



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ANA CRISTINA PREISLER

**ESTUDO DO MODO DE AÇÃO DE ATRAZINA
NANOENCAPSULADA EM PLANTAS DE MOSTARDA**

Londrina
2021

ANA CRISTINA PREISLER

**ESTUDO DO MODO DE AÇÃO DE ATRAZINA
NANOENCAPSULADA EM PLANTAS DE MOSTARDA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Fitotecnia.

Orientador: Prof. Dr. Halley Caixeta de Oliveira

Londrina
2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

P924 Preisler, Ana Cristina.
Estudo do modo de ação de atrazina nanoencapsulada em plantas de mostarda / Ana Cristina Preisler. - Londrina, 2021.
74 f. : il.

Orientador: Halley Caixeta de Oliveira.
Coorientador: Giliardi Dalazen.
Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2021.
Inclui bibliografia.

1. Nanotecnologia - Tese. 2. Fotossíntese - Tese. 3. Herbicidas - Tese. 4. Plantas daninhas - Tese. I. Caixeta de Oliveira, Halley . II. Dalazen, Giliardi. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDU 63

ANA CRISTINA PREISLER

**ESTUDO DO MODO DE AÇÃO DE ATRAZINA
NANOENCAPSULADA EM PLANTAS DE MOSTARDA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Fitotecnia.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Halley Caixeta de Oliveira
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profª. Dra. Juliana Lishcka Sampaio Mayer
Universidade Estadual de Campinas –
UNICAMP

Dr. Lucas Bragança de Carvalho
Instituto de Ciência e Tecnologia – Câmpus de
Sorocaba – UNESP

Londrina, 23 de fevereiro de 2021

AGRADECIMENTOS

Começo agradecendo a Deus primeiramente, por ter uma presença tão forte na minha vida, sendo sempre sinônimo de força e perseverança.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Agradeço a UEL pela formação e estrutura que foram fundamentais no desenvolvimento do trabalho. Ao professor Dr. Waldiceu Aparecido Verri Junior e sua aluna Telma Saraiva dos Santos pela disponibilidade de me auxiliar na utilização do microscópio confocal. Agradeço ainda UNESP/Sorocaba em especial ao professor Dr. Leonardo Fernandes Fraceto e ao Dr. Lucas Bragança de Carvalho pelo apoio, fornecendo as formulações.

Uma grande gratidão ao meu orientador Prof. Dr. Halley Caixeta de Oliveira e ao meu co-orientador Prof. Dr. Giliardi Dalazen por terem me aceitado como sua aluna, pelos seus ensinamentos, e por serem essas pessoas íntegras e dignas, sendo um exemplo de profissional para minha vida.

Aos meus companheiros e amigos de laboratório meu muito obrigada por dividirem seus conhecimentos, dedicarem de seu tempo a ensinar o que sabem. Agradecer sempre aos meus pais, por toda preocupação, paciência, amor e carinho durante esse trajeto.

Aos meus grandes amigos, amigas, irmãos e irmãs da vida, a vocês que tanto me ensinam e aturam durante as crises, meus eternos agradecimentos!

PREISLER, Ana Cristina. **Estudo do modo de ação de atrazina nanoencapsulada em plantas de mostarda**. 2021. 74 f. Dissertação de mestrado (Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

RESUMO

As nanocápsulas de poli (ϵ -caprolactona) (PCL) vêm sendo utilizadas como um sistema transportador eficiente de atrazina para o controle de plantas daninhas em pré e em pós-emergência, potencializando a atividade herbicida e reduzindo os danos ambientais em relação à atrazina comercial. Contudo, pouco se tem de informação sobre o modo de ação da nanoatrazina, sobretudo em relação à sua absorção e translocação pelas plantas. Objetivou-se com este trabalho avaliar o modo de ação das nanocápsulas poliméricas de PCL contendo atrazina, visando compreender por que elas potencializam a atividade do herbicida tanto em raiz (pré) quanto em folhas (pós-emergência). O experimento foi conduzido utilizando a mostarda (*Brassica juncea*) como planta modelo. Os tratamentos utilizados foram água (controle), nanocápsulas de PCL sem atrazina (NC), nanocápsulas de PCL contendo atrazina (NC+ATZ) e atrazina comercial (ATZ). Seus efeitos sobre a atividade do fotossistema II (FSII) e parâmetros fitométricos foram avaliados. Para um melhor entendimento da atividade pré-emergente, foram realizados ensaios aplicando as formulações em solos contrastantes (argiloso e médio arenoso) e em sistema de hidroponia. Em praticamente todos os casos (exceto no solo médio arenoso), a inibição da atividade do FSII foi maior e mais rápida em folhas de plantas tratadas com NC+ATZ em relação à ATZ. Ensaio com nanocápsulas contendo sonda fluorescente demonstraram a eficiência na absorção pelas raízes logo na primeira hora após aplicação e a translocação pelo xilema, identificando a presença da fluorescência nas folhas. Para avaliar os mecanismos envolvidos na atividade pós-emergente da nanoatrazina, as formulações foram aplicadas localmente na região central de uma folha. NC+ATZ levou a uma maior inibição da atividade do FSII que ATZ não apenas no local de aplicação, mas também na base e no ápice da folha tratada e mesmo em uma folha não tratada, indicando um aumento da absorção e translocação da atrazina nas folhas devido à nanoencapsulação. O tratamento com fusicocina (que aumenta a abertura estomática) aumentou a diferença entre os efeitos de NC+ATZ e ATZ na atividade do FSII, o que sugere a importância dos estômatos como uma via de entrada da nanoatrazina nas folhas. De uma forma geral, esses resultados permitiram obter um melhor entendimento do modo de ação da nanoatrazina tanto em pré quanto em pós-emergência. Ainda são necessários estudos mais detalhados quanto a influência do solo a fim de corroborar mais com a absorção do nanoherbicida pelas raízes e translocação para a parte aérea, bem como a importância dos estômatos para absorção foliar.

Palavras-chave: nanotecnologia; fotossíntese; herbicida; plantas daninhas.

PREISLER, Ana Cristina. **Study of the mode of action of nanoencapsulated atrazine in mustard plants**. 2021. 74 p. Dissertação de mestrado (Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

ABSTRACT

Poly (ϵ -caprolactone) (PCL) nanocapsules have been used as an efficient atrazine transport system for weed control in post and pre-emergence, reducing environmental damage and potentiating herbicidal activity compared to free atrazine. However, little is known about the mode of action of nanoatrazine, as well as its absorption and translocation by plants. The purpose of this work was to evaluate the mode of action of polymeric PCL nanocapsules containing atrazine, aiming to understand why they potentiate the activity of the herbicide in the roots both (pre-emergence) and leaf (post-emergence). The experiment was conducted using mustard (*Brassica juncea*) as a model plant. The treatments used were water (Control), PCL nanocapsules without atrazine (NC), PCL nanocapsules containing atrazine (NC + ATZ), and commercial atrazine (ATZ), and their effects on photosystem II (PSII) activity and phytometric parameters were followed up. For a better understanding of the pre-emergent activity, tests were carried out applying the formulations in contrasting soils (clayey and sandy) and a hydroponic system. In virtually all cases (except for no sandy soil), the inhibition of PSII activity was greater and faster in leaves of plants treated with NC+ATZ compared to ATZ. The experiments with nanocapsules containing a fluorescent probe demonstrated the efficiency of absorption by the roots in the first hour after application and translocation by the xylem, identifying the presence of fluorescence in the leaves. To assess the mechanisms involved in the post-emergent activity of nanoatrazine, the formulations were applied locally in the central region of a leaf. NC + ATZ led to greater inhibition of FSII activity than ATZ not only at the place application but also at the base and apex of the treated leaf and even on an untreated leaf, indicating an increase in atrazine absorption and translocation in the leaves due to nanoencapsulation. Tests with fusicoccin (which increases stomatal opening) increased the difference between the effects of NC + ATZ and ATZ on FSII activity, which suggests the importance of stomata as a pathway for nanoatrazine to enter the leaves. In general, these results allow a better understanding of the mode of action of nanoatrazine both in pre and post-emergence. Studies are still needed regarding the influence of the soil to corroborate the greater with the absorption of the nanoherbicide by the roots and translocation to the shoot, as well as the importance of the stomata for foliar absorption.

Keywords: nanotechnology; photosynthesis; herbicide; weed.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Representação esquemática de uma plântula de mostarda. Nesta figura é possível observar as diferentes regiões que foram analisadas após aplicação dos tratamentos.....21
- Figura 2** – Procedimentos dos experimentos realizados com solo. a) Solo argiloso exposto após a coleta para secagem, eliminação de plantas daninhas e preparo para a semeadura. b) Semeadura da mostarda. c) Plantas em cultivo na casa de vegetação. d) Aclimação em laboratório com luminosidade controlada. e) Pipetagem da formulação f) Medidas da atividade do fotossistema II (F_v/F_m). g) Desmontagem dos vasos e avaliações fitométricas.....24
- Figura 3** – Procedimento experimental realizado no ensaio em hidroponia. a) Plantas em cultivo em areia na casa de vegetação. b) Transferência das plantas da areia para a hidroponia, com aeração constante e aclimação em laboratório com luminosidade controlada. c) Troca da solução nutritiva. d) Separação dos tratamentos e da micropipeta. e) Dosagem dos tratamentos nos vasos contendo água destilada.....25
- Figura 4** – Procedimento experimental realizado no ensaio em hidroponia com nanocápsulas contendo sonda fluorescente. a) lavagem das amostras fixadas utilizando a solução de PBS (1X) por 5 minutos. b) coleta de raiz. c) coleta de folha. d) lâminas com meio de montagem. e) visualização das lâminas no confocal. f) captura das imagens.....27
- Figura 5** – Procedimento experimental realizado para aplicação foliar. a) Preparo do solo nas proporções (70:30 v/v). b) Microseringa para aplicação de gotículas dos tratamentos. c) Gotículas de tratamentos de NC+ATZ (nanocápsula com atrazina) na região mediana do limbo das folhas de mostarda para análise de fotossíntese. d) Folhas de aplicação e

avaliação. e) Medidas da atividade do fotossistema II (Fv/Fm) em três pontos diferentes da folha tratada de mostarda.....28

Figura 6 – Efeito dos tratamentos sobre a atividade máxima do fotossistema II (Fv/Fm) para cada intervalo de tempo após a aplicação dos seguintes tratamentos no solo argiloso: água (Controle), nanocápsulas sem atrazina (NC), nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ) e atrazina comercial (ATZ). Os dados representam a média \pm SE (n = 10). Letras diferentes acima das colunas indicam valores significativamente diferentes em um mesmo intervalo de tempo após a aplicação de acordo com ANOVA seguida pelo teste de Tukey (P <0,05).....30

Figura 7 – Efeito dos tratamentos a) no comprimento e b) massa seca de raiz e parte aérea de plantas de mostarda após 7 dias da aplicação dos seguintes tratamentos em solo argiloso: água (Controle), nanocápsulas sem atrazina (NC), nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ) e atrazina comercial (ATZ). Os dados representam a média \pm SE (n = 10). Letras minúsculas acima das colunas indicam diferença entre os tratamentos para as avaliações em raiz e maiúsculas para a parte aérea de acordo com ANOVA seguido pelo teste de Tukey (P <0,05).....31

Figura 8 - Sintomas macrocópicos da parte aérea em plantas de mostarda 7 dias da aplicação dos seguintes tratamentos em solo argiloso: água (Controle), nanocápsulas sem atrazina (NC), nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ) e atrazina comercial (ATZ).....32

Figura 9 – Efeito dos tratamentos sobre a atividade máxima do fotossistema II (Fv/Fm) para cada intervalo de tempo após a aplicação dos seguintes tratamentos no solo médio arenoso: água (Controle), nanocápsulas sem atrazina (NC), nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ) e atrazina comercial (ATZ). Os dados representam a média \pm SE (n = 5). Letras diferentes acima das colunas indicam valores significativamente diferentes em um mesmo intervalo de tempo após a aplicação de acordo com ANOVA seguida pelo teste de Tukey (P<0,05).....33

Figura 10 – Efeito dos tratamentos a) no comprimento e b) massa seca de raiz e parte aérea de plantas de mostarda após 7 dias da aplicação dos seguintes tratamentos em solo médio arenoso: água (Controle), nanocápsulas sem atrazina (NC), nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ) e atrazina comercial (ATZ). Os dados representam a média \pm SE (n = 5). Letras minúsculas acima das colunas indicam diferença entre os tratamentos para as avaliações em raiz e maiúsculas para a parte aérea de acordo com ANOVA seguido pelo teste de Tukey (P <0,05).....34

Figura 11 – Sintomas macrocópicos da parte aérea em plantas de mostarda após 7 dias da aplicação dos seguintes tratamentos em solo médio arenoso: água (Controle), nanocápsulas sem atrazina (NC), nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ) e atrazina comercial (ATZ).....35

Figura 12 – Efeito dos tratamentos sob atividade máxima do fotossistema II (Fv/Fm) nas regiões do a) ápice e b) região mediana do limbo da folha jovem totalmente expandida e c) região mediana do limbo da folha mais jovem em expansão para cada intervalo de tempo após a aplicação dos seguintes tratamentos em hidroponia: água (Controle), nanocápsulas sem atrazina (NC), nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ) e atrazina comercial (ATZ). Os dados representam a média \pm SE (n = 6). Letras diferentes acima das colunas indicam valores significativamente diferentes em um mesmo intervalo de tempo após a aplicação de acordo com ANOVA seguida pelo teste de Tukey (P<0,05).....37

Figura 13 –Efeito dos tratamentos no a) comprimento e b) massa seca de raiz e parte aérea de plantas de mostarda após 5 dias da aplicação dos seguintes tratamentos em hidroponia: água (Controle), nanocápsulas sem atrazina (NC), nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ) e atrazina comercial (ATZ). Os dados representam a média \pm SE (n = 6). Letras minúsculas acima das colunas indicam diferença entre os tratamentos

para as avaliações em raiz e maiúsculas para a parte aérea de acordo com ANOVA seguida pelo teste de Tukey ($P < 0,5$).....38

Figura 14 – Sintomas macrocópicos da parte aérea em plantas de mostarda após 7 dias da aplicação dos seguintes tratamentos em hidroponia: água (Controle), nanocápsulas sem atrazina (NC), nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ) e atrazina comercial (ATZ).....39

Figura 15 – Amostras de raiz analisadas em um microscópio confocal dos seguintes tratamentos em hidroponia: água (Controle) e nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ). As imagens (a-c) representam Controle (50 μm), (d-f) NC+ATZ (100 μm) em intervalos de tempo de 1, 4 e 24 horas após a aplicação (HAA), (g-i) NC+ATZ (50 μm) em intervalos de tempo de 1, 4 e 24 (HAA) na região central. As setas indicam as estruturas na região analisada: pelos absorventes (p.a), cilindro vascular (c.v), região do cortex (c), epiderme (e).....42

Figura 16 – Amostras de folhas analisadas em um microscópio confocal dos seguintes tratamentos em hidroponia: água (Controle) e nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ). As imagens (a-c) representam Controle (100 μm), (d) NC+ATZ (100 μm) com 1 hora após aplicação (HAA), (e) NC+ATZ (100 μm) com 4 HAA, (f) NC+ATZ (100 μm) com 24 HAA, na região mediana do limbo. As setas indicam as estruturas na região analisada : estômatos (est.).....43

Figura 17 – Atividade máxima do fotossistema II (F_v/F_m) na região mediana do limbo (a), ápice (b) e base (c) das folhas de mostarda mais jovem totalmente expandida (folha tratada) e na folha mais jovem em expansão (não tratada) da mesma planta (d) para cada intervalo de tempo após a aplicação dos seguintes tratamentos na região mediana do limbo: água (Controle), nanocápsulas sem atrazina (NC), nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ) e atrazina comercial (ATZ). Os dados representam a média \pm SE ($n = 6$). Letras diferentes acima das colunas indicam valores significativamente diferentes em um mesmo intervalo de tempo após a

aplicação de acordo com ANOVA seguida pelo teste de Tukey (P<0,05).....45

Figura 18 – Atividade máxima do fotossistema II (Fv/Fm) na região mediana do limbo (a), ápice (b) e base (c) da folha de mostarda mais jovem totalmente expandida (folha tratada com fusicocina + tratamentos) e na folha em expansão (não tratada) da mesma planta (d) para cada intervalo de tempo após a aplicação dos seguintes tratamentos na região mediana do limbo: água (Controle), nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ) e atrazina comercial (ATZ). Os dados representam a média ± SE (n = 6). Letras diferentes acima das colunas indicam valores significativamente diferentes em um mesmo intervalo de tempo após a aplicação de acordo com ANOVA seguida pelo teste de Tukey (P <0,05).....47

Figura 19 - Diagrama esquemático dos resultados obtidos dos tratamentos em solo, hidroponia e foliar, quanto a absorção e transporte da nanoatrazina (NC+ATZ).....60

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Indicadores físicos e químicos utilizados para descrever a qualidade dos solos com textura arenosa e solos com textura argilosa.....18
- Tabela 2** - Análise física e química dos solos utilizados nos ensaios da dissertação.....22
- Tabela 3** - Concentração final de sais na solução nutritiva utilizada nos ensaios da dissertação.....22

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	4
2	REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1	<i>BRASSICA JUNCEA</i> (L.) CZERN	5
2.2	PLANTAS DANINHAS E CONTROLE QUÍMICO	6
2.3	INIBIDORES DO FOTOSSISTEMA II (FSII)	9
2.3.1	Atrazina	10
2.4	NANOTECNOLOGIA NA AGRICULTURA	11
2.4.1	Nanopartículas poliméricas	12
2.4.2	Atrazina nanoencapsulada	15
2.5	ESTUDO DO MODO DE AÇÃO DA NANOATRAZINA	17
2.5.1	Nanocápsulas com sonda fluorescente.....	17
2.5.2	Fusicocina	18
3	MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1	PREPARO DOS TRATAMENTOS	19
3.2	MATERIAL VEGETAL E CONDIÇÕES DE CRESCIMENTO	20
3.3	TRATAMENTOS E METODOLOGIAS	20
3.3.1	Ensaio com aplicação em solo	21
3.3.2	Ensaio com aplicação em hidroponia	24
3.3.3	Ensaio com aplicação em hidroponia de nanocápsulas contendo sonda fluorescente.....	26
3.3.4	Ensaio com aplicação foliar.....	27
3.3.5	Ensaio com aplicação foliar de fusicocina	28
3.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	29
4	RESULTADOS	29
4.1	ENSAIO COM APLICAÇÃO EM SOLO	29
4.2	ENSAIO COM APLICAÇÃO EM HIDROPONIA	35
4.3	ENSAIO COM APLICAÇÃO EM HIDROPONIA DE NANOCÁPSULAS CONTENDO SONDA FLUORESCENTE.....	40
4.4	ENSAIO COM APLICAÇÃO FOLIAR.....	43

4.5	ENSAIO COM APLICAÇÃO FOLIAR DE FUSICOCINA (FSC)	45
5	DISCUSSÃO	47
5.1	APLICAÇÃO NA RAIZ.....	47
5.2	APLICAÇÃO NA FOLHA.....	54
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS	58
	REFERÊNCIAS	60

1 INTRODUÇÃO

A busca por maior produtividade dentro da agricultura esbarra em problemas como a ocorrência de plantas daninhas, prejudicando o desenvolvimento da cultura, podendo até ocasionar redução na produtividade. O uso de herbicidas desempenham um papel importante neste cenário, sendo o método mais utilizado no controle de planta daninhas. Entre o grupo das triazinas, a atrazina é a mais utilizado no controle em pré e pós-emergência, sendo muito empregado em países como Estados Unidos, China e Brasil, que se destacam na produção de milho (USDA, 2019).

Em números absolutos o Brasil é conhecido internacionalmente como um dos países que mais utiliza agroquímicos, com milhares de toneladas sendo aplicadas nas áreas agrícolas durante todo o ano. A grande área cultivada de forma intensa, com até três safras anuais, somada ao clima tropical favorecem para a grande ocorrências de pragas, incluindo plantas daninhas, o que resulta em necessidade de agroquímicos para o seu controle. Porém, sabe-se que o uso indiscriminado desses agroquímicos acarreta problemas de contaminação ambiental, efeitos deletérios em culturas subsequentes mais sensíveis e a seleção de plantas daninhas resistentes. Nesse sentido, é indispensável para a agricultura o desenvolvimento de tecnologias que visem minimizar o impacto causado por essas moléculas sem ocasionar quedas na produtividade das culturas.

No cenário atual, a nanotecnologia vem ganhando espaço como uma estratégia promissora para o carregamento de moléculas de grande importância agrícola. Isso porque a nanotecnologia pode aumentar a eficiência na entrega dos compostos ativos ao alvo de interesse e proteger o composto de uma degradação acelerada, além de reduzir os impactos no ambiente e na saúde humana. Em trabalhos realizados com nanocápsulas de poli-(ϵ -caprolactona) (PCL) contendo atrazina, foi possível observar eficiente atividade herbicida em pré e em pós-emergência de plantas daninhas, nos quais a atrazina nanoencapsulada apresentou atividade herbicida 10 vezes superior em relação à atrazina comercial (OLIVEIRA et.al., 2015a; SOUSA et al., 2018; PREISLER et al.; 2020). No entanto, os modos pelos quais a nanoatrazina interage com as plantas de forma a resultar em maior eficiência ainda devem ser avaliados.

Nesse sentido, a utilização de nanocápsulas marcadas com sonda

fluorescente constitui uma estratégia importante para o melhor entendimento da interação com as plantas, principalmente se forem analisadas em conjunto com seus efeitos fisiológicos na planta.

Portanto, tem-se como objetivo avaliar o modo de ação das nanocápsulas poliméricas de PCL contendo atrazina aplicadas tanto em raiz (pré-emergência) quanto em folhas (pós-emergência) em plantas de mostarda. Espera-se responder a seguinte pergunta: por que a nanoencapsulação potencializa a atividade herbicida da atrazina na raiz (pré-emergência) e na folha (pós-emergência)?

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *BRASSICA JUNCEA* (L.) CZERN

A mostarda-marrom ou mostarda-indiana (*Brassica juncea* (L.) Czern.) é uma planta herbácea de porte ereto e altura de até 1,5 m. Suas folhas apresentam coloração verde-clara, são largas, ovaladas e com a borda levemente serrilhada e crescem de forma alternadas. A inflorescência se dá na forma de racemos. As sementes são esféricas, podendo variar de 2 a 2,5 mm de diâmetro. Apresenta um sistema radicular formado por uma raiz principal e muitas raízes secundárias. Possui estômatos em ambas as faces das folhas. Pertence à família Brassicaceae, com ciclo vegetativo de 70 a 80 dias, podendo ser cultivada tanto sob irrigação quanto em sequeiro. A espécie tolera precipitação anual de 500 a 4200 mm, temperatura de 15 a 25 °C e uma acidez de solo entre 5,5 e 6,5 (ABCSEM, 2001; SHEKHAWAT et al., 2012; SOUZA et al., 2017; SINAVIMO, 2020; CEAGESP, 2020).

As cultivares mais plantadas são Lisa da Flórida e Lisa de Irajá. Pode ser cultivada por mudas ou sementes. Após o plantio, que é indicado entre os meses de abril-julho, o início da colheita pode ser entre 45 e 60 dias (EMBRAPA HORTALIÇAS, 2010).

A mostarda é um condimento muito utilizado em diversas regiões do mundo, tanto na forma *in natura* através do consumo das folhas, quanto na forma industrializada, através óleos, chás e extratos. Porém, especialmente na Índia, é considerada uma importante oleaginosa, sendo cultivada em diversas regiões. Além disso, é uma importante fonte de renda para os pequenos produtores (SHEKHAWAT

et al., 2012; de SOUZA MADALENA et al., 2017; GUPTA et al., 2019). O Canadá se destaca como maior produtor e exportador de sementes de mostarda nos últimos anos, atingindo uma produção de 27.600 toneladas na safra de 2019 (GOVERNMENT OF ALBERTA, 2020).

Além da importância econômica e cultural da mostarda para algumas regiões, a espécie vem sendo utilizada como planta modelo nos últimos anos para pesquisas com nanocápsulas como sistemas carreadores (PEREIRA et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2015a; BOMBO et al., 2019). Embora não seja uma planta daninha, a espécie é fácil de ser cultivada, tem um crescimento rápido e é sensível ao herbicida atrazina, sendo um dos motivos para ser usada nesse trabalho. A mostarda é semelhante a uma espécie de planta daninha relevante nas áreas de produção agrícola, a nabiça (*Raphanus raphanistrum* L.), também pertencente à família Brassicaceae. Além disso, há relato da eficiência no controle de *R. raphanistrum* utilizando nanopartículas lipídica sólidas contendo atrazina e simazina (de OLIVEIRA et al., 2015).

2.2 PLANTAS DANINHAS E CONTROLE QUÍMICO

O Brasil apresenta alta representatividade em termos de produção e exportação de grãos como soja e milho. Segundo a FAO, as exportações de milho do Brasil tiveram um aumento na safra 2019/20 por volta de 29,5 milhões de toneladas, contabilizando 15% a mais do que em 2018/19 (FAO, 2019). No entanto, a crescente demanda por maiores produtividades acaba esbarrando em problemas típicos de grandes extensões agricultáveis em todo o mundo. Um exemplo é a infestação de plantas daninhas (PD), que desde os primeiros estágios competem diretamente com a cultura por água, luz e nutrientes, fazendo-se necessário o uso de herbicidas para o controle (DIAS et al., 2010; CASTRO et al., 2011).

