em contato pela planta e são absorvidos por elas, iniciam o desenvolvimento de espécies reativas de oxigênio (ERO) nas células (SONG et al., 2006). Sabe-se que o sistema de defesa endógeno combate esse estresse oxidativo em seres vivos (WANG et al., 2004) e que as EROs como superóxidos ($O_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila (OH^{\bullet}) são consequências previsíveis nos organismos aeróbios, porém, estas reações indesejáveis são eficientemente controladas dentro das células (VALAVANIDIS et al., 2006). Vários estresses abióticos como a exposição a metais e pesticidas são estímulos comuns para a geração de EROs e subsequente perturbação nas funções celulares (WANG et al., 2004; PEIXOTO et al., 2006; VALAVANIDIS et al., 2006; SONG et al., 2007). As plantas têm muitas medidas de controle contra estas EROs, que incluem antioxidantes enzimáticos, como, superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) e a defesa antioxidante não enzimática que compreende polifenóis, ácido ascórbico e carotenóides (MITTLER, 2002). Estas EROs são difíceis de detectar após a sua produção (RADETSKI et al., 2004) e normalmente são inferidos através das variações nos antioxidantes (VALAVANIDIS et al., 2006).

Para que os xenobióticos sejam metabolizados (tanto em humanos, animais e plantas), geralmente ocorrem três processos bioquímicos principais: conversão ou transformação (fase I), conjugação (fase II), e compartimentalização (fase III). Na fase I, os poluentes hidrofóbicos são convertidos em metabolitos menos hidrofóbicos através de N-, O- e S-desalquilação, hidroxilação aromática e alifática, epoxidação, peroxidação, dessulfuração oxidativa, sulfoxidação ou redução pelo citocromo P450 (CYP450). As reações catalisadas

por CYP450 são os passos vitais iniciais que conduzem a desintoxicação, inativação e excreção (SCHMIDT et al., 2006 a, b). Esta conversão geralmente produz metabolitos menos tóxicos. Na fase II, poluentes orgânicos ou os seus metabolitos da fase I são diretamente conjugados com a glutathiona, açúcares ou aminoácidos, para produzir compostos hidrofílicos. E então, na fase III, os metabolitos conjugados são depositados em vacúolos ou paredes celulares (HATZIOZ, 1997).

A figura 4 demonstra de uma maneira geral como esses compostos são metabolizados pelas plantas.

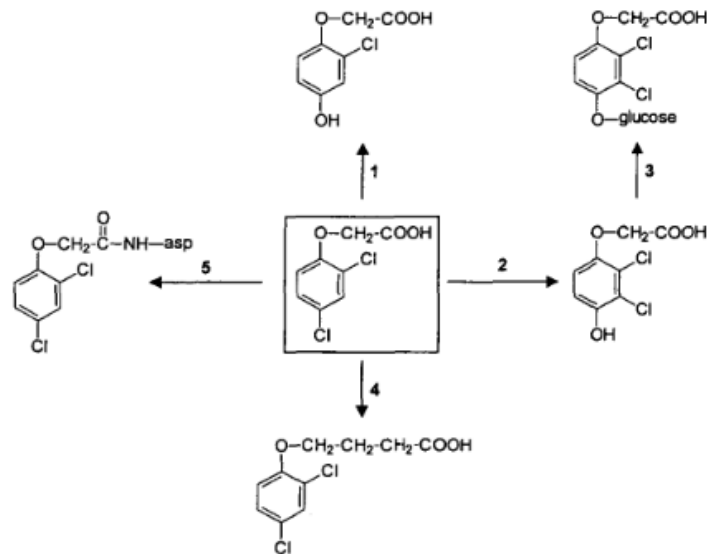
Figura 4 - Mecanismo geral da planta frente aos poluentes. Os transportadores ativos estão marcados em caixas verdes (GST = Glutathiona S-transferase; GT = Glicosiltransferase; Mt = Malonyltransferase; OA = Ácidos Orgânicos).



Fonte: Abhilash, Jamil & Singh, 2009.

Porém, as vias utilizadas e a mistura de produtos formados dependem das espécies de plantas. A figura 5 mostra as principais vias metabólicas do herbicida 2,4-D nas plantas.

Figura 5 - Principais vias metabólicas do 2,4-D nas plantas. As reações são apresentadas como: 1. Hidroxilação, 2. Hidroxilação e migração de cloro, 3. Conjugação com glicose, 4. Extensão da cadeia lateral, 5. Conjugação com aminoácido.



Fonte: Coleman et al., 2002.

Susarla et al. (2002) e Andrade et al. (2007) reportam algumas enzimas de interesse particular para a fitodegradação sendo elas expostas na tabela 6.

Tabela 6 - Enzimas de plantas que têm um papel na transformação de compostos orgânicos.

Enzima	Ação	Plantas conhecidas para produzir atividade enzimática
Dehalogenase	Hidroliza cloro e flúor de hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos halogenados	<i>Populus spp.</i> ; <i>Various spp.</i> ; <i>Myriophyllum aquaticum</i>
Fosfatase	Cliva grupos fosfato de organofosforados	<i>Spirodela polyrhiza</i>
Laccase	Degradação de vários compostos aromáticos	<i>Nitella spp.</i> ; <i>Myriophyllum aquaticum</i>
Nitrilase	Cliva grupos cianeto de nitrilas aromáticas e alifáticas.	<i>Salix spp.</i>
Nitroreductase	Reduz grupos nitro de compostos nitroaromáticos,	<i>Populus spp.</i> ; <i>Nitella spp.</i> ; <i>Myriophyllum aquaticum</i>

	remove o nitrogênio de estruturas cíclicas.	
Peroxidase	Degradação de vários compostos aromáticos; Desalogenação reductiva de hidrocarbonetos alifáticos.	<i>Armoracia rusticana</i>

Adaptado: Susarla et al., 2002.

A fitodegradação vai depender do tipo de planta, do contaminante entre outras características físicas e químicas da planta (ANDRADE, 2007). Os exemplos de plantas utilizadas neste processo são: *Datura innoxia* e *Lycopersicon peruvianum* que possuem peroxidase, lacase e nitrilase que mostraram ter degradado poluentes do solo (SCHNOOR et al., 1995; LUCERO et al., 1999). A *Blumea malcolmii* para o corante verde malaquita (KAGALKAR et al., 2011), *Erythrina crista-galli* para o petróleo (de FARIAS et al., 2009) e *Chlorella pyrenoidosa* para o pentaclorofenol (HEADLEY et al., 2008).

Fitovolatilização: É a absorção de poluentes (tetracloroetano, triclorometano, tetraclorometano, e/ou certos metais, tais como As, Hg e Se) e sua posterior liberação para a atmosfera pela transpiração, quer na sua forma original ou após a alteração metabólica (SUSARLA et al., 2002; ALI et al., 2013). Culturas como arroz, brócolis, couve e algumas outras plantas são capazes de volatilizar selênio (LIN et al., 2000). A volatilização de Se envolve a assimilação de Se inorgânico na selenocisteína (SeCys) e selenometionina (SeMet). Este último pode ser metilado para formar dimethylselenide (DMSE), que é volátil (TERRY et al., 2000).

A volatilização pode ocorrer através da biodegradação na rizosfera ou após a passagem na própria planta (ANDRADE et al., 2007). Nessa técnica a planta não precisa ser removida, já que a volatilização remove completamente o poluente do local na forma de gás. Todavia, quando um poluente tóxico é emitido pelas plantas durante esse processo, ela pode ser considerada como fator de risco para uma nova fonte de poluição. Estudos realizados com selênio e mercúrio não demonstraram riscos para o ambiente de acordo com os níveis desses gases fitovolatilizados (LIN et al., 2000).

2.4.2 Vantagens e desvantagens do processo de fitorremediação

Para a realização da fitorremediação é necessário que as plantas atendam a um ou mais requisitos, como: sistema radicular profundo e denso; acelerada taxa de crescimento; fácil colheita; que possuam resistência ao poluente, pragas e doenças; seja adaptável ao local a ser

remediado, fácil controle ou erradicação posterior (PILON-SMITS, 2005; PROCÓPIO et al., 2009). Portanto, esse sistema possui vantagens e desvantagens.

Segundo Procópio et al. (2009), entre as principais potencialidades na utilização da fitorremediação estão:

1. Menor custo em relação às outras técnicas de remediação, principalmente em relação às ex situ;
2. O emprego de plantas pode ser implantado com mínimo distúrbio ambiental, evitando escavações e tráfego pesado de maquinário e é mais favorável esteticamente do que qualquer outra técnica de remediação;
3. Dependendo do composto e a forma que a planta o metaboliza, a mesma não precisa ser removida da área contaminada. Esse é o caso dos contaminantes que podem ser degradados a compostos não tóxicos internamente nas plantas ou no ambiente rizosférico, podendo ser até mesmo mineralizados a compostos primários;
4. Geralmente há uma melhora nas propriedades biológicas, físicas e químicas do solo;
5. Propicia a incorporação de matéria orgânica ao solo, principalmente, quando não há necessidade de retirada das plantas remediadoras da área contaminada;
6. Promove a fixação de nitrogênio atmosférico, principalmente, quando se é utilizado leguminosas como espécies remediadoras;
7. Auxilia no controle do processo erosivo, eólico e hídrico. Diminuem o carreamento de contaminantes com a água e com o solo e, evita a contaminação dos cursos hídricos;
8. Promove a redução da lixiviação de contaminantes no solo, reduzindo a contaminação do lençol freático;
9. Utiliza energia solar para realizar os processos de descontaminação;
10. Apresenta alto índice de aceitação pública, perante a sociedade.

