

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA

Clarissa Arthur

Combinação entre espécie fitorremediadora e carvão vegetal ativado em ambientes com a  
presença de herbicida persistente

Buri-SP  
2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA

Clarissa Arthur

Combinação entre espécie fitorremediadora e carvão vegetal ativado em ambientes com a presença de herbicida persistente

Monografia de Conclusão de Curso apresentada como exigência parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas na Universidade Federal de São Carlos.

Orientação: Prof. Daniel Baron

Buri-SP

2025

Arthur, Clarissa

Combinação entre espécie fitorremediadora e carvão vegetal ativado em ambientes com a presença de herbicida persistente / Clarissa Arthur -- 2025.  
51f.

TCC (Graduação) - Universidade Federal de São Carlos,  
campus Lagoa do Sino, Buri

Orientador (a): Daniel Baron

Banca Examinadora: Daniel Schwantes, Kássio Ferreira  
Mendes

Bibliografia

1. Fitorremediação. 2. Carvão vegetal ativado. 3.  
Herbicidas. I. Arthur, Clarissa. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática  
(SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Lissandra Pinhatelli de Britto - CRB/8 7539



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**

**COORDENAÇÃO DO CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - CCCBio-LS/CCN**

Rod. Lauri Simões de Barros km 12 - SP-189, s/n - Bairro Aracaçu, Buri/SP, CEP 18290-000

Telefone: (15) 32569030 - <http://www.ufscar.br>

DP-TCC-FA nº 35/2025/CCCBio-LS/CCN

**Graduação: Defesa Pública de Trabalho de Conclusão de Curso**

**Folha Aprovação (GDP-TCC-FA)**

## **FOLHA DE APROVAÇÃO**

**CLARISSA ARTHUR**

**COMBINAÇÃO ENTRE ESPÉCIE FITORREMEIADORA E CARVÃO  
VEGETAL ATIVADO EM AMBIENTES COM A PRESENÇA DE  
HERBICIDA PERSISTENTE**

**Trabalho de Conclusão de Curso**

**Universidade Federal de São Carlos - *campus* Lagoa do Sino**

Buri, 19 de setembro de 2025

### **ASSINATURAS E CIÊNCIAS**

<b>Cargo/Função</b>	<b>Nome Completo</b>
Orientador	Daniel Baron
Membro da Banca 1	Daniel Schwantes
Membro da Banca 2	Kássio Ferreira Mendes



Documento assinado eletronicamente por **Daniel Baron, Docente**, em 22/09/2025, às 12:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufscar.br/autenticacao>, informando o código verificador **2004315** e o código CRC **E4B47815**.

Referência: Caso responda a este documento, indicar expressamente o Processo nº 23112.027202/2025-01

SEI nº 2004315

Modelo de Documento: Grad: Defesa TCC: Folha Aprovação, versão de 02/Agosto/2019

Documento assinado digitalmente

gov.br

**DANIEL SCHWANTES**

Data: 22/09/2025 14:09:59-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Documento assinado digitalmente

gov.br

**KASSIO FERREIRA MENDES**

Data: 22/09/2025 16:26:50-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

## AGRADECIMENTO

Agradeço, em primeiro lugar, ao meu orientador professor Daniel Baron, pela orientação, dedicação e incentivo em todas as etapas desta monografia, bem como pela colaboração na redação do manuscrito resultante desta pesquisa. Ter seu acompanhamento foi um privilégio, fundamental para a construção deste estudo e para o meu desenvolvimento ao longo de toda a trajetória acadêmica.

Ao coorientador Daniel Schwantes, professor lotado na Pontifícia Universidad Católica de Chile, pelas contribuições valiosas, apoio no processo e participação ativa na elaboração do artigo.

À colaboração da Prof<sup>a</sup> Tamiris por valiosa parceria, especialmente pelo suporte na realização das análises estatísticas ao longo de nossa investigação científica.

Ao Laboratório de Ecologia Aplicada da ESALQ-USP pela infraestrutura disponibilizada e suporte técnico essencial para a realização dos experimentos.

Ao Mestre Felipe Tavares Lima, pela parceria, disponibilidade e fundamental auxílio durante os experimentos.

Ao Prof. José Leonardo de Moraes Gonçalves e à Dra. Alba Valéria Masetto, pela confiança, apoio e contribuições indispensáveis.

Aos colegas do laboratório, pelo auxílio prático e troca de conhecimentos ao longo do projeto.

Aos amigos e ao meu companheiro de vida, pelo incentivo, paciência e apoio constante em todos os momentos.

"Deus ao mar o perigo e o abismo deu, mas nele é que espelhou o céu."

— Fernando Pessoa, *Mensagem*, 1934.

## RESUMO

ARTHUR, Clarissa. **Combinação entre espécie fitorremediadora e carvão vegetal ativado em ambientes com a presença de herbicida persistente**. 2025. Trabalho (Monografia) de Conclusão de Curso – Universidade Federal de São Carlos, *campus* Lagoa do Sino, Buri, 2025.

O herbicida atrazina (ATZ) é amplamente utilizado na agricultura para o controle de plantas daninhas, todavia sua toxicidade e persistência no meio ambiente têm apontado preocupações ambientais. A ATZ inibe a fotossíntese em plantas daninhas com prejuízos significativos ao seu crescimento e atividade enzimática. A fitorremediação é uma técnica sustentável que utiliza plantas para remover poluentes do solo e surge como uma solução promissora para enfrentar os problemas de contaminação de poluentes de origem agrícola. Nesse contexto, *Canavalia ensiformis* (L.) DC. é uma espécie nativa do Brasil ainda pouco estudada (estudos incipientes) quanto ao seu potencial fitorremediador, apesar de ter sido reportada como acumuladora de poluentes orgânicos e inorgânicos. Além disso, estudos na presente década indicam que o uso de carvão vegetal ativado (Biochar), produzido a partir da pirólise da biomassa, pode potencializar a remediação de solos contaminados, devido à sua capacidade de retenção de água, nutrientes e adsorção de poluentes orgânicos e inorgânicos. Nessa monografia, nossa hipótese testou se o uso de biochar ativado derivado de eucalipto, ao ser combinado com a espécie vegetal *C. ensiformis* exibirá sinergismo em seu papel fitorremediador de solos contaminados com o herbicida atrazina. Um modelo linear generalizado (GLM) foi utilizado para analisar os parâmetros de crescimento das plantas, enquanto o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e o teste de Dunn foram empregados para a análise da matéria seca e da atividade enzimática. A estrutura deste trabalho contempla uma breve revisão com justificativas do tema, seguida da apresentação dos resultados em formato de manuscrito científico, de acordo com normas de periódicos da área. Os resultados deste trabalho fornecem contribuições relevantes para a aplicação potencial do BCH na mitigação do estresse causado por herbicidas em plantas nativas brasileiras, na redução dos efeitos fitotóxicos da ATZ e na proposição de estratégias para a detoxificação de solos contaminados, favorecendo práticas agrícolas mais sustentáveis.

**Palavras-chave:** atrazina; biochar; *Canavalia ensiformis*; fitorremediação; herbicida.

## ABSTRACT

The herbicide atrazine (ATZ) is widely used in agriculture for weed control; however, its toxicity and persistence in the environment have raised environmental concerns. ATZ inhibits photosynthesis in weeds, causing significant reductions in growth and enzymatic activity. Phytoremediation is a sustainable technique that uses plants to remove soil pollutants and emerges as a promising solution to address contamination from agricultural pollutants. In this context, *Canavalia ensiformis* (L.) DC. is a native Brazilian species that has been little studied regarding its phytoremediation potential, although it has been reported as an accumulator of organic and inorganic pollutants. Furthermore, recent studies indicate that the use of activated charcoal (biochar), produced from the pyrolysis of biomass, can enhance the remediation of contaminated soils due to its capacity for water and nutrient retention and adsorption of organic and inorganic pollutants. In this monograph, our hypothesis tested whether the use of eucalyptus-derived activated biochar, when combined with the plant species *C. ensiformis*, would exhibit a synergistic effect in its phytoremediation role of soils contaminated with atrazine. A generalized linear model (GLM) was used to analyze plant growth parameters, while the non-parametric Kruskal-Wallis test and Dunn's test were employed for the analysis of dry matter and enzymatic activity. The structure of this work includes a brief review with justifications for the topic, followed by the presentation of results in the format of a scientific manuscript, according to the standards of journals in the field. The results of this study provide relevant contributions to the potential application of biochar (BCH) in mitigating herbicide-induced stress in native Brazilian plants, reducing the phytotoxic effects of ATZ, and proposing strategies for the detoxification of contaminated soils, thereby supporting more sustainable agricultural practices.

**Keywords:** atrazine; biochar; *Canavalia ensiformis*; phytoremediation; herbicide.

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ATZ – Atrazina

BCH – Biochar

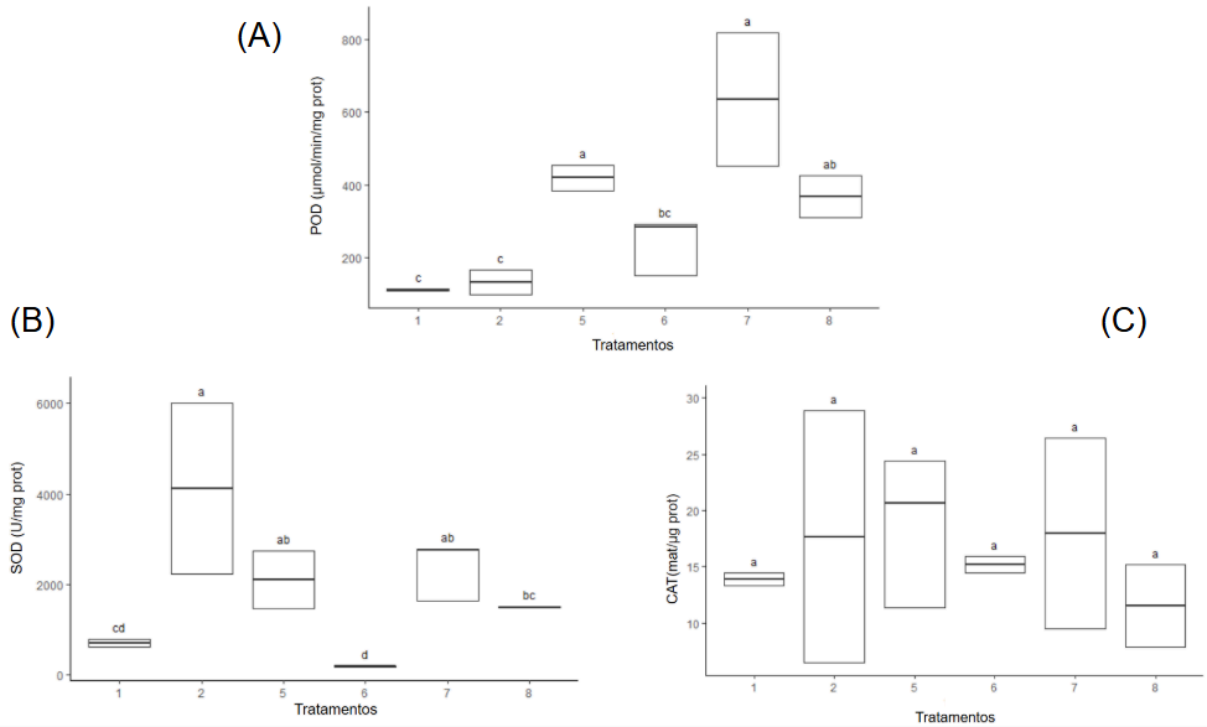
SOD – Superóxido Dismutase

POD – Peroxidase

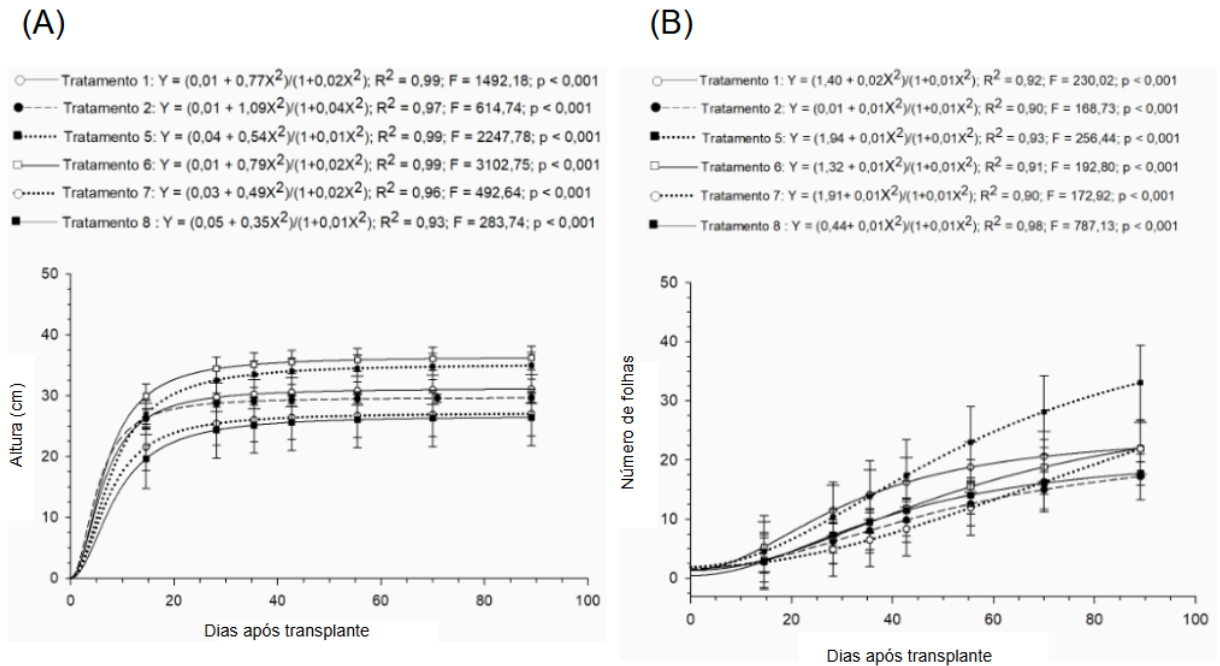
CAT – Catalase

FSII – Fotossistema II

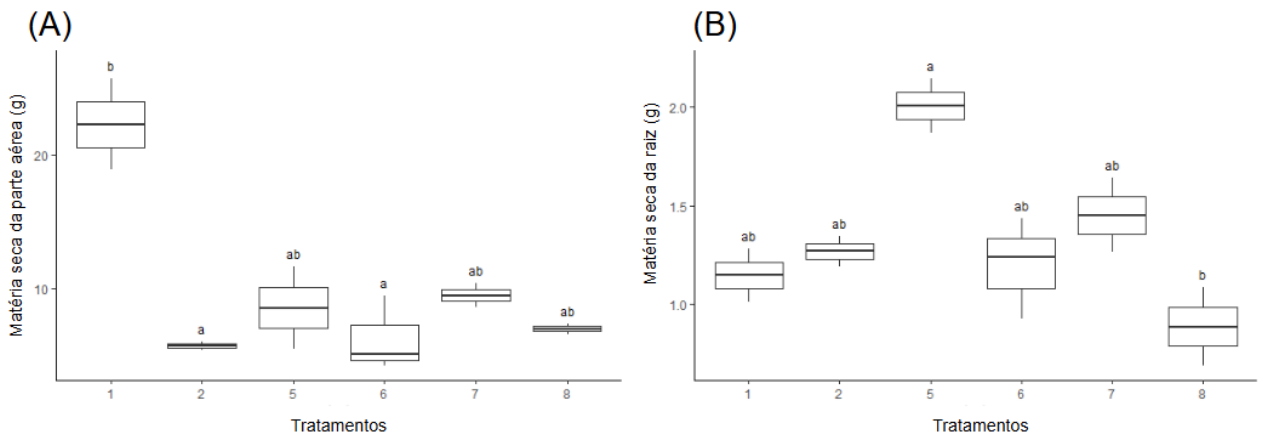
## LISTA DE FIGURAS



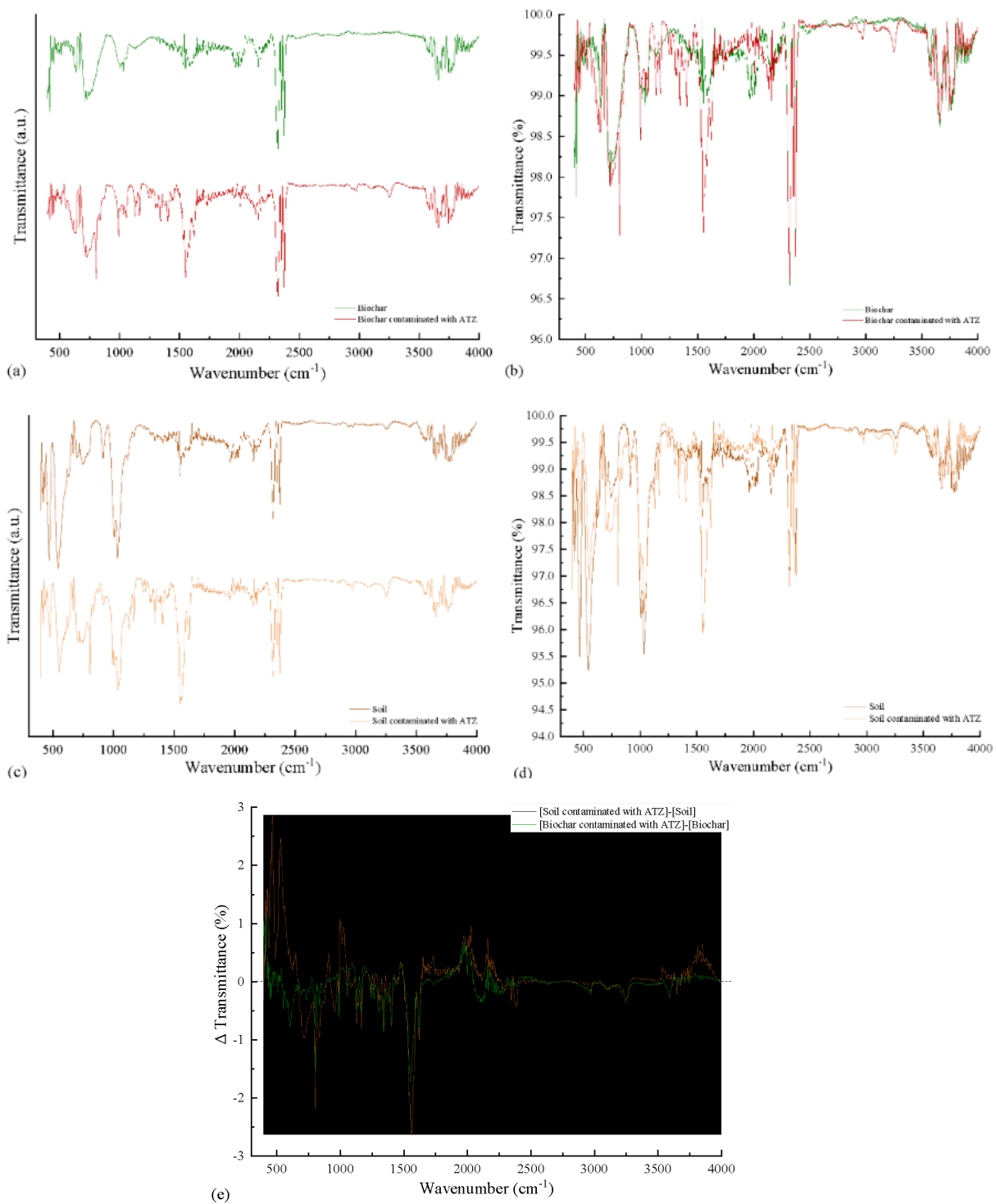
**Figura 1.** Análise da atividade enzimática: atividades enzimáticas da POD, SOD e CAT em resposta aos tratamentos com BCH e ATZ. **(A)** Atividade enzimática da peroxidase (POD) em função dos tratamentos, apresentada em formato de boxplot. A figura destaca a atividade enzimática mediana para cada tratamento, fornecendo uma representação visual da variabilidade e da tendência central. **(B)** Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em função dos tratamentos, apresentada em um formato de boxplot. Os valores medianos de cada tratamento são mostrados, ilustrando a faixa e a distribuição da atividade enzimática. **(C)** Atividade da enzima catalase (CAT) em função dos tratamentos, mostrada em um formato de boxplot. A figura mostra a atividade mediana da catalase e a distribuição dos valores entre os tratamentos.