As PD são conhecidas pela alta capacidade de colonização em diversos ambientes. São plantas consideradas agressivas, capazes de germinar descontinuamente e possuem estratégias distintas para dispersão de sementes a curta e longas distâncias, garantindo a perpetuação da espécie (PITELLI, 1987). Devido às características agressivas, a presença de PD nas áreas agrícolas limita o aproveitamento dos recursos naturais pelas culturas, podendo ocasionar resultados indesejáveis, como redução do porte da planta, produtividade reduzida e baixa

qualidade grãos, sementes, folhas e frutos. Além disso, as PD podem atuar indiretamente como hospedeiras de pragas e doenças, que são tão ou mais nocivos às culturas, isto porque esses agentes já podem estar estabelecidos na propriedade antes mesmo do estabelecimento da própria cultura, acelerando a sua disseminação (BRAZ et al., 2016; MACIEL et al., 2017). É válido salientar que conhecer as espécies invasoras, assim como o grau de interferência sob a cultura (ou seja, a redução da produtividade provocada pela presença de plantas daninhas) é fundamental para decidir quando controlar e quais estratégias de controle adotar (VIDAL et al., 2005).

Para o controle de PD em áreas agrícolas, estratégias de manejos culturais, biológicos, mecânicos e químicos geralmente são utilizados em conjunto para tentar evitar as perdas por matocompetição, caracterizando o Manejo Integrado de Plantas Daninhas (MIPD). Porém, essas estratégias podem variar conforme o ambiente em que se encontram, o tipo de cultura, os recursos disponíveis e o sistema de cultivo empregado (ZISKA, 2016). Nas últimas décadas, os herbicidas assumiram rapidamente o papel como principal método de controle nos diversos sistemas agrícolas, inclusive em regiões em desenvolvimento, devido à alta eficiência, baixo custo de investimento, seletividade, redução da mão-de-obra e, conseqüentemente, maiores produtividade e qualidade do produto final (ZISKA, 2016; NANDULA et al., 2019). É válido ressaltar que a eficiência do herbicida também está relacionada a umidade do solo e do ar, temperatura e época de aplicação (ROMAN et al., 2005).

Os herbicidas são compostos químicos de baixa massa molecular, que se ligam a sítios específicos nas plantas, desencadeando uma série de eventos que podem retardar ou inibir seu crescimento e desenvolvimento, levando à morte. Eles podem ser seletivos (ou seja, controlam apenas algumas espécies) ou então de amplo espectro (eficazes para um grande número de espécies). A seletividade pode ser relacionada na maioria das vezes ao processo de metabolização e detoxificação dos herbicidas, já que algumas espécies conseguem rapidamente inativar o ingrediente ativo em metabólitos biologicamente inativos. Este processo segue as fases de conversão, conjugação e compartimentalização. Na fase de conversão, as moléculas passam por alterações na estrutura química, tais como oxidação, redução e/ou hidrólise, principalmente pela ação de enzimas citocromo P450 monoxigenases. Na fase de conjugação, muitas moléculas de herbicida ou do metabólito resultante

da fase anterior são conjugadas com açúcares, aminoácidos ou glutationas através de enzimas como glutathione-S-transferases (GST) ou por glicosiltransferases (GTs), resultando em produtos menos tóxicos. Já na fase de compartimentalização, o herbicida ou seus metabólitos são transportados para o vacúolo, ocorrendo o processamento completo dos compostos (DAYAN et al., 2019, YUAN et al., 2007).

Embora os herbicidas possam ser classificados de forma geral quanto ao seu mecanismo de ação (sítio de atuação), a classificação internacionalmente aceita segundo o HRAC (Comitê de Ação a Resistência aos Herbicidas) é quanto ao grupo químico. Os grupos químicos são representados por letras dentro da classificação e são formados por herbicidas com probabilidade de apresentar comportamentos semelhantes. No caso de diferentes grupos químicos atuarem em um mesmo sítio, como o fotossistema II por exemplo, a letra utilizada é a mesma, no entanto uma nova subclasse vai indicar quais as formas de ligação da proteína D1 (HRAC, 2020).

O mecanismo de ação refere-se ao processo bioquímico inicial que ocorre no interior das células a serem inibidas pelo herbicida, podendo este ser suficiente para a morte do organismo alvo. No entanto, são necessários outros processos metabólicos para que ocorra o controle de forma eficiente e esse conjunto de eventos é denominado de modo de ação (MARCHI et al., 2008). Por exemplo, o mecanismo de ação do herbicida glyphosate é a inibição da enzima EPSPS (5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato sintase). Já o modo de ação desse herbicida, de forma simplista, poderia ser descrito a partir da sua absorção, passando pela translocação pelo xilema e pelo floema, acúmulo no cloroplasto, inibição da enzima EPSPS, o que resulta na não produção dos aminoácidos prolina, fenilalanina e triptofano, culminando em paralisação na síntese protéica e crescimento da planta, levando à clorose e necrose dos tecidos.

De forma geral, os herbicidas também podem ser divididos em pré-emergentes (absorvidos por sementes que estão germinando e estruturas jovens) e pós-emergentes (absorvidos principalmente pelas folhas, mas também por caules, flores e frutos), os quais podem ser de contato (atuam próximo ou mesmo no local de absorção, apresentando baixa translocação) ou sistêmicos (quando ocorre o transporte para outras regiões da planta, seja via xilema ou via floema) (DAYAN, 2019).

Apesar de sua reconhecida importância para a agricultura, o uso

inadequado e em larga escala de alguns herbicidas, assim como a sua degradação lenta, pode acarretar em danos ao meio ambiente, como a contaminação dos rios, lençóis freáticos, espécies aquáticas, espécies de plantas não-alvo e a saúde humana, podendo gerar anomalias em fetos e problemas relacionados à reprodução humana (COMBER, 1999; GAMMON et al., 2005; GUILLETTE & IGUSHI, 2012 ; VONBERG et al., 2014; CHEN et al., 2015). É importante salientar que, mesmo após cessar a exposição ao herbicida, os efeitos no organismo podem ainda permanecer por um longo período (MACHADO et al., 2017). Dessa forma, fazem-se necessários estudos que busquem alternativas a fim de reduzir esses impactos sem perder a eficiência dos produtos.

2.3 INIBIDORES DO FOTOSISTEMA II (FSII)

Os herbicidas inibidores do fotossistema II (FSII) são predominantemente pré-emergentes e tem ação nos cloroplastos. No entanto, podem ser utilizados em pós-emergência desde que o volume de calda seja suficiente para uma boa cobertura da planta; isto porque a translocação desses herbicidas é preferencialmente via xilema, sendo pouco translocados via floema. Durante a fotossíntese, a energia luminosa é captada através de um sistema de complexos antenas de clorofilas e carotenoides, presente na membrana dos tilacoides. Essa energia é transferida para o centro de reação P680 no FSII, levando à excitação de elétrons. Esse elétron primeiramente é transferido para uma molécula de feofitina que, em seguida, o transfere para as plastoquinonas (Qa e Qb). A plastoquinona (Qa) liga-se à proteína D2 que, após reduzida, doa elétrons para a plastoquinona (Qb), a qual se liga à proteína D1. Com Qb reduzida, seus elétrons são transferidos para o complexo do citocromo b6f, seguindo a rota acíclica para o FSI. Os herbicidas que inibem a atividade do FSII ligam-se ao sítio de ligação (Qb) da proteína D1, substituindo-a e com isso interrompendo o transporte de elétrons para o FSI. Como consequência, ocorre a interrupção da produção de ATP e NADPH e da fixação do CO₂. A interrupção da cadeia transportadora de elétrons de Qa para Qb gera um acúmulo de elétrons excitados, promovendo a formação exagerada de espécies reativas de oxigênio e a indução de estresse oxidativo. A oxidação de lipídeos está associada a danos às biomembranas e ao extravasamento

do conteúdo celular, levando a planta à morte (MARCHI et al., 2008; DAYAN et al., 2019).

2.3.1 Atrazina

A atrazina (6-chloro-N2-ethyl-N4-isopropyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine) é um herbicida sistêmico pertencente ao grupo dos triazínicos, com fórmula molecular $C_8H_{14}ClN_5$, de baixa solubilidade em água (35 mg L^{-1} a 20°C) vinculada à baixa polaridade (Kow log moderado de 2,7) e caráter lipofílico (PPDB, 2020).

O herbicida é absorvido pelas raízes e translocado via xilema até a parte aérea, onde atua interrompendo o fluxo acíclico de elétrons da fotossíntese ao inibir o FSII e como consequência reduz a síntese de ATP, NADPH e carboidratos e promove o estresse oxidativo (HESS, 2000; REA et al., 2009; FRACETO et al., 2012). Embora frequentemente utilizada como pré-emergente, a atrazina também pode ser aplicada em pós-emergência, para o controle de plantas que estejam nos primeiros estágios de desenvolvimento. Isso porque a atrazina apresenta pouca translocação via floema, sendo necessário o uso de algum adjuvante para aumentar a absorção foliar, além de um volume de calda elevado de forma a cobrir toda a superfície da folha e da planta. Apesar de ser sistêmico, quando aplicada em pós-emergência, a atrazina atua como se fosse um herbicida de contato, apresentando danos praticamente apenas nos tecidos em que foi aplicado (SILVA et al., 2013). Macroscopicamente, é possível observar sintomas como diminuição do crescimento, clorose, necrose foliar e morte da planta (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011). Mesmo em espécies tolerantes à atrazina, como o milho, o acúmulo do herbicida também induz o estresse oxidativo e a resposta antioxidante, podendo reduzir o crescimento em cultivares mais sensíveis quando em contato com concentrações elevadas (LI et al., 2012).

A atrazina é o segundo herbicida mais utilizado mundialmente para o controle de plantas daninhas em pré e pós-emergência nas culturas de cana-de-açúcar, trigo, sorgo e milho, chegando ao consumo anual de 70 a 90 mil toneladas (EHRSAM et al., 2016 ;SINGH et al., 2018). Considerando a importância econômica destas culturas, a atrazina vem sendo muito indicada para controlar plantas invasoras como o caruru (*Amaranthus* spp.), papuã (*Urochloa plantaginea*), capim-amoroso (*Cenchrus echinatus*), capim-colchão (*Digitaria horizontalis*), capim-pé-de-

galinha (*Elusine indica*), guanxuma (*Sida rhombifolia*) e picão-preto (*Bidens pilosa*) (AGROFIT, 2020).

A quantidade e qualidade da matéria orgânica, a constituição mineral e o pH do solo estão entre os principais responsáveis pelos processos de sorção do herbicida, sendo observada maior sorção em solos com baixos valores de pH, bem como com elevado teor, hidrofobicidade e aromaticidade das substâncias húmicas na matéria orgânica (DANIEL et al., 2002; CELANO et al., 2008; MARTINAZZO et al., 2011).

Devido ao uso intenso da atrazina e sua lenta degradação no meio ambiente, tem-se intensificado a preocupação com a contaminação dos recursos naturais e seus efeitos deletérios em espécies não-alvo, incluindo o ser humano (COMBER, 1999; GUILLETTE e IGUSHI, 2012; VONBERG et al., 2014). Nos últimos anos, diversos estudos demonstraram o efeito negativo da atrazina sobre o metabolismo e o desenvolvimento de espécies animais e vegetais em ecossistemas aquáticos e até mesmo problemas relacionados à saúde humana (DALTON; BOUTIN, 2010; GUILLETTE e IGUSHI, 2012). Alguns estudos indicam a potencial capacidade da atrazina de interferência sobre os sistemas endócrino e reprodutivo (CARMO et al., 2013). Dessa forma, os problemas gerados pelo uso da atrazina resultaram, por exemplo no banimento do herbicida dentro da União Européia.

2.4 NANOTECNOLOGIA NA AGRICULTURA

A nanotecnologia vem sendo reconhecida como tecnologia, ciência e engenharia de materiais na escala nanométrica que estimula o crescimento de aplicações industriais no campo de medicina, biotecnologia, ciência de materiais e na agricultura. Nesses cenários, a inovação contínua é necessária em vista da crescente demanda por alimentos e dos problemas diários enfrentados dentro das lavouras (PARISI et al., 2015).

A nanotecnologia tem-se tornado, nos últimos anos, uma alternativa promissora, incluindo aplicações em diversos setores. Na agricultura, pode contribuir para a manipulação genética de plantas e para a liberação controlada de agroquímicos (fertilizantes e pesticidas) utilizados em campo através de nanocarreadores, otimizando o uso dos nutrientes e o controle de plantas daninhas, pragas e doenças de forma a promover uma agricultura mais sustentável com

maiores produtividades (PARISI et al., 2015; WANG et al., 2016; LOWRY et al., 2019; SINGH et al., 2020).

A nanotecnologia pode atuar ainda no solo através de sistemas que melhoram sua qualidade seja aumentando a retenção de água através de hidrogéis ou então utilizando nanomateriais para absorver contaminantes que estão no ambiente. Também pode ser aplicada em sistemas que estimulam a germinação, crescimento e desenvolvimento de plantas, seja através da liberação controlada de hormônios vegetais ou então de técnicas de revestimento de sementes como o nanoprimer, com intuito de proteger as sementes nas etapas de armazenamento e melhorar o estabelecimento da cultura em campo. Além disso, também pode atuar em dispositivos analíticos como os nanosensores para detecção de inseticidas, fungicidas, e patógenos (SEKHON, 2014; WANG et al., 2016; FRACETO et al., 2016; MAHAKHAM et al., 2017; USMAN et al., 2020; PEREIRA et al., 2021).

Os nanomateriais podem ter origens distintas, desde os mais maleáveis, como os polímeros, ou também mais rígidas, como os nanotubos de carbono, podendo ser incorporados a produtos com diferentes características e finalidades (KAH et al., 2018). Podem propiciar a entrega inteligente dos ativos, reduzindo quantidades, aumentando eficiência e minimizando perdas (KHOT et al., 2012; KAH et al., 2018; PASCOLI et al., 2018).

Entretanto, mesmo com estudos promissores, ainda existe uma preocupação quanto ao uso de nanocápsulas na agricultura, sendo necessário mais pesquisas para melhor elucidar a interação com as espécies vegetais, como os mecanismos de absorção nas superfícies aplicadas bem como comportamento no ambiente. Além disso, os custos de produção para produtos nanotecnológicos ainda são elevados, o que dificulta a produção em escalas maiores (PARISI et al., 2015; SINGH et al., 2020).

2.4.1 Nanopartículas

Um polímero pode ser descrito como uma macromolécula no qual se encontram centenas de unidades de monômeros que se unem através de ligações covalentes (CANEVAROLO, 2006; SOUTO et al., 2012). A síntese das nanopartículas poliméricas pode ser realizada com vários tipos de polímeros sintéticos ou naturais biodegradáveis (KOLLARIGOWDA et al., 2017).

Nanopartículas poliméricas podem ser preparadas como nanocápsulas ou nanoesferas. Nas nanocápsulas existe um invólucro polimérico em torno de um núcleo oleoso, no qual os compostos químicos são encapsulados. Já para as nanoesferas, toda a matriz é formada por polímero, podendo a substância ser encapsulada a essa matriz ou então ficar adsorvida na superfície dessa partícula (SOPPIRNATH; AMINABHAVI, 2002; SCHAFFAZICK et al., 2003) .

De forma geral, o uso de nanopartículas fornece diversas vantagens na sua utilização, isto porque permite um sistema de liberação gradual e sustentável do ingrediente ativo, melhorando sua solubilidade ou protegendo os compostos bioativos contra uma rápida degradação. Podem ainda potencializar a eficiência desses produtos, oferecendo melhores resultados com menores doses e número de aplicações, reduzindo o risco de contaminação ambiental e a toxicidade para seres humanos e organismos não-alvo (PASCOLI et al, 2018).

Diversos tipos de nanopartículas incluindo poli (ϵ -caprolactona) (PCL), poli (ácido láctico-co-glicólico) e nanopartículas lipídicas sólidas são capazes de transportar a atrazina e outros compostos bioativos utilizados na agricultura, como os fertilizantes, hormônios vegetais, inseticidas e fungicidas, além de outros herbicidas (GRILLO et al., 2012; CAMPOS et al., 2014; PEREIRA et al., 2014; de OLIVEIRA et al., 2015a; SCHNOOR et al., 2018, KAH et al., 2018).

As nanopartículas de PCL, por exemplo, também vem sendo estudada para medicamentos e cosméticos (WOODRUFF; HUTMACHER, 2010, KATZ et al., 2015). Nas pesquisas médicas, atua como um importante sistema nanocarreador em terapias contra o câncer de mama, favorecendo a penetração de medicamentos, além de auxiliar no diagnóstico das células cancerígenas dentro do corpo em comparação com as drogas convencionais. Podem ainda reduzir a resistência múltipla de drogas encontradas em muitos medicamentos utilizados durante o tratamento (MEI et al., 2009).

No setor de cosméticos também foi observado efeitos benéficos como aumento na atividade antioxidante do ácido lipóico. Esse efeito pode ser pela melhora na estabilidade da formulação, assim como pela liberação controlada e prolongada desse composto (KÜLKAMP et al., 2011; KATZ et al., 2015).

As características físico-químicas das nanopartículas poliméricas, como carga superficial, tamanho, estabilidade e tipo de material, assim como o princípio ativo encapsulado, influenciam na interação com a planta e na eficiência de

entrega do produto (RICO et al., 2011 ; TRIPATHI et al., 2017; MIERNICKI et al. 2019).

Dentre as nanopartículas, as que apresentam carga em sua superfície resultam na estabilidade da formulação, indicando menor probabilidade de agregação (GRILLO et al., 2012). Nguyen et al. (2016) demonstraram que o potencial zeta também afeta fortemente a penetração das nanocápsulas em folhas de pimenta, podendo penetrar rapidamente em camadas profundas. Nanocápsulas que apresentam superfície negativa tendem a penetrar particularmente mais rápido do que aquelas que apresentam cargas positivas, pois a parede celular contém mais compostos negativos, diminuindo a quantidade de nanocápsulas retidas no apoplasto e assim facilitando seu transporte.

Também há relatos com nanopartículas de CeO_2 em espécies como tomate, arroz e milho, de que a maior eficiência na translocação se dá quando as nanopartículas apresentam cargas negativas em comparação com as de cargas neutras ou positivas. Isso porque as interações eletrostáticas nas células da epiderme da raiz tendem a ser minimizadas quando as partículas estão carregadas negativamente, diminuindo o acúmulo na superfície da raiz e tornando mais efetivos a absorção e o transporte (ZHU et al., 2012; RICO et al., 2017; SPIELMAN-SUN et al 2019). No entanto, existem relatos de que superfícies carregadas com cargas positivas têm maior chance de induzir endocitose através das membranas celulares, podendo com isso aumentar a absorção de nanopartículas (WANG et al., 2016).

O tamanho das nanopartículas também limita a absorção e o transporte para as demais regiões da planta. Por exemplo, paredes celulares, plasmodesmos e as estrias de Caspary apresentam um limite de exclusão maior em relação às células da membrana e os feixes vasculares (WANG et al., 2016). Considerando esses limites, em alguns trabalhos utilizando nanopartículas não poliméricas (TiO_2 NPs), com dimensão aproximada de 30 nm, não se observa absorção pelas células da raiz de plantas de milho (*Zea mays*), provavelmente por conta de serem maiores quando comparadas com o diâmetro dos poros (plasmodesmos) presentes na parede celular. No entanto, em estudos utilizando nanopartículas de ácido poli (lático-co-glicólico) (PLGA NPs) com aproximadamente 200 nm, foi possível observar absorção pelos espaços matriciais da parede celular em videira (*Vitis vinifera* L.) (ASLI e NEUMANN, 2009; PALOCCI et al, 2017). Dessa

forma, as características físico-químicas de cada nanopartícula influenciam na sua interação com a planta (BOMBO et al., 2019).

2.4.2 Atrazina Nanoencapsulada

A nanoatrazina foi sintetizada utilizando-se a poli-(ε-caprolactona) (PCL), um poliéster alifático biocompatível que não traz danos ao ambiente (PEREIRA et al., 2014). Entre os polímeros sintéticos mais usuais e aprovados pela Food and Drug Administration (FDA) dos EUA, a PCL ocupa um lugar importante por ser biodegradável e miscível com outros polímeros, além de não apresentar toxicidade relevante (MEI et al., 2009).

Na agricultura, ensaios realizados *in vitro* evidenciaram a elevada eficiência de encapsulação da atrazina e a alta estabilidade da formulação, assim como a liberação gradual do herbicida pelas nanocápsulas. Foi possível ainda, através de testes de genotoxicidade em *Allium cepa* e células humanas, observar que as nanocápsulas contendo atrazina apresentaram efeitos tóxicos menores em relação ao herbicida não-encapsulado (GRILLO et al., 2012). Isso também foi observado em ensaios com alga *Pseudokirchneriella subcapitata* e com peixes *Prochilodus lineatus*, indicando que a nanoencapsulação protegeu os organismos não-alvo contra danos causados pela atrazina (GRILLO et al., 2012; PEREIRA et al., 2014; CLEMENTE et al., 2014; ANDRADE et al., 2019).

As nanocápsulas de PCL contendo atrazina apresentaram eficiente atividade herbicida em testes pós-emergência usando a mostarda, picão-preto (*Bidens pilosa*) e caruru (*Amaranthus viridis*) como plantas alvo (OLIVEIRA et al., 2015a; SOUSA et al., 2018). Nesses estudos, foi demonstrado para todas as espécies que a atrazina nanoencapsulada na dose de 200 g ha⁻¹ de ingrediente ativo apresentou atividade herbicida semelhante à da atrazina comercial na dose recomendada de 2000 g ha⁻¹, mostrando que a eficiência no controle utilizando o encapsulamento foi 10 vezes maior que o produto comercial (avaliada através da inibição da atividade do FSII e da massa seca das plantas). Vale dizer ainda que, em plantas de mostarda, quando utilizada a nanoatrazina na dose de 2000 g ha⁻¹, os sintomas macroscópicos foram mais rápidos e mais intensos em comparação com o herbicida comercial na mesma dose, assim como a inibição do FSII e a indução de estresse oxidativo (OLIVEIRA et al., 2015a). Para o picão-preto, apenas a

nanoatrazina induziu diminuição no crescimento de raiz e caule (SOUSA et al., 2018). De uma forma geral, as nanocápsulas sem o herbicida não apresentaram efeitos fitotóxicos nas plantas avaliadas, apesar de ter sido detectada uma pequena inibição da atividade do FSII em plantas de caruru pelo tratamento com nanocápsulas sem o herbicida quando comparado ao controle com água (OLIVEIRA et al., 2015a; SOUSA et al., 2018).

Recentemente em um trabalho com capim-amargoso (*Digitaria insularis*), que é uma planta daninha relativamente tolerante à atrazina, observou-se que a nanoencapsulação desse herbicida induziu a maior inibição da atividade do FSII para as doses 2000 e 1000 g i.a ha⁻¹ em comparação às mesmas doses atrazina comercial, tornando mais eficiente o controle dessa daninha, principalmente de plantas que apresentavam duas folhas expandidas. Esse trabalho corrobora o que vem sendo observado quanto à eficiência da nanoatrazina, visto que a menor dose do nanoherbicida foi tão ou mais eficaz que a dose cheia do produto comercial (SOUSA et al., 2020).

Além disso, foi possível avaliar os efeitos da nanoatrazina na dose padrão recomendada (2000 g ha⁻¹) em milho em pós-emergência, uma cultura não alvo de atrazina, de forma que não houve sintomas significativos que comprometessem o desenvolvimento da planta até oito dias após a aplicação dos tratamentos (OLIVEIRA et al., 2015b).

Outro estudo recente indica ainda que a nanoencapsulação da atrazina também potencializou o controle em pré-emergência do picão-preto. Pôde-se reafirmar que é possível diminuir a concentração do herbicida em 10 vezes sem comprometer o controle dessa espécie de planta daninha. Além disso, não houve aumento dos efeitos residuais a longo prazo com a nanoencapsulação em uma cultura sensível como a soja, desde que respeitado o intervalo de segurança para aplicação (PREISLER et al., 2020).

Apesar desses resultados promissores, os modos pelos quais as nanocápsulas de atrazina apresentam maior eficiência ainda não foram elucidados. Uma das hipóteses levantadas é que a nanoencapsulação melhora a absorção e a translocação da atrazina, favorecendo a sua entrega aos sítios de ação. Várias questões podem ser feitas: a) as nanocápsulas poliméricas de PCL são absorvidas pelas raízes e translocadas para as folhas via xilema?; b) a absorção foliar pode ser potencializada por ocorrer via estômatos?; c) pode ocorrer o transporte via floema

para folhas jovens em formação?

Portanto, baseado nas dificuldades em responder as perguntas acima, é importante adotar estratégias e desenvolver metodologias que possam ser utilizadas para estudar o modo de ação da nanoatrazina tanto via foliar quanto pela raiz.

2.5 ESTUDO DO MODO DE AÇÃO DA NANOATRAZINA

2.5.1 Nanocápsulas com sonda fluorescente

Existem algumas estratégias de funcionalização de nanocápsulas com sondas fluorescentes, como a ligação covalente da sonda ao polímero (PRASAD et.al., 2017) ou a incorporação da sonda à fase oleosa da nanocápsula (BOMBO et al., 2019). A compreensão desta funcionalização pode auxiliar no entendimento da interação das nanocápsulas com as plantas.