Apesar de todas as potencialidades, a fitorremediação apresenta algumas limitações e dificuldades que devem ser previstas. Dentre as principais limitações estão:

1. Dificuldade na seleção de plantas para fitorremediação, como nos casos de descontaminação de solos com resíduos de herbicidas de amplo espectro de ação;
2. Pode ser requerido mais de um ciclo de cultivo, quando o tempo necessário seja muito extenso para uma despoluição satisfatória;
3. O contaminante deve estar dentro da zona de alcance do sistema radicular das plantas fitorremediadoras;

4. Clima e condições do solo podem restringir o crescimento de plantas, o que pode prejudicar descontaminação;
5. Necessidade de retirada das plantas da área contaminada, quando o composto tóxico é apenas fitoacumulado ou fitodegradado a um composto ainda ou mais tóxico que o inicial;
6. A presença do contaminante ou de algum metabólito tóxico nas plantas pode levar a contaminação da cadeia alimentar;
7. Dificuldade de controle (destino) posterior da planta fitorremediadora.

Assim, uma das primeiras etapas no processo de fitorremediação é a seleção da(s) espécie(s) fitorremediadora(s). Para isso é necessário conhecer as características químicas do contaminante, bem como as características químicas e físico-químicas do ambiente a ser remediado (PROCÓPIO et al., 2009).

2.4.3 Escolha da planta fitorremediadora

A escolha da planta depende do mecanismo de ação dela para absorver determinado composto, essas características podem ser naturais da planta ou, manipuladas em laboratório, assim como são feitos com os transgênicos (NALON *apud* ACCIOLY & SIQUEIRA, 2000). Dessa maneira, para a seleção da planta para promover a fitorremediação deverá ser realizado os seguintes passos:

- Identificar quais espécies se adaptam às condições locais;
- Realizar uma análise de dose/resposta da planta em relação ao contaminante, para verificar se a planta é tolerante ao contaminante e, até qual concentração ela se mostra tolerante (MARQUES et al., 2006, 2010; ROSA, 2006);
- Avaliar a capacidade da planta tolerante em promover a descontaminação que é visto pela redução do contaminante a concentrações abaixo dos valores de referência e tempo requerido (HERNÁNDEZ-VAENCIA & MAGER, 2003).

Após essas etapas de análise, a planta é avaliada como apta ou não para desenvolver a fitorremediação em determinada área.

2.4.4 Planta selecionada para o estudo

O presente estudo utilizou uma planta usualmente empregada na medicina popular na forma de chá conhecida como “boldo rasteiro” ou “boldo gambá” no Brasil (*Plectranthus*

neochilus Schltr., *Lamiaceae*), que pode ser vista na figura 6. Essa planta possui característica marcante de crescimento durante o ano todo e se adapta em todo o território nacional. É utilizada no tratamento de insuficiência hepática e dispepsia na medicina popular em substituição ao *Peumus boldus* (“boldo do chile”) (DUARTE & LOPES, 2007).

O óleo essencial de *P. neochilus* exibe atividades antischistosomais (CAIXETA et al., 2011) e inseticidas (BALDIN et al., 2013).

Figura 6 - Foto da planta *Plectranthus neochilus*.



Fonte: Duarte & Lopes, 2007.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Este trabalho propõe avaliar o potencial de fitorremediação de solo e água contendo o herbicida 2,4-Diclorofenoxiacético pelo *Plectranthus neochilus*.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar através de uma curva dose resposta a sensibilidade do boldo ao herbicida 2,4-D;
- Avaliar a cinética de degradação do 2,4-D na presença das plantas de boldo;
- Analisar se há a presença do 2,4-D no chá das folhas da planta exposta ao herbicida.
- Analisar a atividade antioxidante total, compostos fenólicos totais e flavonóides totais do chá das folhas da planta exposta ao 2,4-D após o experimento e comparar com o grupo de plantas não exposto.
- Quantificar os compostos fenólicos (ácido caféico, ácido cumárico e ácido ferúlico) presentes no chá das folhas da planta exposta ao 2,4-D após exposição e comparar com o grupo de plantas não exposto.

4 ARTIGO CIENTÍFICO

Os resultados que fazem parte desta dissertação estão apresentados sob a forma de artigo científico. As seções *Materiais e Métodos*, *Resultados*, *Discussão dos Resultados* e *Referências Bibliográficas* encontram-se no próprio manuscrito. O manuscrito está apresentado da mesma forma que será submetido à Revista *Ecotoxicology and Environmental Safety*.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta dissertação, os principais resultados obtidos foram escritos na forma de manuscrito, o qual será submetido a uma revista científica da área.

Neste estudo foi analisado o potencial da planta *Plectranthus neochilus* (boldo) para a fitorremediação do solo e água contaminada pelo herbicida 2,4-D. Sabe-se que os indivíduos diferem significativamente em suas susceptibilidades para um dado composto, alguns respondem para uma dose muito baixa quando outros requerem uma dose muito mais alta antes de apresentar uma resposta. Por essa razão, foi criada a relação dose-resposta para substâncias tóxicas, incluindo agentes ambientais. Para essa análise, uma curva de dose (eixo x, horizontal) é relacionada com a porcentagem cumulativa dos animais testados que mostram o efeito da medida (por exemplo a morte) para uma dada dose particular (eixo y, vertical) (BAIRD, 2011). Sendo assim, o primeiro passo deste trabalho foi realizar a análise da sensibilidade dessas plantas em concentrações crescentes do herbicida 2,4-D em sua forma comercial (Aminol).

No teste com as plantas no solo, foi possível construir uma curva de dose-resposta com 11 pontos de 0,57 Kg.ha⁻¹ a 20 Kg.ha⁻¹. O boldo não mostrou sinais de fitotoxicidade até a concentração de 11,42 Kg.ha⁻¹. A partir desta concentração a planta começou a apresentar folhas amarelas e um bloqueio na parte superior do caule, o que favoreceu a curvatura das plantas para baixo e, em último caso, a morte da planta nas altas concentrações. Esse processo é natural para a planta intoxicada com o 2,4-D segundo Grossman (2010).

Já na água, as concentrações para análise dose-resposta foram diferentes. Foi construída uma curva de sete pontos de 0,403 Kg.ha⁻¹ a 120,9 Kg.ha⁻¹. A planta não mostrou sinais de fitotoxicidade na sua parte aérea (caule e folhas) até a concentração 1,209 Kg.ha⁻¹. A partir desta concentração os sinais foram iguais àqueles apresentados pela toxicidade da planta no solo, porém, com maior intensidade, uma vez que após os primeiros 30 dias de experimento na água, suas raízes se apresentaram ramificadas, quando comparadas às plantas não expostas ao 2,4-D. Esse fenômeno ocorre devido à alteração no nível do hormônio do crescimento (auxina) que pode gerar sintomas não apenas de ramificações na planta, mas também aparência de ramos ou crescimento de tumores, abscisão foliar ou epinastia, folhagem foliar anormal e amadurecimento anormal dos frutos. (TRIGIANO, WHINDHAM & WHINDHAM, 2011). Como o 2,4-D é uma auxina sintética, a planta reage como se este composto fosse uma forma descontrolada de auxina natural. Com esses resultados podem-se observar os sinais de toxicidade por conta do composto na raiz da planta, mas a mesma

permaneceu viva e em boas condições (parte aérea, caule e folhas) ao longo do experimento, permitindo o a realização do trabalho. Após o período da sensibilidade das plantas, escolheu-se as concentrações usuais para o experimento, sendo para o solo: tratamento e controle- 11,42 kg.ha⁻¹ e para a água, tratamento 1 e controle 1 – 0,604 kg.ha⁻¹ e tratamento 2 e controle 2- 1,209 kg.ha⁻¹.

Para a análise da capacidade de fitorremediação pela planta nessas matrizes, extrações consecutivas (dias) do 2,4-D foram realizadas. Em relação aos resultados obtidos das extrações não foi possível obter resultados satisfatórios para a remoção do composto no solo em um período menor que 15 dias utilizando a planta. A planta não foi eficaz para a remoção do 2,4-D nesta matriz porque tanto no grupo controle, quanto no grupo tratamento obteve-se a mesma taxa de degradação do 2,4-D, como pode ser visto na figura 2 a do artigo.