**Figura 2.** Análise dos parâmetros de crescimento: análise comparativa da altura da planta e do número de folhas nos tratamentos com BCH e ATZ. **(A)** Altura da planta (cm) em função dos dias após o transplante, representada usando o melhor modelo matemático ajustado. O gráfico mostra os padrões de crescimento ao longo do tempo para cada tratamento, com tendências distintas correspondentes a diferentes aplicações de biochar e atrazina. **(B)** Número de folhas em função dos dias após o transplante, representado usando o melhor modelo matemático ajustado.



**Figura 3.** Acúmulo de matéria seca: matéria seca total de raízes e partes aéreas em condições variáveis de tratamento com BCH e ATZ. **(A)** Matéria seca da parte aérea (g) em função dos tratamentos, mostrada em um formato de boxplot. Os valores medianos de cada tratamento são representados, juntamente com a faixa interquartil, para ilustrar a distribuição da biomassa aérea em diferentes condições. **(B)** Matéria seca da raiz (g) em função dos tratamentos, apresentada em um formato de boxplot. A figura exibe os valores medianos da biomassa da raiz e a dispersão dos dados para cada tratamento, enfatizando os efeitos das combinações de biochar e atrazina.



**Figura 4.** Espectros FT-IR das amostras analisadas: (a) biochar e biochar contaminado com atrazina (ATZ); (b) biochar e biochar contaminado com ATZ sobrepostos; (c) solo e solo contaminado com ATZ; (d) solo e solo contaminado com ATZ sobrepostos; (e) espectros diferenciais entre amostras contaminadas (biochar + ATZ e solo + ATZ) e suas respectivas matrizes não contaminadas.

## LISTA DE TABELAS

**Tabela.** Principais propriedades físico-químicas da atrazina (ATZ), incluindo solubilidade em água (Sw), coeficiente de partição octanol-água (logKow), constante de dissociação ácido-base (pKa), coeficiente de sorção ao carbono orgânico (Koc), tempo de meia-vida (DT50) em solo e índice de mobilidade GUS. Dados compilados de EPA (2003), European Commission (2005), ATSDR (2003), Water Quality Australia (2000) e Bhatti et al. (2012).

<b>Propriedade</b>	<b>Valor</b>
Solubilidade (mg/L)	33 mg/L a 20°C
logKow (octanol/água)	2,5
pKa	1,7
Koc (mL/g)	119
DT50 (solo)	23-403 dias
Índice GUS	3,3-4,1

**Tabela 1.** Resumo dos tratamentos que combinam diferentes concentrações de atrazina (ATZ) com ou sem biochar (BCH) em plantas de *Canavalia ensiformis* (L.) DC.

Tratamento	ATZ (kg i.a ha <sup>-1</sup> )	BCH (Mg ha <sup>-1</sup> )
T1 (Controle)	0,0	0
T2	1,6	0
T3	3,2	0
T4	4,9	0
T5	0,0	28
T6	1,6	28
T7	3,2	28
T8	4,9	28

**Tabela 2.** Atribuições qualitativas das principais bandas de FT-IR em solo e biochar, com identificação de grupos funcionais e intensidade relativa.

<b>Número de onda (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Amostra</b>	<b>Intensidade relativa dentro de cada categoria (solo ou biochar)</b>	<b>Atribuição funcional provável</b>
1033	Solo	Alta	Estiramento assimétrico Si–O (argilas e silicatos)
1006	Solo	Alta	Estiramento Si–O; possível contribuição de C–O ou P–O
541	Solo	Moderada	Deformações de Al–O, Fe–O (óxidos/hidróxidos metálicos)
468	Solo	Moderada	Deformações do esqueleto tetraédrico SiO <sub>4</sub>
2319	Biochar	Alta	Absorção atribuída a CO <sub>2</sub> atmosférico (artefato frequente em FT-IR) ou, secundariamente, a traços de C≡C ou C≡N residuais da pirólise
~1600–1500	Esperado (Biochar)	Baixa/ausente	Estiramento C=C aromático (domínios grafíticos), esperado em biochar, não detectado com intensidade
~1200–1000	Esperado (Biochar)	Baixa/ausente	Estiramentos C–O (fenóis, ésteres), esperados em biochar, não detectados com intensidade

**Tabela 3.** Transmitância mínima ( $T_{medida}$ ) e intensidades normalizadas ( $I_{norm}$ ) das principais bandas de FT-IR em solo e biochar, comparando amostras contaminadas com ATZ e controles.

Banda	$T_{medida}$				$I_{norm}$			
	(A) Solo com ATZ	(B) Solo sem ATZ (controle)	(C) Biochar com ATZ	(D) Biochar sem ATZ (controle)	(A) Solo com ATZ	(B) Solo sem ATZ (controle)	(C) Biochar com ATZ	(D) Biochar sem ATZ (controle)
Si-O (1033)	96,4	95,5	99,1	98,9	80,8	89,4	15,2	23,7
Si-O (1006)	97,1	96,2	99,2	99,0	46,8	66,1	10,0	20,8
Al-O/Fe-O (541)	97,1	95,2	99,5	99,6	48,0	100,0	0,0	0,0
SiO <sub>4</sub> (468)	98,2	95,5	99,4	99,5	0,0	91,0	1,6	2,7
CO <sub>2</sub> /C≡C/C≡N (2319)	96,8	96,8	96,7	96,7	61,5	46,1	100,0	100,0
C=N/C=C (1600–1500)	95,9	98,1	97,3	98,9	100,0	0,0	79,3	23,1
C-N/Anel triazínico (1300–1000)	96,4	95,5	99,0	98,9	80,8	89,4	18,5	23,7

**Tabela 4.** Prováveis mecanismos de adsorção da ATZ em solo e biochar.

<b>Matriz</b>	<b>Grupos funcionais relevantes (FT-IR)</b>	<b>Mecanismos principais de adsorção de ATZ</b>	<b>Afinidade com ATZ</b>	<b>Consequências experimentais</b>
Solo	Si-O (1030–1000 cm <sup>-1</sup> ); Al-O/Fe-O (~540–460 cm <sup>-1</sup> ); Matéria orgânica residual	Ligações de hidrogênio; Interações eletrostáticas; Complexação com óxidos/metais	Moderada (adsorção limitada pela hidrofobicidade da ATZ e tendência à lixiviação)	Maior biodisponibilidade da ATZ; Estresse fitotóxico mais evidente nas plantas
Biochar	Aromáticos condensados (1600–1500 cm <sup>-1</sup> fraco); C-O (~1200–1000 cm <sup>-1</sup> fraco); Pico em 2319 cm <sup>-1</sup> (CO <sub>2</sub> /traços)	$\pi$ - $\pi$ stacking com domínios grafíticos; Ligações de hidrogênio; Forças de van der Waals; Aprisionamento em porosidade	Alta (forte interação com domínios aromáticos e adsorção física nos poros)	Redução da fração livre da ATZ; Menor toxicidade às plantas; Potencial para remediação

## SUMÁRIO

<b>1 PARTE I - BREVE REVISÃO E JUSTIFICATIVAS DO TEMA</b>	<b>17</b>
HIPÓTESE	24
OBJETIVOS	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
<b>2 PARTE II – MANUSCRITO CIENTÍFICO</b>	<b>30</b>
Combinação entre espécie fitorremediadora e carvão vegetal ativado em ambientes com a presença de herbicida persistente	31
1. Introdução	32
2. Materiais e métodos	35
3. Resultados	39
4. Discussão	46
5. Conclusões	51
REFERÊNCIAS	52
<b>APÊNDICE - A</b>	<b>57</b>
<b>ANEXO - A</b>	<b>58</b>

## 1 PARTE I - BREVE REVISÃO E JUSTIFICATIVAS DO TEMA

A escolha do tema dessa monografia partiu do interesse em compreender questões ambientais atuais e propor alternativas sustentáveis para mitigação de impactos antrópicos. A crescente preocupação com a contaminação de solos por herbicidas residuais e os desafios relacionados ao manejo agrícola despertaram a necessidade de se investigar soluções inovadoras que combinem eficiência produtiva e conservação ambiental. Nesse contexto, buscamos investigar substâncias de significativa relevância para o manejo agrícola, mas que apresentam elevado potencial de impacto ambiental.

O herbicida atrazina (6-cloro-N<sup>2</sup>-etil-N<sup>4</sup>-isopropil-1,3,5-triazina-2,3-diamina), oficialmente abreviado por ATZ, refere-se a um composto organoclorado do grupo químico das triazinas, amplamente estudado por diversos autores devido aos seus efeitos adversos significativos sobre o crescimento vegetal, a atividade enzimática e as trocas gasosas em plantas daninhas (Beffa et al. 2019). A ATZ atua como um inibidor da fotossíntese em espécies suscetíveis, especificamente no fotossistema II (*FSII*), uma etapa crucial da cadeia de transporte de elétrons durante a fotossíntese.

O *FSII* desempenha um papel fundamental ao capturar a luz solar ao utilizar essa energia para a fotólise da água ('reação de Hill'), a qual resultará na liberação de oxigênio (O<sub>2</sub>), na doação de H<sup>+</sup> para o lume do tilacóide (acidificação) e na transferência de elétrons para o *FSII*. A ATZ se liga ao sítio da proteína Quinona B (Q<sub>B</sub>) no complexo de proteínas do *FSII* e bloqueará a transferência de elétrons (Anexo 1). Esse bloqueio impedirá a formação do gradiente de prótons necessário para a síntese de adenosina tri-fosfato (ATP) e nicotinamida adenina di-fosfato (NADPH+H<sup>+</sup>), ambos essenciais para a fixação de carbono e outras funções metabólicas nas plantas. A ausência desses compostos reduz a eficiência fotossintética o que compromete a produção de açúcares e, conseqüentemente, levar à morte celular (Sharma et al., 2023). Além disso, alterações na eficiência da fotossíntese estão diretamente relacionadas à capacidade das plantas de manter a produção de biomassa, o que afeta processos ecológicos e estratégias de manejo em diferentes contextos produtivos (Pérez-Llorca et al., 2024). Ademais, a ATZ induz a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) em plantas suscetíveis. A interrupção da transferência de elétrons resultará na reação dos elétrons com o oxigênio molecular (O<sub>2</sub>), o que formará EROs como superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) (Cobb e Reade, 2010). As EROs geram estresse oxidativo, as quais danificam lipídios, proteínas e ácidos nucleicos comprometem a integridade celular, o que

acarretará a morte da planta (Tiwari et al., 2019). Evidências recentes indicam que a formação excessiva de EROs também ativa uma complexa rede regulatória de enzimas antioxidantes, as quais modulam a homeostase redox e influenciam diretamente a eficiência fotossintética sob estresses múltiplos acarretados pela atrazina (Yang et al., 2025).

Após a aplicação em área agrícolas, a ATZ pode ser absorvida tanto pelas raízes quanto pela parte aérea das plantas, transportada exclusivamente pelos condutos xilemáticos. Em função de seu facilitado transporte, a interrupção dos processos fotossintéticos essenciais ocorre entre algumas horas a poucos dias (Solomon et al., 2008). Trata-se de um herbicida sistêmico e seletivo a várias espécies de interesse agrícola, o que lhe confere uso eficiente em pré e pós-emergência em várias culturas agrícolas (LeBaron et al., 2008). Tais características explicam em parte o seu uso significativo na agricultura desde a década de 1950 no controle de diversas plantas daninhas gramíneas de folhas largas e estreitas em diversas culturas importantes. Entre essas, destacam-se cereais como trigo (*Triticum aestivum* L.), sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] e milho (*Zea mays* L.), além de cultivos sucroalcooleiros como a cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.). Também é utilizada em oleaginosas, como amendoim (*Arachis hypogaea* L.) e soja [*Glycine max* (L.) Merr.], bem como em lavouras florestais de eucalipto (*Eucalyptus* spp.) e pinus (*Pinus* spp.). Este amplo uso faz da ATZ um dos defensivos agrícolas mais consumidos globalmente, algo estimado entre 70.000 e 90.000 toneladas por ano (Hansen et al., 2019).

De acordo com Souza e colaboradores (2020), a ATZ possui uma estrutura molecular simétrica, forte hidrofobicidade e baixa solubilidade, o que a torna persistente em matrizes aquosas, especialmente em locais subterrâneos. Segundo a Agência de Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças (Agency For Toxic Substances And Disease Registry, 2024) em águas subterrâneas (lençol freático), a ATZ pode persistir por dias. O volume de ATZ pulverizada, bem como sua mobilidade em certos tipos de solo (Koc), sua meia-vida e sua persistência em condições redutoras (Solomon et al., 2013) podem explicar, até certo ponto, a disseminação da ATZ para diferentes compartimentos ambientais.

**Tabela.** Principais propriedades físico-químicas da atrazina (ATZ), incluindo solubilidade em água (Sw), coeficiente de partição octanol-água (logKow), constante de dissociação ácido-base (pKa), coeficiente de sorção ao carbono orgânico (Koc), tempo de meia-vida (DT50) em solo e índice de mobilidade GUS. Dados compilados de EPA (2003), European Commission (2005), ATSDR (2003), Water Quality Australia (2000) e Bhatti et al. (2012).

<b>Propriedade</b>	<b>Valor</b>
Solubilidade (mg/L)	33 mg/L a 20°C
logKow (octanol/água)	2,5
pKa	1,7
Koc (mL/g)	119
DT50 (solo)	23-403 dias
Índice GUS	3,3-4,1

Após ser introduzida no ambiente, a ATZ é sujeita a diversos fatores que influenciam seu destino em função das alterações químicas, físicas e biológicas sob condições ambientais (Usman et al., 2014; Bedmar et al., 2017). As plantas daninhas não absorvem toda a ATZ aplicada, e a fração não absorvida pode ser transportada para águas superficiais por escoamento ou sofrer lixiviação para camadas mais profundas do solo, o que pode comprometer a qualidade da água subterrânea (Usman et al., 2014). Além disso, a ATZ pode ser degradada quimicamente e/ou biologicamente, com formação de metabólitos, como desetilatrizona e deisopropilatrizona, os quais representam riscos para organismos aquáticos (Odukkathil e Vasudevan, 2013; Ralston-Hooper et al., 2009). A depender das propriedades físico-químicas do solo combinadas com ATZ ocorrerão reações de retenção com partículas do solo, sejam de natureza orgânica (matéria orgânica) ou inorgânica (argilas) (Schwantes et al., 2020; Yue et al., 2017).

Embora a União Europeia (UE) tenha proibido o uso da ATZ (Ojeu, 2004), esta molécula comumente aplicada nos Estados Unidos (Usepa, 2003) e na Austrália (Nra, 2002) com restrições, dada à detecção de concentrações acima dos valores máximos permitidos em águas e à significativa toxicidade da substância para mamíferos (Szewczyk et al., 2020). Mesmo com as proibições em países desenvolvidos, nações agrícolas da América Latina, como Argentina, Paraguai e Brasil, ainda permitem o uso da ATZ sem regulamentações adicionais. A ATZ é considerada um composto recalcitrante, apresentando longa persistência no ambiente, o que aumenta seu potencial de contaminação de recursos hídricos e outras

matrizes ambientais. A persistência da ATZ varia a depender das condições e da matriz ambiental (Abdelhafid et al., 2000; González-Marquez et al., 2013). Estudos demonstram que sua dissipação é influenciada por diferentes condições ambientais. Por exemplo, Cecilia e Magii (2016) observaram persistência de 4 a 6 dias em condições laboratoriais, enquanto em campo a ATZ pode permanecer ativa por até 2 anos (Vonberg et al., 2014) e até 21 anos em águas subterrâneas (Vonberg et al., 2014). A taxa de dissipação da ATZ em água sem luz é significativamente menor (Navarro et al., 2004). No contexto global, a ATZ é a molécula herbicida mais detectada em águas superficiais e subterrâneas (de Souza et al., 2020). Com uma elevada hidrofobicidade ( $Kow = \log 2,7$ ) e baixa solubilidade em água ( $0,0035 \text{ g L}^{-1}$  a  $25^\circ\text{C}$ ), suas propriedades físico-químicas favorecem sua persistência no ambiente (Khayyat et al., 2022).

Diversos estudos conduzidos entre 2012 e 2019 relataram a presença de ATZ em águas superficiais, mesmo em áreas onde seu uso foi proibido há muitos anos, por exemplo, na UE (Proia et al., 2013; Palma et al., 2014; Papadakis et al., 2015; Kapsi et al., 2019). Resíduos de ATZ foram detectados até 21 anos após sua aplicação em solos não saturados na Alemanha em concentrações de até  $0,20 \mu\text{g kg}^{-1}$  para ATZ e  $0,25 \mu\text{g kg}^{-1}$  para hidroxiatrazina (metabólito) (Vonberg et al., 2014). Urseler et al. (2020) detectaram ATZ em 50% das amostras de águas subterrâneas e em 89% das amostras de leite cru, com concentrações acima dos limites permitidos à segurança alimentar. Owagboriaye et al. (2022) monitoraram resíduos de ATZ em mais de 100 poços e riachos na Nigéria ao detectarem concentrações entre  $0,01$  e  $0,08 \text{ mg L}^{-1}$ , ou seja, níveis considerados neurotóxicos segundo pesquisas anteriores.

No Brasil, estudos recentes destacam os riscos do uso indiscriminado da ATZ. Gonçalves Jr. et al. (2024) detectaram concentrações significativas de ATZ em Latossolo Vermelho a 1 metro de profundidade e 93 dias após a aplicação em cultivos de sucessão ‘soja-milho’ e ‘milho-milho’. Em outro estudo, Gonçalves Jr. et al. (2023) relataram concentrações de ATZ em água de escoamento superficial e percolação acima dos limites nacionais e internacionais para água potável e corpos d'água. Além de seus impactos ambientais, a exposição à ATZ está associada a diversos efeitos adversos à saúde humana (Pathak et al., 2012; Reyes-Bravo et al., 2022). A ATZ é classificada como disruptora endócrina e que acarreta genotoxicidade, mutagenicidade e desregulação hormonal (Abdulelah et al., 2020). Há evidências de que a ATZ interfira na saúde reprodutiva ao inibir a ligação de estrogênios e progesterona (Zhao et al., 2024), além de estar associada a alterações genéticas em várias espécies (Abdulelah et al., 2020). Em humanos, a exposição à ATZ pode

prejudicar funções cerebrais, com prejuízos ao movimento, memória, aprendizado e tomada de decisões (Reyes-Bravo et al., 2022). Panis e colaboradores (2022) associaram as elevadas concentrações de ATZ na água potável do estado brasileiro do Paraná, a um aumento na incidência de câncer na população local.