Em estudos recentes com nanocápsulas poliméricas de zeína (ZNPs) fluorescentes aplicadas em sistema de hidroponia, foi possível observar a adesão e a absorção das ZNPs por raízes de cana-de-açúcar e soja. Ainda, identificou-se que uma fração de ZNPs foi translocada via xilema para a folha e que isso ocorria conforme o aumento da dose de exposição, seguindo o mesmo padrão da raiz, mas em quantidades inferiores (NGUYEN et al.,2016; PRASAD et.al., 2017).

Em um trabalho realizado recentemente com NPs de PCL fluorescentes, pôde-se observar que a nanoatrazina aderiu à superfície da folha e penetrou no mesófilo através dos hidatódios e estômatos, o que poderia levar a uma entrega mais eficiente da atrazina em seu local de ação (BOMBO et al., 2019). A região dos hidatódios apresenta uma grande concentração de estômatos modificados que se interligam diretamente com os feixes vasculares e, de fato, foi possível localizar as NPs fluorescentes nos tecidos vasculares. O potencial zeta negativo das nanocápsulas de PCL pode ser favorável a uma penetração foliar mais rápida do que as que apresentam potencial zeta positivo (BOMBO et al., 2019; NGUYEN et al.,2014). Sendo assim, este trabalho será importante pra elucidar se a nanoencapsulação favorece a absorção via estômatos da atrazina aplicada em pós-emergência e se isso pode estimular a translocação do herbicida para outras regiões da planta.

Além disso, ainda se fazem necessários estudos em pré-emergência (aplicação em raízes e sementes) utilizando uma estratégia semelhante, que poderia contribuir para um melhor entendimento da interação das nanocápsulas de PCL com as plantas. Nesse contexto, é importante dizer que a nanoencapsulação pode aumentar a mobilidade da atrazina no solo devido à diminuição da sorção de atrazina às partículas do solo (SOUZA et al., 2019) o que poderia potencializar a atividade herbicida na raiz (pré-emergente). No entanto, isso pode variar conforme as características de cada solo (Tabela 1). Por exemplo, solos com alto teor de areia e o baixo teor de matéria orgânica tendem a apresentar menor sorção de atrazina, conseqüentemente disponibilizando uma maior quantidade de herbicida para as plantas (MUDOO et al., 2011).

Tabela 1. Indicadores físicos e químicos utilizados para descrever a qualidade dos solos com textura arenosa e solos com textura argilosa.

Solos arenosos	Solos argilosos
Menor porosidade	Maior porosidade
Maior macroporosidade	Maior microporosidade
Boa drenagem e aeração	Drenagem mais lenta e menor aeração
Menor densidade	Maior densidade
Perde e ganha calor mais rapidamente	Perde e ganha calor mais lentamente
Maior resistência à compactação	Menor resistência à compactação
Menor capacidade de troca de cátions (CTC)	Maior CTC
Mais lixiviável	Menos lixiviável
Maior erosão	Menor erosão
Preparo mecânico facilitado	Mais resistente a preparo mecânico

Fonte: Reinert et al. (2006)

2.5.2 Fusiococina

Considerando que alguns trabalhos mostram que a entrada da nanopartícula pode ocorrer via estômato, a abertura estomática induzida pela fusiococina pode contribuir para ratificar essa proposta.

A fusiococina é uma toxina oriunda do fungo *Fusicoccum amygdali* Del., que atua na abertura dos estômatos, ativando continuamente a H⁺ -

ATPase da membrana plasmática das células guarda (TURNER E GRANITI, 1969). Akita et al. (2018) identificaram em seu trabalho com células-guardas agrupadas que a abertura estomática ocorreu de forma significativa no tratamento com fusicocina. Outro trabalho recente identificou que a fusicocina é capaz de inibir os efeitos do ácido abscísico (ABA) não só bloqueando o fechamento estomático, mas também reabrindo os estômatos que estavam fechados (HUANG et al., 2013). Além disso, outros autores relataram que a fusicocina atua no crescimento, podendo ainda acidificar as células da parede, aumentando o afrouxamento e assim facilitando o crescimento celular (PIETRUSZKA, 2020).

Em conjunto com as nanocápsulas contendo sonda fluorescente, essa droga pode ajudar a entender o modo de ação da nanoatrazina quando aplicada na folha.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 PREPARO DOS TRATAMENTOS

O preparo das nanocápsulas de PCL foi realizado utilizando o protocolo descrito por Grillo et al. (2012). Basicamente, o método consiste na mistura de uma fase orgânica em uma fase aquosa. A fase orgânica é composta pela mistura de PCL (100 mg), mirytol 810 (triglicérides de ácido cáprico e caprílico, 200 mg), SPAN 60 (surfactante monoestearato de sorbitano, 40 mg) e atrazina (10 mg) em acetona (30 mL). A fase aquosa (30 mL) foi preparada utilizando tween 80 (polissorbato 80 surfactante) a 2 mg mL⁻¹. Para a formação das nanocápsulas, ambas as soluções foram misturadas lentamente pela inserção da fase orgânica sobre a fase aquosa (mantida sob agitação magnética). A suspensão final foi agitada durante 10 min. Sob pressão reduzida, a acetona e a água foram evaporadas até um volume final de 10 mL, atingindo uma concentração final de atrazina de 1 mg mL⁻¹. Como um controle, nanocápsulas de PCL foram preparadas sem a adição de atrazina na fase orgânica.

As características das nanocápsulas utilizadas nesse trabalho já foram descritas em estudos anteriores. As nanocápsulas com e sem atrazina são semelhantes. O tamanho aproximado é de 260 nm; o índice de polidispersividade

(PDI) abaixo de 0,2; o potencial zeta cerca de -30 mV; e a eficiência de encapsulação para a atrazina de 86,7% (GRILLO et al. 2012).

As nanocápsulas contendo a sonda fluorescente foram preparadas adicionando o fluoróforo 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina-N-(lisamina rodamina B sulfonil) (0,1% da massa PCL) à fase orgânica (BOMBO et al., 2019).

3.2 MATERIAL VEGETAL E CONDIÇÕES DE CRESCIMENTO

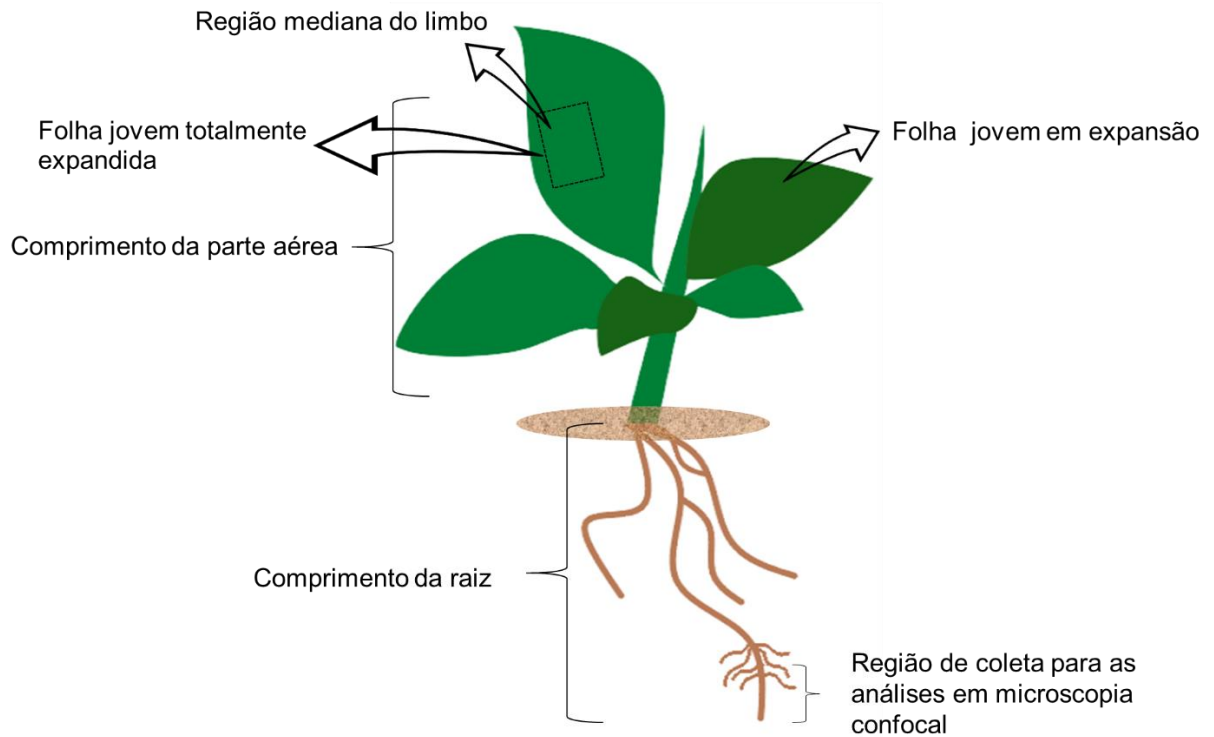
O modelo de espécie alvo utilizado foi *Brassica juncea* (L.) Czern. (Isla Sementes®), conhecida popularmente como mostarda-indiana. As plantas foram inicialmente mantidas em casa de vegetação no Centro de Ciências Biológicas da UEL, sob condições naturais de luz, umidade relativa e temperatura. Antes de ser realizado o tratamento, as plantas foram transportadas para o laboratório, com luminosidade controlada em cerca de $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura ambiente, fotoperíodo de 12 h e, quando em solo, irrigação controlada manualmente, mantendo-o próximo à capacidade de campo. Os tratamentos foram aplicados para todos os ensaios após um período de aclimatação de no mínimo cinco dias no laboratório.

3.3 TRATAMENTOS E METODOLOGIAS

Foram realizados seis ensaios no total, sendo quatro para avaliar a absorção radicular e dois para avaliar a absorção foliar. Em todos os ensaios (exceto para os itens 3.3.3 e 3.3.5), foram utilizados os seguintes tratamentos em delineamento experimental inteiramente casualizado: água (controle), nanocápsulas de PCL sem atrazina (NC), nanocápsulas de PCL contendo atrazina a 1 mg mL^{-1} (NC+ATZ) e atrazina comercial (Gesaprim 500 CG) fornecida pela Syngenta (Syngenta Co. Ltd., Brasil), a 1 mg mL^{-1} (ATZ). Em todos os ensaios, os tratamentos foram aplicados no início da manhã.

A Figura 1 é uma representação esquemática de uma planta de mostarda onde é possível identificar as regiões em que foram realizadas as avaliações que serão descritas nos itens a seguir.

Figura 1: Representação esquemática de uma plântula de mostarda. Nesta figura é possível observar as diferentes regiões que foram analisadas após aplicação dos tratamentos.



3.3.1 Ensaios com aplicação em solo

Nestes ensaios, objetivou-se avaliar a eficiência da absorção e transporte dos tratamentos em dois tipos de solo separadamente, com atributos químicos e físicos distintos, sendo um solo mais argiloso e outro mais arenoso (Tabela 2).

Tabela 2: Análise física e química dos solos utilizados nos ensaios da dissertação

	pH	M.O (%)	Areia Total (g kg ⁻¹)	Silte (g kg ⁻¹)	Argila (g kg ⁻¹)
Argiloso	5,3	3,8	146	215	639
Arenoso	5,2	4,7	710	64	226

A germinação de mostarda foi realizada em vasos de isopor com volume de 180 mL (diâmetro da base 4,42 cm e do topo 7,37 cm) (Copobras®), preenchidos com solo (10 repetições para solo argiloso e 5 repetições para solo médio arenoso). Os nutrientes foram suplementados uma vez por semana a partir do sétimo dia de germinação através da aplicação de 50 mL de solução nutritiva completa (Tabela 3). O desbaste ocorreu após quatro semanas da semeadura, deixando apenas uma planta por vaso.

Tabela 3: Concentração final de sais na solução nutritiva utilizada nos ensaios da dissertação.

Sal	Concentração
KH ₂ PO ₄	1 mM
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	4 mM
K ₂ SO ₄	2 mM
NH ₄ NO ₃	4 mM
MgSO ₄ .7H ₂ O	2 mM
H ₃ BO ₃	92,5 µM
MnCl ₂ .4H ₂ O	18 µM
ZnCl ₂	1,5 µM
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,56 µM
CuCl ₂ .2H ₂ O	0,66 µM
FeSO ₄	100 µM

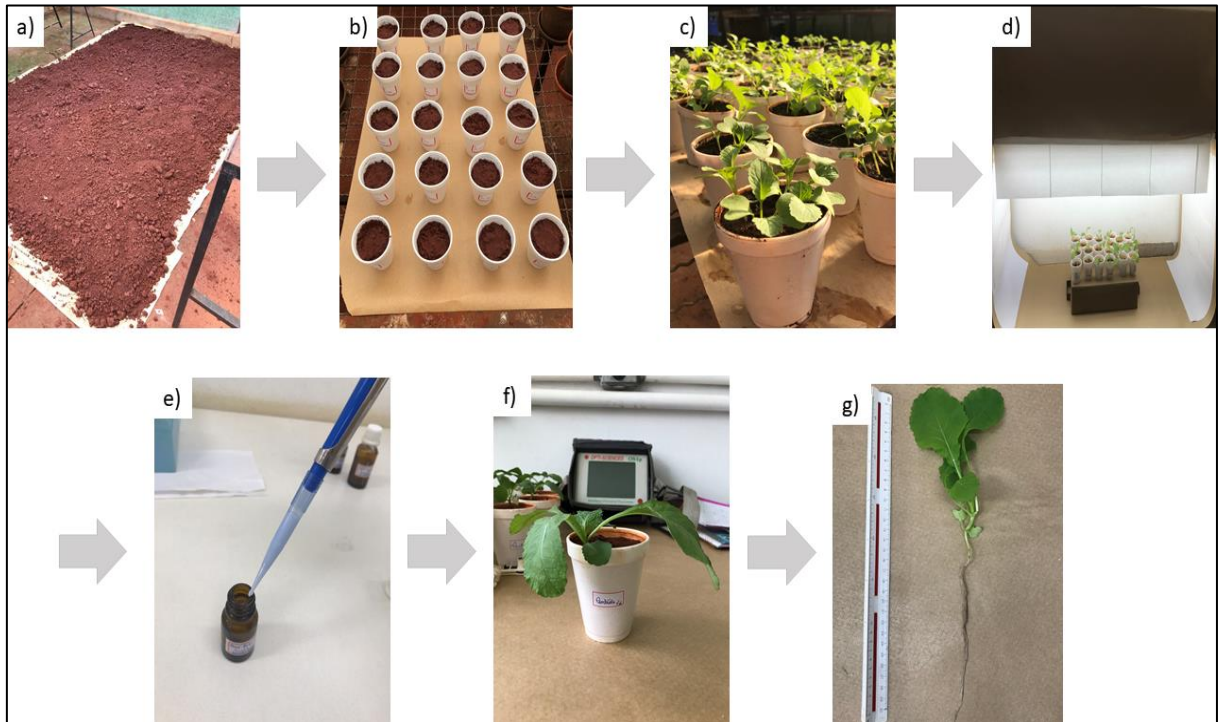
Após a expansão do segundo par de folhas das plantas de mostarda, o solo foi tratado com 1,1 mL vaso⁻¹ das formulações, a fim de se obter a dose padrão de atrazina (2000 g ha⁻¹) recomendada pelo fabricante. A aplicação dos tratamentos foi realizada com micropipeta, de forma a distribuir as gotas na superfície do solo.

Nas avaliações os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* foram medidos na superfície adaxial na região mediana do limbo da folha totalmente expandida (Figura 1) com um fluorômetro OS1p (Opti Sciences, Hudson, NH, USA) às 2, 4, 8, 24 e 48 horas após a aplicação (HAA). Para verificar a atividade máxima fotoquímica do FSII, expressa pela relação Fv/Fm , as folhas foram adaptadas ao escuro por 15 min, e a fluorescência inicial (F_0) foi medida. Nessas folhas, foram colocados os cliques que isolam a luminosidade externa e depois conectados ao sensor do fluorômetro. A fluorescência máxima (F_m) foi determinada após um pulso de irradiância saturante (8250 $\mu\text{mols m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de 0,8 s, e a fluorescência variável (F_v) foi calculada como $F_v = F_m - F_0$ (BAKER, 2008).

Ao final do experimento (sete dias após a aplicação dos tratamentos), foram avaliados a massa seca e o comprimento da raiz e da parte aérea de cada planta (Figura 2g). A massa seca foi determinada após a secagem das plantas em estufa a 60 °C por no mínimo três dias.

Para o experimento com solo médio arenoso, foram adotados os mesmos procedimentos experimentais citados anteriormente (Figura 2).

Figura 2: Procedimentos dos experimentos realizados com solo. a) Solo argiloso exposto após a coleta para secagem, eliminação de plantas daninhas e preparo para a semeadura. b) Semeadura da mostarda. c) Plantas em cultivo na casa de vegetação. d) Aclimatação em laboratório com luminosidade controlada. e) Pipetagem da formulação. f) Medidas da atividade do fotossistema II (Fv/Fm). g) Desmontagem dos vasos e avaliações fitométricas.



3.3.2 Ensaio com aplicação em hidroponia

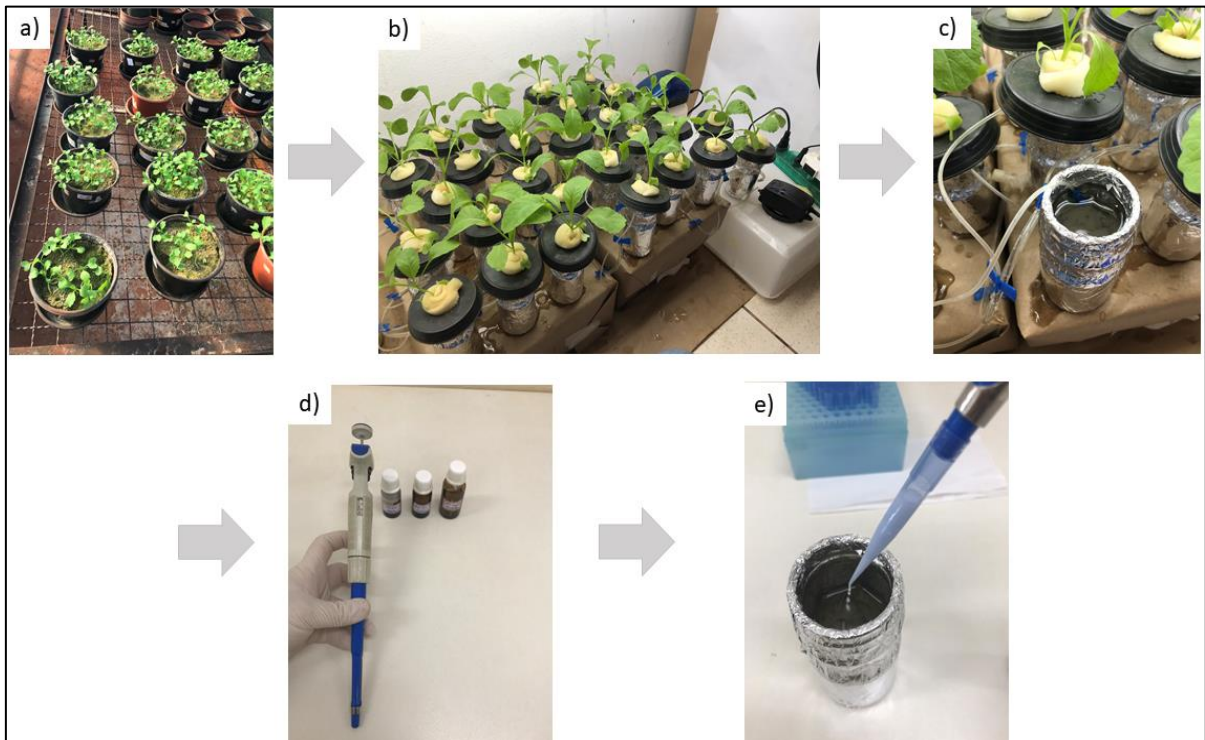
Neste ensaio, os tratamentos foram aplicados em sistema de hidroponia, com o objetivo de determinar se os efeitos seriam semelhantes na inibição do FSII aos observados no ensaio em solo e com isso determinar qual a influência do solo sobre a absorção pelas plantas. Ele também permitiu determinar as condições experimentais para o ensaio com nanocápsulas com sonda fluorescente. Aqui, as medidas foram realizadas no ápice e na região mediana do limbo da folha mais jovem totalmente expandida e na região mediana da folha superior (folha jovem em expansão).

As plantas de mostarda foram cultivadas inicialmente em vasos contendo areia, com seis repetições para cada tratamento, e depois transferidas para hidroponia (Figura 3), utilizando a solução nutritiva (Tabela 3) sob aeração constante. Os tratamentos ($1,1 \text{ mL vaso}^{-1}$) foram aplicados com micropipeta, inicialmente na própria solução nutritiva. No entanto, após observar que ocorria

precipitação das nanocápsulas imediatamente após a deposição das formulações, as aplicações passaram a ser realizadas em vasos contendo apenas água destilada. Isso ocorreu possivelmente devido a interação dos sais com a superfície da partícula, desestabilizando a suspensão coloidal e com isso ocasionando a agregação e precipitação das nanocápsulas.

Antes de transferir as plantas para água destilada e de iniciar as aplicações, as raízes foram lavadas em água corrente por aproximadamente 1 minuto. Assim, as plantas foram mantidas em água destilada durante o período de avaliação da atividade máxima fotoquímica do FSII (quatro dias). Os intervalos de avaliação foram 4, 8, 24, 48 e 72 horas após aplicação. Foram avaliados ainda a massa seca e o comprimento de raiz e parte aérea, cinco dias após o início dos tratamentos.

Figura 3: Procedimento experimental realizado no ensaio em hidroponia. a) Plantas em cultivo em areia na casa de vegetação. b) Transferência das plantas da areia para a hidroponia, com aeração constante e aclimatação em laboratório com luminosidade controlada. c) Troca da solução nutritiva. d) Separação dos tratamentos e da micropipeta. e) Dosagem dos tratamentos nos vasos contendo água destilada.

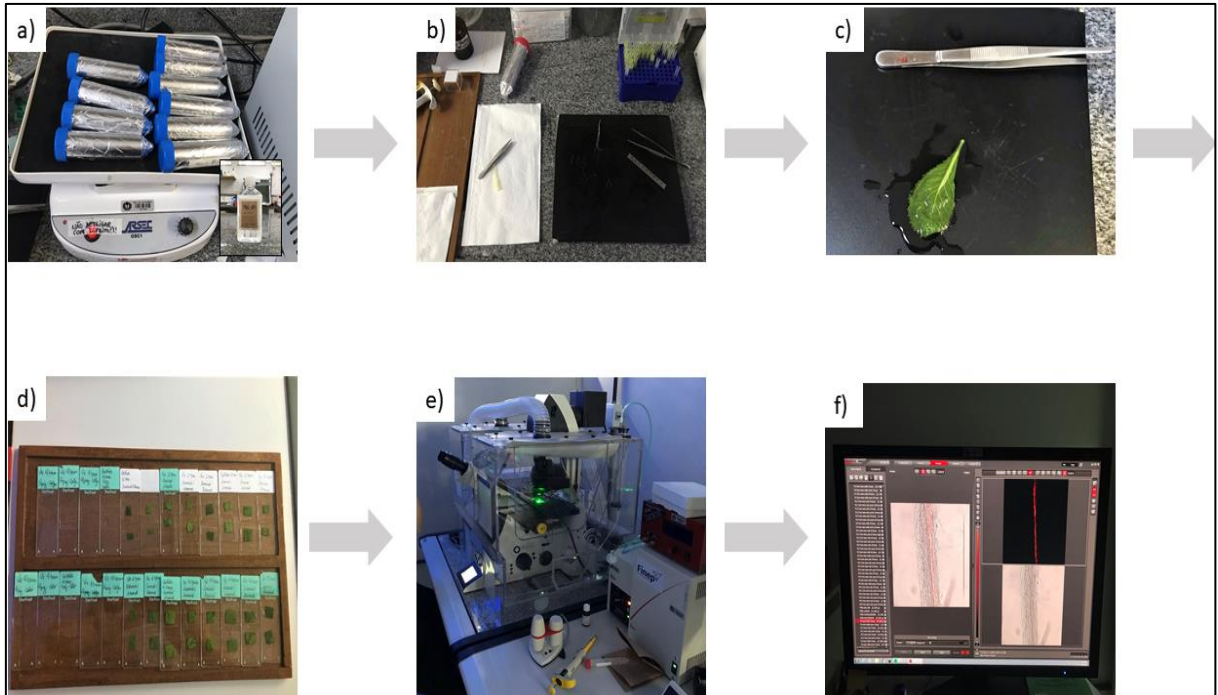


3.3.3 Ensaio com aplicação em hidroponia de nanocápsulas contendo sonda fluorescentes

O objetivo do terceiro ensaio foi avaliar a capacidade de absorção e translocação das nanocápsulas com atrazina nas plantas, através do uso de nanocápsulas contendo a sonda fluorescente. Este ensaio também foi conduzido no sistema de hidroponia, sendo aplicada a mesma dose dos ensaios anteriores (1,1 mL vaso⁻¹), porém com nanocápsulas contendo a rodamina como sonda fluorescente. Para este ensaio, os tratamentos foram: água (controle) e nanocápsula com atrazina (NC+ATZ), com 4 repetições para cada intervalo de tempo (1, 4 e 24 h após a aplicação). Além do acompanhamento da fluorescência, foram avaliados ao longo do tempo de cada coleta a atividade máxima do FSII.