Acredita-se que este processo ocorra devido à composição do solo que possui grande quantidade de matéria orgânica e umidade, o que favoreceu a degradação do 2,4-D. Um dos motivos que levou a essa degradação foi a possibilidade de haver microrganismos presentes com capacidade de degradar o 2,4-D (fazendo a biorremediação) nesse solo, o que pode ter impedido a interação da planta com o composto. No trabalho de Piaia et al (2017) que utilizou a *Melissa officinalis* para a descontaminação de solo com a associação de 2,4-D e propanil, foi possível observar esse mesmo comportamento. Ao compararmos os tipos de solo utilizados neste trabalho com os de Piaia et al (2017), observamos que ambos possuíam quantidades de matéria orgânica e umidade semelhante, indicando as mesmas probabilidades de degradação do 2,4-D explicadas neste trabalho. Os resultados do presente estudo diferem daqueles encontrados por Fiore (2014), que obteve uma redução de 10% do 2,4-D (63,83 g.ha⁻¹ para 57,75 g.ha⁻¹) no solo em 26 dias utilizando a planta ingá (*Inga marginata*). Porém, a forma como eles fortificaram o solo (tipo latossolo vermelho-amarelo de textura argilo-arenosa) foi diferente do nosso, uma vez que eles adicionaram o 2,4-D diretamente no prato abaixo do pote de jardinagem com a planta, simulando a capacidade de remoção pela planta nos casos em que o composto foi lixiviado.

Embora a planta não tenha sido eficaz para a fitorremediação do composto no presente estudo, a mesma esteve em contato com o solo contaminado por ele, e dessa forma, foi realizada também a análise da detecção do composto no chá das folhas da planta após o período do experimento (figura 3 do artigo). De acordo com os resultados, não houve presença do 2,4-D após 15 dias de tratamento nestes chás, o que possibilita o uso em forma de chá desta planta após contato com solo contaminado com o 2,4-D, nestas condições do

experimento. No entanto, recomendamos um estudo da presença de metabólitos do 2,4-D nos chás.

Além destas análises, foi verificada a variação na atividade antioxidante pelo método do DPPH, análise de polifenóis totais e flavonóides totais nos chás das folhas da planta após os 15 dias de experimento. Estas análises foram realizadas porque a planta estava exposta à um herbicida (agente agressor), portanto, esperava-se que ocorresse um aumento na atividade antioxidante, polifenóis e flavonóides, como forma de defesa da planta para combater o dano oxidativo ocasionado. Ao contrário do que era esperado, houve uma pequena diminuição destas três análises, como pode ser visto na figura 4 a do artigo. Este fato pode ser explicado de acordo com Mitton et al (2015) que retratou esse resultado semelhante (porém com uso de outro pesticida e outra planta), onde atribuiu esse comportamento à um estado pró-oxidante causado pela exposição da planta ao pesticida e como consequência, levou a danos no sistema antioxidante.

Diferentemente do que ocorreu no solo, na água a planta obteve êxito em promover a fitorremediação como pode ser visto na figura 2 b do artigo embora essa planta não seja destinada para crescer em ambiente aquático, e sim, terrestre. A eficiência da fitorremediação pode ser vista pela redução de 37% do grupo tratamento 1 e no grupo tratamento 2 de 35%, comparado ao grupo controle 1, que obteve uma degradação do composto de 21% e no grupo controle 2 de 22% nos primeiros 30 dias. Após esse período, essas plantas foram retiradas dos potes e novas mudas foram colocadas nesses mesmos potes (mesmo sistema). E, mais uma vez, a planta obteve êxito em fitorremediar mais uma quantidade do composto que restava no sistema. Ao final do experimento, os potes que foram usados para os tratamentos com a planta tiveram uma redução de: grupo tratamento 1: 49% e no grupo tratamento 2 de 46%, já no grupo controle 1 a redução do composto foi apenas de 27% e no grupo controle 2 de 33%. Esses resultados apresentam a persistência deste composto em água de um ambiente parado e a capacidade destas plantas em descontaminar locais com esse perfil. Como foi visto a planta não degradou 100% do 2,4-D nesse período, porém, ela deu um indicativo que consegue reduzir aproximadamente 50% do composto nesse período. Como forma de tentar melhorar a remoção do 2,4-D com o *Plectranthus neochilus*, há a possibilidade de realizar a renovação das novas mudas a cada 10 dias e não a cada 30, como foi realizado no experimento. Essa possibilidade foi baseada nos resultados da figura 2 b do artigo, que mostram que nos primeiros 10 dias em que a planta foi colocada no pote é que houve a maior capacidade de remoção do composto, após esse período, ela se manteve constante, como se já estivesse saturada.

Após os primeiros trinta dias quando as primeiras plantas foram retiradas, foram realizadas as análises da atividade antioxidante pelo teste de captura do radical DPPH e o método do complexo fosfomolibdênio, como também, foram realizadas as análises de polifenóis totais, flavonóides e quantificação dos compostos fenólicos. De acordo com os resultados da figura 4 a e b, observa-se que ambos os experimentos (solo e água) os resultados foram semelhantes, houve uma diminuição da capacidade antioxidante total, fenólicos totais e polifenóis. Embora as plantas expostas ao 2,4-D no solo e na água não tenham apresentado sinais de fitotoxicidade nas folhas e caule, nas plantas que estavam no experimento com a água, houve diferença no crescimento das raízes (nas duas concentrações) comparando aquelas plantas do grupo branco. Isso pode ser visto na figura 1 do artigo. Dessa forma, esse resultado juntamente com a diminuição da atividade antioxidante, polifenóis e flavonóides totais indica que o 2,4-D estava agindo como um agente agressor e danificando o sistema antioxidante da planta, como foi explicado para as plantas do experimento do solo.

Juntamente a esses resultados, foi possível observar que nos 30 dias finais de experimento (segundo grupo de plantas colocadas no lugar do primeiro grupo de plantas), os resultados indicaram que o grupo branco e o grupo tratamento 1 são semelhantes (figura 4 c do artigo). Esse comportamento se deve ao fato de que no momento em que houve a substituição das plantas a concentração do 2,4-D no pote do grupo tratamento 1 já era a metade da concentração do 2,4-D comparado à concentração do 2,4-D dos potes do grupo tratamento 2, devido a fitorremediação pela planta.

Em relação aos compostos fenólicos presentes no chá da planta, os que foram capazes de quantificar foram o ácido caféico, ácido cumárico e ácido ferúlico, os quais obtiveram diferenças na concentração nos dois grupos de plantas trabalhados. Na figura 4 d do artigo foi possível observar que nos primeiros 30 dias houve uma estabilização do ácido caféico em relação ao grupo branco e um aumento acentuado do ácido ferúlico e do ácido cumárico em relação ao branco (tratamento 1). No tratamento 2 obteve-se uma diminuição do ácido caféico em relação ao grupo branco e uma pequena diminuição do ácido cumárico e ferúlico comparados ao tratamento 1, porém, os mesmos ainda se mantiveram em maior quantidade comparado ao branco no tratamento 2. Essa estabilização aos níveis basais (tratamento 1) e diminuição (tratamento 2) do ácido cafeico é atribuída ao fato deste composto estar em maior atividade para a estabilização de espécies reativas formadas pelo 2,4-D (herbicida e causa um grande dano à planta pela alta produção de espécies reativas de oxigênio) (RODRIGUES-SERRAO et al., 2014). Essa ação do 2,4-D foi confirmada pela diminuição da atividade antioxidante total que foi observada na figura 4 b do artigo, como explicado anteriormente.

Em relação à variação dos compostos fenólicos, esse maior potencial antioxidante do ácido caféico (ocasionando sua maior demanda e diminuição) em relação ao ácido cumárico e ferúlico ocorre devido a sua estrutura molecular que possui as hidroxilas nas posições 3 e 4 do anel benzênico, o que confere a maior atividade do ácido caféico perante os outros dois compostos (KIKUZAKI et al., 2002) e tal fato pode ser confirmado pela diminuição dos três compostos apenas no tratamento 2, onde a concentração do herbicida era maior. Dessa forma, o aumento do conteúdo de ácido cumárico e ferúlico na figura 4 d do artigo também representam o mecanismo de defesa da planta frente ao agente agressor (2,4-D), porém em menor potencial que o ácido caféico. Dessa forma, observa-se uma vantagem no uso da planta nesse período de exposição ao herbicida pelo fato de que o aumento destes compostos fenólicos ocorre somente nas plantas que estão em tratamento expostas ao 2,4-D, e não no grupo branco (figura 4 d). Sendo assim, o uso dessas plantas após esses trinta dias para utilização de suas folhas em forma de chá seria viável, uma vez que ambos os compostos trazem benefícios à saúde humana. No caso do ácido ferúlico, Ou & Kwok (2004) reportaram algumas benefícios deste composto, como: atividade antioxidante; capacidade de baixar as concentrações plasmáticas de lipoproteína de muito baixa densidade e colesterol de lipoproteína de baixa densidade, aliado a resultados como aumento no colesterol lipoproteico de alta densidade de plasma; tratamento da trombose; propriedades antimicrobiana e anti-inflamatória; atividade antitumoral. Já para o ácido cumárico, a literatura reporta que o mesmo possui atividade antioxidantes e acredita-se que o mesmo reduz o risco de câncer no estômago (reduz formação de nitrosaminas cancerígenas). (FERGUSON et al., 2005; JIN et al., 2012).