Em vegetais, o mecanismo de ação da ATZ envolve o estresse oxidativo induzido pela formação de EROs, como o ânion superóxido ( $O_2^-$ ), radical hidroxila ( $OH^-$ ) e oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), os quais oxidam as membranas lipoproteicas dos cloroplastos e de outras células vegetais, o que acarretará a morte da planta. O equilíbrio eletroquímico das células vegetais é fundamental para o funcionamento adequado dos processos metabólicos, o entanto, em situações de estresse, como a presença de contaminantes ambientais (ex.: ATZ), esse equilíbrio pode ser perturbado, o que levará ao aumento da produção de EROs. Embora as EROs sejam subprodutos normais do metabolismo celular (*eustress*), em condições de desequilíbrio, as mesmas podem degradar as membranas celulares e desencadear uma série de reações oxidativas prejudiciais. Em resposta a esse estresse oxidativo, as plantas ativam complexos mecanismos de defesa que incluem a síntese de antioxidantes enzimáticos, como superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), catalase (CAT, EC 1.11.1.6) e peroxidase (POX, EC 1.11.1.7) (Bhaduri & Fulekar, 2011).

Além desses mecanismos enzimáticos, as plantas também produzem antioxidantes não-enzimáticos, por exemplo, compostos fenólicos, os quais desempenham um papel crucial na mitigação do estresse oxidativo. Embora algumas EROs possam reagir espontaneamente com antioxidantes celulares, a atividade enzimática aumenta consideravelmente a eficiência desses processos. Por exemplo, a SOD catalisa a dismutação do  $O_2^-$  ou  $^1O_2$  em  $H_2O_2$  e  $O_2$  (Stephenie et al., 2020). Subsequentemente, enzimas como CAT, POX e ascorbato peroxidase (APX) catalisam a conversão do  $H_2O_2$  em  $H_2O$  e  $O_2$ , a fim de se evitar o acúmulo de espécies tóxicas de oxigênio (Hippler et al., 2018). Adicionalmente, metabólitos secundários, tais como os fenóis, desempenham um papel importante na proteção celular ao doarem elétrons para neutralizar radicais hidroxila ( $OH^-$ ) e ácido carboxílico ( $COOH^-$ ) — espécies altamente reativas de EROs —, o que lhe conferirá tolerância ao estresse (Mousavi et al., 2021). A interferência da ATZ nos processos fotoquímicos e bioquímicos da fotossíntese impactará diretamente a produção de matéria seca e, deste modo, resultará em perdas significativas na produtividade vegetal, as quais podem chegar a 90% da biomassa acumulada (Benincasa, 2003).

No contexto da remediação ambiental espera-se que plantas com capacidade fitorremediadora suportem a presença de contaminantes, tal como a ATZ, bem como também

apresentem mecanismos aprimorados para a detoxificação desse herbicida por meio de processos metabólicos enzimáticos e não enzimáticos (Sánchez et al. 2017; Evans Jr. et al. 2017). Por exemplo, a tolerância natural em milho (*Zea mays* L.) e sorgo-granífero [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] deve-se à significativa atividade constitutiva da glutathione S-transferase (GSTs), a qual pode utilizar a ATZ como substrato e resultará em uma imediata desintoxicação metabólica nessas culturas (Timmerman, 1989). O mecanismo mais comum que confere resistência à ATZ em plantas daninhas eudicotiledôneas é uma proteína de sítio-alvo insensível. Uma mutação pontual no gene *psbA* (que codifica a proteína D1), frequentemente identificada em plantas daninhas com biótipos resistentes à ATZ, resultará em uma mutação da proteína serina (SER) para glicina (GLY) no aminoácido 264, o que confere um nível de tolerância aproximadamente 1000 vezes maior em comparação com biótipos sensíveis (Devine e Preston, 2000; Hirschberg e McIntosh, 1983). Por outro lado, o biótipo tolerante à ATZ em folha-de-veludo (*Abutilon theophrasti* Medic.) foi associada a uma atividade elevada de GST (Anderson e Gronwald, 1991; Gray et al., 1996). Mecanismos de desintoxicação baseados em GST também foram documentados em várias gramíneas tolerantes (Cummins et al., 2013; Reade et al., 2004; Yu e Powles, 2014). O metabolismo rápido da ATZ em amaranto [*Amaranthus tuberculatus* (Moq.) J.D. Sauer], uma espécie anual da família Amaranthaceae, resultou em um nível de tolerância várias centenas de vezes maior em comparação com plantas sensíveis à ATZ (Evans, 2016).

De maneira geral, o Brasil possui vantagens comparativas do ponto de vista agrícola em relação às demais nações, em especial, por possuir uma das maiores áreas aptas para cultivo comercial (solo agricultável), bem como abundância de radiação luminosa solar ao longo do ano em suas diferentes regiões geográficas e, por fim, fonte d'água de qualidade e volume. Além das vantagens já listadas, o Brasil também possui a maior área de biodiversidade de fauna e flora de todo o planeta com cerca de 15-20% de toda a diversidade terrestre presente em nosso país (Brasil, 2022). Conciliar a “agenda de produtividade agrícola” com a “agenda de conservação dos recursos naturais” é algo premente e urge por esforços governamentais e privados, a fim de que nossa soberania como nação produtora de alimentos e segurança alimentar seja mantida, ao mesmo tempo em que detemos a maior área natural conservada do globo (Gonçalves et al. 2023).

Assim, a busca por desenvolvimento e/ou aperfeiçoamento de técnicas sustentáveis de remediação de solo, bem como o uso combinado destas técnicas e o uso racional de recursos naturais, se torna um dos maiores desafios da nossa era (Li et al. 2022). Neste cenário, a fitorremediação merece destaque, pois espécies fitorremediadoras podem promover interações

biológicas, bioquímicas, físicas, microbiológicas e químicas por meio de diferentes mecanismos, a depender de suas interações com os diferentes poluentes (Sales da Silva et al., 2020). Além do mais, tais espécies de plantas podem ter seu efeito fitorremediador aumentado quando combinadas com carvão ativado (Wang et al. 2024).

O uso de plantas altamente tolerantes a ATZ e, até mesmo, capazes de metabolizá-la, pode ser uma alternativa viável em sistemas de fitorremediação e recuperação de áreas contaminadas (Lu et al. 2016; Ma et al. 2013). Entretanto, tais espécies deveriam expressar, como característica principal, a capacidade de seguir com seu desenvolvimento e crescimento mesmo quando expostas a altas concentrações de ATZ (Jia et al. 2023). Algumas espécies vegetais são reportadas pela literatura como potencialmente remediadoras, tais como o absinto (*Artemisia vulgaris* L.) (Antoniadis et al., 2021), milho (*Z. Mays* L.) (Košnář; Mercl; Tlustoš, 2018), azevém (*Lolium multiflorum* L.), mostarda-castanha (*Brassica juncea* L.) (Cui et al., 2021), cardo-coalheiro (*Cynara cardunculus* L.) (Arena et al., 2017), além de algumas espécies pertencentes à família botânica Fabaceae (Santana et al., 2019). Também conhecida como “família das leguminosas”, a mesma possui cerca de 630 gêneros que possuem cerca de 18.000 espécies, e deste total cerca de 2.800 espécies ocorrem espontaneamente no Brasil. Além do mais, é considerada a maior família em número de espécies do país e potencialmente apresenta espécies candidatas como fitorremediadoras em solos contaminados com metais e metalóides (Akib et al., 2019).

A espécie vegetal *Canavalia ensiformis* (L.) DC. é popularmente conhecida como feijão-de-porco. Trata-se de planta perene, nativa do Brasil e que, normalmente, se cultiva como cultura anual para enriquecimento de solo como adubo verde (formação de biomassa para posterior semeadura direta em palhada em lavouras comerciais) (Akib et al., 2018). Entretanto, escassas são as investigações acerca do potencial fitorremediador da espécie *C. ensiformis* sob presença de diferentes concentrações do herbicida ATZ no solo. Entre os raros estudos que abordam a espécie vegetal com potencial fitorremediador, autores como Romero e colaboradores (2007), Rossi e colaboradores (2012) e Santana e colaboradores (2019) reportaram que essa espécie é eficiente no acúmulo de diferentes poluentes, como a capacidade em fitoextrair metais pesados ligados a frações orgânicas do solo [ex.: cobre (Cu), chumbo (Pb) e cádmio (Cd)], o que demonstra potencialidade de seu uso na fitorremediação de solos contaminados por poluentes químicos.

Já a imobilização no solo com o uso de BCH demonstra relevante importância e potencial de remoção de diferentes contaminantes orgânicos e inorgânicos (Gonçalves Junior et al., 2023). Sua adição no solo é capaz de alterar as características físico-químicas, além de

aumentar as atividades de enzimas e microorganismos do solo, a fim de expandir o teor de biomassa vegetal e a colonização micorrízica nas raízes (Liu et al., 2023). O BCH, derivado da carbonização da biomassa em ausência de O<sub>2</sub>, pode atuar de forma sinérgica com plantas fitorremediadoras em solos contaminados conforme já observado em áreas contaminadas por hidrocarbonetos (petróleo) remediadas com as plantas de azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) (Liu et al., 2023) ou de grama-boiadeira (*Leersia hexandra* Sw.) em solos contaminados com Cr (Wang et al., 2023). Isso se dá devido a sua estrutura porosa que retém água e nutrientes, beneficiando o crescimento das plantas, enquanto suas propriedades adsorventes capturam poluentes orgânicos e inorgânicos (Zhang et al., 2023). A presença do BCH no solo promove atividade microbiana benéfica, a qual auxilia na degradação de poluentes complexos e protegendo as plantas contra a absorção excessiva de substâncias tóxicas (Gu et al., 2020).

Entretanto, a literatura científica ainda é escassa no que se refere ao potencial do uso da *C. ensiformis* e o seu possível efeito sinérgico ao ser combinado com a aplicação de BCH na fitorremediação de solos contaminados com herbicida ATZ. Diante de todo o exposto acima, especulamos que o uso de *C. ensiformis* (feijão-de-porco) poderá promover a descontaminação do solo a partir de seu potencial fitorremediador para ATZ, combinado com aplicação de BCH ativado, em que o emprego simultâneo dessas técnicas, possivelmente, resultará em sinergismo com efeitos diretos na remediação eficiente do solo. As pesquisas acerca do tema ressaltam a necessidade da experimentação e difusão dos conhecimentos obtidos e, assim, almejamos gerar dados que contribuam para a implantação dessa tecnologia na mitigação dos efeitos adversos causados a curto e médio prazo, favorecendo, assim, o desenvolvimento de práticas de produção agrícola sustentáveis que visem a saúde pública, bem como retorno científico para a área de estudo do desenvolvimento tecnológico a partir da estratégia de fitorremediação de plantas nativas intensificada pelo carvão vegetal ativado.

## **HIPÓTESE**

Testaremos se a aplicação de carvão vegetal ativado combinado com a espécie vegetal nativa exibirá sinergismo em seu papel fitorremediador para a descontaminação de solos contaminados com o herbicida pré-emergente.

### **Hipótese de nulidade ('H0')**

Investigar se a combinação entre carvão vegetal ativado, aplicado em solo com resíduos do herbicida pré-emergentes atrazina, não potencializará a fitorremediação da espécie vegetal *Canavalia ensiformis* (L.) DC.

### **Hipótese alternativa ('H1')**

Investigar se a combinação entre biochar ativado, aplicado em solo com resíduo do herbicida pré-emergente atrazina, potencializará a fitorremediação da espécie vegetal *Canavalia ensiformis* (L.) DC.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivos gerais**

Avaliar se a espécie vegetal *Canavalia ensiformis* (L.) DC. (feijão-de-porco) expressa potencial fitorremediador combinado com a aplicação de biochar em solo contaminado com resíduo do herbicida atrazina.

### **Objetivos específicos**

Mensurar o crescimento vegetativo da espécie *Canavalia ensiformis* (L.) DC. (feijão-de-porco) em solo contaminado com resíduo do herbicida pré-emergente atrazina;

Avaliar se a aplicação de biochar no solo intensificará a ação fitorremediadora da espécie *Canavalia ensiformis* (L.) DC. (feijão-de-porco) sob diferentes concentrações residuais do herbicida atrazina;

Verificar se a fitorremediação de *Canavalia ensiformis* (L.) DC. (feijão-de-porco) associada ao uso do biochar resultará em aumento da ação de enzimas antioxidantes.

Aprimorar as competências pessoais e profissionais por meio do desenvolvimento dessa monografia;

Elaborar um manuscrito científico com vistas à submissão a periódico de relevância acadêmica;

Contribuir para o avanço de biotecnologias voltadas à mitigação de impactos ambientais e à geração de benefícios para a sociedade.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDELHAFID, A., HOUOT, S.Y., BARRIUSO, E. How increasing availabilities of carbon and nitrogen affect atrazine behavior in soils. **Biology and Fertility of Soils**, v. 30, p. 333–340, 2000. <https://doi.org/10.1007/s003740050012>
- ABDULELAH, S.A. et al. Environmentally relevant atrazine exposures cause DNA damage in cells of the lateral antennules of crayfish (*Faxonius virilis*). **Chemosphere**, v. 239, p. 124786, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124786>
- AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. Toxic guide for atrazine. Available online: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-153.pdf>. Accessed in September 2024.
- AKIB, M. A. et al. The effect of application of *Acaulospora* sp. on the root growth of *Canavalia ensiformis* L. at nickel post-mine land. **Pakistan Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 2, p. 583–591, 2018.
- ANDERSON, M.P.; GRONWALD, J.W. Atrazine resistance in a velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) biotype due to enhanced glutathione S-transferase activity. **Plant Physiology**, v. 96, p. 104–109, 1991. <https://doi.org/10.1104/pp.96.1.104>
- ANTONIADIS, V. et al. Phytoremediation potential of twelve wild plant species for toxic elements in a contaminated soil. **Environment International**, v. 146, p. 106233, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106233>
- ARENA, C. et al. Ultrastructural, protein and photosynthetic alterations induced by Pb and Cd in *Cynara cardunculus* L., and its potential for phytoremediation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 145, p. 83–89, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.07.015>
- ATSDR. Toxicological profile for atrazine. **Agency for Toxic Substances and Disease Registry**, Atlanta, 2003.
- BEDMAR, F., et al. Riesgo de contaminación del agua subterránea con plaguicidas en la cuenca del arroyo El Cardalito. **Argentine Journal of Agricultural Research**, v. 41, p. 7–82, 2015. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86436966013>
- BEFFA, R., MENNE, H. and KÖCHER, H. Herbicide Resistance Action Committee (HRAC): Herbicide Classification, Resistance Evolution, Survey, and Resistance Mitigation Activities. **Modern Crop Protection Compounds**, 2019. <https://doi.org/10.1002/9783527699261.ch1>
- BENINCASA, M. M. P. Análise de crescimento de plantas (noções básicas). **Fundação Nacional de Ensino e Pesquisa**, 41 p., Jaboticabal, Brasil, 2003.
- BHADURI, A.; FULEKAR, M. H. Antioxidant enzyme response of plants to heavy metal stress. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, v. 11, p. 55–69, 2011. <https://doi.org/10.1007/s11157-011-9251-x>
- BHATTI, P.; et al. Adsorption-desorption and leaching behaviour of atrazine in alluvial soil of Agra: A semi-arid region. **Journal of Environmental Research and Development**, v. 6, n. 1, p. 56–64, 2012.
- BRASIL. Brazil's Green Monitor. Ministério da Economia, 2022. Available online: [https://www.gov.br/mdic/pt-br/assuntos/assuntos-economicos-internacionais/acompanhamento-economico/brazil-green-monitor/brazil\\_green\\_monitor-2022-05.pdf](https://www.gov.br/mdic/pt-br/assuntos/assuntos-economicos-internacionais/acompanhamento-economico/brazil-green-monitor/brazil_green_monitor-2022-05.pdf)
- CECILIA, D., MAGGI, F.E. Cinética de biodecompositores de suelo de atrazina, deisopropilatrizona e deetilatrizona. **Journal of Environmental Management**, v. 183, p. 673–686, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.09.012>
- COBB, A.H. and READE, J.P.H. Herbicides That Inhibit Photosynthesis. **Herbicides and Plant Physiology**, 2010. <https://doi.org/10.1002/9781444327793.ch5>
- CUI, E. et al. Ryegrass (*Lolium multiflorum* L.) and Indian mustard (*Brassica juncea* L.) intercropping can improve the phytoremediation of antibiotics and antibiotic resistance genes but not heavy metals. **Science of the Total Environment**, v. 784, p. 147093, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147093>
- CUMMINS, I., et al. Key role for a glutathione transferase in multiple-herbicide resistance in grass weeds. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 110, p. 5812–5817, 2013. <https://doi.org/10.1073/pnas.1221179110>
- DE SOUZA, R., et al. Ocorrência, impactos e aspectos gerais de agrotóxicos em águas superficiais: Uma revisão. **Segurança de Processos e Proteção Ambiental**, v. 135, p. 22–37, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2019.12.035>
- DEVINE, M.D. and PRESTON, C. The molecular basis of herbicide resistance. **Herbicides and Their Mechanisms of Action** (eds A.H. Cobb and R.C. Kirkwood), p. 72–104. Sheffield, U.K: Sheffield Academic Press, 2000.
- EUROPEAN COMMISSION. Atrazine EQS datasheet. Brussels: **European Commission**, 2005.
- ELDRIDGE, J.C. et al. Atrazine interaction with estrogen expression systems. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 196, p. 147–160, 2008. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-78444-1\\_6](https://doi.org/10.1007/978-0-387-78444-1_6)
- EPA. Technical fact sheet on atrazine. **Environmental Protection Agency**, Washington, D.C.: U.S., 2003.
- EVANS, A.F., Jr, O'BRIEN, S.R., MA, R., HAGER, A.G., RIGGINS, C.W., LAMBERT, K.N. and RIECHERS, D.E. Biochemical characterization of metabolism-based atrazine resistance in *Amaranthus tuberculatus* and