Para o acompanhamento das nanocápsulas contendo a sonda fluorescente foram coletados a raiz por inteira e a folha mais jovem totalmente expandida perto do ápice. Após a coleta inicial, as amostras foram fixadas com paraformaldeído a 4% (PFA) por 4 horas em tubos falcon cobertos com papel alumínio. Em seguida, as amostras foram lavadas por 10 minutos em solução salina tamponada com fosfato (PBS, pH 7,0). Após a lavagem, foram realizados cortes de 1 cm das amostras para montagem das lâminas. Os cortes foram realizados próximos a zona pilífera das raízes e na região mediana do limbo (Figura 1). Foi utilizado Fluormount (SouthernBiotech) para fixação das lamínulas na parte superior das lâminas. Um microscópio confocal espectral (Leica TCS SP8 Leica, Wetzla, Alemanha). Foi utilizado o comprimento de onda 552 nm para excitação, e o espectro de emissão coletado foi de 572 a 607nm (faixa de cor do amarelo ao laranja). O ruído causado pela autofluorescência da planta foi retirado usando o programa de microscópio confocal. As imagens foram processadas usando o software Leica LAS X LS (Figura 4).

Figura 4: Procedimento experimental realizado no ensaio em hidroponia com nanocápsulas contendo sonda fluorescente. a) lavagem das amostras fixadas utilizando a solução de PBS por 10 minutos. b) coleta de raiz. c) coleta de folha. d) lâminas com meio de montagem. e) visualização das lâminas no confocal. f) captura das imagens.

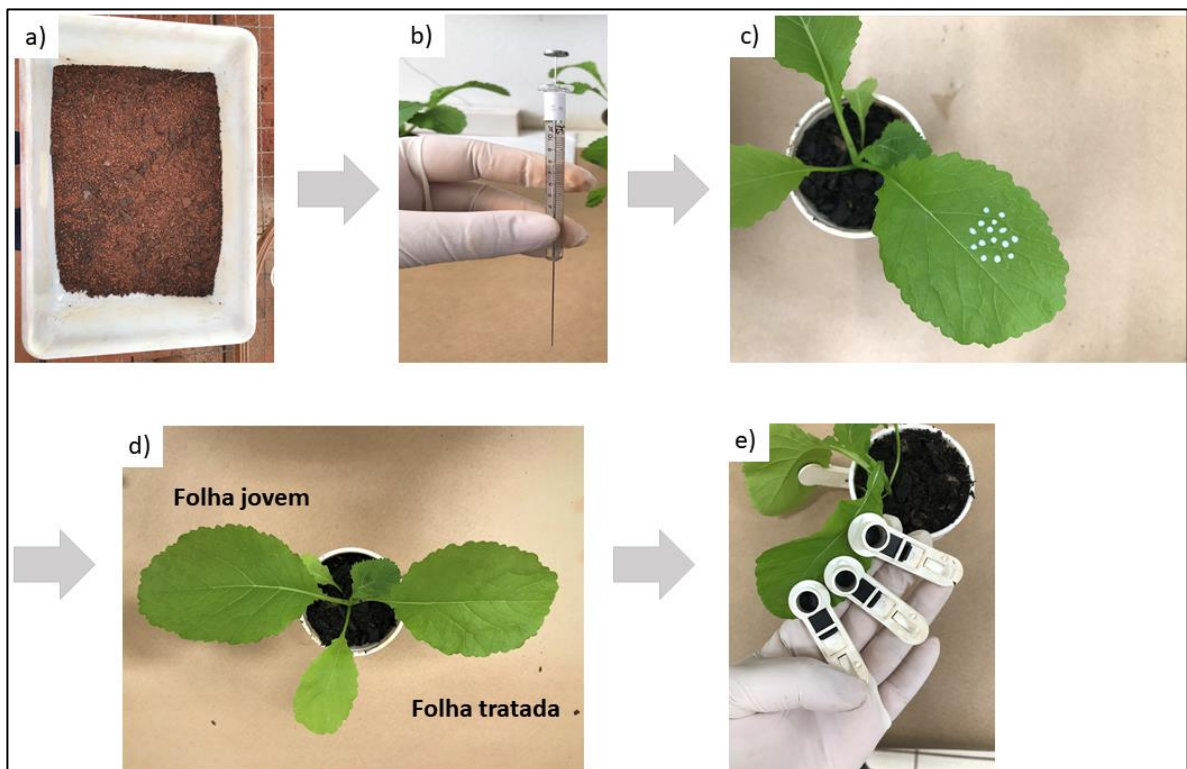


3.3.4 Ensaios com aplicação foliar

Este ensaio teve como objetivo avaliar a absorção e a translocação foliar da nanoatrazina, podendo identificar a possibilidade do transporte via floema (Figura 5). Foram utilizados vasos térmicos de isopor com volume de 180 mL contendo solo e substrato comercial (Biomix®) nas proporções (70:30, v/v). Foram semeadas cinco sementes de mostarda por vaso, com posterior desbaste, deixando uma única planta por vaso. Cada tratamento continha cinco repetições. A cada sete dias após a germinação foram aplicados 50 mL de fertilizante solúvel (Plant Prod® 10-52-10) na superfície do solo. Para realizar a aplicação foliar dos tratamentos, utilizou-se uma microseringa de vidro para depositar 15 gotas de 1 μ L cada, na região mediana do limbo da última folha totalmente expandida (Figura 5c), excluindo a margem e nervura central de maneira a aplicar 15 μ L da formulação por planta. A aplicação dos tratamentos foi realizada em plantas de mostarda com 4-5 folhas, na face adaxial. A atividade do FSII foi avaliada no ápice, na região mediana (local de

aplicação) e na base do limbo da folha aplicada, e na região mediana do limbo da folha jovem em expansão, durante os intervalos de 4, 8, 24, 48 e 72 HAA.

Figura 5: Procedimento experimental realizado para aplicação foliar. a) Preparo do solo com substrato nas proporções (70:30 v/v). b) Microseringa para aplicação de gotículas dos tratamentos. c) Gotículas de formulação de NC+ATZ (nanocápsula com atrazina) na região mediana do limbo da folha de mostarda para análise de fotossíntese. d) Folhas de aplicação e avaliação. e) Medidas da atividade do fotossistema II (Fv/Fm) em três pontos diferentes da folha tratada de mostarda.



3.3.5 Ensaios foliar com aplicação de fusicocina

Neste ensaio, previamente à aplicação dos tratamentos contendo atrazina, as plantas de mostarda foram tratadas com fusicocina (FSC) para avaliar a importância dos estômatos na eficiência da nanoatrazina. A obtenção das plantas para este ensaio foi conforme descrita no ensaio com aplicação foliar (item 3.3.4). Foram realizadas avaliações da atividade do FSII e da condutância estomática utilizando um porômetro (Model SC-1) para determinar a eficácia da substância (dados não apresentados). As aplicações foram realizadas em plantas com 4 a 5

folhas. Para isto, foram avaliados os seguintes tratamentos: água + FSC (controle); (NC+ATZ) + FSC; ATZ + FSC.

Previamente aos tratamentos, foram aplicados 50 µL da solução de FSC (diluída em etanol 50%) com uma microseringa em metade da folha a ser tratada, visando estimular a abertura estomática. Foi usada a região mediana do limbo, excluindo a margem e nervura central. Após a secagem das soluções, para realizar a aplicação foliar dos tratamentos de atrazina, foi utilizada uma microseringa de vidro para depositar 15 gotas de 1 µL cada na região mediana do limbo da última folha totalmente expandida, de maneira a aplicar 15 µL da formulação por planta. A atividade do FSII foi avaliada no ápice, na região mediana, (local de aplicação) e base do limbo da folha tratada, e no região mediana do limbo da folha superior (folha jovem) nos intervalos de 4, 8, 24 e 48 HAA.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento utilizado para todos os ensaios foi inteiramente casualizado. Os resultados em proporção da fluorescência da clorofila *a* foram transformados por $\arcsen \sqrt{x}$. Esses resultados foram testados quanto à normalidade dos erros e homogeneidade de variância usando os testes de Shapiro-Wilk e Levene respectivamente. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via e as médias comparadas pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS

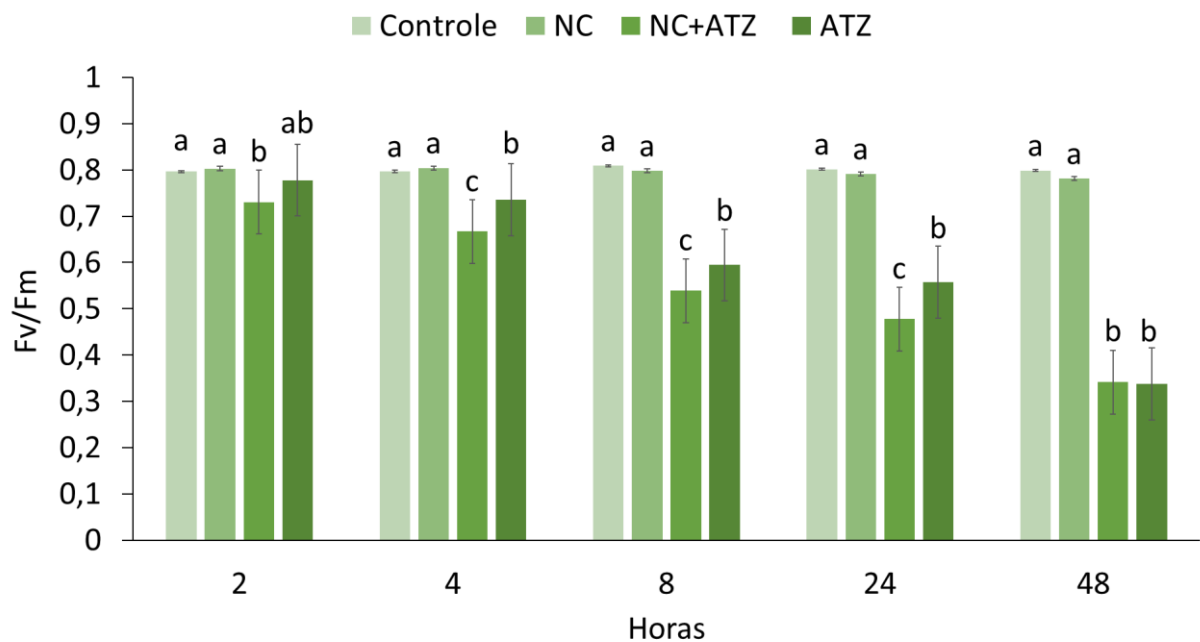
4.1 ENSAIOS COM APLICAÇÃO EM SOLO

Conforme mostrado na Figura 6, o tratamento do solo argiloso com as formulações contendo atrazina levou a reduções severas do Fv/Fm. Pode-se observar que, a partir de 2 HAA, a formulação NC+ATZ já começou a inibir a atividade do FSII em relação ao controle e NC, o que não foi observado para ATZ. Após 4 HAA, os efeitos inibitórios começaram a aparecer para ATZ, mas NC+ATZ continuou diminuindo o Fv/Fm de maneira mais acentuada. A partir de 8 HAA, essa diferença começou ser diminuída entre os tratamentos NC+ATZ e ATZ, mas ainda

foi maior para NC+ATZ, com uma queda aproximada de 30% na razão Fv/Fm comparada aos valores do controle, enquanto para ATZ esse valor foi 24% menor.

Resultados semelhantes foram observados na avaliação às 24 HAA, evidenciando a maior intensidade na diminuição de Fv/Fm para NC+ATZ quando comparada com ATZ. Contudo, após 48 horas da aplicação, os efeitos dos tratamentos contendo atrazina se igualaram. Além disso, é importante dizer que NC não inibiu o Fv/Fm das plantas de mostarda, igualando-se ao controle em todos os intervalos avaliados.

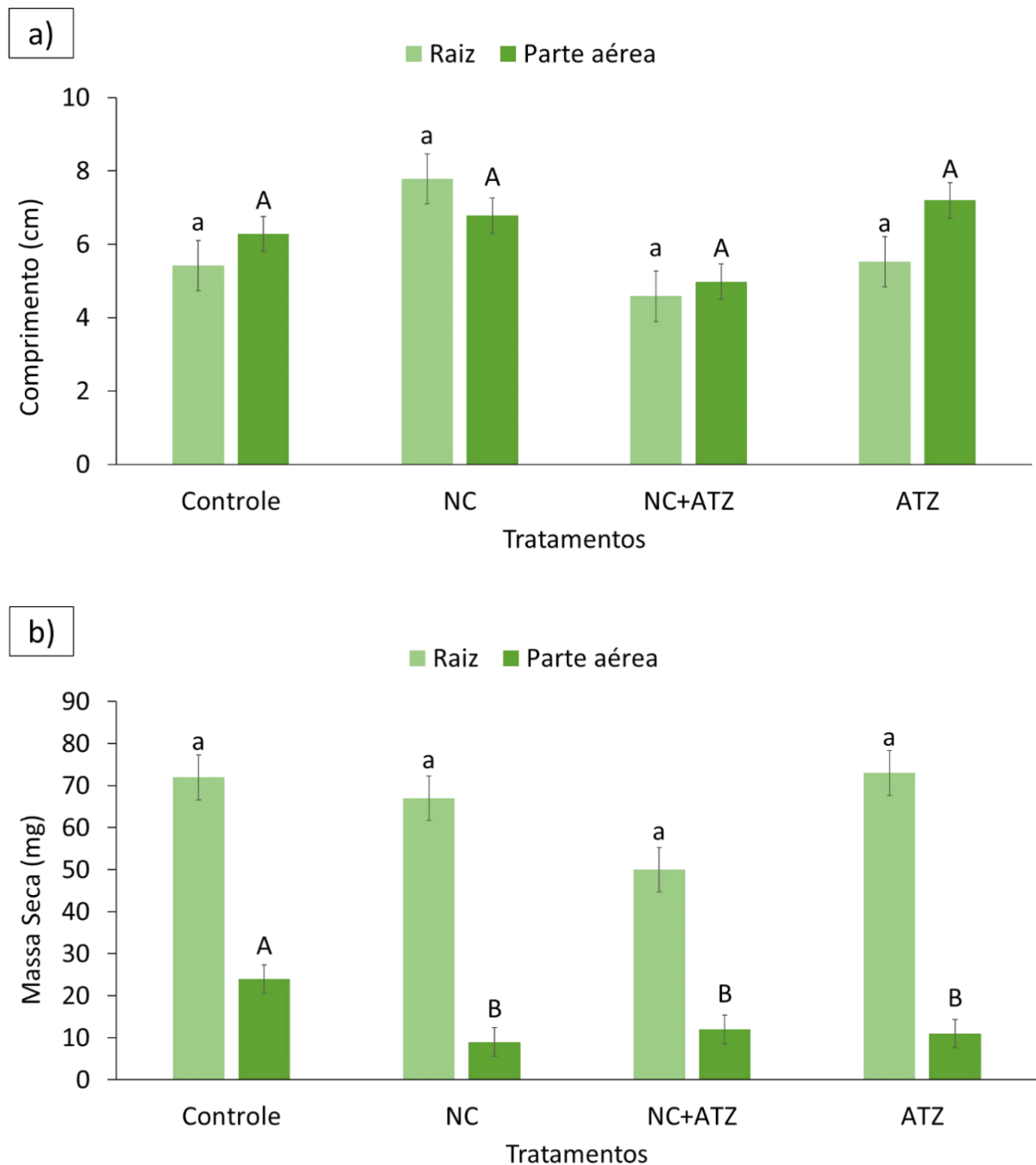
Figura 6: Efeito dos tratamentos sobre a atividade máxima do fotossistema II (Fv/Fm) para cada intervalo de tempo após a aplicação dos seguintes tratamentos no solo argiloso: água (Controle), nanocápsulas sem atrazina (NC), nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ) e atrazina comercial (ATZ). Os dados representam a média \pm SE (n = 10). Letras diferentes acima das colunas indicam valores significativamente diferentes em um mesmo intervalo de tempo após a aplicação de acordo com ANOVA seguida pelo teste de Tukey (P <0,05).



As avaliações fitométricas mostraram que nenhum dos tratamentos afetou o comprimento da raiz e da parte aérea e a massa seca da raiz de plantas de mostarda (Figura 7). Mesmo que a raiz tenha ficado em contato direto com os tratamentos, não foi possível observar efeitos fitotóxicos como necrose nesse órgão. Houve uma redução da biomassa da parte aérea para os tratamentos (incluindo NC), em comparação com o controle, indicando haver um efeito fitotóxico que pode ser

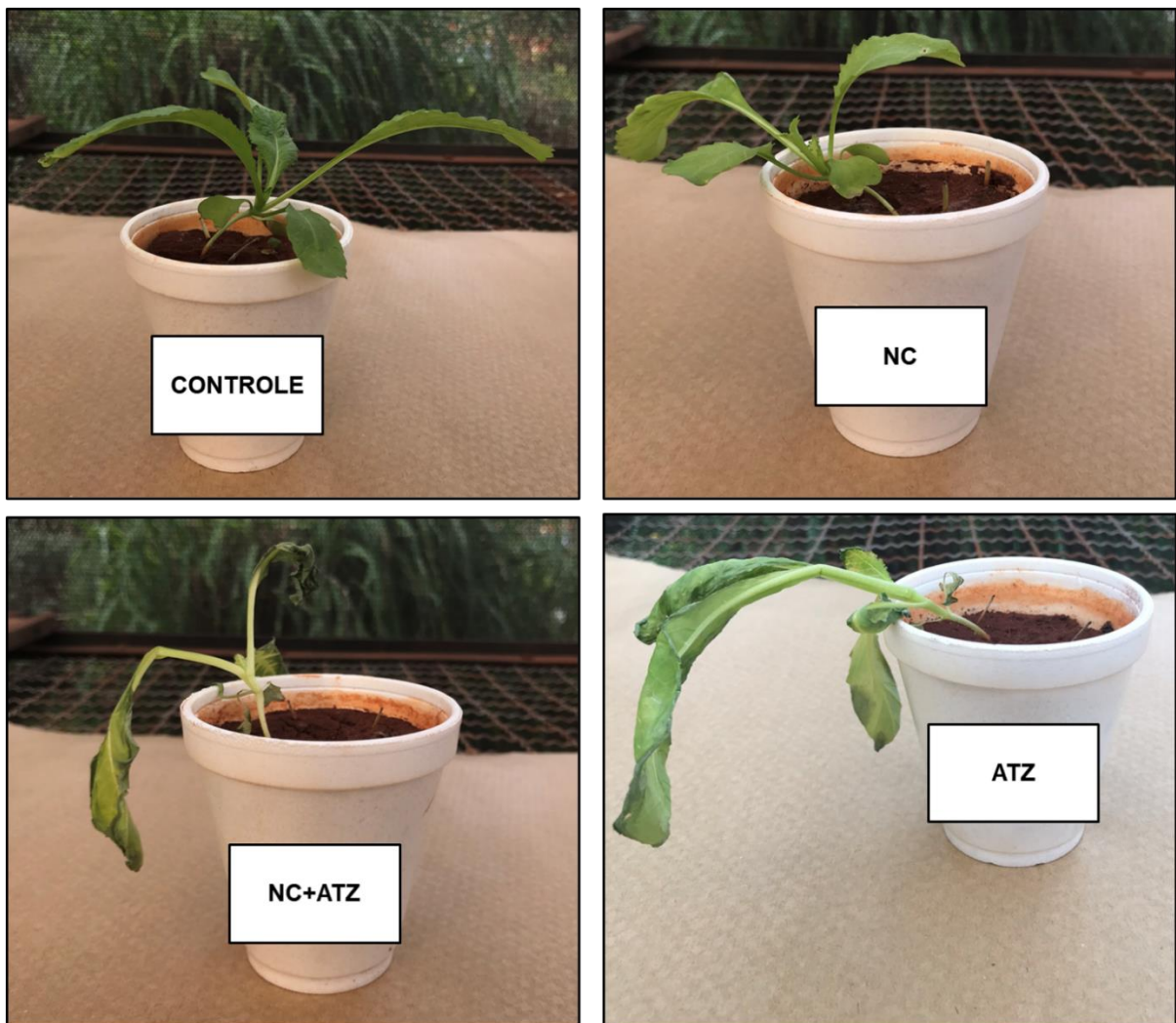
atribuído à nanocápsulas. Não foi observado queda de folhas até o momento da desmontagem.

Figura 7: Efeito dos tratamentos a) no comprimento e b) massa seca de raiz e parte aérea de plantas de mostarda após 7 dias da aplicação dos seguintes tratamentos em solo argiloso: água (Controle), nanocápsulas sem atrazina (NC), nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ) e atrazina comercial (ATZ). Os dados representam a média \pm SE (n = 10). Letras minúsculas acima das colunas indicam diferença entre os tratamentos para as avaliações em raiz e maiúsculas para a parte aérea de acordo com ANOVA seguido pelo teste de Tukey (P <0,05).



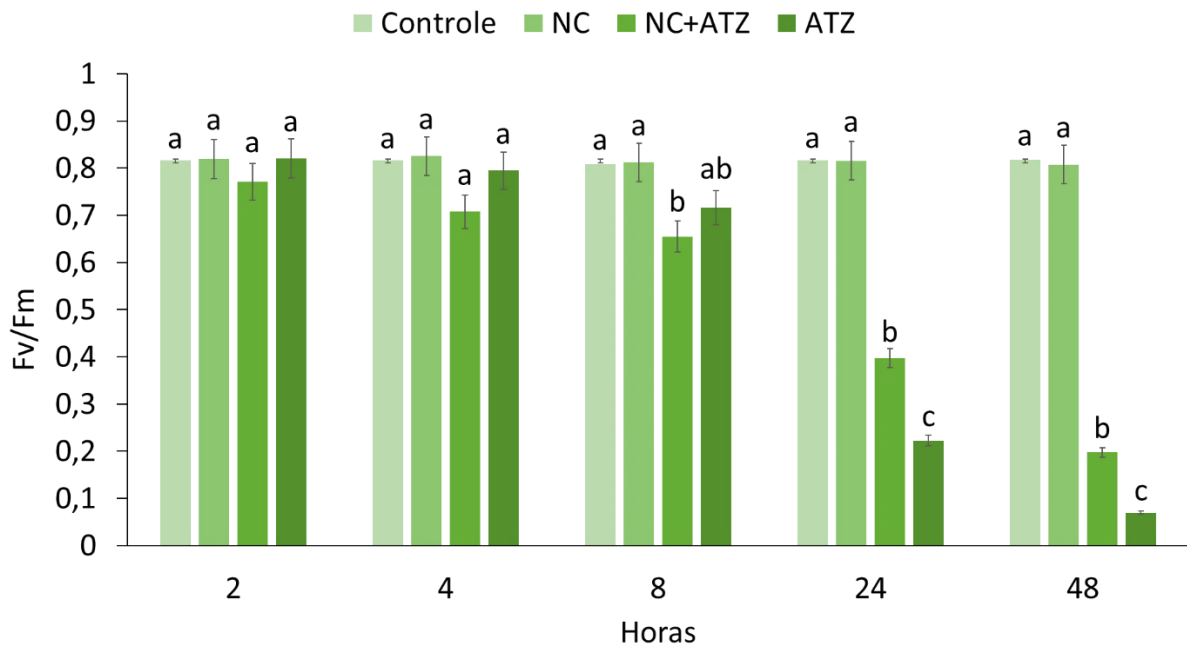
Os sintomas macroscópicos iniciais como amarelecimento na margem das folhas foram observados para a formulação NC+ATZ a partir do terceiro dia após a aplicação (DAA), principalmente nas folhas mais velhas. Com 7 DAA (Figura 8), as folhas estavam murchas, necrosadas e o pecíolo clorótico. Esses sintomas foram mais severos para as plantas tratadas com a formulação NC+ATZ do que para ATZ. Não foram observados sintomas visíveis para as plantas tratadas sem atrazina e nem perda de folhas, apesar da redução na biomassa no tratamento com NC.

Figura 8 :Sintomas macroscópicos da parte aérea em plantas de mostarda 7 dias da aplicação dos seguintes tratamentos em solo argiloso: água (Controle), nanocápsulas sem atrazina (NC), nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ) e atrazina comercial (ATZ).



Na Figura 9, NC+ATZ no solo com textura médio arenoso demonstra reduções da atividade do FSII em relação ao controle e NC somente a partir de 8 HAA. Embora NC+ATZ tenha demonstrado maior diminuição aparente de Fv/Fm, os tratamentos NC+ATZ e ATZ não se diferem significativamente. Com 24 HAA, os efeitos inibitórios começaram a aparecer de maneira mais acentuada, só que aqui diferentemente do que ocorreu no solo argiloso, as maiores inibições do FSII passaram a ser para ATZ, com aproximadamente 60% comparado ao controle, enquanto para NC+ATZ esse valor foi de 42%. Resultados semelhantes foram observados após 48 HAA, evidenciando novamente a maior intensidade na queda de Fv/Fm para ATZ quando comparada com NC+ATZ. NC não inibiu o Fv/Fm das plantas de mostarda, assim como no solo argiloso, igualando-se ao controle em todos os intervalos avaliados.