Após 60 dias, observa-se um comportamento diferente, na figura 4 e do artigo houve um aumento nos níveis de ácido caféico e ferúlico e uma diminuição no ácido cumárico que é observada em ambos os grupos de tratamento comparando com o grupo branco tanto no tratamento 1 quanto no tratamento 2. Dessa forma, esses níveis de ácidos fenólicos também evidenciaram uma forma de proteção da planta contra o herbicida que ainda estava presente no ambiente. Nesse caso, como a concentração do herbicida nesse período do experimento (30 dias finais, totalizando 60 dias de experimento) já estava quase 50% menor que a inicial, a variação que ocorreu nos compostos fenólicos está de acordo com a via sintética dos fenilpropanoides. Sendo assim, pode-se observar que esta diminuição do ácido cumárico pode estar relacionada com a síntese dos outros dois compostos (ácido caféico e ferúlico). Como consequência dessas variações nos compostos fenólicos, a utilização da planta na forma de chá de suas folhas torna-se vantajosa novamente devido aos benefícios para a saúde humana.

Novamente observa-se o aumento destes compostos fenólicos que ocorre somente nas plantas que estão em tratamento expostas ao 2,4-D, e não no grupo branco (figura 4 e). Assim, levando em consideração as propriedades atribuídas ao ácido ferúlico já mencionadas, soma-se aqui as propriedades do ácido caféico, que além de ser um potente antioxidante, possui propriedades vasodilatadoras e ajuda na prevenção de doenças cardiovasculares (PRINCE & KUMARAN, 2012).

6 CONCLUSÕES

O *Plectranthus neochilus* foi eficaz na fitorremediação de 2,4-D em água, mas não no solo. Pelo fato de que a planta se manteve em boas condições durante o tratamento com o herbicida, principalmente nos primeiros 30 dias de experimento na água (onde o composto estava mais concentrado) se atribui a essa planta uma forte candidata para fins de remediação em recursos hídricos, já que provou ser resistente ao 2,4-D nas concentrações acima do aplicado no cultivo de diversas culturas. Além disso, as folhas dessa planta podem ser utilizadas em forma de chá após a fitorremediação pela ausência do herbicida nesta matriz (chá das folhas), porém, mais estudos com seus metabólitos deverão ser realizados. Embora o composto tenha causado danos no sistema antioxidante, devido a diminuição da capacidade antioxidante total observada, obteve aumento de alguns dos compostos fenólicos quantificados em diferentes períodos de análise (30 ou 60 dias de tratamento), tornando o chá da planta após a fitorremediação ainda útil para determinados déficits nutricionais.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Tendo em vista os resultados obtidos neste trabalho, as perspectivas para trabalhos posteriores são:

- Analisar a possível rota metabólica do 2,4-D que ocorre no *Plectranthus neochilus*.
- Analisar se o 2,4-D está presente na planta (raiz, caule, folha e flor quando presente).
- Testar a eficiência da fitorremediação trocando as plantas a cada 10 dias na água.
- Analisar a influência de bactérias no solo utilizado neste estudo.
- Verificar a capacidade de fitorremediação do 2,4-D em diferentes tipos de solo com esta planta e avaliar a possibilidade de inoculação de bactérias na rizosfera da planta.
- Extrair o óleo essencial do *P. neochilus* e avaliar a composição química nos diferentes tratamentos.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDOLLAHI, M.; RANJBAR, A.; SHADNIA, S.; NIKFAR, S.; REZAIE, A. Pesticides and oxidative stress: a review. **Med Sci Monit.** v.10, n. 6, p 141-147, Jul 2004.
- ABHILASH, P. C.; JAMIL, S.; SINGH, N. Transgenic plants for enhanced biodegradation and phytoremediation of organic xenobiotics. **Biotechnology Advances.** v. 27, n. 4, p. 474–488, Ago 2009.
- ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: Tópicos em ciência do solo. **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, 2000. v. 1, p. 299-352.
- AGUIAR, C. R. C.; MARQUES, M. & BALIEIRO, F. C. Desempenho de soja e braquiária na fitorremediação de solos contaminados com petróleo In: Congresso brasileiro de engenharia sanitária e ambiental. **Anais.** Belo Horizonte, 2007. CD-ROM.
- ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, M. A. Phytoremediation of heavy metals - concepts and applications. **Chemosphere.** v. 91, n. 7, p.869–881, Mai 2013.
- ANDRADE, M. J. C.; TAVARES, L. S. R.; MALHER, C. F. **Fitorremediação, o uso de plantas na melhoria da qualidade ambiental.** São Paulo: Oficina de Textos, 2007.
- BADRI, D. V.; VIVANCO, J. M. Regulation and function of root exudates. **Plant, Cell Environ.** v. 32, n. 6, p. 666-681, Jun 2009.
- BAIRD, C. **Química Ambiental.** 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2011. p. 439-460.
- BAIS, H.P.; WEIR, T.L.; PERRY, L.G.; GILROY, S. & VIVANCO, J.M. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. **Ann Rev Plant Biol.** v. 57, n. 1, p. 233-266, Jun 2006.
- BARBOSA, L. C. A. **Os pesticidas, o homem e o meio ambiente.** Viçosa: UFV, 2004.
- BALI, R., SIEGELE, R., HARRIS, A. T. Phytoextraction of Au: Uptake, accumulation and cellular distribution in *Medicago sativa* and *Brassica juncea*. **Chemical Engineering Journal.** v. 156, n. 2, p. 286– 297, Jan 2010.
- BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Phytoremediation: Principles and perspectives. **Contrib. Sci.** v. 2, n. 3, p.333–344, Jan 2003.
- BARRETO, A. B. **Seleção de macrófitas aquáticas com potencial para remoção de metais-traço em fitorremediação.** 81f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio ambiente e Recursos Hídricos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.
- BEARD, J. D.; HOPPIN, J. A.; RICHARDS, M.; ALAVANJA, M. C. R.; BLAIR, A.; SANDLER, D. P.; KAME, F. Pesticide exposure and self-reported incident depression among wives in the Agricultural Health Study. **Environ. Res.** v. 126, p. 31- 42 Out 2013.

BESELER, C. L.; STALLONES, L. A cohort study of pesticide poisoning and depression in Colorado farm residents. **Ann. Epidemiol.** v. 18, n. 10, p. 768–774, Out 2008.

BESELER, C.; STALLONES, L.; HOPPIN, J. A.; ALAVANJA, M. C.R., BLAIR, A.; KEEFE, T.; KAME, F. Depression and pesticide exposures in female spouses of licensed pesticide applicators in the agricultural health study cohort. **J. Occup. Environ. Med.** v. 48, n. 10, p. 1005–1013, Out 2006.

BRAIBANTE, M. E. F.; ZAPPE, J. A. A Química dos Agrotóxicos. **Química e Sociedade: Química Nova na Escola**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p.10-15, fev 2012.

BRASIL. Decreto nº. 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Disponível em:
<<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=16764>> Acesso em 10 out de 2016.

_____. ANVISA. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. 2013. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA)**. Relatório de Atividades de 2011 e 2012.

_____. CONAMA Ministério do Meio Ambiente nº 420. Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009.

CAIXETA, S. C.; MAGALHÃES, L.G.; MELO, N. I.; WAKABAYASHIA, K. A. L.; AGUIAR, G. P.; AGUIAR, D. P.; MANTOVANI, A. L. L.; ALVESA, JACQUELINE M.; OLIVEIRA, P. F.; TAVARESA, D. C.; GROPOB, M.; RODRIGUES, V.; CUNHA, W. R.; VENEZIANIA, R. C. S.; FILHO, A. S.; CROTTI, A. E. M. Chemical Composition and in vitro Schistosomicidal Activity of the Essential Oil of *Plectranthus neochilus* Grown in Southeast Brazil. **Chemistry & Biodiversity**. v. 8, p. 2149-2157, Mai 2011.

CARMO, M. L.; PROCOPIO, S. O.; PIRES, F. R.; CARGNELUTTI FILHO, A.; BARROSO, A. L. L.; SILVA, G. P.; CARMO, E. L.; BRAZ, G. B. P.; SILVA, W. F. P.; BRAZ, A. J. B. P.; PACHECO, L. P. Seleção de plantas para fitorremediação de solos contaminados com picloram. **Planta Daninha**. v. 6, n. 2, p. 301-313, Jun 2008.

CERNE, M.; SMODIS, B.; STOK, M. Uptake of radionuclides by a common reed (*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud.) grown in the vicinity of the former uranium mine at Žirovski vrh. **Nucl. Eng. Des. In press**. v. 241, n.4, p. 1282 – 1286, Mai 2010.