- identification of an expressed GST associated with resistance. **Plant Biotechnology**, v. 15, p. 1238-1249, 2017. <https://doi.org/10.1111/pbi.12711>
- GONÇALVES Jr., A.C. et al. Atrazine fate in Rhodic Ferralsol grown with corn under high-intensity rainfall conditions. **Agricultural Water Management**, v. 276, p. 108065, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2022.108065>
- GONÇALVES Jr., A.C. et al. Fate of atrazine in soybean (*Glycine max* L.) and corn (*Zea mays* L.) succession in Brazilian subtropical conditions. **Soil and Tillage Research**, v. 237, p. 105958, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.still.2023.105958>
- GONÇALVES, T.S., et al. Challenges for energy guidelines in crop-based liquid biofuels development in Brazil. **Next Sustainability**, v. 2, p. 100002, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.nxsust.2023.100002>
- GONZALEZ-MARQUEZ, L.C., et al. Atrazina: Un herbicida polémico. **Revista Internacional de Contaminación Ambiental**, v. 29, p. 65–84, 2013.
- GRAY, J.A., BALKE, N.E. and STOLTENBERG, D.E. Increased glutathione conjugation of atrazine confers resistance in a Wisconsin velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) biotype. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 55, p. 157–171, 1996. <https://doi.org/10.1006/pest.1996.0045>
- GU, P. et al. Effect of cornstalk biochar on phytoremediation of Cd-contaminated soil by *Beta vulgaris* var. cicla L. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 205, p. 111144, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111144>
- HANSEN, S.P., MESSER, T.L., MITTELSTET, E.A. Mitigating the risk of atrazine exposure: Identifying hot spots and hot times in surface waters across Nebraska, USA. **Journal of Environmental Management**, v. 250, p. 109424, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109424>
- HIPPLER, F. W. R. et al. Oxidative stress induced by Cu nutritional disorders in Citrus depends on nitrogen and calcium availability. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1-13, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19735-x>
- HIRSCHBERG, J.M.; MCINTOSH, L. Molecular basis of herbicide resistance in *Amaranthus hybridus*. *Science*, v. 222, p. 1346–1349, 1983. <https://doi.org/10.1126/science.222.4630.1346>
- HRAC-BR. Comitê de Ação à Resistência aos Herbicidas, 2023. Available online: <https://www.hrac-br.org/>
- JIA, F., et al. Factors impacting the behavior of phytoremediation in pesticide-contaminated environments: A meta-analysis. **Science of The Total Environment**, v. 892, p. 164418, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164418>
- KAPSI, M. et al. Environmental monitoring and risk assessment of pesticide residues in surface waters of the Louros River (N.W. Greece). **Science of the Total Environment**, v. 650, p. 2188–2198, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.185>
- KHAYYAT, A., et al. Mecanismo de associação e alterações conformacionais da tripsina em sua interação com a atrazina: Um estudo multi-espectroscópico e bioquímico com abordagem computacional. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, p. 5636, 2022. <https://doi.org/10.3390/ijms23105636>
- KOŠNÁŘ, Z.; MERCL, F.; TLUSTOŠ, P. Ability of natural attenuation and phytoremediation using maize (*Zea mays* L.) to decrease soil contents of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) derived from biomass fly ash in comparison with PAHs–spiked soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 153, p. 16-22, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.01.049>
- LEBARON, H.M., McFARLAND, J.E., BURNSIDE, O.C. The triazine herbicides: A milestone in the development of weed control technology. *The triazine herbicides: 50 years revolutionizing agriculture*. Elsevier, pp. 1-12, Amsterdam, 2008.
- LI, S. Chapter 15 - Phytoremediation of pesticides in soil. In *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering* (eds P. Sharma, A. Pandey, Y.W. Tong, H.H. Ngo), Elsevier, p. 291-312, 2022. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-99907-6.00007-4>
- LIU, Z. et al. Enhanced phytoremediation of petroleum-contaminated soil by biochar and urea. *Journal of Hazardous Materials*, v. 453, p. 131404, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131404>
- LU, Y.C., et al. Enhanced detoxification and degradation of herbicide atrazine by a group of O-methyltransferases in rice. **Chemosphere**, v. 165, p. 487-496, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.09.025>
- MA, R., et al. Distinct detoxification mechanisms confer resistance to mesotrione and atrazine in a population of waterhemp. **Plant Physiology**, v. 163, p. 363–377, 2013. <https://doi.org/10.1104/pp.113.223156>
- MA, R., EVANS, A.F. and RIECHERS, D.E. Differential responses to preemergence and postemergence atrazine in two atrazine-resistant waterhemp populations. **Agronomy Journal**, v. 108, p. 1196–1202, 2016. <https://doi.org/10.2134/agronj2015.0571>
- MCMULLIN, T.S. et al. Evidence that atrazine and diaminochlorotriazine inhibit the estrogen/progesterone induced surge of luteinizing hormone in female Sprague-Dawley rats without changing estrogen receptor action. **Toxicological Sciences**, v. 79, p. 278–286, 2004. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfh127>
- MOUSAVI, A. et al. The effect of the exogenous application of EDTA and maleic acid on tolerance, phenolic compounds, and cadmium phytoremediation by okra (*Abelmoschus esculentus* L.) exposed to Cd stress.

- Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 4, p. 105456, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105456>
- NAVARRO, S., et al. Persistence of four s-triazine herbicides in river, sea and groundwater samples exposed to sunlight and darkness under laboratory conditions. **Science of the Total Environment**, v. 329, p. 87–97, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.03.013>
- NRA. Final report review of atrazine. NRA Chemical Review Program. National Registration Authority for Agricultural and Veterinary Chemicals, Canberra, Australia, p. 57, 2002.
- ODUKKATHIL, G., VASUDEVAN, N. Toxicity and bioremediation of pesticides in agricultural soil. **Review of Environmental Science and Biotechnology**, v. 12, p. 421–444, 2013. <https://doi.org/10.1007/s11157-013-9320-4>
- OJEU. Commission decision concerning the non-inclusion of atrazine in annex I to Council Directive 91/414/EEC and the withdrawal of authorizations for plant protection products containing this active substance. **Official Journal of the European Union**, Brussels, BE 3, 2004.
- OWAGBORIAYE, F. et al. Outcome of the first survey of atrazine in drinking water from Ijebu North, South-West, Nigeria: Human health risk and neurotoxicological implications. **Toxicology Reports**, v. 9, p. 1347–1356, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2022.06.012>
- PALMA, P. et al. Risk assessment of pesticides detected in surface water of the Alqueva reservoir (Gadiana basin, southern of Portugal). **Science of the Total Environment**, v. 488–489, p. 208–219, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.04.088>
- PANIS, C. et al. Widespread pesticide contamination of drinking water and impact on cancer risk in Brazil. **Environmental International**, v. 165, p. 107321, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107321>
- PAPADAKIS, E.-N. et al. Pesticides in the surface waters of Lake Vistonis Basin, Greece: Occurrence and environmental risk assessment. **Science of the Total Environment**, v. 536, p. 793–802, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.07.099>
- PATHAK, R.K. et al. Atrazine and human health. **International Journal of Ecosystems**, v. 1, p. 14–23, 2011. <https://doi.org/10.5923/j.ije.20110101.03>
- PÉREZ-LLORCA, M. et al. Photosynthesis efficiency as key factor in decision-making for forest design and redesign: A systematic literature review. **Forest Policy and Economics**, v. 160, p. 103118, 2024. DOI: [10.1016/j.fpe.2024.103118](https://doi.org/10.1016/j.fpe.2024.103118).
- PROIA, L. et al. Effects of pesticides and pharmaceuticals on biofilms in a highly impacted river. **Environmental Pollution**, v. 178, p. 220–228, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.02.022>
- RALSTON-HOOPER, K., et al. Acute and chronic toxicity of atrazine and its metabolites deethylatrazine and deisopropylatrazine on aquatic organisms. **Ecotoxicology**, v. 18, n. 7, p. 899–905, 2009. <https://doi.org/10.1007/s10646-009-0351-0>
- READE, J.P.H., MILNER, L.J. and COBB, A.H. A role for glutathione S-transferases in resistance to herbicides in grasses. **Weed Science**, v. 52, p. 468–474, 2004. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3113x.1999.00452.x>
- REYES-BRAVO, D. Y. et al. Chronic atrazine exposure increases the expression of genes associated with gabaergic and glutamatergic systems in the brain of male albino rat. **Frontiers in Toxicology**, v. 4, p. 933300, 2022. <https://doi.org/10.3389/ftox.2022.933300>
- REYES-BRAVO, D.Y. et al. Chronic atrazine exposure increases the expression of genes associated with GABAergic and glutamatergic systems in the brain of male albino rat. **Frontiers in Toxicology**, v. 4, 2022. <https://doi.org/10.3389/ftox.2022.933300>
- ROMEIRO, S. et al. Absorção de chumbo e potencial de fitorremediação de *Canavalia ensiformis* L. **Bragantia**, v. 66, p. 327–334, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052007000200017>
- ROSSI, S. C.; LAGOA, A. M. M. A.; SCHIAVINATO, M. A. Tolerance to cadmium in the germination and development of jack beans. **Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 55, n. 2, p. 142–147, 2012. <https://btcc.ufra.edu.br/index.php/ajaes/article/view/431>
- SALES DA SILVA, I.G., et al. Soil Bioremediation: Overview of Technologies and Trends. **Energies**, 2020.
- SÁNCHEZ, V., et al. Assessing the phytoremediation potential of crop and grass plants for atrazine-spiked soils. **Chemosphere**, v. 185, p. 119–126, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.013>
- SANTANA, N. A. et al. Earthworms and mycorrhization increase copper phytoextraction by *Canavalia ensiformis* in sandy soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 182, p. 109383, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109383>
- SHARMA, P. et al. Photosystem II Subunit S (PsbS): A nano regulator of plant photosynthesis. **Journal of Molecular Biology**, v. 435, n. 24, p. 167189, 2023. DOI: [10.1016/j.jmb.2023.167189](https://doi.org/10.1016/j.jmb.2023.167189).
- SCHWANTES, D., et al. Determination of chlorpyrifos by GC/ECD in water and its sorption mechanism study in a Rhodic Ferralsol. **Journal of Environmental Health Science & Engineering**, v. 18, p. 149–162, 2020. <https://doi.org/10.1007/s40201-020-00448-1>
- SINGH, S., et al. Toxicity, degradation and analysis of the herbicide atrazine. **Environmental Chemistry Letters**, v. 16, p. 211–237, 2018. <https://doi.org/10.1007/s10311-017-0665-8>

- SOLOMON, K.R., et al. Effects of atrazine on fish, amphibians, and aquatic reptiles: A critical review. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 38, p. 721–772, 2008. <https://doi.org/10.1080/10408440802116496>
- STEPHENIE, S. et al. An insight on superoxide dismutase (SOD) from plants for mammalian health enhancement. **Journal of Functional Foods**, v. 68, p. 103917, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103917>
- SZEWCZYK, R., et al. Atrazine bio-degradation by mycoinsecticide *Metarhizium robertsii*: Insights into its amino acids and lipids profile. **Journal of Environmental Management**, v. 262, p. 110304, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110304>
- TIMMERMAN, K.P. Molecular characterization of corn glutathione S-transferase isozymes involved in herbicide detoxification. **Physiologia Plantarum**, v. 77, p. 465–471, 1989. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1989.tb05668.x>
- TIWARI, A., et al. Chapter 15 - Pesticides and Rice Agriculture. In *Cyanobacteria, From Basic Science to Applications*, p. 303-325, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814667-5.00015-5>
- URSELER, N. et al. Atrazine pollution in groundwater and raw bovine milk: water quality, bioaccumulation and human risk assessment. **Science of the Total Environment**, v. 852, p. 158498, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158498>
- USEPA. Interim reregistration eligibility decision for atrazine. United States Environmental Protection Agency, Washington, D.C., p. 285, 2003.
- USMAN, M., et al. Chemical oxidation of hexachlorocyclohexanes (HCHs) in contaminated soils. **Science of the Total Environment**, v. 476–477, p. 434–439, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.01.027>
- VONBERG, D. et al. Atrazine soil core residue analysis from an agricultural field 21 years after its ban. **Journal of Environmental Quality**, v. 43, p. 1450–1459, 2014. <https://doi.org/10.2134/jeq2013.12.0497>
- WANG, F. et al. Effects of short-time exposure to atrazine on miRNA expression profiles in the gonad of common carp (*Cyprinus carpio*). **BMC Genomics**, v. 20, p. 587, 2019. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5896-6>
- WANG, J.-C. et al. Effect of iron-loaded sludge biochar amendments on phytoremediation potential of Cr contaminated soils. **Chemosphere**, v. 337, p. 139355, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139355>
- WANG, W., et al. Phytoremediation of contaminated sediment combined with biochar: Feasibility, challenges and perspectives. **Journal of Hazardous Materials**, v. 465, p. 133135, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.133135>
- WATER QUALITY AUSTRALIA. Atrazine in freshwater and marine water. Canberra: Australian and New Zealand Environment and Conservation Council, 2000.
- XING, H. et al. Effects of atrazine and chlorpyrifos on DNA methylation in the brain and gonad of the common carp. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, v. 168, p. 11–19, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2014.11.002>
- YANG, X. et al. The regulatory network of antioxidant enzyme synergy in ROS homeostasis and photosynthesis: Multilevel response mechanisms of rye seedlings under nicosulfuron-atrazine-freeze-thaw combined stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 216, p. 109867, 2025. DOI: [10.1016/j.plaphy.2025.109867](https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2025.109867).
- YU, Q. and POWLES, S. Metabolism-based herbicide resistance and cross-resistance in crop weeds: A threat to herbicide sustainability and global crop production. **Plant Physiology**, v. 166, p. 1106–1118, 2014. <https://doi.org/10.1104/pp.114.242750>
- YUE, L., et al. Adsorption–desorption behavior of atrazine on agricultural soils in China. **Journal of Environmental Sciences**, v. 57, p. 180–189, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.11.002>
- ZHANG, Y. et al. Influence of biochar and fulvic acid on the ryegrass-based phytoremediation of sediments contaminated with multiple heavy metals. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 11, n. 2, p. 109446, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.109446>
- ZHAO, H. et al. Endocrine toxicity of atrazine and its underlying mechanisms. **Toxicology**, v. 505, p. 153846, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2024.153846>

## 2 PARTE II – MANUSCRITO CIENTÍFICO

1

### 1 ARTIGO DE PESQUISA

- 1 Conforme estabelecido pelo Projeto Pedagógico do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas (PPC, Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, *campus* Lagoa do Sino, 2024 – link de acesso: <https://www.biols.ufscar.br/pt-br/assets/arquivos/ppc-ciencias-biologicas-2025.pdf>), de acordo com o item 9.4.2 do Regulamento do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), este pode ser desenvolvido em forma de monografia ou artigo de pesquisa. No presente trabalho, optou-se pela monografia, uma vez que o tema aborda a fitorremediação de solos contaminados com atrazina utilizando *Canavalia ensiformis* e biochar, derivando de pesquisa realizada no âmbito de iniciação científica. Assim, a escolha do tema atende aos critérios do regulamento e permite a apresentação dos dados em formato de manuscrito científico, conforme normas de periódicos da área. Considerando as justificativas apresentadas ao longo desta monografia, o TCC foi redigido na modalidade ‘remota’, com defesa e acompanhamento online.

1

1

## **Combinação entre espécie fitorremediadora e carvão vegetal ativado em ambientes com a presença de herbicida persistente**

Clarissa Arthur<sup>1</sup>, Milena Kruschewsky de Meirelles<sup>1</sup>, Felipe Tavares Lima<sup>2</sup>, Tamiris Araújo<sup>1</sup>, Daniel Schwantes<sup>3</sup>, Daniel Baron<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Federal University of São Carlos, Center of Natural Sciences (CCN), Buri, São Paulo, Brazil

<sup>2</sup> University of São Paulo (USP), Luiz de Queiroz College of Agriculture (ESALQ), Piracicaba, São Paulo, Brazil

<sup>3</sup> Pontifical Catholic University of Chile, Department of Plant Sciences, Santiago, Chile

### **Resumo**

A atrazina (ATZ) é um herbicida amplamente utilizado, cuja persistência e toxicidade provocam impactos ambientais relevantes. A fitorremediação, por meio de plantas capazes de remover poluentes do solo, constitui uma estratégia sustentável para mitigar esses efeitos. Este estudo avaliou o potencial fitorremediador de *Canavalia ensiformis* (L.) DC., em associação com biochar de eucalipto em solos contaminados com ATZ. Foram analisados o crescimento vegetativo da planta e a atividade de enzimas antioxidantes, considerando diferentes concentrações residuais do herbicida. Os dados foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste post-hoc de Dunn. Os resultados indicam que a combinação de *C. ensiformis* com biochar promove incremento no crescimento vegetal e na atividade enzimática (maior altura/biomassa das raízes e aumento da atividade de POD em presença de 1,6 kg a.i. ha<sup>-1</sup> ATZ), sugerindo efeito sinérgico na remoção de ATZ. Estes achados reforçam o potencial de estratégias agrícolas sustentáveis e tecnologias inovadoras para a preservação ambiental.

**Palavras-chave:** atrazina; biochar; feijão-de-porco; fitorremediação; herbicida.

### **Abstract**

Atrazine (ATZ) is a widely used herbicide whose persistence and toxicity pose significant environmental risks. Phytoremediation, through plants capable of removing soil pollutants, represents a sustainable strategy to mitigate these effects. This study assessed the phytoremediation potential of *Canavalia ensiformis* (L.) DC. in combination with eucalyptus-derived biochar in ATZ-contaminated soils. Vegetative growth and antioxidant enzyme activity of the plant were evaluated under different residual herbicide concentrations. Data were analyzed using the Kruskal-Wallis test followed by Dunn's post-hoc test. Results indicate that the combination of *C. ensiformis* with biochar promotes increased plant growth and enzymatic activity (increased plant height/root biomass and POD activity in the presence of 1.6 kg a.i. ha<sup>-1</sup> ATZ), suggesting a synergistic effect in ATZ removal. These findings reinforce the potential of sustainable agricultural practices and innovative technologies to mitigate herbicide contamination, supporting environmental protection while maintaining productive agricultural systems.

**Keywords:** biomass charcoal; plant growth; jack bean; remediation; triazine herbicide.

## 1. Introdução

A atrazina (ATZ), membro do grupo químico das triazinas, é um composto organoclorado que tem sido amplamente pesquisado por seus efeitos nocivos sobre as plantas, particularmente sobre a fotossíntese e as atividades enzimáticas em ervas daninhas suscetíveis (Beffa et al., 2019). O herbicida ATZ funciona como um inibidor da fotossíntese, tem como alvo o fotossistema II (FSII), que é essencial para a transferência de elétrons e a conversão de energia nas plantas. Ao se ligar ao sítio Quinona B (QB) no FSII, o herbicida interromperá o fluxo de elétrons e impedirá a síntese de ATP e NADPH+H<sup>+</sup>, cruciais para a fixação de carbono. Além disso, essas interrupções resultarão na redução da produção de açúcar e na eventual morte das células vegetais (HRAC-BR, 2023). A ATZ também induz a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), o que levará ao estresse oxidativo e a danos aos componentes celulares (Tiwari et al., 2019). As ROS serão absorvidas pelas plantas por meio de raízes e partes aéreas, movem-se pelo xilema e interrompem rapidamente a fotossíntese (Solomon et al., 2008). Como herbicida sistêmico, o ATZ é eficaz no manejo de ervas daninhas em plantas cultivadas como trigo (*Triticum aestivum* L.), milho (*Zea mays* L.) e cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), de modo que seu uso tem predominado desde a década de 1950 (LeBaron et al., 2008).

Apesar de seu impacto positivo na agricultura, o ATZ apresenta riscos ambientais devido à sua persistência e mobilidade. Sua estrutura molecular contribui para sua meia-vida prolongada, o que permite que permaneça nas águas subterrâneas por dias (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2024). A ATZ pode se infiltrar em corpos d'água, o que pode causar impacto nos ecossistemas aquáticos (Usman et al., 2014; Bedmar et al., 2017). Durante a degradação, ocorrerá a formação de metabólitos tóxicos, como a desetilatrazina (DEA), que podem causar impactos negativos à microbiota do solo, ao crescimento de plantas não-alvo e à fauna aquática (Odukkathil e Vasudevan, 2013). Embora tenha sido proibida na UE, a ATZ ainda é usada nos EUA e na Austrália sob restrições (USEPA, 2003; NRA, 2002) e é amplamente empregada na América Latina. Sua persistência no ambiente varia amplamente, influenciada pelas condições locais, desde dias a vários anos (Abdelhafid et al., 2000; Vonberg et al., 2014). A ATZ é frequentemente encontrada em fontes d'água em todo o mundo, o que tem levado a preocupações sobre a contaminação (de Souza et al., 2020).

A ATZ interrompe a fotossíntese interfere nos processos fotoquímicos e bioquímicos, reduz significativamente a produtividade das plantas e leva a perdas de biomassa de até 90% (Benincasa, 2003). As espécies vegetais atenuam as EROs ao utilizarem antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos. Os antioxidantes enzimáticos, tais como a superóxido

dismutase (SOD), a catalase (CAT) e as peroxidases (POD), desempenham um papel fundamental na mitigação do estresse oxidativo. A SOD catalisa a conversão de ânions de superóxido em peróxido ( $O_2^-$ ) de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), o qual será desintoxicado pela CAT e POD em água ( $H_2O$ ) e oxigênio ( $O_2$ ), evitando-se o acúmulo tóxico (Hippler et al., 2018; Stephenie et al., 2020). Os antioxidantes não enzimáticos, tais como os compostos fenólicos, protegem significativamente as células, atuando como doadores de elétrons para neutralizar as espécies reativas de oxigênio (EROs), os quais se incluem os radicais hidroxila (-HO), o que aumenta a tolerância ao estresse (Mousavi et al., 2021). Na fitorremediação, as plantas toleram significativas concentrações de ATZ e as desintoxicam por meio de processos metabólicos aprimorados (Sánchez et al., 2017), de modo que é relatado a capacidade de crescimento mesmo em solos contaminados com até  $25 \text{ mg kg}^{-1}$  do herbicida (GAO et al., 2024). Por exemplo, as plantas cultivadas, como o milho e o sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench)], apresentam tolerância natural devido à alta atividade constitutiva das glutathione S-transferases (GSTs), que usam ATZ como substrato para desintoxicação rápida (Timmerman, 1989).