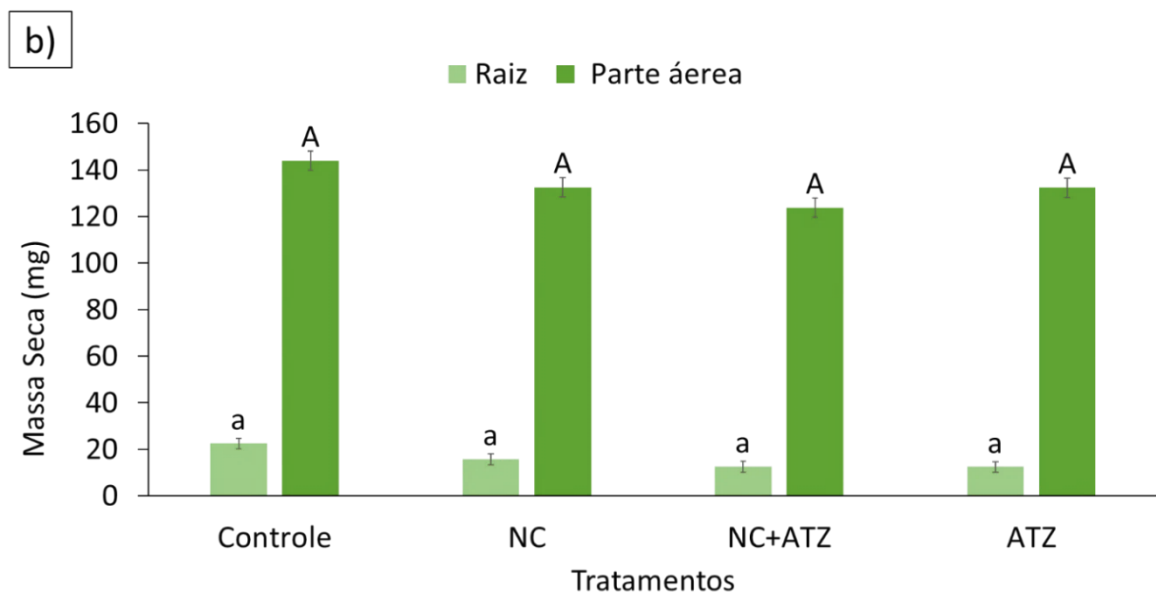
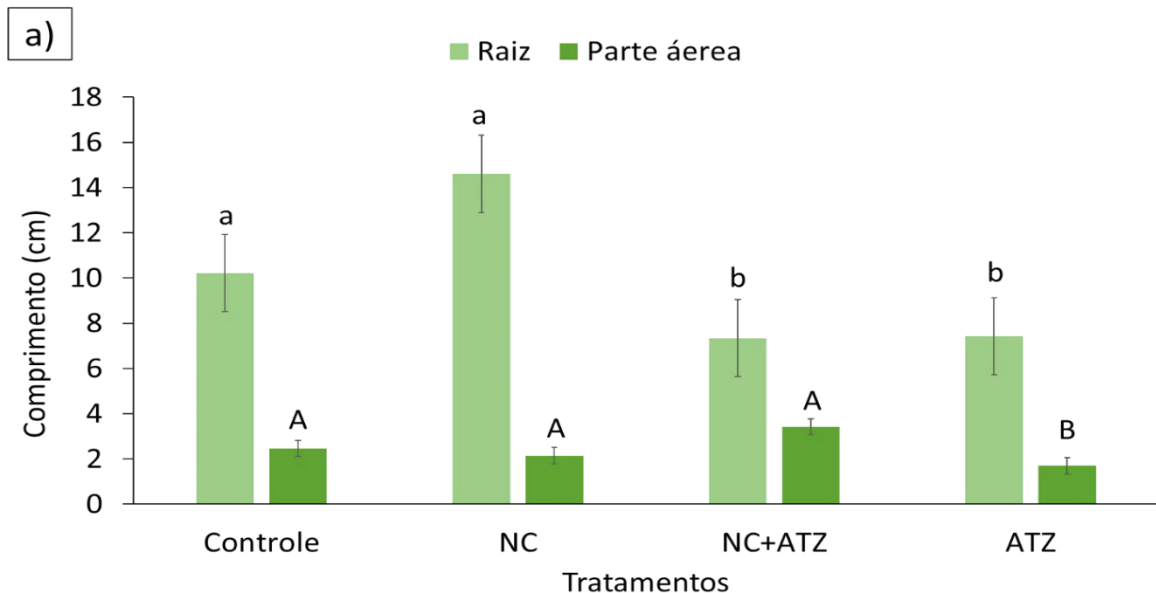
Figura 9: Efeito dos tratamentos sobre a atividade máxima do fotossistema II (Fv/Fm) para cada intervalo de tempo após a aplicação dos seguintes tratamentos no solo médio arenoso: água (Controle), nanocápsulas sem atrazina (NC), nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ) e atrazina comercial (ATZ). Os dados representam a média \pm SE (n = 5). Letras diferentes acima das colunas indicam valores significativamente diferentes em um mesmo intervalo de tempo após a aplicação de acordo com ANOVA seguida pelo teste de Tukey (P <0,05).



As avaliações fitométricas mostraram que os tratamentos NC+ATZ e ATZ afetaram o comprimento da raiz de forma semelhante, enquanto a parte aérea

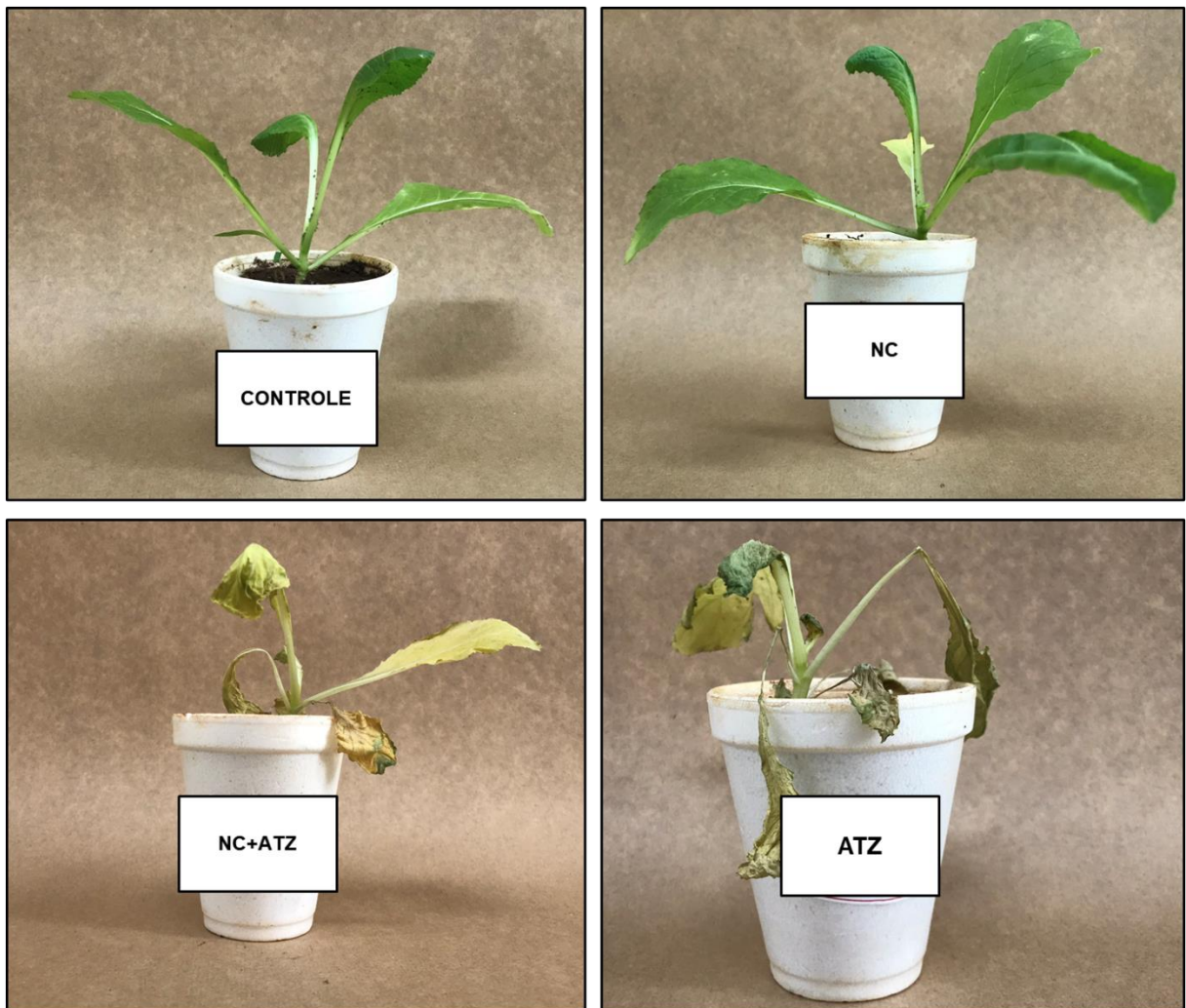
foi afetada apenas pelo tratamento ATZ (Figura 10a), diferentemente do observado para o solo argiloso, onde esses parâmetros não foram afetados. Não houve uma redução da biomassa da raiz e parte aérea para os tratamentos (incluindo NC), em comparação com o controle (Figura 10b).

Figura 10: Efeito dos tratamentos a) no comprimento e b) massa seca de raiz e parte aérea de plantas de mostarda após 7 dias da aplicação dos seguintes tratamentos em solo médio arenoso: água (Controle), nanocápsulas sem atrazina (NC), nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ) e atrazina comercial (ATZ). Os dados representam a média \pm SE (n = 5). Letras minúsculas acima das colunas indicam diferença entre os tratamentos para as avaliações em raiz e maiúsculas para a parte aérea de acordo com ANOVA seguido pelo teste de Tukey (P <0,05).



Para o solo médio arenoso, os primeiros sintomas macroscópicos como amarelecimento na margem das folhas foram observados para a ATZ e NC+ATZ de forma semelhante, principalmente nas folhas mais velhas. Com 7 DAA (Figura 11), as folhas estavam murchas e o pecíolo clorótico em ambos os tratamentos contendo atrazina. Entretanto, a necrose foi observada mais intensamente para plantas tratadas com a ATZ. Não foram observados sintomas visíveis para as plantas tratadas sem atrazina.

Figura 11: Sintomas macroscópicos da parte aérea em plantas de mostarda após 7 dias da aplicação dos seguintes tratamentos em solo médio arenoso: água (Controle), nanocápsulas sem atrazina (NC), nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ) e atrazina comercial (ATZ).

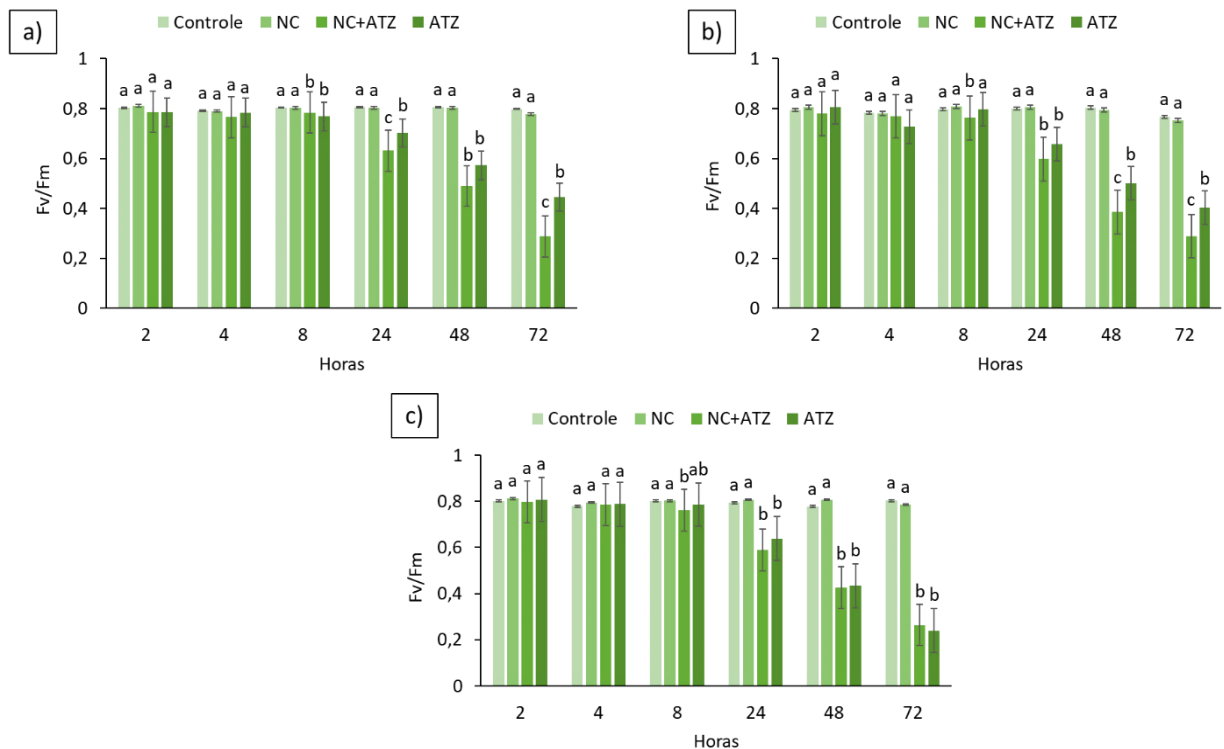


4.2 ENSAIOS COM APLICAÇÃO EM HIDROPONIA

Na Figura 12 é possível observar os dados de Fv/Fm obtidos em hidroponia em três pontos da planta: ápice e na região mediana do limbo da última folha totalmente expandida, e a folha mais nova em expansão. Para este ensaio, durante as primeiras 4 HAA, não foi possível observar uma redução significativa de Fv/Fm em nenhum dos tratamentos e folhas avaliadas. Com 8 HAA, observou-se a diminuição significativa do Fv/Fm em comparação com o controle e NC na região do ápice, para ambos os tratamentos contendo atrazina, mas eles não diferiram entre si (Figura 12a). Na região mediana do limbo da última folha jovem totalmente expandida e na folha mais jovem em expansão, essa redução foi induzida apenas por NC+ATZ (Figura 12b, c). A partir de 24 HAA, houve redução de Fv/Fm nas três regiões de avaliação para ambos os tratamentos. No entanto, foi apenas no ápice que os tratamentos contendo atrazina foram diferentes quando comparados entre si. A partir de 48 HAA, é possível visualizar quedas mais intensas no Fv/Fm para NC+ATZ na região mediana do limbo da última folha mais jovem totalmente expandida (acima de 40% comparada com o controle). Na última avaliação (72 HAA), a queda do Fv/Fm foi ainda mais acentuada para NC+ATZ quando comparada com ATZ, tanto no ápice quanto na região mediana do limbo (cerca de 50% em relação ao controle, respectivamente) (Figura 12a, b). O tratamento NC não diferiu do controle em nenhuma das avaliações.

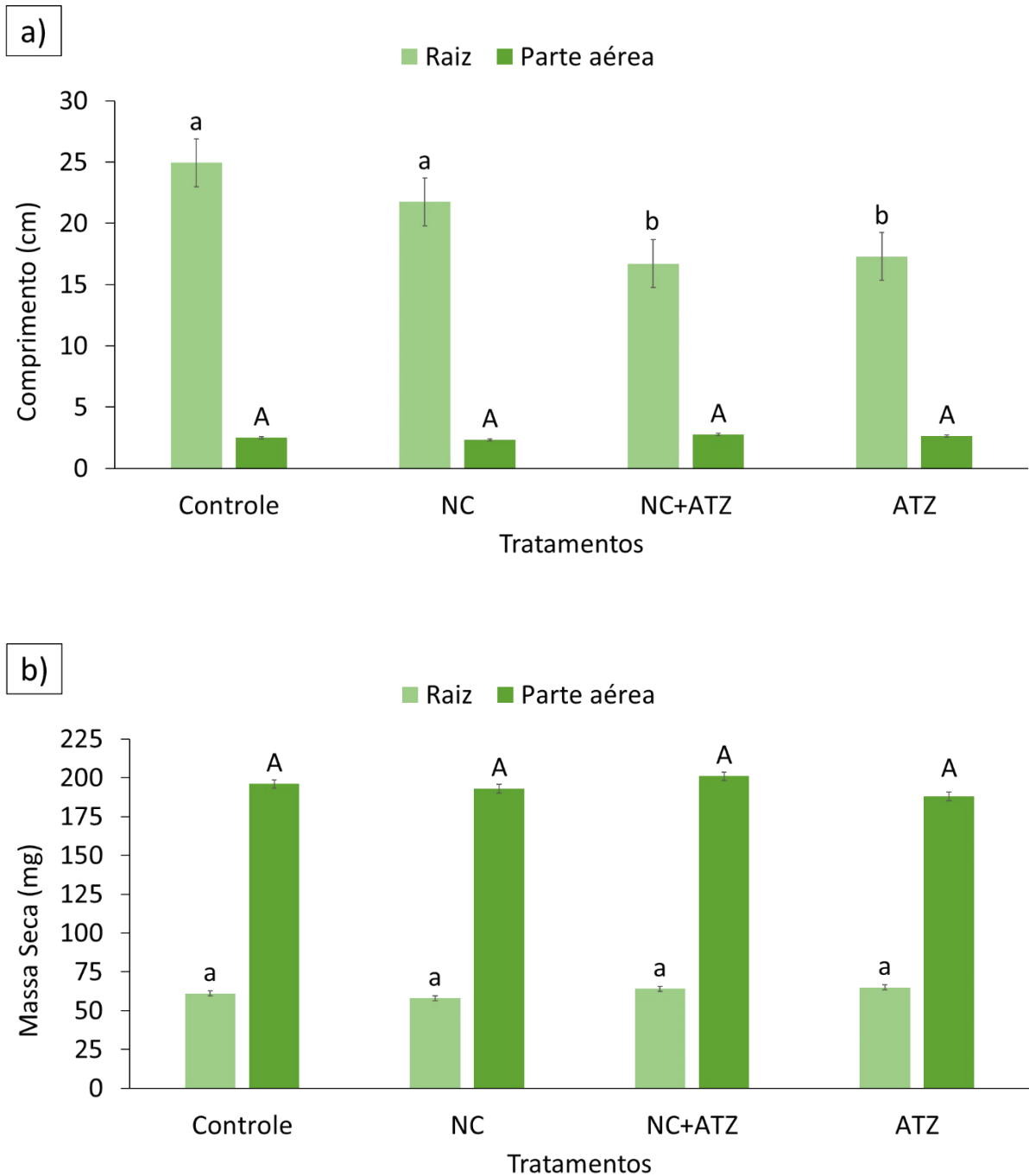
Em conjunto, os resultados demonstram que, quando fornecidas diretamente às raízes, as nanocápsulas de PCL carregadas com atrazina são mais eficazes do que a atrazina comercial, potencializando a sua atividade herbicida

Figura 12: Efeito dos tratamentos sob atividade máxima do fotossistema II (Fv/Fm) nas regiões do a) ápice e b) região mediana do limbo da folha jovem totalmente expandida e c) região mediana do limbo da folha mais jovem em expansão para cada intervalo de tempo após a aplicação dos seguintes tratamentos em hidroponia: água (Controle), nanocápsulas sem atrazina (NC), nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ) e atrazina comercial (ATZ). Os dados representam a média \pm SE (n = 6). Letras diferentes acima das colunas indicam valores significativamente diferentes em um mesmo intervalo de tempo após a aplicação de acordo com ANOVA seguida pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).



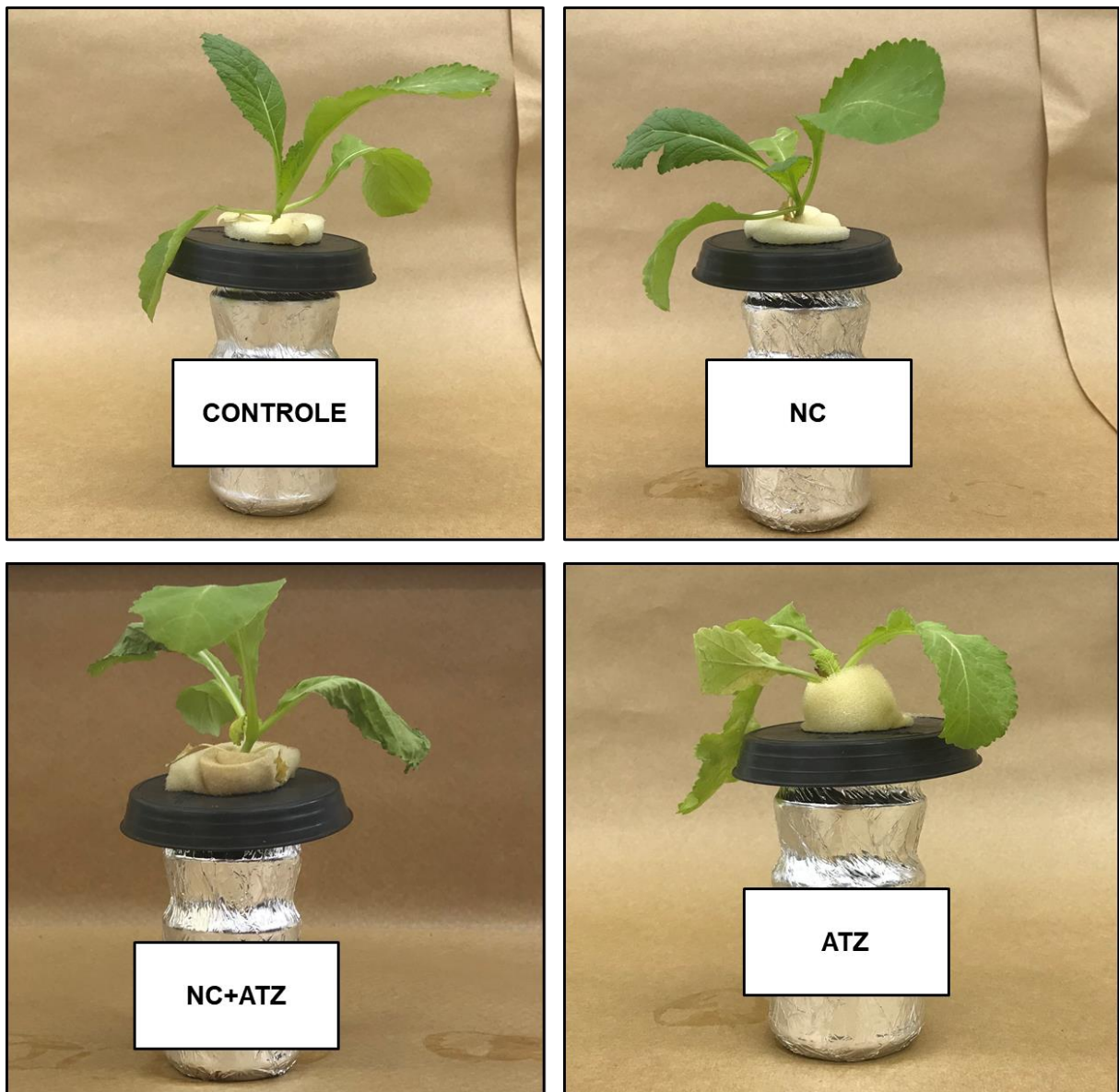
A análise de crescimento mostrou que NC+ATZ e ATZ induziram a inibição do comprimento apenas da raiz, mas não se diferem entre si (Figura 13). No experimento em hidroponia, o tratamento NC não apresentou efeitos fitotóxicos em nenhum dos parâmetros avaliados (Figura 13), diferentemente do que observado no solo argiloso (Figura 7). Além disso, assim como observado no solo médio arenoso, os tratamentos com atrazina também não afetaram a biomassa da raiz e da parte aérea das plantas de mostarda.

Figura 13: Efeito dos tratamentos no a) comprimento e b) massa seca de raiz e parte aérea de plantas de mostarda após 5 dias da aplicação dos seguintes tratamentos em hidroponia: água (Controle), nanocápsulas sem atrazina (NC), nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ) e atrazina comercial (ATZ). Os dados representam a média \pm SE (n = 6). Letras minúsculas acima das colunas indicam diferença entre os tratamentos para as avaliações em raiz e maiúsculas para a parte aérea de acordo com ANOVA seguido pelo teste de Tukey (P <0,05).



Os primeiros sintomas visíveis foram mais tardios em relação aos ensaios em solo, sendo observados a partir do 4 DAA. Com 7 DAA (Figura 14), as plantas tratadas com NC+ATZ apresentavam sintomas como murcha e necrose. Já o tratamento com ATZ resultou em sintomas aparente muito mais leves, limitando-se à clorose foliar. Não foram observados sintomas visíveis para as plantas tratadas sem atrazina.

Figura 14 : Sintomas macrocópicos da parte aérea em plantas de mostarda após 7 dias da aplicação dos seguintes tratamentos em hidroponia: água (Controle), nanocápsulas sem atrazina (NC), nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ) e atrazina comercial (ATZ).