CHAUDHRY, Q.; BLOM-ZANDSTRA, M.; GUPTA, S.; JONER, E. J. Utilizing the synergy between plants and rhizosphere microorganisms to enhance breakdown of organic pollutants in the environment. **Environ. Sci. Pollut. Res.** v. 12, n. 1 p.34-38, Fev 2005.

CHERIAN, S.; OLIVEIRA, M. M. Transgenic plants in phytoremediation: recent advances and new possibilities. **Environ. Sci. Technol.** v.39, n. 24. p. 9377–9390, Nov 2005.

CHEN, F.; WANG, S.; MU, S.; AZIMUDDIN, I.; ZHANG, D.; PAN, X.; FAHAD, A.; MISNEH, A.; GOLAM, M. Physiological responses and accumulation of heavy metals and arsenic of *Medicago sativa* L. growing on acidic copper mine tailings in arid lands. **Journal of Geochemical Exploration**. v. 157, p. 27-35, Out 2015.

CHEN, S.; GU, S.; WANG, Y.; YAO, Y.; WANG, G.; JIN, Y.; WU, Y. Exposure to pyrethroid pesticides and the risk of childhood brain tumors in East China. **Environmental Pollution**. v. 218 p.1128-1134, Nov 2016.

CHINGOMBE, P.; SAHA, B.; WAKEMAN, R. J. Effect of surface modification of activated carbon on the sorption of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and benazolin from water. **J. Colloid Interface Sci.** v. 297, n. 2, p. 434-442, Mai 2006.

COLEMAN, JULIAN O. D.; FROVA, C.; SCHRÖDER, P.; TISSUT, M. Exploiting plant metabolism for the phytoremediation of persistent herbicides. **Environ Sci & Pollut Res.** v.9, n. 1, p.18 – 28, Jan 2002.

DAMS, R. I.; PATON, G. I.; KILLHAM, K. Rhizoremediation of pentachlorophenol by *Sphingobium chlorophenolicum* ATCC 39723, **Chemosphere**. v. 68, n. 5, p. 864–870, Jun 2007.

DE FARIAS, V.; MARANHO, L. T.; DE VASCONCELOS, E. C.; FILHO, M. A. S. C.; LACERDA, L. G.; AZEVEDO, J. A. M.; PANDEY, A.; SOCCOL, C. R. Phytodegradation potential of *Erythrina crista-galli* L., *Fabaceae*, in petroleum-contaminated soil. **Appl. Biochem. Biotechnol.** v. 157, n. 1, p.10–22, Abr 2009.

DELORENZO, M. E.; SCOTT, G. I.; ROSS, P. E. Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms: a review. **Environ. Toxicol. Chem.** v. 20, n. 1, p. 84–98, Jan 2001.

DEMIRBAS, A. Heavy metals adsorption onto agro-based waste materials: A review. **Journal of Hazardous Materials**. v. 157, n. 2-3, p. 220-229, Set 2008.

DHIR, B; SHARMILA, P.; SARADHI, P.P. Potential of aquatic macrophytes for removing contaminants from the environment. **Critical Reviews in Envir. Sci. and Tech.**, v.39, n. 9. p. 754-781, Set 2009.

EAPEN, S.; SINGH, S.; D'SOUZA, S. F. Advances in development of transgenic plants for remediation of xenobiotic pollutants. **Biotechnol. Adv.** v. 25, n. 5, p. 442–451, Set-Out 2007.

EDWARDS, R.; BRAZIER-HICKS, M.; DIXON, D. P.; CUMMINS, I. Chemical Manipulation of Antioxidant Defences in Plants. **Advances in Botanical Research**. v 42, 2005.

EPA. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US EPA). Technical Fact Sheet on 2,4-D. USEPA 2005. Acesso em 14/10/2016. Disponível em: <<http://npic.orst.edu/factsheets/archive/2,4-DTech.html>>

FERGUSON, L. R.; ZHU, S-T.; HARRIS, P. J. Antioxidant and antigenotoxic effects of plant cell wall hydroxycinnamic acids in cultured HT-29 cells. **Mol. Nutr. Food Res.** v. 49, p. 585 – 693. Mar, 2005.

FERRAZ, P.; FIDALGO, F.; ALMEIDA, A.; TEIXEIRA, J. Phytostabilisation of nickel by the zinc and cadmium hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. Are metallothioneins involved? **Plant Physiol. Bioch.** v. 57, p. 254–260, Ago 2012.

FIORE, R. A. **Potencial de espécies florestais para remediação de substrato contaminado com atrazine e 2,4-D.** 66f. Dissertação (Ciência Florestal) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha, Diamantina, 2014.

FRIEDRICH, K. **Avaliação dos efeitos tóxicos sobre o sistema reprodutivo, hormonal e câncer para seres humanos após o uso do herbicida 2,4-D.** In: Fundação Oswaldo Cruz. Parecer técnico. Rio de Janeiro. Maio 2014, p.45

GEBLER, L.; **Banco de Informações Ambientais e Toxicológicas dos Agrotóxicos Utilizados até a Safra 2002/2003 na Produção Integrada de Maçãs no Brasil.** Embrapa Uva e Vinho: Bento Gonçalves, RS, Circulação Técnica n 48, julho 2004.

GERHARDT, K. E.; HUANG, X.; GLICK, B. R.; GREENBERG, B. M. Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: Potential and Challenges. **Plant Science.** v. 176, n. 1, p.20-30, Jan 2009.

GIANFREDA, L.; RAO, M. A. Potential of extra cellular enzymes in remediation of polluted soils: a review. **Enzyme Microb. Technol.** v. 35, n. 4, p.339–354, Set 2004.

GIARDINI, P. B. **Fitorremediação: usos e características de aplicação.** Minas Gerais: IFECT, 2010.

GRISOLIA, C. K.. **Agrotóxicos - mutações, câncer e reprodução.** Brasília: Ed. UnB, 2005.

Grossmann, K. Auxin herbicides: Current status of mechanism and mode of action. **Pest Manag. Sci.** v. 66, n. 2, p. 113–120, Fev 2010

HALL, J. L. Cellular mechanism for heavy metal detoxification and tolerance. **J. Exper. Bot.** v. 53, n. 366, p. 1-11, Jan 2002.

HARRISON, I.; LEADER, R. U.; HIGGO, J. J. W.; WILLIAMS, G. M. A study of the degradation of phenoxy acid herbicides at different sites in a limestone aquifer. **Chemosphere.** v. 36, n. 6, p.1211–1232, Abr 1998.

HATZIOZ, K. K. **Regulation of enzymatic systems detoxifying xenobiotics in plants:** a brief overview and directions for future research. Dordrecht, Kluwer, The Netherlands, 1997.

HEADLEY, J. V.; PERU, K. M.; DU, J. L.; GURPRASAD, N.; MCMARTIN, D. W. Evaluation of the apparent phytodegradation of pentachlorophenol by *Chlorella pyrenoidosa*. **J. Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ. Eng.** v. 43, n. 4, p. 361–364, Mar 2008.

HERNANDEZ-VAENCIA, I. & MAGER, D. Uso de *Panicum maximum* y *Brachiaria brizantha* para fitorremediar suelos contaminados con un crudo de petróleo liviano. **Biagro,** v. 15, n. 3, p. 149-155, Set 2003.

HONTZEAS, N.; ZOIDAKIS, J.; GLICK, B. R. Expression and characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from the rhizobacterium *Pseudomonas putida* UW4: a key enzyme in bacterial plant growth promotion. **Biochim. Biophys. Acta.** v. 1703, n. 1, p.11–19, Dez 2004.

HIMEL, C. M., LOATS, H.; BAILEY, G. W. **Pesticides sources to the soil and principles of spray physics.** In: CHENG, H.H. (org.) Pesticides in the soil environment: processes, impacts, and modeling. Madison : Soil Science Society of America, 1990. p.7-50.

HUANG, J. W.; POYNTON, C. Y.; KOCHIAN, L. V.; ELLESS, M. P. Phytofiltration of arsenic from drinking water using arsenic-hyperaccumulating ferns. **Environ. Sci. Technol.** v. 38, n. 12, p. 3412 -3417, Jun 2004.

HUANG, X. D.; EL-ALAWI, Y.; GURSKA, J.; GLICK, B. R.; GREENBERG, B. M. A multi-process phytoremediation system for decontamination of persistent total petroleum hydrocarbons (HTPs) from soils. **Microchem. J.** v. 81, p. 139- 147, Mar 2005.

ITRC. Interstate Technology & Regulatory Council. Phytotechnology Technical and Regulatory Guidance Document. 123p., 2001 *apud* BARRETO, A. B. **Seleção de macrófitas aquáticas com potencial para remoção de metais-traço em fitorremediação.** 81f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio ambiente e Recursos Hídricos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

JADIA, C. D.; FULEKAR, M. H. Phytoremediation of heavy metals: Recent techniques. **Afr. J. Biotechnol.** v. 8, n. 6, p. 921–928, Abr 2009.