À medida que a produtividade agrícola se torna cada vez mais dependente de agroquímicos, o risco de contaminação ambiental aumenta, o que exige esforços coordenados para gerenciar os impactos dos pesticidas e desenvolver tecnologias de remediação (Singh et al., 2018). A fitorremediação, muitas vezes chamada de "técnica verde", refere-se à uma solução ecológica e econômica para lidar com a contaminantes de solo, tais como metais pesados (MPs) e pesticidas persistentes. Estudos ressaltaram a importância de compreender as fontes e os impactos prejudiciais dos metais pesados, bem como o avanço das tecnologias de fitorremediação. Há uma grande ênfase na adaptação de métodos convencionais a técnicas modernas para melhorar sua aplicabilidade em uma escala maior, o que considera viabilidade econômica. A fitorremediação é reconhecida como uma estratégia promissora devido à sua eficácia e aos benefícios econômicos, pela utilização plantas para extrair ou metabolizar diversos tipos de contaminantes do solo contaminado, entre estes, especialmente pesticidas persistentes. Esse processo reduz significativamente os riscos ambientais e ajuda na restauração do ecossistema. Além disso, a fitorremediação serve como uma alternativa viável aos métodos tradicionais de remediação, visto que é capaz de facilitar a remoção do solo contaminado, promover a saúde ambiental geral e restaurar a terra para uso agrícola (Lavanya, Viswanath, Sivapullaiah, 2024). A utilização de plantas como milho e azevém (*Lolium perenne* L.) oferece uma abordagem sustentável para a descontaminação do solo, especialmente quando combinada com biochar (BCH) para melhorar as condições do solo e a

degradação de poluentes (Wang et al., 2024). Essa abordagem é particularmente promissora, pois permite várias interações biológicas e químicas, além de promover a degradação de poluentes e melhorar a saúde do solo (Sales da Silva et al., 2020).

*A Canavalia ensiformis* (L.) DC. É comumente conhecida como feijão-de-porco, uma planta perene nativa do Brasil e, frequentemente, cultivada anualmente por seus benefícios como adubo verde, aumento no enriquecimento do solo e a formação de biomassa para semeadura direta na agricultura comercial (Akib et al., 2018). Apesar de pesquisas limitadas sobre seu potencial de fitorremediação para contaminação por triazinas, estudos de Rossi et al. (2012), Pereira et al. (2010) e Santana et al. (2019) demonstram sua eficácia no acúmulo de poluentes, o que inclui metais como cobre (Cu), chumbo (Pb) e cádmio (Cd). Da Silva (2022) destaca a tolerância significativa da *C. ensiformis* a altas doses de 2,4-D durante a germinação de sementes e o crescimento inicial, um estágio crucial do desenvolvimento. Lancheros et al. (2024) descobriram que a *C. ensiformis* poderia reduzir os níveis de biodiesel em solo contaminado em até 92,76%. Mielke et al. (2020) mostraram que a inoculação de *C. ensiformis* com *Bradyrhizobium* sp. melhorou a fitorremediação de solo contaminado com sulfentrazona, resultando em uma redução de até 65% no herbicida residual. Além disso, Santos et al. (2024) relataram que o *C. ensiformis*, em associação com a microbiota da rizosfera, reduziu efetivamente os resíduos de sulfentrazona, com desempenho ideal em uma dose de 200 g ha<sup>-1</sup> de ingrediente ativo. Araujo et al. (2024) observaram uma redução de 88% do sulfentrazona no solo ao usar *C. ensiformis*. Essas descobertas destacam o potencial da *C. ensiformis* como uma candidata robusta para sistemas de remediação voltados para contaminantes orgânicos e inorgânicos, o que enfatiza sua versatilidade e eficácia na melhoria da saúde do solo. Além disso, o BCH, um produto da pirólise de biomassa, demonstrou potencial na remoção de vários contaminantes do solo (Gu et al., 2020), melhorando as atividades enzimáticas do solo e promovendo o crescimento das plantas (Gonçalves Junior et al., 2023).

Há um potencial significativo inexplorado na combinação do BCH com plantas fitorremediadoras em sistemas de tratamento do solo (Wang et al., 2024). A literatura científica é limitada com relação ao uso de *C. ensiformis* e seus possíveis efeitos sinérgicos com o BCH na fitorremediação de solos contaminados com ATZ. No entanto, considerando os relatórios robustos da literatura sobre o potencial de fitorremediação e os efeitos sinérgicos do BCH com práticas sustentáveis, é razoável acreditar que a combinação do BCH com espécies nativas de plantas como *C. ensiformis* poderia aumentar significativamente a eficiência da remediação do solo (Zhang et al., 2023). Portanto, nossa hipótese investigou se o

uso combinado do BCH e de uma espécie nativa do Brasil reduzirá os efeitos negativos do herbicida ATZ. Nosso estudo teve como objetivo explorar o potencial do *C. ensiformis* combinado com o BCH para tratar da contaminação do solo por ATZ, com o intuito de promover o desenvolvimento de práticas agrícolas sustentáveis e para o avanço das tecnologias de fitorremediação.

## **2. Materiais e métodos**

### **2.1. Material vegetal**

As sementes de *C. ensiformis* (L.) DC (feijão-de-porco) foram submetidas a tratamento fitossanitário com etanol a 70% por 30 segundos, seguido de imersão em hipoclorito de sódio a 1% (p/v) por 8 minutos e, em seguida, lavadas com água destilada antes de serem secas sobre bancada. Após a desinfecção as sementes foram semeadas em bandejas preenchidas com uma mistura de substrato de vermiculita de textura média e perlita (2:1 v). As plântulas foram cultivadas por 28 dias após a semeadura (DAS), período essencial para o estabelecimento inicial das plantas, o que garantiu seu desenvolvimento adequado antes do início do experimento.

### **2.2. Solo e biochar**

O solo coletado da área agrícola com histórico de cultivo comercial intensivo pertence à Fazenda Escola Lagoa do Sino (FELS), pertencente à Universidade Federal de São Carlos, Buri/SP, Brasil, com as coordenadas geográficas 23°36'04"S, 48°31'02"O e altitude de 590 metros. Imediatamente após a coleta, o solo foi peneirado para remover restos de plantas e demais componentes estranhos ao solo. O solo estudado é classificado como Latossolo Vermelho Eutroférico Distrófico de acordo com Sistema Brasileiro de Classificação dos Solos (SiBCS) (SANTOS et al., 2013) (0-20 cm; 20-40 cm). Já para o BCH, utilizamos o produto Naturanga<sup>®</sup>, que consiste em um pó de BCH ativado de *Eucalyptus* sp., carvão triturado em moinho e peneirado em uma malha média de 30 mesh ( $\approx$  0,6 mm), com um tamanho de partícula baixo para melhorar a absorção.

### **2.3. Preparação de solos contaminados com atrazina e implantação experimental**

O experimento foi realizado no Laboratório de Ecologia Aplicada da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, da Universidade de São Paulo (USP). Plantas jovens

saudáveis de *C. ensiformis* (L.) DC foram transplantadas para vasos e foram cultivados por 28 dias após a emergência (DAE) e irrigados diariamente. Aos 28 DAE, as mudas foram transplantadas para vasos de 4 L e cultivadas em condições experimentais com a presença e/ou ausência de BCH. Após 28 DAS, o herbicida ATZ (Atrazine Nortox 500<sup>RSC</sup>) foi aplicado ao solo com um pulverizador nas doses de 0,0 kg a.i. ha<sup>-1</sup>, 1,62 kg a.i. ha<sup>-1</sup>, 3,25 kg a.i. ha<sup>-1</sup> e 4,87 kg a.i. ha<sup>-1</sup>. A solução de ATZ foi preparada dissolvendo-se ATZ em diferentes concentrações em 72 mL de água para cada tratamento.

#### 2.4. Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 8 tratamentos com 5 repetições cada, totalizando 40 parcelas. Os tratamentos foram uma combinação da presença ou ausência de BCH ativado e diferentes doses de ATZ. Assim, os tratamentos 1, 2, 3 e 4 foram compostos por diferentes concentrações de ATZ combinadas com a ausência (0,0 Mg ha<sup>-1</sup>) de BCH, e os tratamentos 5, 6, 7 e 8 foram compostos pelas mesmas concentrações de ATZ combinadas com a presença (28 Mg ha<sup>-1</sup>) de BCH.

**Tabela 1.** Resumo dos tratamentos que combinam diferentes concentrações de atrazina (ATZ) com ou sem biochar (BCH) em plantas de *Canavalia ensiformis* (L.) DC.

Tratamento	ATZ (kg i.a ha <sup>-1</sup> )	BCH (Mg ha <sup>-1</sup> )
T1 (Controle)	0,0	0
T2	1,6	0
T3	3,2	0
T4	4,9	0
T5	0,0	28
T6	1,6	28
T7	3,2	28
T8	4,9	28

O crescimento das plantas foi avaliado por meio da medição da altura e do número de folhas das plântulas de *Canavalia ensiformis* (L.) DC. ao longo do período experimental. Os dados coletados foram analisados para identificar o modelo matemático que melhor descrevesse o desenvolvimento vegetativo, ao considerarmos tanto critérios biológicos quanto análises estatísticas. O modelo estatístico “melhor ajustável” foi selecionado por meio do uso

do o *software* computacional TableCurve 2D, versão 5.01 (Systat Software, San Jose, CA, EUA), um programa de ajuste de curvas lineares e não lineares, com base no maior valor de R-quadrado ( $R^2 > 0,90$ ), o que indica robustez e significância estatística. Em seguida, aplicou-se um modelo linear generalizado (GLM) para avaliar o crescimento das plantas, considerando o tratamento como efeito fixo e as réplicas como fator aleatório ( $p < 0,05$ ). Todas as GLMs para o crescimento da planta apresentaram suas distribuições de erro verificadas, em que foram assumidas distribuições de erro binomiais. Como as premissas da ANOVA não foram atendidas, a análise da matéria seca e da atividade enzimática foi realizada por meio de testes não paramétricos, especificamente os testes de Kruskal-Wallis e de Dunn. Esses testes indicaram diferenças significativas no conteúdo entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ). Os resultados foram apresentados em boxplot (diagramas que mostram a mediana, quartis e valores extremos). Os testes GLM e não paramétricos foram realizados no software R versão 4.3.1 (R Development Core Team 2023).

## ***2.5. Avaliações experimentais***

### ***2.5.1. Atividade da enzima antioxidante***

Para as análises bioquímicas foram coletadas folhas saudáveis e totalmente expandidas. As amostras foram cuidadosamente acondicionadas em sacos plásticos, embrulhadas em papel alumínio e imediatamente submersas em nitrogênio líquido ( $N_2$ ) para interromper a atividade metabólica (Baron et al., 2022). As amostras foram armazenadas a  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  até a análise posterior. O extrato enzimático foi preparado seguindo a metodologia de Kar e Mishra (1976), com algumas modificações. As amostras foram moídas com adição constante de  $N_2$  em almofariz e pilão até a obtenção de um pó fino. Em seguida, as mesmas foram homogeneizadas em solução tampão de fosfato de potássio pré-resfriada ( $0,1\text{ mol L}^{-1}$ , pH 6,8) em uma proporção de 300 mg de material vegetal para 4 mL de tampão. Os homogenatos foram centrifugados a  $10.000\times g$  por 10 minutos a  $-4\text{ }^\circ\text{C}$ , e o sobrenadante resultante foi armazenado a  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  para análises posteriores. A quantificação das proteínas solúveis foi realizada pelo método de Bradford (Bradford, 1976), em que a caseína foi usada para criar a curva padrão. O ‘reagente de Bradford’ foi preparado por meio da mistura entre etanol e ácido fosfórico e, em seguida, diluição com o Coomassie Brilliant Blue nessa solução. Essa mistura foi filtrada e protegida da luz (armazenada em recipientes de vidro escuro e mantida tampada). A preparação da curva padrão envolveu a dissolução da caseína em uma solução de

NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup>. As leituras de absorvância foram realizadas a 595 nm após a adição de 100 µL do extrato enzimático a 5 mL do reagente de Bradford, seguido de um período de repouso de 15 minutos. As atividades das enzimas catalase (CAT, EC 1.11.1.6) (Peixoto et al., 1999), superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) (Beauchamp e Fridovich, 1971) e peroxidase (POD, EC 1.11.1.7) (Teisseire e Guy, 2000) foram medidas usando métodos espectrofotométricos.

### ***2.5.2. Crescimento da planta e análise de matéria seca***

A coleta de dados para o crescimento da planta incluiu o número de folhas (unidades) e a altura da planta (cm) de acordo com Benincasa (Benincasa, 2003) com mínimos ajustes. Essas medidas foram tomadas em plantas jovens e avaliadas aos 14, 28, 35, 42, 55, 70 e 90 DAT. Durante o período fenológico (90 DAT) realizamos uma coleta de dados destrutiva por meio da separação dos órgãos da planta (parte aérea e raiz) para obter a massa de matéria seca das folhas, caules, raízes e matéria seca total da planta. Os tecidos das plantas foram secos em uma estufa de ar forçado a 65°C (±2°C) por 72 horas (ou quando atingiram uma massa constante). Depois, a massa da matéria seca foi medida com uma balança analítica.

### ***2.5.6 Caracterização espectroscópica (FTIR) de solo, BCH e combinações com a ATZ***

#### ***2.5.6.1 Análise dos espectros de FT-IR***

A caracterização espectroscópica das amostras foi realizada por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), utilizando um espectrômetro modelo JASCO FT/IR-4X acoplado a um acessório de refletância total atenuada (ATR PRO 4X) com cristal de diamante. As análises foram conduzidas na faixa de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>, com resolução de 4 cm<sup>-1</sup> e 50 varreduras acumuladas por espectro, sob ângulo de incidência de 45°.

As medições foram realizadas na *Unidad Central de Instrumentación* da *Pontificia Universidad Católica de Chile*, assegurando condições padronizadas de operação. Cada amostra sólida e devidamente seca foi aplicada diretamente sobre o cristal ATR, sem preparo prévio. Os espectros foram obtidos em transmitância relativa (%), submetidos a correção de linha de base e normalização, visando comparações consistentes entre amostras contaminadas e controles.

#### ***2.5.6.2 Identificação das principais bandas e alterações***

Foram analisadas quatro amostras sólidas: solo contaminado com atrazina (ATZ) (A), solo controle não contaminado (B), biochar contaminado com ATZ (C) e biochar controle não contaminado (D). Para a contaminação controlada, 5 g de cada matriz (solo/biochar, previamente secos a 25 °C por 24 h) foram colocados em contato com 50 mL de solução de atrazina (ATZ) de 10 mg L<sup>-1</sup> diluído em água destilada a pH 7. As suspensões foram agitadas a 150 rpm por 20 h a (25±1) °C. Após o equilíbrio, as amostras sólidas foram separadas por centrifugação e secas a 28 °C por 24 h até massa constante. Os sólidos foram armazenados em frascos Eppendorf para posteriormente serem analisados por FT-IR/ATR.

A interpretação espectral concentrou-se na identificação das principais bandas associadas a grupos funcionais característicos de cada matriz, bem como na avaliação das alterações provocadas pela contaminação. Essa abordagem comparativa entre amostras contaminadas e seus respectivos controles permitiu distinguir bandas intrínsecas das matrizes daquelas resultantes da interação com a ATZ, fornecendo evidências mais robustas sobre os mecanismos de adsorção envolvidos.

Além da análise direta, foram construídos espectros diferenciais, obtidos a partir do cálculo da diferença de transmitância entre amostras contaminadas e seus respectivos controles (solo: A–B; biochar: C–D). Esse procedimento permitiu evidenciar as regiões espectrais de maior variação associadas à presença da ATZ.

Adicionalmente, a intensidade relativa das bandas foi avaliada por meio da normalização espectral ( $I_{norm}$ ), conforme a Equação 1. Esse procedimento expressa a intensidade de cada banda em valores percentuais, tendo como referência o pico de absorção máxima de cada espectro, o que possibilita comparações padronizadas entre as amostras analisadas.

$$I_{norm} (\%) = \frac{(T_{m\acute{a}x} - T_{medida})}{(T_{m\acute{a}x} - T_{m\acute{i}n})} 100 \quad (\text{Equa\c{c}\~{a}o 1})$$

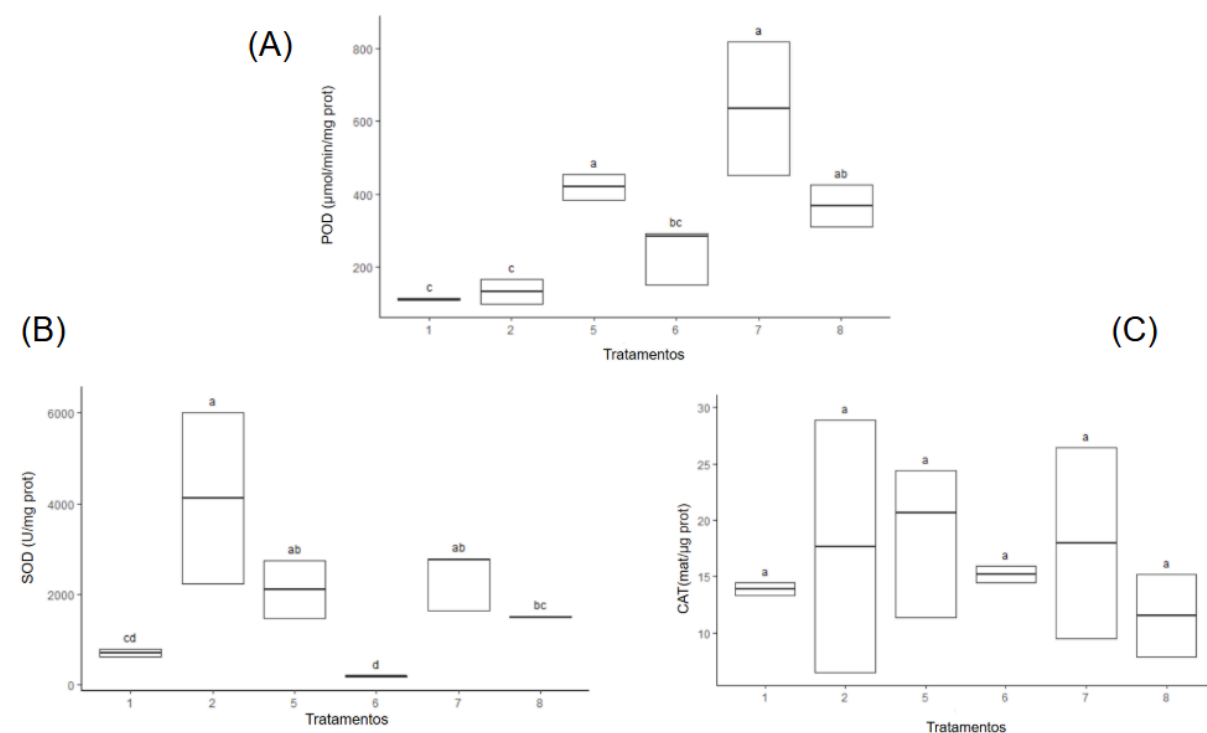
onde:  $I_{norm}$  é a intensidade relativa normalizada;  $T_{m\acute{a}x}$  é o valor de transmitância mais alto observado entre as bandas avaliadas (absorção mínima);  $T_{m\acute{i}n}$  é o valor de transmitância mais baixo observado (absorção máxima, pico mais intenso do espectro);  $T_{medida}$  é a transmitância correspondente à banda em análise. Dessa forma,  $I_{norm}$  de 100% indica a banda de maior intensidade (absorção máxima) dentro do espectro considerado; Por outro lado,  $I_{norm}$  de 0% corresponde à banda de menor intensidade relativa ou praticamente ausente; Valores intermediários de  $I_{norm}$  (30–70%) refletem intensidades moderadas em comparação ao pico dominante.