4.3 ENSAIOS COM APLICAÇÃO EM HIDROPONIA DE NANOCÁPSULAS CONTENDO SONDA FLUORESCENTE

Para melhor entendimento da interação das nanocápsulas-plantas, novos ensaios em hidroponia foram realizados utilizando nanocápsulas contendo sonda fluorescente, a fim de verificar as regiões de absorção pelas raízes e translocação para a folha. Para isso, foi realizada uma análise em microscopia confocal para identificar as regiões de maior absorção e transporte de NC+ATZ contendo sonda fluorescente em plantas de mostarda.

Na figura 15, são apresentadas as imagens obtidas de uma amostra próxima à região de maturação nos intervalos de 1, 4 e 24 HAA, respectivamente. Conforme demonstrado nas imagens, a intensidade de penetração das nanocápsulas próxima a região de maturação da raiz foi significativa em todos os intervalos. Nessa região as células do córtex, a endoderme e o cilindro vascular já estão totalmente desenvolvidas.

A partir dessas imagens, podemos observar que, mesmo após um período de expolição relativamente curto de 1 HAA (Figura 15d, g), as nanocápsulas foram absorvidas e translocadas através dos tecidos que compõe a estrutura primária da raiz, sendo esses a epiderme, o córtex e os elementos de vasos. Neste intervalo, foi possível identificar o sinal intenso de fluorescência na região dos pelos absorventes, que são células muito alongadas da epiderme que atuam aumentando a superfície de contato. Entretanto, vale ressaltar que a absorção das nanocápsulas podem estar ocorrendo tanto por células comuns da epiderme como através dos pelos absorventes.

Ao longo do cilindro vascular, foi observado o sinal intenso de fluorescência, uma diferença que fica clara entre o controle (Figuras 15 a-c) e as plantas tratadas (Figuras 15 d), indicando que as nanocápsulas foram absorvidas, transportadas lateralmente pelas células parenquimáticas do córtex ou pelos espaços e chegaram até os vasos do xilema no cilindro vascular da raiz.

Para as raízes expostas a um intervalo maior, de 4 (Figuras 15 e) e 24 HAA (Figuras 15 f) o sinal fluorescente das nanocápsulas são mais intensos e concentrados nos vasos do xilema. Essa intensidade foi aumentando nos vasos do xilema conforme o tempo e diminuindo na região dos pelos absorventes, o que indicando que de fato NC+ATZ está sendo absorvida.

A Figura 16 representa as imagens das folhas de mostarda na porção medial. Aqui, é possível observar na região da epiderme com maior clareza o sinal intenso de fluorescência na folha com 24 HAA, indicando uma possível translocação via xilema da NC+ATZ para a parte aérea da planta. Essa presença de fluorescência nas folhas indica que ao menos parte das nanocápsulas chega até o sítio de ação da atrazina, onde deve ocorrer a liberação do herbicida.

Dessa forma, com as imagens, com as regiões em que há o sinal intenso de fluorescência (em raiz e folha) e com os dados de inibição do FSII, podemos aceitar a hipótese de que as nanocápsulas poliméricas de PCL são absorvidas pelas raízes e translocadas para as folhas via xilema.

Figura 15: Amostras de raiz analisadas em um microscópio confocal dos seguintes tratamentos em hidroponia: água (Controle) e nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ). As imagens (a-c) representam controle (50 μm), (d-f) NC+ATZ (100 μm) em intervalos de tempo de 1, 4 e 24 horas após a aplicação (HAA), (g-i) NC+ATZ (50 μm) em intervalos de tempo de 1, 4 e 24 (HAA) na região central. As setas indicam as estruturas na região analisada: pelos absorventes (p.a), cilindro vascular (c.v), região do cortex (c), epiderme (e).

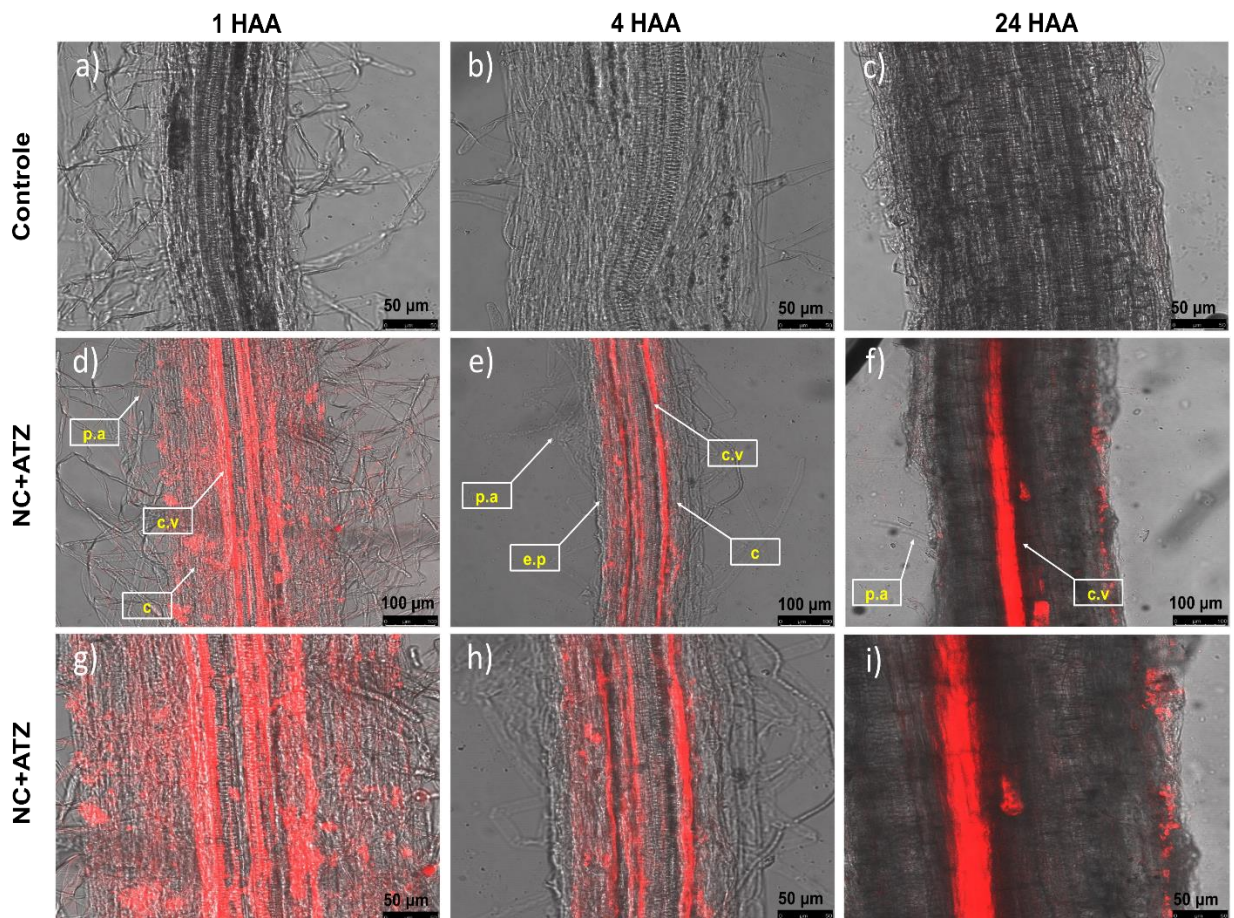
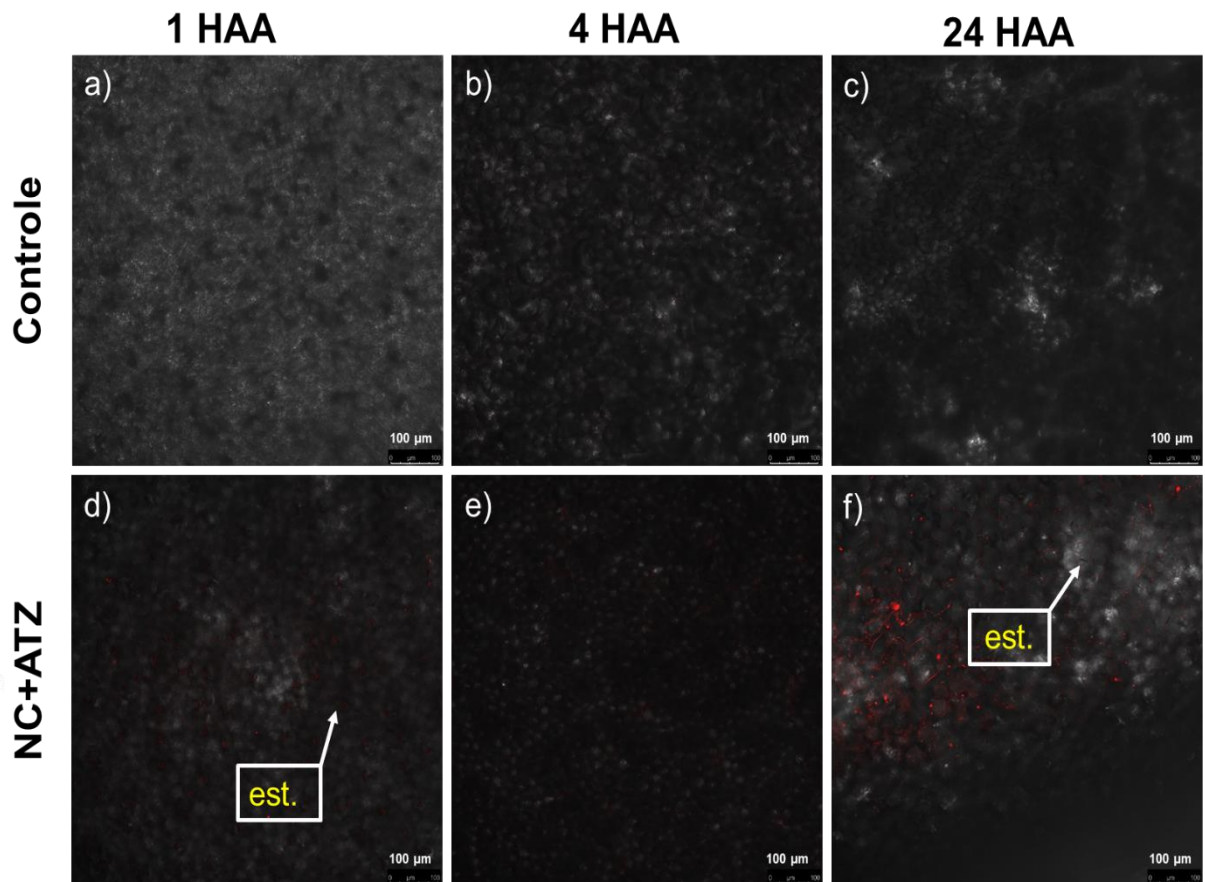


Figura 16: Amostras de folhas analisadas em um microscópio confocal dos seguintes tratamentos em hidroponia: água (Controle) e nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ). As imagens (a-c) representam controle (100 μm), (d) NC+ATZ (100 μm) com 1 hora após aplicação (HAA), (e) NC+ATZ (100 μm) com 4 HAA, (f) NC+ATZ (100 μm) com 24 HAA, na região mediana do limbo. As setas indicam as estruturas na região analisada : estômatos (est.).



4.4 ENSAIO COM APLICAÇÃO FOLIAR

A figura 17 apresenta a atividade máxima do FSII em diferentes regiões das folhas de mostarda após uma aplicação localizada de tratamentos de atrazina na região mediana do limbo da folha mais jovem totalmente expandida. No local de aplicação dos tratamentos, foi possível observar maior inibição do FSII por NC+ATZ em relação aos demais tratamentos já com 2 HAA, a qual se manteve nas demais avaliações (Figura 17a). A partir de 8 HAA, houve uma pequena queda de

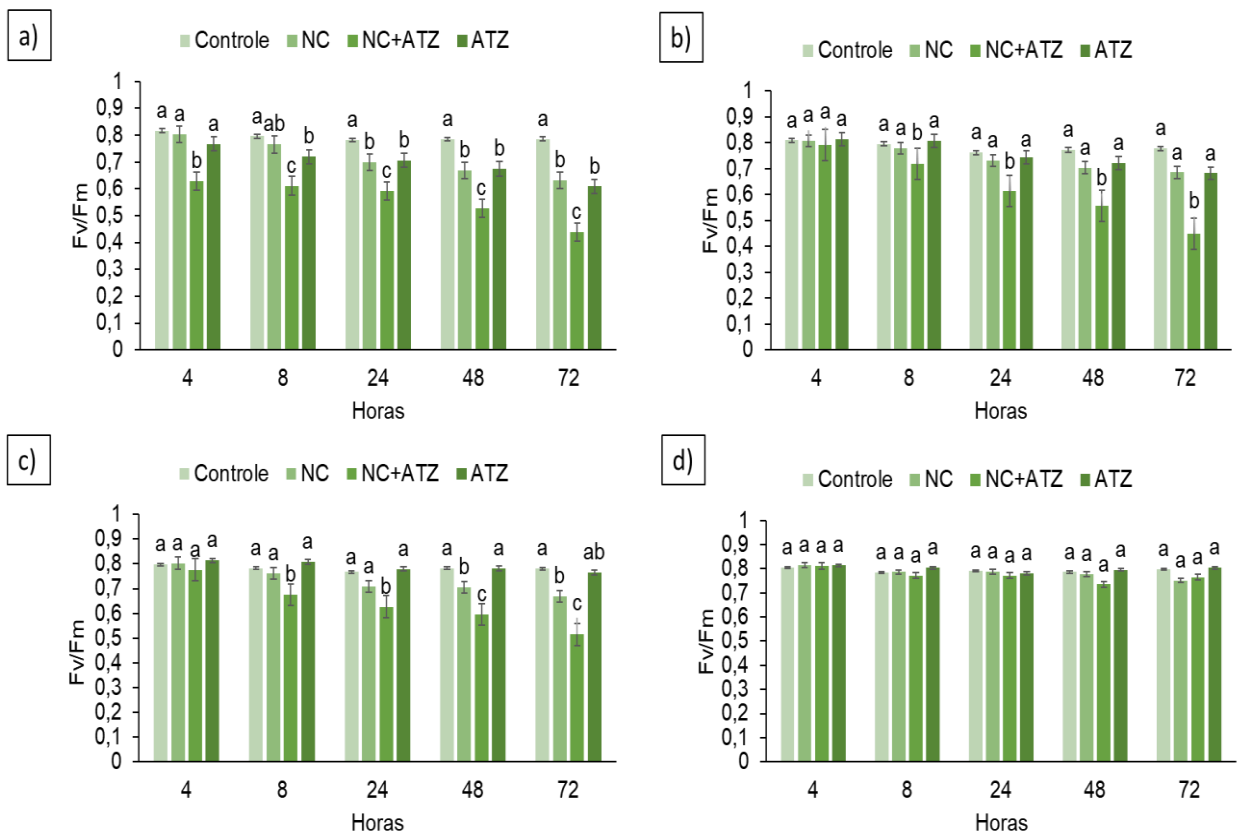
Fv/Fm induzida por NC e ATZ, que se diferiram do controle, mas não entre si. Essa pequena redução induzida por NC e ATZ continuou até a última avaliação.

No ápice foliar, observou-se a redução gradual do Fv/Fm induzida pela aplicação de NC+ATZ na região mediana do limbo, indicando a translocação da atrazina para essa região (Figura 17b). Essa queda da atividade do FSII no ápice induzida por NC+ATZ foi superior a 30% em comparação ao controle, às 72 HAA. Em contraste, ATZ não diminuiu a atividade do FSII no ápice da folha, indicando a maior translocação via xilema de NC+ATZ em comparação a ATZ.

ATZ também não reduziu o Fv/Fm na base da folha, enquanto NC+ATZ levou a efeitos claros na atividade de FSII nesta região. Além disso, também foi observado inibição por NC (Figura 17c). Na base do limbo, a inibição induzida por NC+ATZ foi em torno de 25% com 72 HAA, sendo um pouco menor do que a causada pela mesma formulação na região mediana e ápice do limbo foliar. No entanto, na folha mais jovem não tratada da mesma planta, não houve efeitos significativos dos tratamentos, apesar de uma tendência de queda induzida por NC+ATZ às 48 HAA.

De uma forma geral, esses dados sugerem que a nanoatrazina apresenta maior absorção e translocação foliar que a atrazina comercial. Além disso, é importante ressaltar que como não houve efeito de NC em nenhuma outra região avaliada, com exceção do local de aplicação, essa queda de Fv/Fm pode ser um efeito fitotóxico indireto após a aplicação. Isso porque essa região fica com algumas manchas esbranquiçadas mesmo após a secagem, podendo prejudicar o processo de fotossíntese naquela região.

Figura 17: Atividade máxima do fotossistema II (Fv/Fm) na região mediana do limbo (a), ápice (b) e base (c) das folhas de mostarda mais jovem totalmente expandida (folha tratada) e na folha mais jovem em expansão (não tratada) da mesma planta (d) para cada intervalo de tempo após a aplicação dos seguintes tratamentos na região mediana do limbo: água (Controle), nanocápsulas sem atrazina (NC), nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ) e atrazina comercial (ATZ). Os dados representam a média \pm SE (n = 6). Letras diferentes acima das colunas indicam valores significativamente diferentes em um mesmo intervalo de tempo após a aplicação de acordo com ANOVA seguida pelo teste de Tukey (P<0,05).



4.5 ENSAIO COM APLICAÇÃO FOLIAR DE FUSICOCINA (FSC)

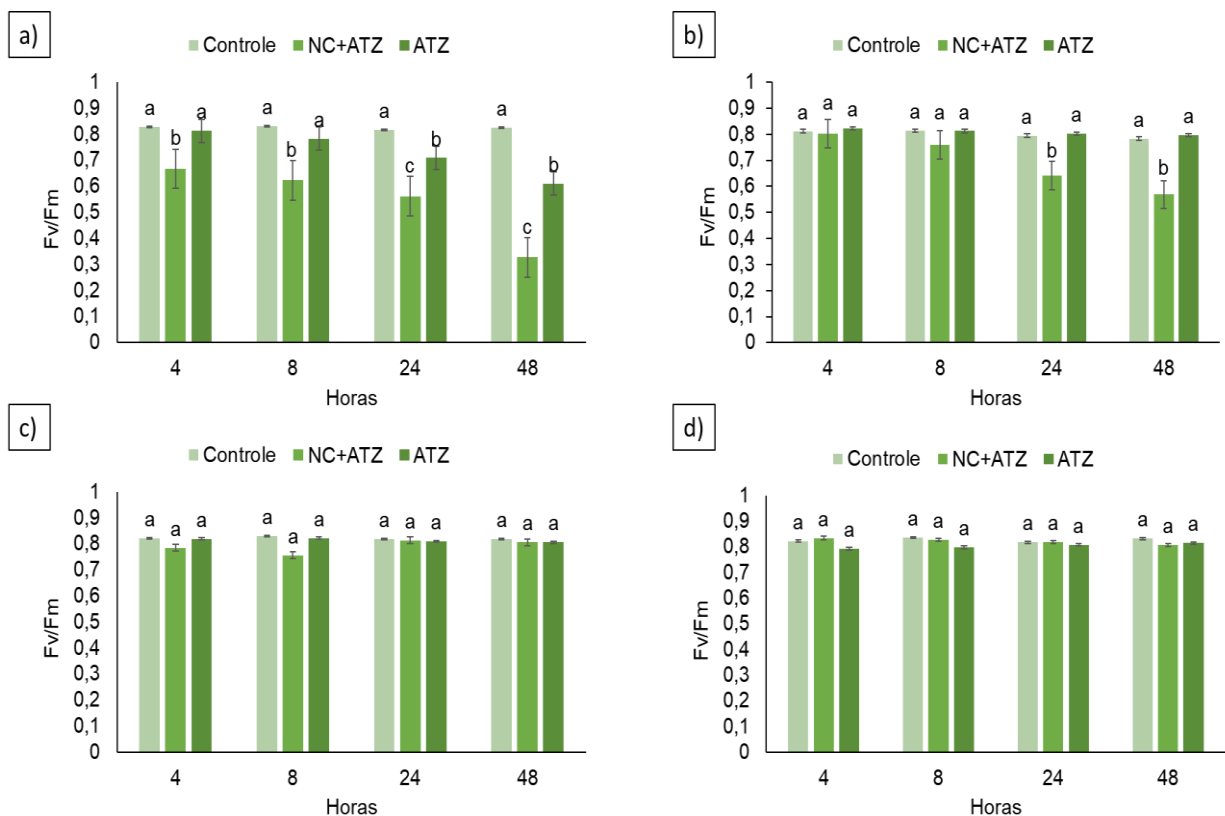
A Figura 18 apresenta a atividade máxima do FSII em diferentes regiões das folhas de mostarda após tratamento com fusicocina. Os efeitos de NC+ATZ foram maiores com fusicocina do que sem essa substância.

No local de aplicação dos tratamentos, observamos a maior inibição do FSII por NC+ATZ em relação ao controle e ATZ já com 4 HAA (Figura 18a). Os resultados foram semelhantes com 8 HAA. A partir de 24 HAA, houve uma pequena queda de Fv/Fm induzida por ATZ, que se diferiram do controle, e de NC+ATZ. Essa pequena redução induzida continuou até a última avaliação.

Já para o ápice foliar, houve redução gradual do Fv/Fm induzida pela aplicação de NC+ATZ na região mediana do limbo da folha somente a partir de 24 HAA, indicando que está tendo a translocação da atrazina para essa região (Figura 18b). Essa queda foi superior a 20% em comparação ao controle, às 48 HAA. Em contrapartida, ATZ não diminuiu a atividade do FSII no ápice da folha em nenhum dos intervalos avaliados, indicando a maior translocação via xilema de NC+ATZ em comparação a ATZ.

NC+ATZ e ATZ não reduziram o Fv/Fm na base da folha tratada (Figura 18c). Isso indica que o tratamento com fusicocina pode estar inibindo uma possível translocação via floema da nanoatrazina para outras partes da folha, já que no ensaio anterior foi possível observar efeitos nessa região. Além disso, na folha mais jovem não tratada da mesma planta, também não houve efeitos significativos dos tratamentos (Figura 18d).

Figura 18. Atividade máxima do fotossistema II (Fv/Fm) na região mediana do limbo (a), ápice (b) e base (c) da folha de mostarda mais jovem totalmente expandida (folha tratada com fusicocina + tratamentos) e na folha em expansão (não tratada) para cada intervalo de tempo após a aplicação dos seguintes tratamentos na região mediana do limbo: água (Controle), nanocápsulas com atrazina (NC+ATZ) e atrazina comercial (ATZ). Os dados representam a média \pm SE (n = 6). Letras diferentes acima das colunas indicam valores significativamente diferentes em um mesmo intervalo de tempo após a aplicação de acordo com ANOVA seguida pelo teste de Tukey (P <0,05).



5 DISCUSSÃO

5.1 APLICAÇÃO NA RAZI

De forma geral, os resultados obtidos nos ensaios de aplicação na raiz indicam que a nanoencapsulação da atrazina aumentou a atividade do herbicida, corroborando os dados que o nosso grupo de pesquisa vem obtendo (PREISLER et al., 2020). Isso ocorreu provavelmente pelo aumento da absorção radicular e sua translocação via xilema.

Comumente herbicidas aplicados ao solo, como a atrazina, são absorvidos de forma semelhante à água, através dos pelos radiculares que aumentam a superfície de absorção (DUNCAN, 2018). Considerando que a entrada

dos herbicidas nas raízes ocorra pela combinação do fluxo de massa de água no solo em resposta a transpiração e da difusão ao longo do gradiente de concentração, é possível que a zona de multiplicação celular das raízes constitua um dos principais locais de absorção dos herbicidas (DEVINE et al., 1992) e, possivelmente, da atrazina nanoencapsulada. No entanto a fisiologia, morfologia e as funções metabólicas são diferentes entre as espécies de plantas, fazendo com que a capacidade de absorção das nanopartículas também o seja (LAYET et al., 2017).

Uma das propriedades de maior impacto na planta quanto à absorção é o tamanho da partícula em relação ao poro da parede celular (RICO et al., 2011, TRIPATHI et al., 2017; MA et al., 2010a; PALOCCI et al., 2017). Após a interação com a raiz, as nanopartículas são adsorvidas à superfície radicular, penetram na parede da epiderme difundindo nos espaços intercelulares sem atravessar a membrana plasmática, até chegar à endoderme (TRIPATHI et al., 2017; LV et al., 2019). Assim, uma das principais rotas para o transporte de nanopartículas nas raízes é via apoplasto (JUDY et al., 2012).

No entanto, sabe-se que uma das barreiras para chegar ao vaso do xilema são as estrias de Caspary, isto porque elas desviam o fluxo da via apoplástica para a simplástica. Na região de absorção da raiz primária, na parede das células da endoderme existe uma faixa espessa de suberina e de lignina, denominada estria de Caspary. Nessa posição onde a composição é diferente a membrana plasmática fica aderida a estria de Caspary, assegurando que somente os compostos que atravessem pela seletividade da membrana plasmática cheguem ao xilema (TAIZ et al., 2017).

Alguns autores acreditam que as nanopartículas podem chegar aos vasos condutores via apoplasto sem precisar atravessar essa barreira, sendo uma das alternativas penetrar na região da ponta da raiz onde não há formação da estria de Caspary (LV et al., 2015; SCHYMURA et al., 2017).