JAGTAP, S. S.; WOOB, S. M.; KIM, T.; DHIMAN, S. S.; KIM, D.; LEE, J. Phytoremediation of diesel-contaminated soil and saccharification of the resulting biomass. **Fuel.** v. 116, n. 15, p. 292–298, Jan 2014.

JARDIM, C. S.; ANDRADE, J. A.; QUEIROZ, S. C. N. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global – um enfoque às maçãs. **Quim. Nova.** v. 32, n. 4, p. 996-1012, Abr 2009.

JIN, X-L.; WEI, X.; QI, F-M.; YU, S-S.; ZHOU, B.; BAI, S. Characterization of hydroxycinnamic acid derivatives binding to bovine serum albumin. **Org. Biomol. Chem.** v. 10, p. 3424–3431. Fev, 2012.

JUREWICZ, J.; HANKE, W.; SOBALA, W.; LIGOCKA, D. Exposure to phenoxyacetic acid herbicides and predictors of exposure among spouses of farmers. **Ann Agric Environ Med.** v. 19, n. 1, p.51-6, Mar 2012..

KADIAN, N.; GUPTA, A.; SATYA, S.; MEHTA, R.K. & MALIK, A. Biodegradation of herbicide (atrazine) in contaminated soil using various bioprocessed materials. **Biores. Technol.** v. 99, n. 11, p.:4642-4647, Jul 2008.

KAGALKAR, A. N.; JADHAV, M. U.; BAPAR, V. A.; GOVINDWAR, S. P. Phytodegradation of the triphenylmethane dye Malachite Green mediated by cell suspension cultures of *Blumea malcolmii* Hook. **Bioresour. Technol.** v. 102, n. 22, p. 10312–10318, Ago 2011.

- KAIMI, E. Ryegrass enhancement of biodegradation in diesel-contaminated soil. **Environ. Exper. Bot.** v. 55, n. 1-2, p.110-119, Jan 2006.
- KANG, D. J.; SEO, Y.-J.; SAITO, T.; SUZUKI, H.; ISHII, Y. Uptake and translocation of cesium-133 in napiergrass (*Pennisetum purpureum* Schum.) under hydroponic conditions. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** v. 82, n. 1, p. 122–126, Ago 2012.
- KAUTSKY, L & GREGER, M. Influence of temperature and salinity on heavy metal uptake by submersed plants. **Environ. Pollut.** v. 133, n. 2, p.265-274 Jan 2005.
- KIKUZAKI, H.; HISAMOTO, M.; HIROSE, K.; AKIYAMA, K.; TANIGUCHI, H.; Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds. **Agricultural and Food Chemistry.** v.50, n.7, p. 2161-2168, fev. 2002.
- KOLPIN, D. W.; BARBASH, J. E.; GILLIOM, R. J. Occurrence of pesticides in shallow groundwater of the United States: Initial results from the National Water-Quality Assessment Program. **Environ Sci Technol.** v. 32, n. 5, p.558–566, Jan 1998.
- KSHIRSAGAR, S.; AERY, N. C. Phytostabilisation of mine waste: Growth and physiological responses of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **J. Environ. Biol.** v. 28, n. 3, p. 651–654, Jul 2007.
- KULAKOW, P.; PIDLISNYUK, V. V., eds. Application of Phytotechnologies for cleanup of industrial, agricultural and wastewater contamination. NATO Science for Peace and Security Series C: **Environmental Security**, 198p. 2010.
- KUMAR, R.; PANDEY, S.; PANDEY, A. Plant roots and carbon sequestration. **Curr. Sci.** v. 91, n. 7 p. 885–890, Out 2006.
- LEIGH, M. B.; FLETCHER, J. S.; FU, F. X.; SCHMITZ, J. Root turnover: an important source of microbial substrates in rhizosphere remediation of recalcitrant contaminants. **Environ. Sci. Technol.** v. 36, n. 7, p. 1579–1583, Fev 2002.
- LEE, W. J.; BLAIR, A.; HOPPIN, J. A.; LUBIN, J. H.; RUSIECKI, J. A.; SANDLER, D. P.; DOSEMECI, M.; ALAVANJA, M. C. Cancer incidence among pesticide applicators exposed to chlorpyrifos in the Agricultural Health Study. **J. Natl. Cancer Inst.** v. 96, n. 23, p. 1781–1789, Dez 2004a.
- LEE, W. J.; HOPPIN, J. A.; BLAIR, A.; LUBIN, J. H.; DOSEMECI, M.; SANDLER, D. P.; ALAVANJA, M. C. Cancer incidence among pesticide applicators exposed to alachlor in the Agricultural Health Study. **Am. J. Epidemiol.** v. 159, n. 4, p. 373–380, Fev 2004b.
- LEE, W. J.; SANDLER, D. P.; BLAIR, A.; SAMANIC, C.; CROSS, A. J.; ALAVANJA, M. C. Pesticide use and colorectal cancer risk in the Agricultural Health Study. **Int. J. Cancer.** v. 121, n. 2, p. 339–346, Jul 2007.
- LI, Y. M.; CHANEY, R. L.; ANGLE, J. S.; BAKER, A. J. M. Phytoremediation of heavy metal contaminated soils. **Environ. Sci. Poll. Con. Series.** v. 22, p. 837– 857, 2000.

- LI, P.; ZHENG, G.; CHEN, X.; PEMBERTON, R. Potential of monitoring nuclides with the epiphyte *Tillandsia usneoides*: uptake and localization of ^{133}Cs . **Ecotoxicol. Environ. Saf.** v.86, n. 1, p. 60-65, Dez 2012.
- LIN, Z. Q.; SCHEMENAUER, R. S.; CERVINKA, V.; ZAYED, A.; LEE, A.; TERRY, N. Selenium volatilisation from a soil-plant system for the remediation of contaminated water and soil in the San Joaquin valley. **J. Environ. Qual.** v. 29, n. 4, p. 1048-1056, Jul 2000.
- LIN, C. H.; LERCH, R. N.; KREMER, R. J.; GARRETT, H. E. Stimulated rhizodegradation of atrazine by selected plant species. **J. Environ. Qual.** v. 40, n. 4, p. 1113-1121, Jul-Ago 2011.
- LIU, L.; JIANG, C. Y.; LIU, X. Y.; WU, J. F.; HAN, J. G.; LIU, S. J. Plant-microbe association for rhizoremediation of chloronitroaromatic pollutants with *Comamonas sp.* strain CNB-1. **Environ. Microbiol.** V. 9, n. 2, p. 465-473, Fev 2007.
- LU, H. L.; ZHANG, Y.; LIU, B. B.; YE, J.; YAN, C. Rhizodegradation gradients of phenanthrene and pyrene in sediment of mangrove (*Kandelia candel* (L.) Druce). **J. Hazard. Mater.** v. 196, p. 263-269, Nov 2011.
- LUCERO, M. E.; MUELLER, W.; HUBSTENBERGER, J.; O'CONNELU, P.; O'CONNELU, M. A. Tolerance to nitrogenous explosives and metabolism of TNT by cell suspensions of *Datura innoxia*. **Vitro Cell Dev. Biol. Plant.** v. 35, n. 6, 480-486, Nov 1999.
- MACEK, T.; MACKOVA, M.; KAS, J. Exploitation of plants for the removal of organics in environmental remediation. **Biotechnol. Adv.** v. 18, n. 1, p. 23-34, Mar 2000.
- MAGALHÃES, M. O. L.; SOBRINHO, N.; DOS SANTOS, F. S.; MAZUR, N. Potential of two species of eucalyptus in the phytostabilisation of a soil contaminated with zinc. **Rev. Ciênc. Agron.** v. 42, n. 3, p.805-812, Jul-Set 2011.
- MAQBOOL, F.; WANG, Z. Y.; XU, Y.; ZHAO, J.; GAO, D.; ZHAO, Y. G.; BHATTI, Z. A.; XING, B. Rhizodegradation of petroleum hydrocarbons by *Sesbania cannabina* in bioaugmented soil with free and immobilised consortium. **J. Hazard. Mater.** 237-238, p. 262-269, Out 2012.
- MARQUES, M.; ROSA, G. S.; AGUIAR, C. R. C.; CORRÊA, S. M.; CARVALHO, E. M. Seedling emergence and biomass growth of oleaginous and other tropical species in oil contaminated soil. **Open Waste Manag. J.** v. 3, p. 26-32, Jan 2010.
- MCLEAN, K.J.; SABRI, M.; MARSHALL, K.R.; LAWSON, R.J.; LEWIS, D.G.; CLIFT, D.; BALDING, P.R.; DUNFORD, A.J.; WARMAN, A.J.; MCVEY, J.P.; QUINN, A. M.; SUTCLIFFE, M. J.; SCRUTTON, N. S.; MUNRO, A. W. Biodiversity of cytochrome P450 redox systems. **Biochem. Soc. Trans.** v. 33, n. 4, p. 796-801, Ago 2005.
- MEGATELI, S.; SEMSARI, S.; COUDERCHET, M. Toxicity and removal of heavy metals (cadmium, copper, and zinc) by *Lemna gibba*. **Ecotoxicology and Environmental Safety.** v. 72, n. 6, p. 1774-1780, Jun 2009.

MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; ARIAS, M. Effect of the tropical grass *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Staf on microbial population an activity in petroleum-contaminated soil. **Microbiol. Res.** v. 161, n. 1, p. 80-91, Jan 2006.

MITTON, F. M.; MIGLIORANZA, K. S. B.; GONZALEZ, M.; SHIMABUKURO, V. M.; MONSERRAT, J. M. Assessment of tolerance and efficiency of crop species in the phytoremediation of DDT polluted soils. **Ecological Engineering.** v.71, p. 501–508, Out 2014.

MOOGOUEI, R.; BORGHEI, M.; ARJMANDI, R. Phytoremediation of stable Cs from solutions by *Calendula alata*, *Amaranthus chlorostachys* and *Chenopodium album*. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** v. 74, n. 7, p. 2036-2039, Out 2011.

MORAES, S. L.; TEIXEIRA, C. E.; MAXIMIANO, A. M. S. **Guia de elaboração de planos de intervenção para o gerenciamento de áreas contaminadas.** São Paulo: IPT/BNDS, 2014. 394 p.

MORGAN, M. K.; SHELDON, L. S.; THOMAS, K. W.; EGEHY, P. P.; CROGHAN, C. W.; JONES, P. A.; CHUANG, J. C.; WILSON, N. K. Adult and children's exposure to 2,4-D from multiple sources and pathways. **J Expo Sci Environ Epidemiol.**v.18, n.5, p.486-94, Set 2008.

MORIKAWA, H.; ERKIN, Ö. C. Basic processes in phytoremediation and some applications to air pollution control. **Chemosphere.** v. 52, n. 9, p. 1553-1558, Set 2003.

MOSTAFALOU, S.; ABDOLLAHI, M. Concerns of environmental persistence of pesticides and human chronic diseases. **Clin. Exp. Pharmacol.** v. 2, n. 3, p. 1000- 1108, Out 2012.

NALON, L. **Potencial do Eucalipto na fitorremediação de um solo contaminado por chumbo.** Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo). Universidade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp. Jaboticabal, 2008.

NASCIMENTO, C. W. A.; XING, B. Phytoextraction: A review on enhanced metal availability and plant accumulation. **Sci. Agric.** v. 63, n. 3, p. 299-311, Mai-Jun 2006.

NIKOLIC', M.; STEVOVIC, S. Family *Asteraceae* as a sustainable planning tool in phytoremediation and its relevance in urban áreas. **Urban Forestry & Urban Greening.** v. 14, n. 4, p. 782–789, Ago 2015.

OLOWOYO, J. O.; OKEDYEI, O. O.; MKOLO, N. M.; LION, G. N.; MDAKANE, S. T. R. Uptake and translocation of heavy metals by medicinal plants growing around a waste dump site in Pretoria, South Africa. **South African Journal of Botany.** v. 78; p. 116-121, Mai 2012.

OPAS - Organização Pan-Americana da Saúde; OMS - Organização Mundial da Saúde. Ministério da Saúde. **Manual de vigilância da saúde de populações expostas a agrotóxicos.** Brasília: Secretaria de Vigilância Sanitária. Departamento Técnico-Normativo. Divisão de Meio Ambiente a Ecologia Humana, 1997.

OU, S. KWOK, K-C. Review Ferulic acid: pharmaceutical functions, preparation and applications in foods. **J Sci Food Agric** . v. 84, p. 1261–1269. Fev, 2004.

PARRA, A.; ZORNOZA, R.; CONESA, E.; LÓPEZ, G. M. D.; FAZ, A. Seedling emergence, growth and trace elements tolerance and accumulation by *Lamiaceae* species in a mine soil. **Chemosphere**. v. 113, p. 132–140, Mai 2014.

PEIXOTO, F.; ALVES-FERNANDES, D.; SANTOS, D.; FONT´ANHAS-FERNANDES, A. Toxicological effects of oxyfluorfen on oxidative stress enzymes in tilapia *Oreochromis niloticus* **Pestic. Biochem. Physiol.** v. 85, n. 2, p. 91-96, Jun 2006.

PERES, F.; ROZEMBERG, B.; ALVES, S. R.; MOREIRA, J. C.; OLIVEIRA-SILVA, J. J. Comunicação relacionada ao uso de agrotóxicos em região agrícola do Estado do Rio de Janeiro. **Rev. Saúde Públ.** v. 35, n. 6, p. 564–570, Set 2001.

PIAIA, B. R.; ZAGO, M. L. C.; DENARDIN, E. L. G.; ROEHRS, R. Fitorremediação dos herbicidas 2,4-diclorofenoxiacético e propanil em solo cultivado por erva cidreira (*Melissa officinalis*). **Ciência e Natura**. v.39, n. 1, p. 91–98, Jan 2017.

PILON-SMITS, E. Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Biol.* v.56, p.15-39, 2005.

PIVETZ, B. E. Phytoremediation of contaminated soil and ground water at hazardous waste sites. EPA. Ground water issue (EPA/540/S-01/500). 2001.

PORTO, M. F.; SOARES, W. L. Modelo de desenvolvimento, agrotóxicos e saúde: um panorama da realidade agrícola brasileira e propostas para uma agenda de pesquisa inovadora. **Rev. bras. saúde ocup.** v..37, n.125, p. 17-31, Jan./Jun 2012.

PRINCE, S. M.; KUMARAN, K. S. Preventive effects of caffeic acid on lipids, 542 lipoproteins and glycoproteins in isoproterenol induced myocardial infarcted rats. **Food Research International**. v. 45, n. 45, p. 155-160. 2012.

PROCÓPIO S. O.; PIRES, F. R.; SANTOS, J. B.; SILVA, A. A. **Fitorremediação de solos com resíduos de herbicidas**. Aracaju: EMBRAPA Tabuleiros Costeiros. p. 32, 2009.

RADETSKI, C. M.; FERRARI, B.; COTELLE, S.; MASFARAUD, J. F.; FERRARD, J. F.. Evaluation of the genotoxic, mutagenic and oxidant stress potentials of municipal solid waste incinerator bottom ash leachates. **Sci. Total Environ.** v. 333, n.1-3, p. 209-216, Out 2004.

RAI, P. K.. Heavy metal phytoremediation from aquatic ecosystems with special reference to macrophytes. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**. v. 39, n. 9, p. 697-753, Set 2009.

RASKIM, I.; KUMAR, P. B. A. N.; DUSHENKOV, S.; SALT, D. Bioconcentration of heavy metals by plants. **Current Opinion in Biotechnology**. v. 5, n. 3, p. 285-290, Jun 1994

ROSA, G. S. **Avaliação do potencial de espécies vegetais na fitorremediação de solos contaminados por petróleo**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2006.

RYLOTT, E. L.; BRUCE, N. C. Plants disarm soil: Engineering plants for the phytoremediation of explosives. **Trends Biotechnol.** v. 27, n. 2, p. 73-81, Fev 2009.

SANCHES, S. M.; SILVA, C. H. T. P.; CAMPOS, S. X.; VIEIRA, E. M. Pesticidas e seus respectivos riscos associados à contaminação da água. **Pesticidas: R. Ecotoxicol e Meio Ambiente**, v..13, p. 53-58, Jan 2003.

SANTOS, G. C. G.; RODELLA, A. A. Efeito da adição de fontes de matéria orgânica como amenizantes do efeito tóxico de B, Zn, Cu, Mn E Pb no cultivo de *Brassica juncea*. **R. Bras. Ci. Solo.** v. 31, n. 4, p. 793-804, Jul-Ago 2007.

SCHNOOR, J.; LICHT, L.; MCCUTCHEON, S.; WOLFE, N. L.; CARREIRA, L. H. Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. **Environ. Sci. Technol.** v. 29, n. 7, p. 318–323 Jul 1995.

SCHNOOR, J. L; DEE, P. E. **Technology evaluation report: phytoremediation.** TE-97-01, Pittsburgh: Ground–Water Remediation Technologies Analysis Center, 1997. 37 p. (E Series: GWRTAC TE–98–01).

SCHMIDT, B.; FAYMONVILLE, T.; GEMBÉ, E. JOUBEN, N.; SCHUPHAN, I. Comparison of the biotransformation of the ¹⁴C-labelled insecticide carbaryl by non-transformed and human CYP1A1, CYP1A2-, and CYP3A4-transgenic cell cultures of *Nicotiana tabacum*. **Chem Biodiv.** v. 3, n. 8, p. 878–96, Ago 2006a.

SCHMIDT, B.; JOUBEN, N.; BODE, M.; SCHUPHAN, I. Oxidative metabolic profiling of xenobiotics by human P450s expressed in tobacco cell suspension cultures. **Biochem Soc Trans.** v. 34, n. 6, p. 1241–5, Dez 2006b.