### 3. Resultados

#### 3.1. Enzimas antioxidantes

Com relação às enzimas antioxidantes, a atividade da POD foi maior nos tratamentos

5 e 7, que apresentaram tendências semelhantes e atividade enzimática significativamente maior em comparação com os tratamentos 1, 2 e 6. Não foram observadas diferenças significativas entre o tratamento 1 e os tratamentos 2 e 6 (Figura 1 A). Com relação à SOD, os tratamentos 1, 6 e 8 apresentaram níveis de atividade semelhantes, os quais foram geralmente menores do que os observados nos tratamentos 2, 5 e 7. Os três últimos tratamentos apresentaram tendências iguais e valores mais altos. O tratamento 2 especificamente apresentou maior atividade da enzima SOD em comparação com os tratamentos 1, 6 e 8, enquanto o tratamento 6 apresentou menor atividade em relação aos tratamentos 2, 5, 7 e 8 (Figura 1 B). Quanto à atividade da CAT todos os tratamentos apresentaram resultados semelhantes, sem diferenças significativas entre os mesmos (Figura 1 C).



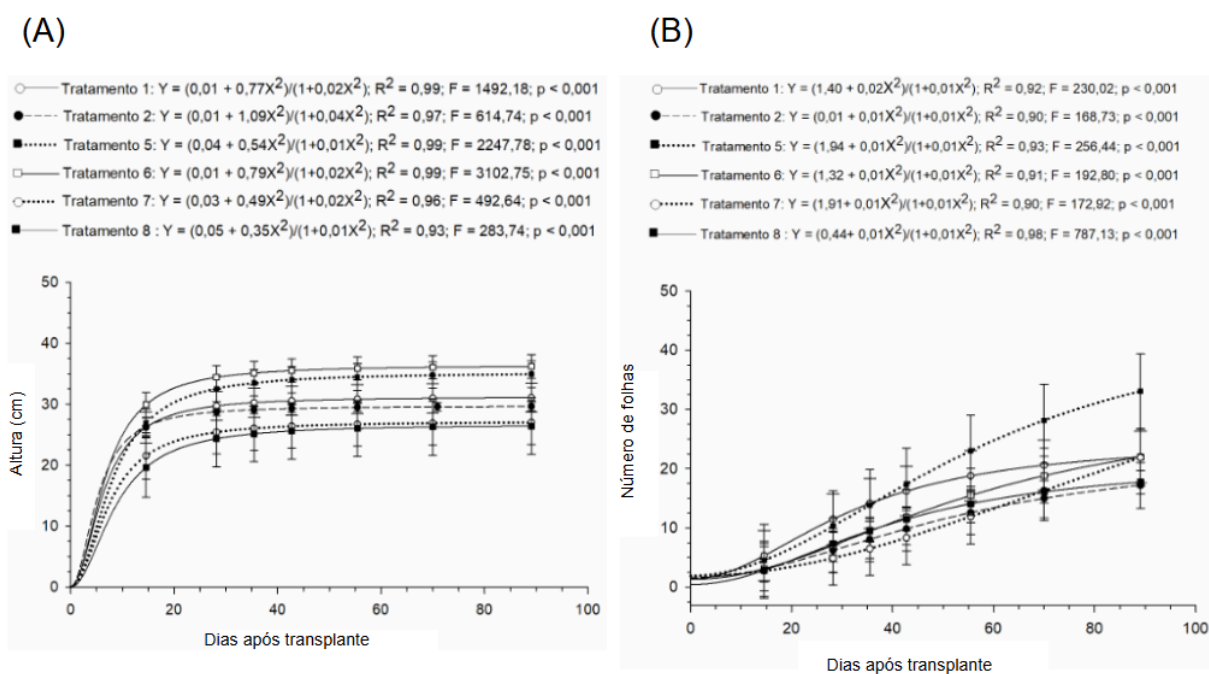
**Figura 1.** Análise da atividade enzimática: atividades enzimáticas da POD, SOD e CAT em resposta aos tratamentos com BCH e ATZ. **(A)** Atividade enzimática da peroxidase (POD) em função dos tratamentos, apresentada em formato de boxplot. A figura destaca a atividade enzimática mediana para cada tratamento, fornecendo uma representação visual da variabilidade e da tendência central. **(B)** Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em função dos tratamentos, apresentada em um formato de boxplot. Os valores medianos de cada tratamento são mostrados, ilustrando a faixa e a distribuição da atividade enzimática. **(C)** Atividade da enzima catalase (CAT) em função dos tratamentos, mostrada em um formato de boxplot. A figura mostra a atividade mediana da catalase e a distribuição dos valores entre os tratamentos.

### 3.2. Crescimento da planta

A análise GLM para o crescimento da altura da planta e do número de folhas mostrou uma

variação significativa entre os tratamentos. O grupo de controle (tratamento 1) foi usado como ponto de referência. Com base no resultado estatístico (estimativa, erro padrão, *valor de p*), foram analisados apenas os tratamentos 1 (0 kg i.a ha<sup>-1</sup> ATZ; 0 Mg ha<sup>-1</sup> BCH), 2 (1,6 kg i.a ha<sup>-1</sup> ATZ; 0 Mg ha<sup>-1</sup> BCH), 5 (0 kg i.a ha<sup>-1</sup> ATZ; 28 Mg ha<sup>-1</sup> BCH), 6 (1,6 kg i.a ha<sup>-1</sup> ATZ; 28 Mg ha<sup>-1</sup> BCH), 7 (3,2 kg i.a ha<sup>-1</sup> ATZ; 28 Mg ha<sup>-1</sup> BCH) e 8 (4,9 kg i.a ha<sup>-1</sup> ATZ; 28 Mg ha<sup>-1</sup> BCH). Especificamente, os tratamentos 3 (3,2 kg i.a ha<sup>-1</sup> ATZ; 0 Mg ha<sup>-1</sup> BCH) e 4 (4,9 kg i.a ha<sup>-1</sup> ATZ; 0 Mg ha<sup>-1</sup> BCH) não foram incluídos na análise porque as plantas nesses tratamentos não sobreviveram as doses mais elevadas de ATZ. após 45 dias após o transplante (DAT).

A tendência de maior crescimento em altura foi observada no tratamento 6, enquanto o menor crescimento ocorreu no tratamento 8. A ordem decrescente geral de crescimento das plantas foi: tratamento 6, tratamento 5, tratamento 1, tratamento 2, tratamento 7 e tratamento 8 (Figura 2 A). Com relação às unidades foliares, o tratamento 5 apresentou o maior número de folhas, enquanto o tratamento 2 apresentou os menores valores. A ordem decrescente do número de folhas no último DAT (90) foi: tratamento 5, tratamento 1, tratamento 6, tratamento 7, tratamento 8 e tratamento 2 (Figura 2 B).

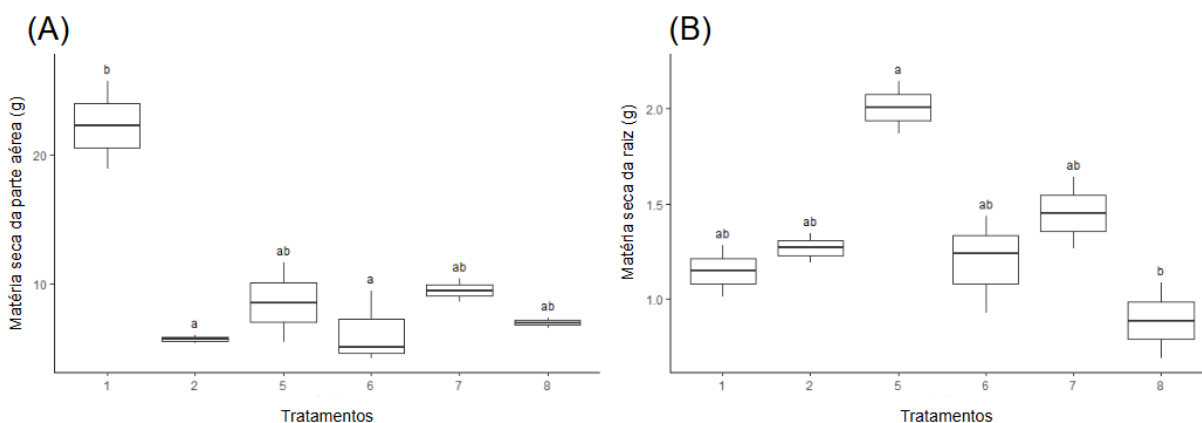


**Figura 2.** Análise dos parâmetros de crescimento: análise comparativa da altura da planta e do número de folhas nos tratamentos com BCH e ATZ. **(A)** Altura da planta (cm) em função dos dias após o transplante, representada usando o melhor modelo matemático ajustado. O gráfico mostra os padrões de crescimento ao longo do tempo para cada tratamento, com tendências distintas correspondentes a diferentes aplicações de biochar e atrazina. **(B)** Número de folhas em função dos dias após o transplante, representado usando o melhor modelo matemático

ajustado.

### 3.3. Análise da matéria seca

O tratamento 1 apresentou uma tendência de maior quantidade de matéria seca da parte aérea em comparação com os tratamentos 2 e 6. No entanto, a mediana do tratamento 1 não diferiu quando comparada aos tratamentos 5, 7 e 8 (Figura 3, A). O tratamento 5 apresentou a maior tendência de produção de biomassa de raiz em comparação com o tratamento 8. O tratamento 1 não diferiu de nenhum dos tratamentos (Figura 3, B).



**Figura 3.** Acúmulo de matéria seca: matéria seca total de raízes e partes aéreas em condições variáveis de tratamento com BCH e ATZ. **(A)** Matéria seca da parte aérea (g) em função dos tratamentos, mostrada em um formato de boxplot. Os valores medianos de cada tratamento são representados, juntamente com a faixa interquartil, para ilustrar a distribuição da biomassa aérea em diferentes condições. **(B)** Matéria seca da raiz (g) em função dos tratamentos, apresentada em um formato de boxplot. A figura exibe os valores medianos da biomassa da raiz e a dispersão dos dados para cada tratamento, enfatizando os efeitos das combinações de biochar e atrazina.

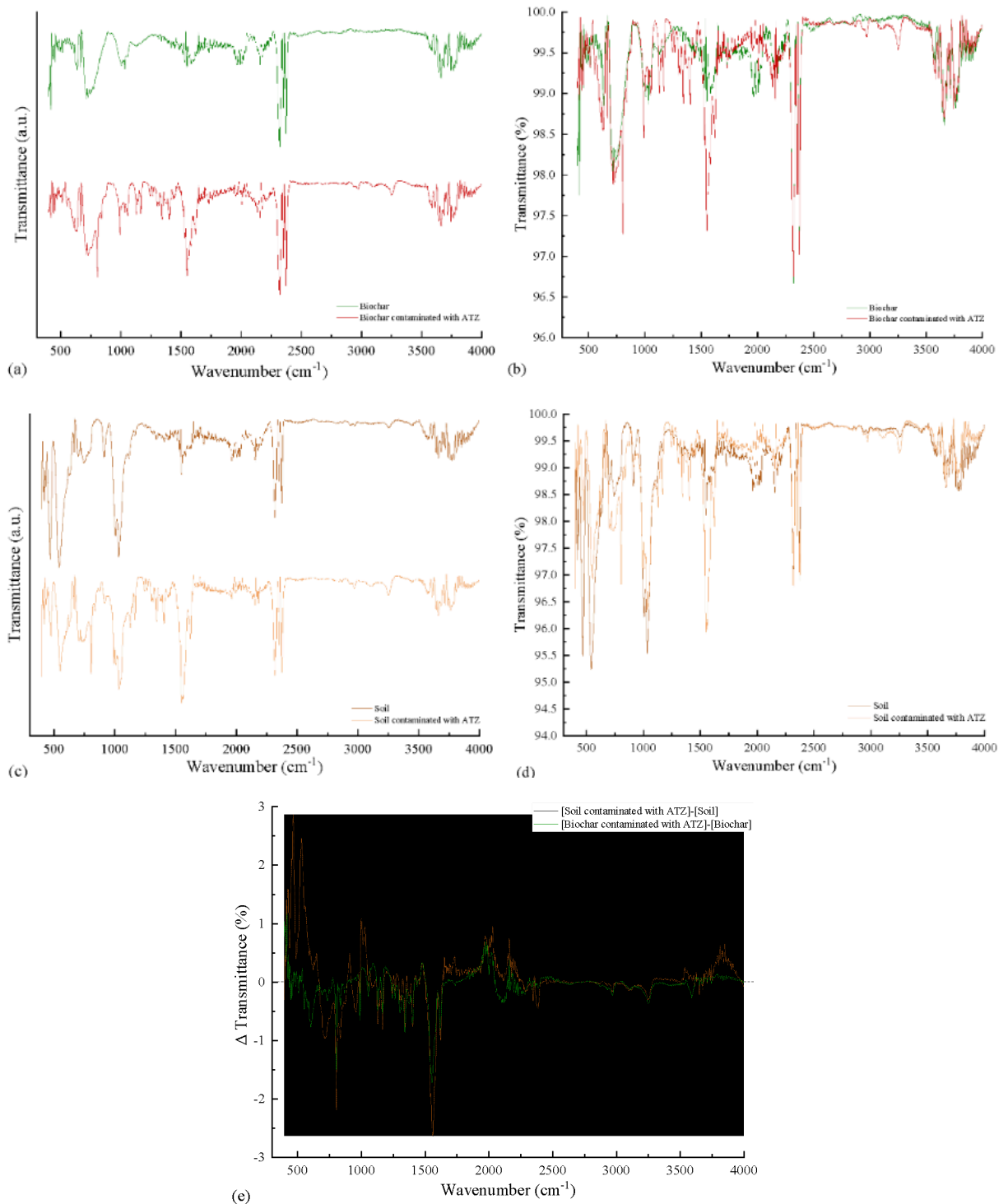
### 3.4. Caracterização espectroscópica (FTIR)

**Tabela 2.** Atribuições qualitativas das principais bandas de FT-IR em solo e biochar, com identificação de grupos funcionais e intensidade relativa.

Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Amostra	Intensidade relativa dentro de cada categoria (solo ou biochar)	Atribuição funcional provável
1033	Solo	Alta	Estiramento assimétrico Si–O (argilas e silicatos)
1006	Solo	Alta	Estiramento Si–O; possível contribuição de C–O ou P–O
541	Solo	Moderada	Deformações de Al–O, Fe–O (óxidos/hidróxidos metálicos)
468	Solo	Moderada	Deformações do esqueleto tetraédrico SiO <sub>4</sub>
2319	Biochar	Alta	Absorção atribuída a CO <sub>2</sub> atmosférico (artefato frequente em FT-IR) ou, secundariamente, a traços de C≡C ou C≡N residuais da pirólise
~1600–1500	Esperado (Biochar)	Baixa/ausente	Estiramento C=C aromático (domínios grafiticos), esperado em biochar, não detectado com intensidade
~1200–1000	Esperado (Biochar)	Baixa/ausente	Estiramentos C–O (fenóis, ésteres), esperados em biochar, não detectados com intensidade

Nota: O pico em ~2319 cm<sup>-1</sup> foi interpretado com cautela, pois pode refletir tanto a absorção de CO<sub>2</sub> atmosférico, artefato comum em análises FT-IR, quanto compostos residuais da pirólise. As bandas esperadas em 1600–1500 e 1200–1000 cm<sup>-1</sup>, típicas de C=C aromáticos e C–O em biochars, não foram detectadas com

intensidade nas amostras analisadas. A intensidade relativa foi classificada dentro de cada matriz (solo ou biochar), ou seja, comparando-se apenas bandas observadas na mesma categoria. Não se trata de comparação direta entre solo e biochar.



**Figura 4.** Espectros FT-IR das amostras analisadas: (a) biochar e biochar contaminado com atrazina (ATZ); (b) biochar e biochar contaminado com ATZ sobrepostos; (c) solo e solo contaminado com ATZ; (d) solo e solo contaminado com ATZ sobrepostos; (e) espectros diferenciais entre amostras contaminadas (biochar + ATZ e solo + ATZ) e suas respectivas matrizes não contaminadas.

Nos espectros do solo controle, destacaram-se bandas intensas em 1033 e 1006  $\text{cm}^{-1}$ , atribuídas a estiramentos assimétricos de Si–O de filossilicatos, com possível contribuição de ligações C–O ou P–O, associadas à fração mineral e à matéria orgânica de solos argilosos (Figuras 4c e 4d; Tabela 2). Outras bandas relevantes foram observadas em 541  $\text{cm}^{-1}$  (deformações Al–O/Fe–O) e em 468  $\text{cm}^{-1}$  (deformações do esqueleto tetraédrico  $\text{SiO}_4$ ), confirmando a composição mineral típica de solos ricos em argilas e óxidos metálicos (Cea et al., 2010; Yue et al., 2017).

Essa configuração estrutural confere alta polaridade superficial e capacidade de troca iônica, favorecendo interações com contaminantes polares, como a ATZ, por ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas. Entretanto, a eficácia dessa adsorção depende do equilíbrio entre frações mineral e orgânica, podendo ser limitada pela relativa hidrofobicidade da molécula ( $\log K_{ow} \approx 2,6$ ), característica que favorece sua mobilidade em ambientes aquosos e explica a tendência da ATZ a alcançar águas subterrâneas em solos com baixa matéria orgânica (Cea et al., 2010; Singh & Cowie, 2010; Yue et al., 2017).

O espectro do biochar (Figuras 4a e 4b; Tabela 2) apresentou perfil distinto, característico de matrizes carbonáceas. Foi observado um pico em  $\sim 2319 \text{ cm}^{-1}$ , possivelmente associado a vibrações de compostos  $\text{C}\equiv\text{C}$  ou  $\text{C}\equiv\text{N}$  residuais da pirólise incompleta. No entanto, essa região coincide com a absorção de  $\text{CO}_2$  atmosférico, um artefato comum em análises FT-IR em modo ATR, de modo que sua interpretação deve ser feita com cautela (Cao et al., 2021; Fruehwirth et al., 2020). Regiões em  $\sim 1600\text{--}1500 \text{ cm}^{-1}$  ( $\text{C}=\text{C}$  aromático) e  $\sim 1200\text{--}1000 \text{ cm}^{-1}$  (C–O fenóis e ésteres), frequentemente descritas em biochars, apresentaram sinais fracos ou ausentes nas amostras analisadas.

**Tabela 3.** Transmitância mínima ( $T_{medida}$ ) e intensidades normalizadas ( $I_{norm}$ ) das principais bandas de FT-IR em solo e biochar, comparando amostras contaminadas com ATZ e controles.