Todavia, neste trabalho foi possível identificar nas imagens obtidas por microscopia confocal maior intensidade de fluorescência na região de maturação, onde os tecidos já estão diferenciados, logo na primeira hora após a aplicação quando utilizado nanoatrazina contendo sonda fluorescente (item 4.3). Foi avaliada outra ponto da raiz (próxima a região do colo), onde a fluorescência foi menos intensa e mais demorada para aparecer (dados não mostrados). Assim,

nosso dados ratificam a importância da região de maturação para a absorção mais eficiente da nanoatrazina.

Outra possibilidade para o transporte interno é através da rota simplástica, onde NC+ATZ seriam transportadas célula a célula. Para essa rota, encontram-se outras barreiras além da parede celular, como a penetração da membrana celular para a entrada no protoplasto e transporte via plasmodesmos (LV et al., 2015). No geral, ambos os sistemas de transporte, apoplasto e plasmodésmico simplástico, são importantes no processo de absorção junto com a água.

Todavia, poucos estudos estão disponíveis que demonstrem diretamente a absorção e transporte de nanocápsulas poliméricas pelas plantas. Além disso, a literatura contrasta bastante em relação a fatores como o tamanho das partículas absorvidas, isto porque estima-se que o diâmetro dos poros da parede celular é inferior (5-20 nm) a boa parte das nanopartículas (PALOCCI et al, 2017). Como alternativa, determinados autores vêm discutindo que algumas nanopartículas podem induzir a criação “buracos/poros” que permitiriam a penetração de partículas maiores (acima de 100 nm) (NAIR et al., 2010), facilitando assim a interação com as plantas.

Quando se trata de aplicação no solo, outros fatores como qualidade e quantidade de matéria orgânica, teor de argila, capacidade de troca de cátions (CTC) e pH do solo são importantes, por influenciarem o processo de adsorção do herbicida (DANIEL et al., 2002; CELANO et al., 2008; MARTINAZZO et al., 2011). Isto porque parte das moléculas de herbicidas depositadas no solo tendem a ligar-se aos colóides do solo e, assim, não ficam prontamente disponível para as plantas em relação as moléculas de herbicida presentes na solução do solo (BINET et al., 2006; HARTZLER, 2019).

De forma geral, solos com elevado teor matéria orgânica (MO) e argila, e baixo pH costumam favorecer maior sorção para determinados herbicidas (incluindo a atrazina), conseqüentemente diminuindo a mobilidade dessas moléculas no solo (SCHWAB et al., 2006; KASOZI et al., 2012) ou seja, permanecem na região de disponibilidade de absorção pelas raízes. Vale ressaltar que a segurança e eficiência de um herbicida também estão relacionados à característica de baixa lixiviação (HARTZLER, 2019).

Em um ensaio realizado pelo nosso grupo de pesquisa, observamos em solos com características distintas que NC+ATZ lixivia menos que a atrazina comercial (dados não apresentados). Além disso, observou-se que quanto mais rico em MO e argila é o solo, mais as formulações NC+ATZ e ATZ se concentravam nas camadas superiores desse solo.

A MO além de interferir na mobilidade dos nanomateriais, afeta também na estabilidade eletrostática da partícula (PHILIPPE e SCHAUMANN, 2014; KLITZKE et al., 2015). Propriedades da superfície do nanomaterial, como carga superficial e tipo de material, também podem interferir na interação com as raízes e no comportamento no solo, afetando a disponibilidade para as plantas.

Considerando que atrazina apresenta baixa solubilidade em água (35 mg L^{-1} a 20°C) vinculada à baixa polaridade (Kow log moderado de 2,7) (PPDB, 2020), pode-se dizer que a molécula possui potencial de se adsorver à fração orgânica dos coloides do solo (BINET et al., 2006). Mas vale lembrar que a solubilidade dos ingredientes ativos pode aumentar a mobilidade no solo e degradação por microrganismos, por exemplo.

Os dados obtidos aqui indicam a maior eficiência da atividade herbicida para NC+ATZ. Com isso, vale ressaltar que a nanoatrazina é uma formulação com características físico-químicas diferentes da formulação comercial (ATZ). Durante a etapa de inserção da fase orgânica sobre a fase aquosa para formação da nanoatrazina (GRILLO et al., 2012), o surfactante presente é responsável por estabilizar as nanocápsulas em água, conferindo a elas um caráter anfifílico (POHLMANN, et al., 2013) (a nanoatrazina contém parte de suas regiões hidrofóbicas e parte hidrofílica) com capacidade distintas para as interações eletrostáticas com a raiz.

A carga da nanocápsulas neste trabalho é negativa, o que tende a minimizar as interações eletrostáticas com as células da epiderme, diminuindo a quantidade retida na superfície da raiz e assim tornando mais efetivo o processo de absorção e transporte (ZHU et al., 2012; RICO et al., 2017; SPIELMAN-SUN et al 2019) e, conseqüentemente, potencializa a atividade herbicida do ingrediente ativo encapsulado.

Em conjunto, os resultados descritos para os tratamentos do solo argiloso e médio arenoso elucidam o fato de que as características de cada solo influenciam sim no comportamento dos herbicidas, assim como das nanocápsulas

em cada um dos parâmetros avaliados. Isso porque observamos que os comportamentos foram inversos em períodos acima de 24 HAA, ou seja, foi demonstrada uma maior eficiência na atividade herbicida para NC+ATZ para o solo argiloso em todos os intervalos de tempo avaliados, enquanto no solo médio arenoso, apesar do alto teor de matéria orgânica, NC+ATZ apresentou maior eficiência na atividade herbicida apenas com 8 HAA. Após essa avaliação, a ATZ não encapsulada apresentou maior efeito inibitório e toxicidade, a partir de 24 HAA.

Foi demonstrado em um estudo com nanopartículas de ZnO em solo arenoso que a absorção das nanopartículas foi limitada em até 7% devido da agregação com coloides minerais do solo (ZHAO et al., 2012).

Dados prévios demonstram maior sorção da nanoatrazina em comparação com a atrazina comercial para solo médio arenoso nas camadas de 5-10, 10-15 principalmente (dados não apresentados), ficando assim menos disponível para a absorção da planta, o que pode vir a reduzir a eficiência na inibição do fotossistema II em comparação com a atrazina comercial.

Entretanto, um fato importante a ser observado, é que apesar da menor disponibilidade no solo médio arenoso para absorção, nas primeiras 8HAA, a maior queda de F_v/F_m foi para NC+ATZ. Isso nos possibilita acreditar, que assim como a absorção a translocação também pode se tornar mais eficiente pela nanoencapsulação.

Em relação aos parâmetros fitométricos, vimos que a parte aérea foi afetada apenas pelo tratamento ATZ no solo médio arenoso. Enquanto para o comprimento da raiz houve redução de forma semelhante entre NC+ATZ e ATZ no solo médio arenoso (Figura 9a). Além disso, os tratamentos com atrazina não afetaram a biomassa da raiz e da parte aérea das plantas de mostarda nessas condições.

No solo argiloso houve uma redução da biomassa da parte aérea para os tratamentos (incluindo NC), em comparação com o controle. Esse efeito pode estar sendo causado por alguma interação das NC com componentes do solo argiloso, ou com a microbiota desse solo, (DE LA ROSA et al., 2021) visto que esse efeito não foi observado em nenhum dos outros tratamentos. Outra hipótese é a que as nanocápsulas poderiam estar dificultando a absorção de determinados nutrientes pelas plantas (como os cátions), devido a presença de cargas negativas em sua superfície, levando assim a um efeito inibitório do desenvolvimento da planta.

Sousa et al. (2018) observaram redução no crescimento de raiz para *Bidens pilosa*, em resposta às nanocápsulas carregadas com atrazina, sendo mais efetivas do que a atrazina comercial. Aqui, mesmo a diferença não sendo significativa entre os tratamentos contendo atrazina, existe uma tendência maior para NC+ATZ na redução do comprimento das raízes.

Analisando o efeito residual da nanoatrazina a curto e longo prazo, foi observado menor acúmulo de biomassa da parte aérea em plantas de soja para todas as formulações contendo atrazina. A longo prazo ocorreu uma diminuição geral da fitotoxicidade nas plantas; no entanto, ao comparar os efeitos da atrazina e nanoatrazina nas mesmas concentrações (200 e 2.000 g ha⁻¹) descobriu-se que a massa seca da parte aérea foram afetadas na mesma proporção (PREISLER et al., 2020).

Um estudo realizado em campo também demonstrou os efeitos negativos em culturas subsequentes devido ação dos herbicidas residuais na cultura de milho, incluindo atrazina, sendo enfatizado no desenvolvimento inicial, na biomassa e nos grãos (SOLTANI et al., 2012; CARATTI et al 2014).

Contudo, para uma melhor compreensão da influência do solo na absorção e transporte das nanocápsulas, assim como seus efeitos, foram realizados dois ensaios no sistema hidropônico. Um ponto interessante aqui, foi que, durante as primeiras 4 HAA, não foi possível observar uma redução significativa de Fv/Fm em nenhum dos tratamentos e folhas avaliadas, fato este que pode estar relacionado com a maior diluição das formulações. Diferentemente do que ocorre no solo, onde a solução do solo estava mais concentrada tanto com NC+ATZ e ATZ. Aqui avaliamos mais de uma região da folha, a fim de compreender a translocação dessas partículas e vimos que os efeitos inibitórios foram mais acentuados para NC+ATZ com 72 HAA, no ápice e na região mediana do limbo da folha jovem totalmente expandida (de 50 e 47%, respectivamente). Os efeitos na inibição foram mais tardios, assim como no solo médio arenoso; entretanto, foram frequentemente mais acentuadas para NC+ATZ assim como no solo argiloso.

Alguns trabalhos realizados em sistema semelhante de hidroponia observaram forte associação entre as raízes de soja e nanopartículas de zeína, tanto em função do tempo quanto da concentração em que foram expostas, sendo efetivamente absorvidas. Os autores relatam que parte dessa associação já era esperada neste sistema, pois a água, os nutrientes, e conseqüentemente as

nanopartículas presentes na solução são absorvidas e conduzidas pelas raízes por capilaridade. Além disso, devido a marcação das nanopartículas com fluoresceína, observou-se uma pequena quantidade de fluorescência detectada nas folhas da planta, indicando que uma porção das partículas foi absorvida e translocada (RISTROPH et al., 2017).

Em outro trabalho, observou-se a interação de nanopartículas de zeína em plantas de cana-de-açúcar, em que foi possível identificar a presença de fluorescência na epiderme e endoderme da raiz (PRASAD et al., 2017). Já neste trabalho foram observados a presença de fluorescência das nanocápsulas na região da epiderme, só que aqui foi possível visualizar com maior clareza o sinal intenso de fluorescência no interior das células condutoras do xilema nas imagens em microscopia confocal.

Zhao et al. (2012) observaram em imagens de microscopia confocal que agregados de ZnO NP (nanopartículas de óxido de zinco) penetraram na epiderme da raiz e na região do córtex através da via apoplástica. Contudo a presença ZnO NP nos vasos do xilema sugeriu que os agregados passaram a endoderme pela via simplástica.

Discutiu-se anteriormente diversas possibilidades quanto às rotas de absorção para as nanopartículas em geral. A região da raiz em que foram capturadas as imagens e a intensidade da fluorescência nos permitem acreditar que a zona pilífera constitua um dos principais locais de absorção para as nanocápsulas de PCL. Além disso, um outro ponto importante é que aparentemente o tamanho da nanoatrazina não está interferindo no processo de absorção.

Vale enfatizar que durante as coletas foram realizadas as avaliações de Fv/Fm a fim de verificar a eficiência da formulação. Foi observado inibição na região mediana do limbo da última folha jovem totalmente expandida por NC+ATZ em relação controle em torno de 20% com 24 HAA (dados não apresentados).

Em relação aos parâmetros fitométricos, observamos redução de forma semelhante entre NC+ATZ e ATZ no sistema hidropônico apenas para comprimento da raiz (Figura 13a). Além disso, os tratamentos com atrazina e a formulação NC não afetaram a biomassa da raiz e da parte aérea das plantas de mostarda.

Em um contexto geral podemos aceitar a hipótese de que a nanoatrazina (NC+ATZ) é absorvida pelas raízes e translocada via xilema para parte

aérea. Contudo, estudos ainda são necessários para melhor compreensão do comportamento em solo das nanocápsulas poliméricas (PCL) e como isso influencia no processo de absorção em plantas.

5.2 APLICAÇÃO NA FOLHA

Quando se trata de herbicidas aplicados em folhas, podemos considerar duas vias importantes para o processo de absorção: uma lipofílica (pela cutícula das células da epiderme) e outra através dos estômatos. Entretanto, sabe-se que a absorção e a mobilidade do ingrediente ativo assim como dos nanomateriais associados a ele está relacionada às características como carga, dimensão da partícula e tipo do material utilizado (SCHÖNHERR et al., 2000; SCHÖNHERR et al., 2006; GRILLO et al., 2012; RICO et al., 2011; TRIPATHI et al., 2017; MA et al., 2010). Considerando o caráter lipofílico da camada externa da cutícula (que apresenta mais compostos apolares) e as características físico-químicas da atrazina, como baixa solubilidade em água (35 mg L^{-1} a 20C) vinculada à baixa polaridade (Kow log moderado de 2,7), espera-se que a adesão dessas partículas à folha ocorra por interações hidrofóbicas e que a absorção possa ocorrer por difusão através da cutícula (AVELLAN et al, 2019; PPDB, 2020;).

No entanto, quando se trata de nanocápsulas, as vias de entrada não são claramente compreendidas. Um fator limitante a absorção é a dimensão das nanocápsulas. Um estudo recente indicou que partículas com tamanho de até 50 nm podem entrar nas folhas das plantas por vias de absorção cuticular (AVELLAN et al, 2019). Considerando isso, se torna incompatível a absorção via cutícula da nanocápsulas contendo atrazina, visto que o tamanho aproximado de NC+ATZ utilizada neste trabalho é em torno de 260 nm. Porém, se consideramos que o ativo pode ser liberado pelas nanocápsulas na superfície da folha, a absorção cuticular se tornaria possível.

Todavia, é importante destacar que a nanoatrazina apresenta um caráter hidrofílico, ou seja, é uma formulação distinta da formulação comercial. Assim sendo, a diferença entre essas propriedades (como maior estabilidade aquosa), permitiria a entrada através de outros caminhos, como os estômatos.

Os estômatos possuem tamanhos que podem variar de 10 a 100 μm (AVELLAN et al., 2019), tornando mais viável a absorção de partículas maiores. Além disso, relatos mostram que a largura de abertura entre as células guarda em folhas de mostarda é de aproximadamente 7,5 μm , o que, em tamanho, possibilita a entrada de NC+ATZ naquele local (ZHU et al., 2008).

Dados prévios indicam que a entrada da nanoatrazina nas folhas de mostarda se dá através dos estômatos e hidatódios localizados na margem do limbo (BOMBO et al., 2019). Outros trabalhos também relatam a possibilidade de nanopartículas inorgânicas e poliméricas seguirem a rota dos estômatos ao entrarem em contato com a superfície da folha (EICHERT et al., 2008; LV et al., 2019). Foi observado ainda em folhas de pimenta que a via estomática na região dos hidatódios favorece a absorção de nanocarreadores na superfície foliar (NGUYEN et al., 2014).

Em estudo realizado com nanopartículas de CeO_2 , foi sugerido que a absorção na superfície foliar ocorria através dos hidatódios e estômatos e o transporte via floema para outras regiões da planta (HONG et al., 2014). Porém, isso ainda precisa ser estudado para nanocarreadores poliméricos.

Nossos dados sugerem, com base na redução de F_v/F_m em outras regiões da folha (Figura 17), que a nanoencapsulação afetou positivamente a translocação do herbicida. A atrazina é um herbicida sistêmico, translocada principalmente via xilema e com pouca translocação via floema. Isso ocorre devido as características química da molécula (Kow log moderado de 2,7) e possivelmente porque as células do xilema estão mortas, propiciando uma caminho livre pelos vasos. Já as células condutoras do floema estão vivas e com transporte via áreas crivadas. A queda da atividade do FSII no ápice foliar ratifica a importância da via xilemática de translocação da atrazina.

Todavia, a aplicação de NC+ATZ na região mediana do limbo também levou a uma pequena redução de F_v/F_m na base da folha tratada até o final das medições 72 HAA (Figura 17). Esses resultados sugerem que a nanoencapsulação também poderia promover, apesar de pouco, a translocação via floema, o que melhoraria ainda mais a distribuição do herbicida pela planta.

Essa permeabilidade intermediária da atrazina entre os células condutoras de xilema e floema pode ocorrer em regiões da folha onde a quantidade de células parenquimáticas é maior do que células condutoras, como por exemplo

nas extremidades dos sistemas vasculares (JACHETTA et al., 1986a; JACHETTA et al., 1986b). Neste cenário, se considerarmos que o transporte pode ocorrer por essas duas rotas, é importante considerar composição da seiva do floema assim como o fluxo de transporte, a fim de diminuir os riscos de agregação, precipitação ou mesmo de dissolução das nanoformulações (DE LA ROSA, et al., 2021).

A alta mobilidade de NC+ATZ na folha tratada pode ser explicada ainda pelas características da superfície da partícula que parece seguir o caminho da água no interior dos elementos dos vasos de forma mais eficaz em relação a formulação comercial de atrazina. O potencial zeta negativo das NC+ATZ de PCL (GRILLO et al., 2012) sugere que ocorram menos interações eletrostáticas com as paredes celulares das folhas (BOMBO et al., 2019), evitando o acúmulo e facilitando sua distribuição através dos tecidos vasculares, favorecendo assim a atividade herbicida, o que foi confirmado pela medida de Fv/Fm.

No entanto, a translocação além da região aplicada (curta distância) pode estar ocorrendo através das células do mesófilo simplasticamente (célula a célula) ou ainda direto no espaço intercelular das células em uma taxa mais baixa (BOMBO et al., 2019; DE LA ROSA et al., 2021).

Estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa demonstraram que a nanoencapsulação de atrazina potencializa a atividade herbicida pós-emergente em plantas de *Brassica juncea*, *Bidens pilosa*, *Amaranthus viridis* e melhorou o controle de *Digitaria insularis*, considerada uma espécie relativamente tolerante à atrazina (OLIVEIRA et al., 2015a; SOUSA et al., 2018; SOUSA et al., 2020).

Baseado nesses resultados promissores quanto à absorção via estômatos foram realizados ensaios com fusicocina (FSC) (que estimula a abertura dos estômatos) para melhor compreensão dessa rota de absorção da nanoatrazina na folha. Vale ressaltar que a espécie utilizada tem estômatos na face adaxial e abaxial (BOMBO et al., 2019), e por isso foi possível realizar as avaliações na face adaxial.

Assim como observado no item 4.4, os dados do ensaio com FSC (item 4.5) sugerem que NC+ATZ apresenta de fato maior absorção e translocação foliar que a ATZ e que os efeitos se concentraram na região mediana do limbo, local onde foi aplicado tanto a FSC quanto os tratamentos com atrazina, devido ao fluxo transpiratório maior. Entretanto, o tratamento prévio com a FSC parece limitar o transporte de NC+ATZ para as outras regiões da planta, diferentemente do que foi

observado no ensaio sem FSC, além de retardar os efeitos inibitórios de ATZ. É importante destacar que apesar da baixa translocação para demais regiões da planta, a diferença entre os efeitos de NC+ATZ e ATZ, ou seja, o ganho proveniente da nanoencapsulação, foi maior com FSC do que sem essa substância, o que sugere a importância da via estomática.

Esses resultados podem ser um efeito indireto da ativação irreversível da H⁺-ATPases pela fusicocina, que resulta no murchamento da folha (TURNER E GRANITI, 1969), gerando um estresse (similar ao estresse por falta de água) à planta antes mesmo da aplicação do herbicida, além disso pode acabar reduzindo o pH apoplástico (FROMARD et al., 1995). Isto porque a substância tem a capacidade de neutralizar estímulos responsáveis pelo fechamento estomático gerados sob condição de estresse, como é o caso do ABA, regulando a perda excessiva de água (HUANG et al., 2013). Além disso, como a atrazina é transportada preferencialmente via xilema, rota essa de transporte de água, e com o fluxo transpiratório mais intenso, faz sentido observar inibição apenas nas regiões de aplicação e ápice, rota pela qual o herbicida é transportado.

Outro fator a ser analisado é que com a entrada mais livre pela abertura irreversível dos estômatos, NC+ATZ pode percorrer mais diretamente através do sistema vascular (semelhante a “penetração” via hidatódios) potencializando a atividade da nanoformulação. Com os estômatos abertos, as nanocápsulas podem penetrar facilmente na câmara subestomática direto no espaço intercelular das células do parênquima clorofiliano, diferentemente do que ocorre com aplicação sem FSC, onde a entrada tende a ser mais contida. Bombo et al. (2019) observaram efeitos similares para regiões dos hidatódios.

Considerando ainda a ativação descontrolada H⁺-ATPase, a baixa eficiência da atividade herbicida de NC+ATZ também pode estar relacionada à desregulação do pH celular, causado por exemplo pelo acúmulo excessivo de prótons no vacúolo. Essa redução na eficiência da nanoatrazina/atrazina poderia ser comparada a “seletividade” de um herbicida, podendo então ser relacionada ao processo de metabolização e detoxificação da nanoatrazina, afetando principalmente a fase de compartimentalização onde o herbicida seria transportado para o vacúolo. No entanto, mais estudos são necessários para confirmar a relevância da abertura e fechamento estomático na eficiência da atividade herbicida da atrazina encapsulada.

De fato, as hipóteses aqui discutidas quanto a via de absorção e transporte foram confirmadas recentemente pelo nosso grupo de pesquisa em ensaios com atrazina radiomarcada, que fazem parte de um manuscrito em processo de submissão. Vimos através de imagens autorradiografadas a mobilidade do herbicida ^{14}C em folhas de mostarda. Para a formulação NC+ATZ e ATZ, a ^{14}C -atrazina acumulou-se nas margens da folha em função do tempo após a aplicação, o que é típico de herbicidas que são translocados pelo xilema (transporte por fluxo de massa). Além disso, observamos maiores taxas de absorção foliar para NC+ATZ do que para ATZ. Foi possível ainda visualizar com a nanoencapsulação um aumento pontual na porcentagem de ^{14}C -atrazina em outras partes da planta além da folha tratada.

Os hidatódios (estômatos modificados) estão restritos as margens da folha e são uma porta de entrada para as nanoformulações, visto que estão continuamente abertos e conectados diretamente ao sistema vascular. Apesar de dessa estrutura ser especializada em eliminar o excesso de água, a absorção foliar também pode ser atribuída aos hidatódios (BOMBO et al., 2019), o que também explicaria o acúmulo nas margens da folhas, caso ocorra aplicação por pulverização.

Em conjunto, os dados nos possibilitam aceitar hipótese de que a absorção foliar da nanoatrazina pode ser potencializada por ocorrer via estômatos, além de a sua translocação também ser melhorada pela nanoencapsulação. No entanto ainda são necessários mais estudos para a importância desses processos para atividade herbicida da atrazina.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

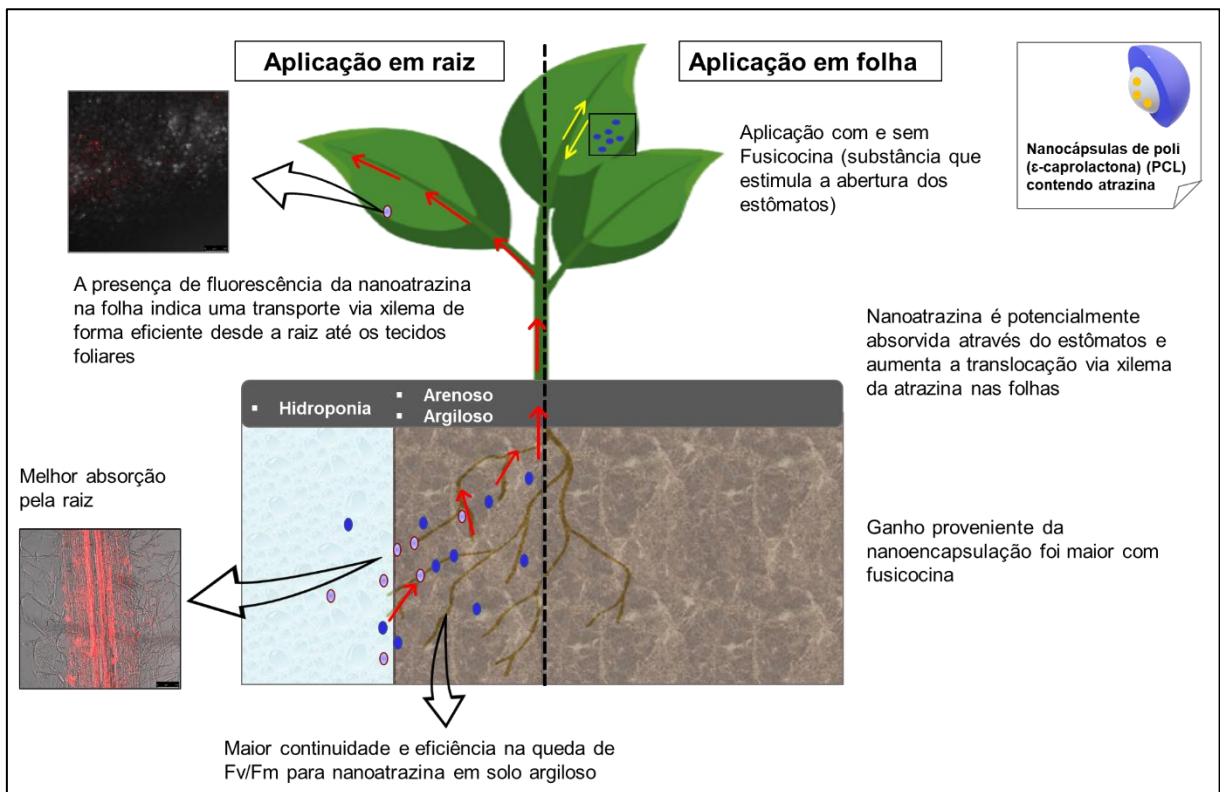
Em resumo, nossos resultados até o presente momento indicam melhor absorção pela raiz e/ou translocação pelo xilema da nanoatrazina em relação ao herbicida comercial. Quanto as diferentes composições de solos, o que observamos neste trabalho foi uma maior continuidade na queda de Fv/Fm para nanoatrazina em solo argiloso em relação ao solo médio arenoso, fato este que pode estar atrelado a maior sorção da nanoatrazina para os solos arenosos.