SIDHUA, G. P S.; SINGHA, H. P.; BATISHB, D. R.; KOHLI, R. K. Tolerance and hyperaccumulation of cadmium by a wild, unpalatable herb *Coronopus didymus* (L.) Sm. (Brassicaceae). **Ecotoxicology and Environmental Safety** v. 135, p.209–215, Jan 2017.

SICILIANO, S. D.; GERMIDA, J. J.; BANKS, K.; GREER, C. W. Changes in microbial community composition and function during a polyaromatic hydrocarbon phytoremediation field trial. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 69, n 1, p. 483–489, Jan 2003.

SILVA, M. M. S.; FAY, E. F. **Agrotóxicos e ambiente.**In: Embrapa Informação Tecnológica, Brasília 2004. p.400.

SILVA, M. N., MUCHA, A. P., ROCHA, A. C, TEIXEIRA, C., GOMES, C. R., ALMEIDA, C. M. R. A strategy to potentiate Cd phytoremediation by saltmarsh plants e Autochthonous bioaugmentation. **Journal of Environmental Management.** v. 134, p. 136-144, Fev 2014.

SINITOX. Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas - SINITOX. Estatística anual de casos de intoxicação e envenenamento. Brasil, 2013. <http://sinitox.icict.fiocruz.br/sites/sinitox.icict.fiocruz.br/files//Tabela4_2013.pdf> Acesso em outubro 2016.

SINGER, A. C.; THOMPSON, I. P.; BAILEY, M. J. The tritrophic trinity: a source of pollutant- degrading enzymes and its implications for phytoremediation. **Curr. Opin. Microbiol.** v. 7, n. 3, p. 239–244, Jun 2004.

SONG, N. H., YANG, Z.M., ZHOU, L.X., WU, X., YANG, H. Effect of dissolved organic matter on the toxicity of chlorotoluron to *Triticum aestivum*. **J. Environ. Sci.** v.18, n. 1, p., 101-108, Fev 2006.

SONG, N. H.; YIN, X. L.; CHEN, G. F.; YANG, H. Biological responses of wheat (*Triticum aestivum*) plants to the herbicide chlorotoluron in soils. **Chemistry.** v. 68, n. 9, p. 1779-1787, Ago 2007.

SOSBAI. **Arroz Irrigado: Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil:** Bento Gonçalves - RS, 2014.

SOUZA, A.; MEDEIROS, A. R.; SOUZA, A. C.; WINK, M.; SIQUEIRA, I. R.; FERREIRA, M. B. C.; FERNANDES, L.; HIDALGO, M. P. L.; TORRES, I. L. S. Avaliação do impacto da exposição a agrotóxicos sobre a saúde de população rural. **Ciênc. saúde coletiva.** v. 16, n. 8, p 3519-3528, Ago 2011.

SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F.; LUCHINI, L. C.; ANDREA, M. M. **Monitoramento do Risco Ambiental de Agrotóxicos: princípios e recomendações.** Embrapa Meio Ambiente. Jaguariúna: 29 p. 2004.

STALLONES, L.; BESELER, C. Pesticide poisoning and depressive symptoms among farm residents. **Ann. Epidemiol.** v. 12, n. 6, p. 389–394, Ago 2002.

SUSARLA, S.; MEDINA, V. F.; MCCUTCHEON, S. C. Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination. **Ecological Engineering,** v. 18, n. 5, p. 647-658, Jun 2002.

TERRY, N.; ZAYED, A. D.; DE SOUZA, M. P.; TARUN, A. S. Selenium in higher plants. **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.** v. 51, n. 1, p .401-432, Jun 2000.

TRIGIANO, R. N.; WHINDHAM, T. T.; WHINDHAM, A. S. **Interrupção da função da planta.** In, Fitopatologia- conceitos e exercícios de laboratório. Artmed, 2011. São Paulo. p. 379-389.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA. A citizen's guide to phytoremediation. 30p. (EPA/542-F-98-011). Washington, 1998.

_____ USEPA. Introduction to Phytoremediation. EPA 600/R-99/107. Fevereiro, 2000.

_____ USEPA. Technology Innovation Office. Treatment technologies screening matrix and reference guide: Version 4.0. Washington, 2001.

VAN AKEN, B.; CORREA, P. A.; SCHNOOR, J. L. Phytoremediation of polychlorinated biphenyls: New trends and promises. **Environ. Sci. Technol.** v. 44, n. 8, p. 2767-2776, Abr 2010.

VALAVANIDIS, A.; VLAHOGIANNI, T.; DASSENAKIS, M.; SCOULLOS, M. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** v. 64, n. 2, p. 178-189, 2006.

VAN DILLEWIJN, P.; NOJIRI, H.; VAN DER MEER, J. R.; WOOD, T. K.. Bioremediation, a broad perspective. **Microbial Biotechnol.** v. 2, n. 2, p.125-127, Mar 2009.

VEIGA, M. M.; SILVA, D. M.; VEIGA, L. B. E.; FARIA, M. V. C. Análise da contaminação dos sistemas hídricos por agrotóxicos numa pequena comunidade rural do sudeste do Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 22, n. 11, p. 2391-2399, Nov 2006.

VERA, B.; CRUZ, S. S.; MAGNARELLI, G. Plasma cholinesterase and carboxylesterase activities and nuclear and mitochondrial lipid composition of human placenta associated with maternal exposure to pesticides. **Reproductive Toxicology.** v 34, n. 3, p. 402-407, Nov 2012.

VINICHUK, M.; MÅRTENSSON, A.; ROSENN, K. Inoculation with arbuscular mycorrhizae does not improve ¹³⁷Cs uptake in crops grown in the Chernobyl region. **J. Environ. Radioact.** V.126, p. 14-19, Nov 2013.

WANG, S. H.; YANG, Z. M.; LU, B.; LIS, Q.; LU, Y. P. Copper induced stress and antioxidative responses in roots of *Brassica juncea* L. **Bot. Bull. Acad. Sin.** v.45, p.203-212, Fev 2004.

WILSON, N. K.; STRAUSS, W. J.; IROZ-ELARDO, N.; CHUANG, J. C. Exposures of preschool children to chlorpyrifos, diazinon, pentachlorophenol, and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid over 3 years from 2003 to 2005: A longitudinal model. **J Expo Sci Environ Epidemiol.** v. 20, n.6, p.:546-58, Set 2010.

WONG, M. H. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. **Chemosphere.** v. 50, n. 6, p. 775-780, Fev 2003.

WRUCK, J. B. **Envolvimento do sistema colinérgico e parâmetros oxidativos na depressão em uma população rural.** Dissertação (Mestrado em Saúde e Comportamento) - Universidade Católica de Pelotas. Pelotas, 2015.

YAMASHITA, M. G. N. **Análise de rótulos e bulas de agrotóxicos segundo dados exigidos pela legislação federal de agrotóxicos e afins e de acordo com parâmetros de legibilidade tipográfica.** Dissertação (Mestrado em Desenho Industrial). Universidade Estadual Paulista Faculdade de Arquitetura, Artes e Comunicação. São Paulo, 2008.

YANG, X.; FENG, Y.; H. E, Z.; STOFFELLA, P. J. Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.** v.18, n. 4, p.339-353, Jun 2005.

YIFRU, D. D.; NZENGUNG, V. A. Organic carbon biostimulates rapid rhizodegradation of perchlorate. **Environ. Toxicol. Chem.** v. 27, n. 12, p. 2419–2426, Ago 2008.

ZHUANG, X.; CHEN, J., SHIM, H. & BAI, Z. New advances in plant growth-promoting rhizobacteria for bioremediation. **Environ. Intern.** v. 33, n. 3, p.406-413, Abr 2007.

9 APÊNDICES

APÊNDICE A – Foto do experimento

Figura 7 - Foto do experimento no solo, 1º dia da fitorremediação. Plantas no 1º dia para fitorremediação. Todas as amostras (branco, tratamento e controle) estão nas mesmas condições ambientais.



APÊNDICE B – Foto do experimento

Figura 8 - Foto do experimento na água, 1º dia da fitorremediação com o primeiro grupo de plantas. As plantas se apresentam em bom estado, o meio (pote com água) em ótimas condições e mesmo nivelamento de líquido para todas as amostras. Todas as amostras (branco, tratamento e controle) estão nas mesmas condições ambientais.



APÊNDICE C – Foto do experimento

Figura 9 - Foto do experimento na água após 30 dias de tratamento com o primeiro grupo de plantas. Plantas expostas ao 2,4-D sem sinais de toxicidade, em estado semelhante ao grupo branco. Mesmas condições ambientais da figura 8. Meio apresentando resíduos da planta tanto no grupo tratamento quanto no grupo branco. No grupo controle já se observa pequena quantidade de sujeira.



APÊNDICE D – Foto do experimento

Figura 10 - Foto do experimento após 60 dias de tratamento com o segundo grupo de plantas no mesmo sistema. Mesmas condições ambientais da figura 8 e mesmos aspectos dos meios e plantas observados na figura 9.