Banda	$T_{medida}$				$I_{norm}$			
	(A) Solo com ATZ	(B) Solo sem ATZ (controle)	(C) Biochar com ATZ	(D) Biochar sem ATZ (controle)	(A) Solo com ATZ	(B) Solo sem ATZ (controle)	(C) Biochar com ATZ	(D) Biochar sem ATZ (controle)
Si–O (1033)	96,4	95,5	99,1	98,9	80,8	89,4	15,2	23,7
Si–O (1006)	97,1	96,2	99,2	99,0	46,8	66,1	10,0	20,8
Al–O/Fe–O (541)	97,1	95,2	99,5	99,6	48,0	100,0	0,0	0,0
$\text{SiO}_4$ (468)	98,2	95,5	99,4	99,5	0,0	91,0	1,6	2,7
$\text{CO}_2/\text{C}\equiv\text{C}/\text{C}\equiv\text{N}$ (2319)	96,8	96,8	96,7	96,7	61,5	46,1	100,0	100,0
$\text{C}=\text{N}/\text{C}=\text{C}$ (1600–1500)	95,9	98,1	97,3	98,9	100,0	0,0	79,3	23,1
C–N/Anel triazínico (1300–1000)	96,4	95,5	99,0	98,9	80,8	89,4	18,5	23,7

A análise quantitativa das intensidades normalizadas (Tabela 3) confirmou o

predomínio mineral: as bandas em 1033 e 1006  $\text{cm}^{-1}$  apresentaram valores elevados no controle (89,4% e 66,1%) e redução após a contaminação (80,8% e 46,8%). Em contraste, bandas atribuídas à ATZ (1600–1500  $\text{cm}^{-1}$  e 1300–1000  $\text{cm}^{-1}$ ) foram detectadas com intensidade moderada apenas no solo contaminado (100% e 80,8%), mas ausentes no controle. Esses resultados indicam que a adsorção ocorre em sítios polares específicos, porém em menor escala, reforçando o caráter limitado da adsorção da ATZ no solo.

**Tabela 4.** Prováveis mecanismos de adsorção da ATZ em solo e biochar.

Matriz	Grupos funcionais relevantes (FT-IR)	Mecanismos principais de adsorção de ATZ	Afinidade com ATZ	Consequências experimentais
Solo	Si–O (1030–1000 $\text{cm}^{-1}$ ); Al–O/Fe–O (~540–460 $\text{cm}^{-1}$ ); Matéria orgânica residual	Ligações de hidrogênio; Interações eletrostáticas; Complexação com óxidos/metais	Moderada (adsorção limitada pela hidrofobicidade da ATZ e tendência à lixiviação)	Maior biodisponibilidade da ATZ; Estresse fitotóxico mais evidente nas plantas
Biochar	Aromáticos condensados (1600–1500 $\text{cm}^{-1}$ fraco); C–O (~1200–1000 $\text{cm}^{-1}$ fraco); Pico em 2319 $\text{cm}^{-1}$ ( $\text{CO}_2$ /traços)	$\pi$ – $\pi$ stacking com domínios grafiticos; Ligações de hidrogênio; Forças de van der Waals; Aprisionamento em porosidade	Alta (forte interação com domínios aromáticos e adsorção física nos poros)	Redução da fração livre da ATZ; Menor toxicidade às plantas; Potencial para remediação

Nota: a banda em ~2319  $\text{cm}^{-1}$  foi incluída por aparecer de forma recorrente nos espectros de biochar. Entretanto, essa região coincide com a absorção de  $\text{CO}_2$  atmosférico em análises ATR, devendo ser interpretada com cautela e não utilizada isoladamente como marcador de interação com ATZ.

A presença de bandas adicionais ou intensificadas em 1600–1500  $\text{cm}^{-1}$  e 1300–1000  $\text{cm}^{-1}$ , além de sinais ocasionais em ~3300  $\text{cm}^{-1}$  (N–H e água ligada), confirma a incorporação da ATZ às matrizes sólidas (Kim et al., 2019; Kolekar et al., 2014). No solo, tais alterações são menos pronunciadas e limitadas a interações polares específicas. Já no biochar, a combinação de interações  $\pi$ – $\pi$ , adsorção em microporos e sítios oxigenados residuais explica sua maior eficiência na imobilização do herbicida.

Enquanto o solo mostrou maiores intensidades relativas em bandas minerais, o biochar apresentou aumentos marcantes nas regiões atribuídas ao anel triazínico da ATZ (1600–1500  $\text{cm}^{-1}$ ). Essa diferença quantitativa, em concordância com os espectros diferenciais (Figura 4e), confirma maior eficiência do biochar na adsorção da ATZ.

O espectro diferencial do solo contaminado (Figura 4e, linha marrom) revelou alterações discretas nas regiões 1600–1400  $\text{cm}^{-1}$  e 1200–1000  $\text{cm}^{-1}$ , compatíveis com interações entre a ATZ e grupos polares como oxi-hidróxidos metálicos e filossilicatos (Cea et al., 2010; Yue et al., 2017). Em contraste, o espectro diferencial do biochar contaminado (Figura 4e, linha verde) apresentou variações mais expressivas, especialmente na faixa 1500–1000  $\text{cm}^{-1}$ , associada a estiramentos C–N, C=N e ao anel triazínico da ATZ.

#### 4. Discussão

Nossa investigação fornece embasamento sobre técnicas de fitorremediação para locais contaminados com atrazina (ATZ) por meio da interação entre biochar (BCH) com espécies de *C. ensiformis*. Estudos anteriores demonstraram que o BCH pode melhorar a qualidade do solo e aumentar a tolerância das plantas a vários fatores de estresse, inclusive poluentes herbicidas (Liu et al., 2023). Em nosso estudo, a aplicação de BCH aumentou significativamente a altura das plantas e a biomassa das raízes, especialmente na presença de doses menores de ATZ, sugere o potencial do biochar para minimizar os danos induzidos pela ATZ. Essas descobertas são apoiadas por Zhang et al. (2023) os quais reportam que o BCH promove o crescimento das plantas, modifica a estrutura do solo e aumenta a disponibilidade de nutrientes.

As plantas silvestres (espécies nativas) adaptadas a solos com restrições abióticas podem apresentar uma estratégia de crescimento conhecida como "Tipo I", caracterizada por crescimento lento e baixa biomassa seca (Rengel; Cakmak; White, 2023). Essa estratégia permite que essas espécies sejam mais eficientes na aquisição de nutrientes em comparação com as plantas cultivadas ou espécies "invasoras", as quais são classificadas como estratégia de crescimento "Tipo II", que normalmente apresentam crescimento rápido (Rengel; Cakmak; White, 2023). Apesar de ser uma espécie nativa (espécie herbácea), a *C. ensiformis* não apresentou crescimento restrito de plantas sob as condições estressantes impostas por baixas doses de ATZ combinadas com BCH. Pelo contrário, seu crescimento foi funcionalmente sustentado. As espécies com estratégia de crescimento "Tipo I" geralmente se distinguem por sua taxa de crescimento potencial máxima mais baixa e pelo uso menos eficiente de nutrientes, uma característica essencial para sua sobrevivência e reprodução, mesmo em condições de disponibilidade abundante de nutrientes (Chapin, 1988; Fageria, 2001). As melhorias no solo facilitadas pelo BCH contribuíram para o melhor desenvolvimento das plantas ao permitir que essas acessassem os nutrientes do solo com mais eficiência e se beneficiassem dos mecanismos fisiológicos que promovem o crescimento sustentado (Epstein & Bloom, 2005).

Os resíduos de ATZ podem ser absorvidos pelas raízes das plantas a partir da água dos poros do solo ou da água de irrigação e, em seguida, translocados e acumulados nas partes aéreas da planta (Chao et al., 2020). A ATZ no solo tem um efeito inibitório sobre a biota do solo, afetando as atividades enzimáticas relacionadas à mineralização de nutrientes e à disponibilidade para as plantas. A degradação, a persistência e a sorção da ATZ no solo são

influenciadas por fatores como textura, pH, carbono orgânico e conteúdo mineral. Nesse contexto, o BCH oferece vários benefícios ao solo, inclusive melhorias da capacidade de troca catiônica (CTC), teor de nutrientes, carbono orgânico e atividade biológica. O BCH ajuda a proteger os micróbios do solo dos efeitos tóxicos dos contaminantes, tornando-o um corretivo eficaz para solos contaminados (Singh et al., 2022). Além disso, estudos como o de Lima (2022) evidenciam que o BCH pode interagir com pesticidas, desempenhando funções como controle da liberação lenta, neutralização da acidez do solo e redução da lixiviação de pesticidas.

A associação entre BCH e planta fitorremediadora não atua apenas pela contribuição direta do BCH na fitorremediação. A presença desse material favorece o estabelecimento e a atividade de microrganismos com potencial biorremediador, os quais se associam tanto ao BCH quanto à rizosfera da planta, ampliando os mecanismos de detoxificação do herbicida. Além disso, o BCH desempenha um papel importante na adsorção da ATZ, reduzindo sua biodisponibilidade no solo e funcionando como uma barreira que atenua a fração do herbicida efetivamente acessível às raízes. Esse efeito de redução da dose real pode explicar por que as plantas expostas à combinação ATZ + BCH não apresentaram mortalidade significativa, em contraste com aquelas submetidas a doses elevadas de ATZ sem BCH, nas quais os efeitos fitotóxicos foram mais severos.

Com foco nos parâmetros bioquímicos, a atividade das enzimas antioxidantes (POD, SOD e CAT) foi usada para avaliar o estresse oxidativo induzido pela ATZ. A maior atividade da POD foi observada nos tratamentos que combinaram BCH e doses mais baixas de ATZ, sugerindo que o BCH aumenta os mecanismos de defesa da planta. O aumento na atividade da POD é um indicativo de maior eliminação de espécies reativas de oxigênio (ROS), o que poderia proteger as plantas dos danos oxidativos induzidos pela ATZ. As plantas empregam uma série de vias de sinalização para sobreviver ao estresse e iniciar uma resposta celular, adaptando-se a condições estressantes por meio de mudanças transcriptômicas e metabolômicas por meio de mecanismos de sinalização que percebem sinais ambientais e bióticos. Essas possuem receptores e sensores que reconhecem sinais de ameaça, o que lhes permite ativar respostas defensivas contra vários estresses (Shiade et al., 2024). As funções protetoras das enzimas antioxidantes contra o estresse oxidativo foram demonstradas em plantas transgênicas que superexpressam a peroxidase (POD) (Wang et al., 2004). Por exemplo, esses autores descobriram que as plantas transgênicas de *Nicotiana tabacum* (L.) (tabaco) que expressavam POD aniônica ou neutra apresentavam maior capacidade de desintoxicar  $H_2O_2$ , o que contribuirá para melhorias na defesa contra espécies reativas de

oxigênio (ROS).

Nossas descobertas são corroboradas por publicações anteriores de que o BCH melhora as respostas enzimáticas em plantas estressadas (Singh et al., 2018). Por outro lado, a atividade da SOD foi aumentada na presença de doses moderadas de ATZ, mas o BCH pareceu atenuar os efeitos em alguns tratamentos, o que poderia indicar uma leve interação entre o BCH e o ATZ em relação à regulação das EROs. No entanto, o BCH promoveu efeitos significativos na biomassa da raiz e na altura da planta, principalmente quando a ATZ foi aplicada em concentrações mais baixas. Em contraste, o BCH na presença de ATZ em concentrações elevadas afetou negativamente o crescimento da planta, conforme evidenciado pela redução da altura da planta e do número de folhas. A atividade da SOD foi otimizada na ausência de BCH e com a menor concentração de ATZ, enquanto a atividade da CAT não apresentou diferenças significativas. Os tratamentos sem BCH, especialmente aqueles com doses mais altas de ATZ, apresentaram resultados reduzidos de crescimento das plantas, o que apoia a hipótese de que a inibição da fotossíntese pela ATZ acarreta prejuízos no desenvolvimento das plantas (U.S. Environmental Protection Agency, 2020).

Em relação às amostras de solo sem contaminação prévia por ATZ, a configuração estrutural confere alta polaridade superficial e capacidade de troca iônica, favorecendo interações com contaminantes polares, como a ATZ, por ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas. Entretanto, a eficácia dessa adsorção depende do equilíbrio entre frações mineral e orgânica, podendo ser limitada pela relativa hidrofobicidade da molécula ( $\log K_{ow} \approx 2,6$ ), característica que favorece sua mobilidade em ambientes aquosos e explica a tendência da ATZ a alcançar águas subterrâneas em solos com baixa matéria orgânica (Cea et al., 2010; Singh & Cowie, 2010; Yue et al., 2017). Esses resultados indicam que a adsorção ocorre em sítios polares específicos, porém em menor escala, reforçando o caráter limitado da adsorção da ATZ no solo.

Diferentemente do solo, o biochar exibiu número reduzido de bandas polares, sugerindo baixa densidade de grupos oxigenados superficiais. Esse resultado pode ser atribuído ao grau avançado de carbonização e conseqüente condensação aromática, bem como ao tipo de precursor utilizado, com baixo teor de heteroátomos. Tais características são compatíveis com biochars produzidos a temperaturas mais elevadas ou a partir de biomassas pobres em compostos oxigenados, resultando em superfície pouco funcionalizada e de maior hidrofobicidade (Singh et al., 2010; Fruehwirth et al., 2020; do Nascimento et al., 2022). Essa configuração estrutural implica em menor contribuição de interações eletrostáticas e de hidrogênio, reforçando que a adsorção da ATZ no biochar se dá principalmente por  $\pi-\pi$

stacking com domínios aromáticos condensados e por adsorção física em microporos.

A análise comparativa da comparação entre solo e BCH evidencia a natureza contrastante das duas matrizes. O solo é dominado por grupos minerais polares (1033, 1006, 541 e 468  $\text{cm}^{-1}$ ), que favorecem interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio, mas apresentam baixa eficiência na adsorção de ATZ. Já o biochar se caracteriza por uma matriz aromática condensada, de baixa polaridade, em que predominam interações hidrofóbicas e  $\pi$ - $\pi$ , resultando em maior afinidade com o herbicida.

A intensificação no BCH nos espectros diferenciais e mecanismos de adsorção reforça que a adsorção ocorre principalmente por empilhamento  $\pi$ - $\pi$ , complementada por ligações de hidrogênio e interações com grupos oxigenados residuais (Fruehwirth et al., 2020; do Nascimento et al., 2022; Liang et al., 2022). A presença de bandas adicionais ou intensificadas além de sinais ocasionais confirma a incorporação da ATZ às matrizes sólidas (Kim et al., 2019; Kolekar et al., 2014). No solo, tais alterações são menos pronunciadas e limitadas a interações polares específicas. Já no biochar, a combinação de interações  $\pi$ - $\pi$ , adsorção em microporos e sítios oxigenados residuais explica sua maior eficiência na imobilização do herbicida.

Em conjunto, os resultados demonstram que o biochar apresenta maior afinidade pela ATZ do que o solo, evidenciando seu potencial como adsorvente em estratégias de remediação ambiental. Essa eficiência é atribuída tanto à estrutura aromática condensada quanto à elevada porosidade, fatores que ampliam os mecanismos de adsorção da molécula (Singh et al., 2010; Fruehwirth et al., 2020).

Estudos anteriores demonstraram que a ATZ pode afetar o crescimento das plantas de forma negativa, o que pode induzir alterações como folhas enroladas (epinastia foliar) ou encurtadas quando as concentrações excedem 20  $\text{mg.L}^{-1}$  (Wang et al., 2015). Embora não tenham sido observados efeitos significativos nas partes aéreas ou no desenvolvimento das raízes em concentrações maiores, as plantas frequentemente apresentavam amarelecimento ou clorose nesses níveis. O impacto da ATZ interrompe os processos fisiológicos, especialmente a fotossíntese, além de bloquear a cadeia de transporte de elétrons nos cloroplastos. A ATZ entrou nos cloroplastos dependente da ATZ, especialmente no FSII, o que contribui para a explosão de EROs (Bai et al. 2015). Assim, o comprometimento da fotossíntese leva ao acúmulo de EROs e aciona mecanismos de defesa antioxidante nas células vegetais. Sugere-se que o grau de tolerância à ATZ esteja ligado à eficiência desses mecanismos antioxidantes, cuja atividade da POD é um indicador útil do estresse da ATZ para as plantas (Wang et al., 2015).

Técnicas de manejo fitossanitário de locais com resíduos de herbicidas que utilizam espécies nativas é uma proposta que tem ganhado considerável interesse científico, especialmente para herbicidas pré-emergentes residuais que permanecem no solo devido às características do produto e do ambiente, como a ATZ (Barroso et al., 2023). Por exemplo, para identificar espécies nativas com potencial de fitorremediação, como plantas tolerantes a herbicidas, que absorvem, conjugam com moléculas orgânicas e/ou degradam metabolicamente os herbicidas. Além disso, algumas podem estimular os microrganismos da rizosfera a decompor os herbicidas em compostos menos tóxicos (Cássia et al., 2023). De acordo com Huang et al. (2022), a contaminação por ATZ reduz o rendimento de culturas suscetíveis, como a soja, especialmente em rotações de milho e soja. Esse mesmo estudo confirmou que a ATZ desempenha um papel significativo na alteração da estrutura da comunidade microbiana, enquanto o BCH alivia o estresse induzido pela atrazina e beneficia o crescimento da soja ao atrair micróbios benéficos. De uma perspectiva prática futura, nossas descobertas revelam que o BCH tem aplicações potenciais combinadas com a fitorremediação, especialmente para mitigar a contaminação do solo por ATZ. A capacidade do BCH de aumentar o crescimento das plantas e reduzir o estresse oxidativo em *C. ensiformis* destaca sua utilidade para melhorar a eficácia das estratégias de fitorremediação.

O BCH pode manter a fertilidade e a produtividade, além de aumentar a disponibilidade de nutrientes. Além disso, estudos demonstraram que este insumo pode reduzir diretamente a biodisponibilidade de poluentes orgânicos em solo contaminado por meio de efeitos de adsorção (Chen et al., 2018; Ortega-Calvo et al., 2013). Os componentes funcionais do BCH também oferecem condições favoráveis para os microrganismos do solo e impulsionam os processos de transferência de elétrons microbianos, de forma a acelerar a remediação do solo contaminado (Wang et al., 2024). Além disso, demonstrou-se que o biochar diminui a concentração de compostos orgânicos hidrofóbicos aquosos (HOCs) por meio da adsorção reativa da superfície ou por meio do aprisionamento físico deles em seus poros (Lou et al., 2015). A combinação de BCH e mínimas doses de ATZ também se mostrou promissora na promoção da "saúde da planta" sem comprometer o crescimento da planta, tornando-a uma estratégia viável para equilibrar a produtividade agrícola com a sustentabilidade ambiental. A adsorção pelo solo e pelos sedimentos é uma etapa importante para influenciar o comportamento ambiental da ATZ, pois ajuda a determinar o destino do herbicida nos ecossistemas (Chang et al., 2022). Portanto, nossos resultados podem contribuir para esclarecer o manejo sustentável do solo por meio do uso de BCH combinado com espécies selvagens (espécies nativas brasileiras) que poderão influenciar práticas futuras na

agricultura e na restauração ambiental.

## **5. Conclusões**

Com base em nossas descobertas, rejeitamos a hipótese de nulidade e, conseqüentemente, aceitamos a hipótese alternativa, em que o BCH beneficia o crescimento da *Canavalia ensiformis* (L.) DC., especialmente a atividade enzimática da POD, na presença de ATZ em doses mais baixas. Concluímos que a aplicação de uma combinação de doses de BCH e ATZ apresenta impactos significativos no crescimento da planta e no sistema enzimático de *C. ensiformis*. O desenvolvimento da raiz e a biomassa foliar melhoraram quando o BCH foi aplicado sozinho. Além disso, o BCH, especialmente quando combinado com a menor concentração de ATZ, também melhorou a atividade enzimática, o que indica um possível efeito positivo sobre a capacidade antioxidante das plantas.

Nossas descobertas sugerem que o BCH pode atuar como um fator positivo na atenuação dos efeitos adversos da ATZ, especialmente em concentrações mais baixas, o que destaca a importância da formulação precisa do tratamento para maximizar os benefícios de crescimento para as plantas.

## REFERÊNCIAS

- Abdelhafid, A.; Houot, S.Y.; Barriuso, E. How increasing availabilities of carbon and nitrogen affect ATZ behaviour in soils. **Biology and Fertility of Soils**, v. 30, p. 333–340, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1007/s003740050012>.
- Agency For Toxic Substances And Disease Registry. **Toxic guide for atrazine**. Available online: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-153.pdf>.
- Araujo, G. R. et al. *Canavalia ensiformis* enhances the phytoremediation of remineralized and sulfentrazone-contaminated tropical soils. **Chemosphere**, v. 348, p. 140725, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.140725>.
- Bai, X. et al. Effects of atrazine on photosynthesis and defense response and the underlying mechanisms in *Phaeodactylum tricornutum*. **Environmental Science and Pollution Research**, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4923-7>
- Barroso G. M. et al. Phytoremediation: A green and low-cost technology to remediate herbicides in the environment, **Chemosphere**, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138943>.
- Baron, A. C. E. A. et al. Effects of the plant growth regulators, cobalt and molybdenum on the physiology of “Crimson Seedless” grapevines. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 44, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11738-022-03394-7>
- Bhaduri, A.; Fulekar, M. H. Antioxidant enzyme response of plants to heavy metal stress. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 11, p. 55-69, 2011. DOI: [10.1007/s11157-011-9251-x](https://doi.org/10.1007/s11157-011-9251-x)
- Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976. DOI: [10.1006/abio.1976.9999](https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999)
- Benincasa, M. M. P. Análise de crescimento de plantas (noções básicas). **Fundação Nacional de Ensino e Pesquisa (Funep)**, Jaboticabal, Brasil, p. 41, 2003.
- Cao, Y., Jiang, S., Zhang, Y., Xu, J., Qiu, L., & Wang, L. (2021). Investigation into adsorption characteristics and mechanism of atrazine on nano-MgO modified fallen leaf biochar. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 9(5), 105727. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105727>
- Cássia M. C. et al. Sensibility, multiple tolerance and degradation capacity of forest species to sequential contamination of herbicides in groundwaters. **Journal of hazardous materials**, v. 448, p. 130914–130914, 2023. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2023.130914](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.130914)
- Cea, M., Cartes, P., Palma, G., & Mora, M. L. (2010). Atrazine efficiency in an Andisol as affected by clays and nanoclays in ethylcellulose controlled release formulations. **Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal**, 10(1), 62–77. <https://doi.org/10.4067/S0718-27912010000100007>
- Chang, J. et al. Toxicological effects, environmental behaviors and remediation technologies of

herbicide atrazine in soil and sediment: A comprehensive review. **Chemosphere**, v. 307, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136006>.

Chao J. et al. Upward translocation of acetochlor and atrazine in wheat plants depends on their distribution in roots, **Science of The Total Environment**, v. 703, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135636>.

Chapin, F. S. Productivity and Nutrient Cycling of Alaskan Tundra: Enhancement by Flowing Soil Water. **Ecology**, 69(3), 693–702, 1988. DOI: <https://doi.org/10.2307/1941017>

Chen, J. et al. Biochar accelerates microbial reductive debromination of 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) in anaerobic mangrove sediments. **Journal of Hazardous Materials**, v. 341, p. 177–186, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.07.063>.

da Silva, C. C. A. et al. Effects of high-dose 2,4-D on germination and initial development of *Canavalia ensiformis* (L.) DC. **Concilium**, v. 22, n. 7, p. 828–848, 2022. Disponível em: <https://clium.org/index.php/edicoes/article/view/726>.

De Albuquerque, F. P. et al. An overview of the potential impacts of atrazine in aquatic environments: Perspectives for tailored solutions based on nanotechnology. **Science of The Total Environment**, v. 700, p. 134868, 2020. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2019.134868](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134868)

do Nascimento, C. T., Vieira, M. G. A., Scheufele, F. B., Palú, F., da Silva, E. A., & Borba, C. E. Adsorption of atrazine from aqueous systems on chemically activated biochar produced from corn straw. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.107039>

Environmental Protection Agency (U.S.), 2020. **Registration Review of Atrazine**. Available from: <https://www.epa.gov/pesticide-reevaluation/registration-review-process>

Epstein E.; Bloom A. J. Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives, **Journal of Plant Physiology**; 2nd edition, 380 p., 2005. DOI: [10.1016/j.jplph.2005.06.002](https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.06.002)

Fageria, V. D. NUTRIENT INTERACTIONS IN CROP PLANTS. **Journal of Plant Nutrition**, v. 24, n. 8, p. 1269–1290, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1081/PLN-100106981>

Fruehwirth, M., Sbizzaro, M., Rosa, D. M., Sampaio, S. C., & Reis, R. R. (2020). Adsorption of atrazine by biochars produced from byproducts of the wood industry. **Engenharia Agrícola**, 40(6), 769–776. <https://doi.org/10.1590/1809-4430-Eng.Agric.v40n6p769-776/2020>

Gao, Y.; Xu, Y.; Wang, X.; LI, Y.; Hu, X. Phytoremediation of atrazine-contaminated soils by intercropping ryegrass (*Lolium multiflorum*) and common vetch (*Vicia sativa*). **Environmental Research**, v. 250, p. 118875, 2024.

HRAC-BR. **Comitê de Ação à Resistência aos Herbicidas**, 2023. Available online: <https://www.hrac-br.org/>

Huang, X. et al. Biochar alleviated the toxicity of atrazine to soybeans, as revealed by soil microbial community and the assembly process. **Science of The Total Environment**, v. 834, p. 155261, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155261>

- Kar, M., Mishra, D. Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase Activities during Rice Leaf Senescence. **Plant Physiology**, v. 57, n. 2, p. 315-319, 1976. DOI: 10.1104/pp.57.2.315
- Kim, Y., Shinde, V. V., Jeong, D., Choi, Y., & Jung, S. (2019). Solubility enhancement of atrazine by complexation with cyclophorase isolated from *Rhizobium leguminosarum* biovar trifolii TA-1. **Polymers**, 11(3), 474. <https://doi.org/10.3390/polym11030474>
- Kolekar, P. D., Phugare, S. S., & Jadhav, J. P. (2014). Biodegradation of atrazine by *Rhodococcus* sp. BCH2 to N-isopropylammelide with subsequent assessment of toxicity of biodegraded metabolites. **Environmental Science and Pollution Research**, 21(4), 2334–2345. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2151-6>
- Lancheros, A. et al. Exploring the potential of *Canavalia ensiformis* for phytoremediation of B10 biodiesel-contaminated soil: insights on aromatic compound degradation and soil fertility. **International Journal of Phytoremediation**, v. 26, n. 11, p. 1854–1862, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1080/15226514.2024.2357646>.
- Lavanya M.B.; Viswanath, D. S.; Sivapullaiah P.V. Phytoremediation: An eco-friendly approach for remediation of heavy metal-contaminated soils-A comprehensive review. **Environmental nanotechnology, monitoring & management**, p. 100975–100975, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2024.100975>
- Lima J. Z. et al. Biochar-pesticides interactions: An overview and applications of wood feedstock for atrazine contamination, **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 10, i. 5, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.108192>.
- Lou, L. et al. Application of Rice-Straw Biochar and Microorganisms in Nonylphenol Remediation: Adsorption-Biodegradation Coupling Relationship and Mechanism. **PLoS ONE**, v. 10, n. 9, 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137467>
- Liang, Y., Zhao, B., & Yuan, C. (2022). Adsorption of atrazine by Fe–Mn-modified biochar: The dominant mechanism of  $\pi$ – $\pi$  interaction and pore structure. **Agronomy**, 12(12), 3097. <https://doi.org/10.3390/agronomy12123097>
- Liu, Z. et al. Enhanced phytoremediation of petroleum-contaminated soil by biochar and urea. **Journal of Hazardous Materials**, v. 453, p. 131404, 2023. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2023.131404
- Mielke, K. C. et al. Does *Canavalia ensiformis* inoculation with *Bradyrhizobium* sp. enhance phytoremediation of sulfentrazone-contaminated soil? **Chemosphere**, v. 255, p. 127033, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127033>.
- ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT – OECD.** Agricultural Policy Monitoring and Evaluation 2023: Brazil. Paris: OECD Publishing, 2023.
- Ortega-Calvo, J. J. et al. Is it possible to increase bioavailability but not environmental risk of PAHs in bioremediation? **Journal of Hazardous Materials**, v. 261, p. 733–745, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.03.042>.
- Peixoto, H. P. P. et al. Aluminium effects on lipid peroxidation and the activities of enzymes of

oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.11, n.3, p.137-143, 1999.

Pereira, B.F.F. et al. Phytoremediation of lead by jack beans on a Rhodic Hapludox amended with EDTA. **Scientia Agricola**, v. 67, n. 3, p. 308–318, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-90162010000300009>.

Rengel Z.; Cakmak I.; White. P. J. Marschner's Mineral Nutrition of Plants, **Academic Press**, Fourth Edition, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/C2019-0-00491-8>

Romeiro, S. et al. Absorção de chumbo e potencial de fitorremediação de *Canavalia ensiformes* L. , Solos e Nutrição de Plantas, **Bragantia**, v. 66, p. 327-334, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052007000200017>

Rossi, S. C.; Lagoa, A. M. M. A.; Schiavinato, M. A. Tolerance to cadmium in the germination and development of jack beans. **Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 55, n. 2, p. 142-147, 2012. DOI: <https://doi.org/10.4322/rca.2012.042>

Rugare, J. T.; Pieterse, P. J.; Mabasa, S. Evaluation of the potential of jack bean [*Canavalia ensiformis* (L.) DC.] and velvet bean [*Mucuna pruriens* (L.) DC.] aqueous extracts as postemergence bio-herbicides for weed control in maize (*Zea mays* L.). **Asian Journal of Agriculture and Rural Development**, v. 10, n. 1, p. 420-439, 2020. DOI: 10.18488/journal.1005/2020.10.1/1005.1.420.439

Santana, N. A. et al. Earthworms and mycorrhization increase copper phytoextraction by *Canavalia ensiformis* in sandy soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 182, p. 109383, 2019. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2019.109383

Santos, E. et al. Rhizosphere-associated microbiota of *Canavalia ensiformis* in sulfentrazone bioremediation. **International Journal of Phytoremediation**, p. 1–8, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1080/15226514.2024.2379603>.

Sattler, D. et al. Use of Native Plant Species for Ecological Restoration and Rehabilitation Measures in Southeast Brazil. **Springer Series On Environmental Management**, p. 191–204, 2018. DOI: 10.1007/978-3-319-89644-1\_13.

Singh, B., Singh, B. P., & Cowie, A. L. (2010). Characterisation and evaluation of biochars for their application as a soil amendment. **Soil Research**, 48(7), 516–525. <https://doi.org/10.1071/SR10058>

Shiade S. R. G. et al. Plant Metabolites and Signaling Pathways in Response to Biotic and Abiotic Stresses: Exploring Bio stimulant Applications. **Plant stress**, v. 12, p. 100454–100454, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.stress.2024.100454>

Singh, S. et al. Toxicity, degradation and analysis of the herbicide atrazine. **Environmental Chemistry Letters**, v. 16, p. 211–237, 2018. DOI: 10.1007/s10311-017-0665-8

Singh R. P. et al. Ameliorative effects of biochar on persistency, dissipation, and toxicity of atrazine in three contrasting soils, **Journal of Environmental Management**, v. 303, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.114146>.

**USDA-Natural Resources Conservation Service**. Keys to Soil Taxonomy. 12. ed. Washington, DC, 55

2014.

Solomon, K. R. et al. Effects of atrazine on fish, amphibians, and aquatic reptiles: A critical review. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 38, p. 721–772, 2008. DOI: 10.1080/10408440802116496

Teisseire, H.; Guy, V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*), **Plant Science**, v.153, p. 65–72, 2000.

Wang, Y.; Yng, Y.; Chen, J.; Wang, X. Transgenic *Arabidopsis* overexpressing Mn-superoxide dismutase enhanced resistance to oxidative stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 42, n. 9, p. 871-877, 2004. DOI: 10.1016/j.plantsci.2004.03.032

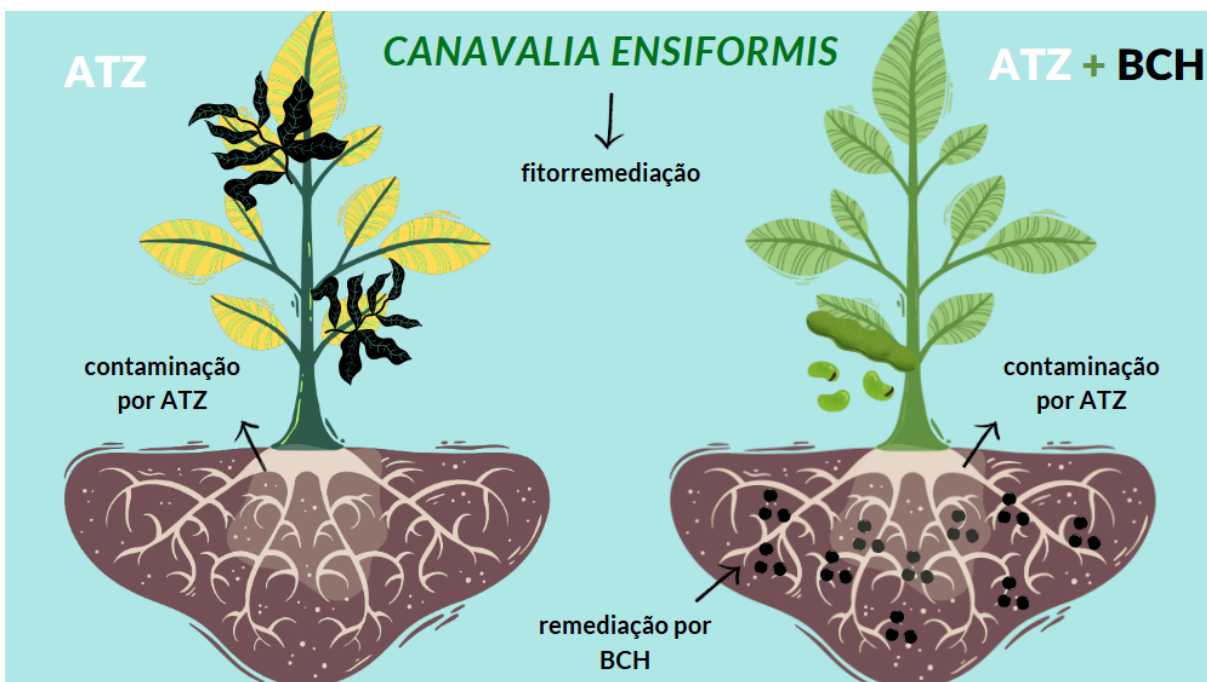
Wang, Q. et al. Phytotoxicity assessment of atrazine on growth and physiology of three emergent plants. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 13, p. 9646–9657, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4104-8>

Wang, H. et al. Petroleum-contaminated soil bioremediation and microbial community succession induced by application of co-pyrolysis biochar amendment: An investigation of performances and mechanisms. **Journal of Hazardous Materials**, v. 466, p. 133600–133600, 2024. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2024.133600

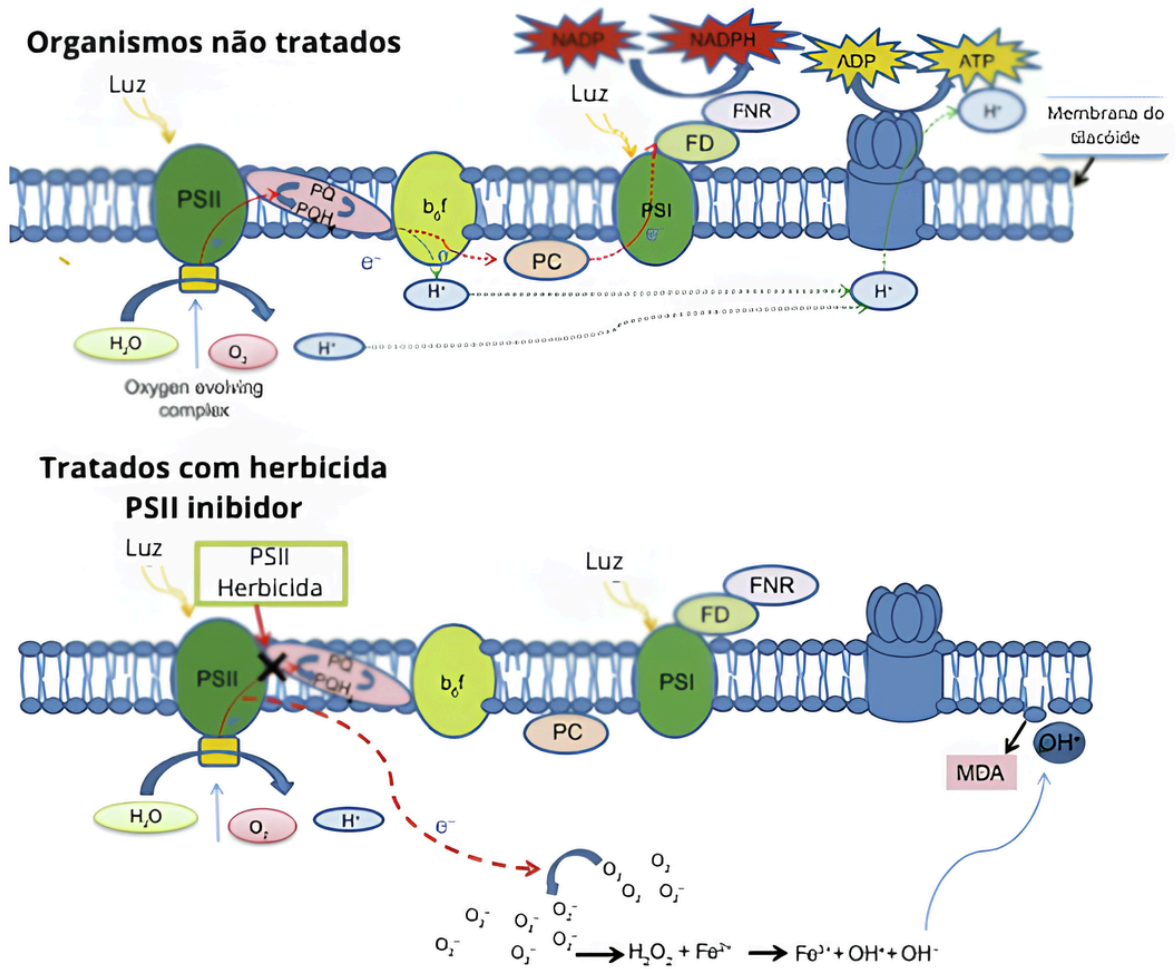
Yue, L., Ge, C., Feng, D., Yu, H., Deng, H., & Fu, B. (2017). Adsorption–desorption behavior of atrazine on agricultural soils in China. **Journal of Environmental Sciences**, 57, 180–189. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.11.002>

Zhang, Y. et al. Influence of biochar and fulvic acid on the ryegrass-based phytoremediation of sediments contaminated with multiple heavy metals. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 11, n. 2, p. 109446, 2023. DOI: 10.1016/j.jece.2023.109446

## APÊNDICE - A



## ANEXO - A



**Anexo 1.** Mecanismo de ação dos herbicidas inibidores do fotossistema II (FSII). Fonte: Adaptado de Tiwari et al. (2019).