Nossos resultados indicam ainda, um aumento da absorção e translocação via xilema e possivelmente via floema da atrazina nas folhas,

decorrente da nanoencapsulação, o que poderia explicar o controle mais eficiente de plantas daninhas pela nanoatrazina em comparação com a atrazina comercial. Além disso, os dados indicam que em aplicação foliar a nanoatrazina é potencialmente absorvida através do estômatos. As imagens em microscopia confocal demonstraram que a absorção pela raiz em sistema hidropônico ocorre logo na primeira hora em exposição. Se considerarmos o fato de que a absorção da nanoatrazina é mais rápida que a da atrazina, isso poderia reduzir a porção adsorvida no solo, tornando o herbicida mais disponível para a planta. No geral, os resultados atuais estão resumidos no diagrama esquemático mostrado na Figura 19.

Contudo, a informação sobre absorção e translocação de nanocápsulas poliméricas pelas plantas precisa ser melhor verificada através de estudos mais detalhados quanto a influência do solo nesse processo, tais como: medir níveis de atrazina na planta; avaliar a absorção e translocação de forma direta através do uso de atrazina radiomarcada por exemplo. Em aplicações foliares (pós-emergência) também há a necessidade de mais estudos adotando mecanismos adicionais como, por exemplo, a aplicação de substância que leve ao fechamento estômático (ABA), verificando de fato a influência dos estômatos no processo de absorção.

Figura 19. Diagrama esquemático dos resultados obtidos dos tratamentos em solo, hidroponia e foliar, em relação à absorção e transporte da nanoatrazina (NC+ATZ).



REFERÊNCIAS

AGROFIT. Ministério da Agricultura. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons Acesso em: 12 de julho de 2020.

AKITA, K.; HASEZAWA, S.; & HIGAKI, T. Cortical microtubules and fusicoccin response in clustered stomatal guard cells induced by sucrose solution immersion. **Plant Signaling & Behavior**, v. 13, n. 4, p. e1454815, 2018.

ANDRADE, L. L.; SANTO PEREIRA, A. D. E.; FRACETO, L. F.; dos REIS MARTINEZ, C. B. Can atrazine loaded nanocapsules reduce the toxic effects of this herbicide on the fish *Prochilodus lineatus*? A multibiomarker approach. **Science of The Total Environment**, v. 663, p. 548-559, 2019.

Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas (ABCSEM). Manual técnico de sementes de hortaliças 2000/2001. Disponível em: http://www.abcsem.com.br/dpcs/atlas_cultivo_de_hortalicas.pdf. Acesso em: 20 de julho de 2020.

ASLI, S.; NEUMANN, P. M. Colloidal suspensions of clay or titanium dioxide nanoparticles can inhibit leaf growth and transpiration via physical effects on root water transport. **Plant, Cell & Environment**, v. 32, n. 5, p. 577-584, 2009.

AVELLAN, A.; YUN, J.; ZHANG, Y.; SPIELMAN-SUN, E.; UNRINE, J. M.; THIEME, J.; LI, J.; LOMBI, E.; BLAND, G.; LOWRY, G. V. Nanoparticle size and coating chemistry control foliar uptake pathways, translocation, and leaf-to-rhizosphere transport in wheat. **ACS Nano**, v. 13, n. 5, p. 5291-5305, 2019.

BAKER N.R, Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Biology** v. 59, p. 89-113, 2008.

BINET, F.; KERSANTÉ, A.; MUNIER-LAMY, C.; LE BAYON, R. C.; BELGY, M. J.; SHIPITALO, M. J. Lumbricid macrofauna alter atrazine mineralization and sorption in a silt loam soil. **Soil Biology & Biochemistry** v. 38, p. 1255-1263, 2006.

BOMBO, A. B.; PEREIRA, A. E. S.; LUSA, M. G.; DE MEDEIROS OLIVEIRA, E.; DE OLIVEIRA, J. L.; CAMPOS, E. V. R.; JESUS, M. B de.; OLIVEIRA, H.C.; de.; FRACETO, L. F.; & MAYER, J. L. S. A mechanistic view of interactions of a nanoherbicide with target organism. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 16, p. 4453-4462, 2019.

BRAZ, G. B. P. OLIVEIRA JR, R. S. D.; CONSTANTIN, J.; RAIMONDI, R. T.; RIBEIRO, L. M.; GEMELLI, A.; TAKANO, H. K. Plantas daninhas como hospedeiras alternativas para *Pratylenchus brachyurus*. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 3, p. 233-238, 2016.

CAMPOS, E. V. R.; DE OLIVEIRA, J. L.; FRACETO, L. F. Applications of controlled release systems for fungicides, herbicides, acaricides, nutrients, and plant growth hormones: a review. **Advanced Science, Engineering and Medicine**, v. 6, n. 4, p. 373-387, 2014.

CARMO, D. A. D., CARMO, A. P. B. D., PIRES, J. M. B., & OLIVEIRA, J. L. Atrazina e simazina. **Revista Ambiente & Água**, v. 8, n. 1, p. 133-143, 2013.

CARATTI, F. C.; REINEHR, M.; FABIANI, M. F.; TURRA, M. A.; BASSO, C. J.; LAMEGO, F. P. Efeito residual de Atrazina na cultura da soja. **Embrapa Pecuária Sul-Artigo em anais de congresso**, 2014.

CANEVAROLO S. Ciência dos Polímeros 2do ed. **Artliber**, Disponível em: <http://www.ifba.edu.br>. Acesso em: 20 de maio de 2019.

CASTRO, G. S. A.; CRUSCIOL, C. A. C.; NEGRISOLI, E.; PERIM, L. Sistemas de produção de grãos e incidência de plantas daninhas. **Planta daninha**, v. 29, p. 1001-1010, 2011.

Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP). Disponível em: <http://www.ceagesp.gov.br/entrepósitos/serviços/hortiescolha/mostarda>. Acesso em: 24 de setembro de 2020.

CELANO, G.; ŠMEJKALOVÁ, D.; SPACCINI, R.; PICCOLO, A. Interactions of three triazines with humic acids of different structure. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 16, p. 7360-7366, 2008.

CHEN, M.; JENSEN, S. P.; HILL, M. R.; MOORE, G.; HE, Z.; SUMERLIN, B. S. Synthesis of amphiphilic polysuccinimide star copolymers for responsive delivery in plants. **Chemical Communications**, v. 51, n. 47, p. 9694-9697, 2015.

CLEMENTE, Z.; GRILLO, R.; JONSSON, M.; SANTOS, N. Z. P.; FEITOSA, L. O.; LIMA, R.; FRACETO, L. F. Ecotoxicological evaluation of poly (ϵ -caprolactone) nanocapsules containing triazine herbicides. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 14, n. 7, p. 4911-4917, 2014.

COMBER S.D.W. Abiotic persistence of atrazine and simazine in water. **Pest Management Science**, v. 55, p. 696-702, 1999.

DALTON, R.L.; BOUTIN, C. Comparison of the effects of glyphosate and atrazine herbicides on nontarget plants grown singly and in microcosms. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 29, n. 10, p. 2304-2315, 2010.

DANIEL, P. E.; BEDMAR, F.; COSTA, J. L.; APARICIO, V. C. Atrazine and metribuzin sorption in soils of the Argentinean Humid Pampas. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 21, n.12, p. 2567-2572, 2002.

DAYAN, F. E.; BARKER, A.; BOUGH, R.; ORTIZ, M.; TAKANO, H.; DUKE, S. O. Herbicide Mechanisms of Action and Resistance. **Comprehensive Biotechnology**, v. 3, p. 23-35, 2019.

DE LA ROSA, G.; VÁQUEZ-NÚÑEZ, E.; MOLINA-GUERREIRO, C.; SERAFÍN-MUÑOZ, A.H.; VERA-REYES, I. Interactions of nanomaterials and plants at cellular level: current knowledge and relevant gaps. **Nanotechnology for Environmental Engineering**, v.6, n.1, p.1 1-19, 2021.

DE OLIVEIRA JL. Solid lipid nanoparticles co-loaded with simazine and atrazine: preparation, characterization, and evaluation of herbicidal activity. **Journal of Agricultural and food Chemistry**, v. 63, p. 422-432, 2015.

DE SOUZA MADALENA, L. C.; CHANG, P.; DE OLIVEIRA, A. F.; ROSSETO, R. E.; ROEHRS, S. A.; SANTOS, R. F.; FRIGO, E. P. Uma revisão sobre a mostarda (*Brassica ssp.*) e seu possível uso com alternativa para produção de biodiesel. **Acta Iguazu**, v. 6, n. 5, p. 23-34, 2017.

DEVINE, M.; DUKE, S.O.; FEDTKE, C. Foliar Absorption of Herbicides. *In* **Physiology of Herbicide Action**. University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada. 1992.

DIAS, A. C. R.; CARVALHO, S. J. P.; MARCOLINI, L. W.; MELO, M. S. C.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Competitiveness of alexandergrass or Bengal dayflower with soybean. **Planta Daninha**, v. 28, n. 3, p. 515-522, 2010.

DUNCAN, C. Factors affecting herbicide performance. **Herbicide Information. Techline Invasive Plant News**, 2018. Disponível em: <https://update-techline.squarespace.com/herbicides/herbicideperformance2014>. Acesso em: 14 de agosto de 2019.

EHRMAM, M.; KNUTIE, S. A.; ROHR, J. R. The herbicide atrazine induces hyperactivity and compromises tadpole detection of predator chemical cues. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 35, n. 9, p. 2239-2244, 2016.

EICHERT, T.; KURTZ, A.; STEINER, U.; GOLDBACH, H. E. Size exclusion limits and lateral heterogeneity of the stomatal foliar uptake pathway for aqueous solutes and water-suspended nanoparticles. **Physiologia Plantarum**, v. 134, n. 1, p 151-160, 2008.

EMBRAPA HORTALIÇAS. **Catálogo Brasileiro de Hortaliças**. Disponível em www.sebrae.com.br/setor/horticultura. Acesso em: 02 de junho de 2020.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Disponível em: <http://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/pt/c/1098805/>. Acesso em: 30 de junho de 2019.

FRACETO, L.F.; LOBO, F.A; ROSA, A.H.; SOUZA, P.M.S.; ROSA, A.H. Desenvolvimento de nanocápsulas de poli-ε-caprolactona contendo o herbicida atrazina. **Química Nova**, v. 35, p. 132-137, 2012.

FRACETO, L. F.; GRILLO, R.; DE MEDEIROS, G. A.; SCOGNAMIGLIO, V.; REA, G.; BARTOLUCCI, C. Nanotechnology in agriculture: which innovation potential does it have? **Frontiers in Environmental Science**, v. 4, p. 20, 2016.

FROMARD, L.; BABI N, V.; FLEURAT- LESSARD, P.; FROMONT, J; C.; SERRANO, R.; BONNEMAI N, J. L. Control of vascular sap pH by the vessels-associated cells in woody species. **Plant Physiology**, v. 108, p. 913 - 918, 1995.

GOVERNMENT OF ALBERTA. Disponível em: <https://www.alberta.ca/agricultural-economics-competitiveness-and-statistics.aspx>. Acesso em: 30 de agosto de 2020.

GRILLO, R.; DOS SANTOS, N. Z. P.; MARUYAMA, C. R.; ROSA, A. H.; DE LIMA, R.; & FRACETO, L. F. Poly(ε-caprolactone) nanocapsules as carrier systems for herbicides: physic-chemical characterization and genotoxicity evaluation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 9, p. 231-232, 2012.

GUILLETTE L.J.J.R. IGUSHI.T. Life in a contaminated world. **Science**, v. 337, p. 1614–1615, 2012.

GUPTA, S.; SHARMA, P. K.; KUMAR, S.; SINGH, S.; SINGH, S.; YADAV, H. L. Effect of herbicides and fertilizers on the phytotoxicity, growth and yield of Indian mustard [*Brassica juncea* (L.) Czern and Coss.]. **Journal of Pharmacognosy. Phytochemistry**, v.8, p. 2451-2454, 2019.

HARTZLER, B. Absorption of soil-applied herbicides. **Iowa State University Extension**. Disponível em: <https://crops.extension.iastate.edu/ncyclopedia/bsorption-soil-applied-herbicides>. Acesso: 19 de dezembro de 2019.

- HESS D.F. Light-dependent herbicides: An overview. **Weed Science.**, v. 48, p. 160–170, 2000.
- HONG, J.; PERALTA-VIDEA, J. R.; RICO, C.; SAHI, S.; VIVEROS, M. N.; BARTONJO, J.; ZHAO, L.; GARDEA-TORRESDEY, J. L. Evidence of translocation and physiological impacts of foliar applied CeO₂ nanoparticles on cucumber (*Cucumis sativus*) plants. **Environmental Science & Technology**, v. 48, n. 8, p. 4376-4385, 2014.
- HUANG, A. X.; SHE, X. P.; ZHANG, Y. Y.; & ZHAO; J. L. Cytosolic acidification precedes nitric oxide removal during inhibition of ABA-induced stomatal closure by fusicoccin. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 60, n. 1, p. 60-68, 2013.
- JACHETTA, J. J.; APPLEBY, A. P.; BOERSMA, L. Apoplastic and symplastic pathways of atrazine and glyphosate transport in shoots of seedling sunflower. **Plant Physiology**, v. 82, n. 4, p. 1000-1007, 1986 (a).
- JACHETTA, J. J.; APPLEBY, A. P.; BOERSMA, L. Use of the pressure vessel to measure concentrations of solutes in apoplastic and membrane-filtered symplastic sap in sunflower leaves. **Plant Physiology**, v. 82, n. 4, p. 995-999, 1986(b).
- JUDY, J. D.; UNRINE, J. M.; RAO, W.; WIRICK, S.; BERTSCH, P. M. Bioavailability of gold nanomaterials to plants: importance of particle size and surface coating. **Environmental Science & Technology**, v. 46, n. 15, p. 8467-8474, 2012.
- KAH M.; KOOKANA, R. S.; GOGOS, A.; & BUCHELI, T. D. A critical evaluation of nanopesticides and nanofertilizers against their conventional analogues. **Nature Nanotechnology**, v. 13, n. 8, p. 677-684, 2018.
- KASOZI, G. N.; NKEDI-KIZZA, P.; LI, Y.; ZIMMERMAN, A. R. Sorption of atrazine and ametryn by carbonatic and non-carbonatic soils of varied origin. **Environmental Pollution**, v. 169, p. 12-19, 2012.
- KATZ, L. M.; DEWAN, K.; BRONAUGH, R. L. Nanotechnology in cosmetics. **Food and Chemical Toxicology**, v. 85, p. 127-137, 2015.
- KHOT, R. L.; SANKARAN, S.; MAJA, J. M.; EHSANI, R.; SCHUSTER, E. W.; Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: A review. **Journal Crop Protection**, v. 35, p. 64-70, 2012.

KLITZKE, S.; METREVELI, G. PETERS, A.; SCHAUMANN, G. E.; LANG, F. The fate of silver nanoparticles in soil solution—Sorption of solutes and aggregation. **Science of the Total Environment**, v. 535, p. 54-60, 2015.

KOLLARIGOWDA, RAVICHANDRAN H. Recent view on pectin-based polysaccharide nanoscience and their biological applications. **Nano LIFE**, v. 7, n. 2, p. 1730002, 2017.

KÜLKAMP, I. C., RABELO, B. D., BERLITZ, S. J., ISOPPO, M., BIANCHIN, M. D., SCHAFFAZICK, S. R., & GUTERRES, S. S. Nanoencapsulation improves the in vitro antioxidant activity of lipoic acid. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 7, n. 4, p. 598-607, 2011.

LAYET, C.; AUFFAN, M.; SANTAELLA, C.; CHEVASSUS-ROSSET, C.; MONTES, M.; ORTET, P.; BARAKAT, M.; COLLIN, B.; LEGROS, S.; BRAVIN, M.N.; ANGELETTI, B.; KIEFFER, I.; PROUX, O.; HAZEMANN, J.L.; DOELSCH, E. Evidence that soil properties and organic coating drive the phytoavailability of cerium oxide nanoparticles. **Environmental Science & Technology**, v. 51, n. 17, p. 9756-9764, 2017.

LI, X.; WU, T.; HUANG, H.; ZHANG, S. Atrazine accumulation and toxic responses in maize *Zea mays*. **Journal of Environmental Sciences**, v. 24, n. 2, p. 203-208, 2012.

LOWRY, G. V.; AVELLAN, A.; GILBERTSON, L. M. Opportunities and challenges for nanotechnology in the agri-tech revolution. **Nature nanotechnology**, v. 14, n. 6, p. 517-522, 2019.

LV, J.; ZHANG, S.; LUO, L.; ZHANG, J.; YANG, K.; CHRISTIE, P. Accumulation, speciation and uptake pathway of ZnO nanoparticles in maize. **Environmental Science: Nano**, v. 2, n. 1, p. 68-77, 2015.

LV, J.; CHRISTIE, P.; ZHANG, S. Uptake, translocation, and transformation of metal-based nanoparticles in plants: recent advances and methodological challenges. **Environmental Science: Nano**, v. 6, n. 1, p. 41-59, 2019.

MA, X.; GEISER-LEE, J.; DENG, Y.; KOLMAKOV, A. Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: phytotoxicity, uptake and accumulation. **Science of the total environment**, v. 408, n. 16, p.3053-3061, 2010.

- MAHAKHAM, W.; SARMAH, A. K.; MAENSIRI, S.; THEERAKULPISUT, P. Nanopriming technology for enhancing germination and starch metabolism of aged rice seeds using phytosynthesized silver nanoparticles. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-21, 2017.
- MACIEL, J. C.; SANTOS, J. B.; REIS, R. F.; FERREIRA, E. A. PEREIRA, G. A. M. Interferência de plantas daninhas no crescimento da cultura do trigo. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 4, n. 3, p. 23-29, 2017.
- MACHADO, C. S.; FREGONESI, B. M.; ALVES, R. I.; TONANI, K. A.; SIERRA, J.; MARTINIS, B. S.; DOMINGO, J. L. Health risks of environmental exposure to metals and herbicides in the Pardo River, Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 25, p. 20160-20172, 2017.
- MARCHI, G.; MARCHI, E. C. S.; GUIMARÃES, T. G. Herbicidas: mecanismos de ação e uso. **Embrapa Cerrados-Documentos (INFOTECA-E)**, p. 36, 2008.
- MARTINAZZO, R.; DICK, D. P.; HIRSCH, M. M.; LEITE, S. B.; PERALBA, M. C. R. Sorção de atrazina e de mesotriona em latossolos e estimativa do potencial de contaminação. **Química Nova**, v. 34, p. 1378-1384, 2011.
- MEI, L.; ZHANG, Y.; ZHENG, Y.; TIAN, G.; SONG, C.; YANG, D.; ... & LI, Z. A novel docetaxel-loaded poly (ϵ -caprolactone)/pluronic F68 nanoparticle overcoming multidrug resistance for breast cancer treatment. **Nanoscale research letters**, v. 4, n. 12, p. 1530-1539, 2009.
- MIERNICKI, M.; HOFMANN, T., EISENBERGER; I., VON DER KAMMER, F.; PRAETORIUS, A. Legal and practical challenges in classifying nanomaterials according to regulatory definitions. **Nature Nanotechnology**, v. 14, n. 3, p. 208-216, 2019.
- MUDHOO A.; GARG VK. Sorption, transport, and transformation of atrazine in soils, minerals and composts: a review. **Pedosphere**, v. 21, p. 11–25, 2011.
- NAIR, R.; VARGHESE, S. H.; NAIR, B. G.; MAEKAWA, T.; YOSHIDA, Y.; KUMAR, D. S. Nanoparticulate material delivery to plants, **Plant Science**, v. 179, p. 154–163, 2010.
- NANDULA, V. K.; RIECHERS, D. E.; FERHATOGLU, Y.; BARRETT, M.; DUKE, S. O.; DAYAN, F. E.; GOLDBERG-CAVALLERI, A.; TÉTARD-JONES, C.; WORTLEY,

D.J.; ONKOKESUNG, N.; BRAZIER-HICKS, M.; EDWARDS, R.; GAINES, T.; IWAKAMI, S.; JUGULAM, M.; MA, R. Herbicide metabolism: crop selectivity, bioactivation, weed resistance, and regulation. **Weed Science**, v. 67, n. 2, p. 149-175, 2019.

NGUYEN, M. H.; HWANG, I. C.; BUI, C. B.; PARK, H. J. Effects of the physical state of nanocarriers on their penetration into the root and upward transportation to the stem of soybean plants using confocal laser scanning microscopy. **Crop Protection**, v. 87, p. 25-30, 2016.

NGUYEN, M. H.; LEE, J. S.; HWANG, I. C.; PARK, H. J. Evaluation of Penetration of Nanocarriers into Red Pepper Leaf Using Confocal Laser Scanning Microscopy. **Crop Protection**, v. 66, p. 61–66, 2014.

OLIVEIRA, H.C.; STOLF-MOREIRA, R.; MARTINEZ, C. B. R.; GRILLO, R.; DE JESUS, M. B.; FRACETO, L. F. Nanoencapsulation enhances the post-emergence herbicidal activity of atrazine against mustard plants. **Plos One**. v.10, n.7, p. e0132971, 2015 (a).

OLIVEIRA, H.C.; STOLF-MOREIRA, R.; MARTINEZ, C. B.; SOUSA, G. F.; GRILLO, R.; DE JESUS, M. B.; & FRACETO, L. F. Evaluation of the side effects of poly(epsilon-caprolactone) nanocapsules containing atrazine toward maize plants. **Frontiers in Chemistry**, v. 3, p. 61, 2015 (b).

PALOCCI, C.; VALLETTA, A.; CHRONOPOULOU, L.; DONATI, L.; BRAMOSANTI, M.; BRASILI, E.; PASQUA, G. Endocytic pathways involved in PLGA nanoparticle uptake by grapevine cells and role of cell wall and membrane in size selection. **Plant Cell Reports**, v. 36, p. 1917-1928, 2017.

PARISI, C.; VIGANI, M.; RODRÍGUEZ-CEREZO, E. Agricultural nanotechnologies: what are the current possibilities? **Nano Today**, v. 10, n. 2, p. 124-127, 2015.

PASCOLI, M.; LOPES-OLIVEIRA, P. J.; FRACETO, L. F.; SEABRA, A. B.; & OLIVEIRA, H. C.; State of the art of polymeric nanoparticles as carrier systems with agricultural applications. **Energy, Ecology, and Environment**, v. 3, p. 137-148 2018.

PEREIRA A. E. S.; GRILLO, R.; MELLO, N. F.; ROSA, A. H.; & FRACETO, L. F. Application of poly (epsilon caprolactone) nanoparticles containing atrazine herbicide

as an alternative technique to control weeds and reduce damage to the environment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 268, p. 207–215, 2014.

PEREIRA, A. E. S.; OLVEIRA, H. C., FRACETO, L. F.; SANTAELLA, C. Nanotechnology Potential in Seed Priming for Sustainable Agriculture. **Nanomaterials**, v. 11, n. 2, 267, 2021.

PHILIPPE, A.; SCHAUMANN, G. E. Interactions of dissolved organic matter with natural and engineered inorganic colloids: a review. **Environmental Science & Technology**, v. 48, n. 16, p. 8946-8962, 2014.

PIETRUSZKA, M. A. Chemical Potential-Induced Wall State Transitions in Plant Cell Growth. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 39, n. 2, p. 841-866, 2020.

PITELLI, R. A. Competição e controle das plantas daninhas em áreas agrícolas. **Série Técnica IPEF**. v. 4, n. 12, p. 1-24, 1987.

POHLMANN, A. R.; FONSECA, F. N.; PAESE, K., DETONI, C. B.; CORADINI, K.; BECK, R. C.; GUTERRES, S. S. Poly (ϵ -caprolactone) microcapsules and nanocapsules in drug delivery. **Expert opinion on drug delivery**, v. 10, n. 5, p. 623-638, 2013.

PPDB - Pesticide Properties Database. University of Hertfordshire Disponível em: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/43.htm>. Acesso em: 5 de agosto de 2020.

PRASAD, A.; ASTETE, C. E.; BODOKI, A. E.; WINDHAM, M.; BODOKI, E.; SABLIOV, C. M. Zein nanoparticles uptake and translocation in hydroponically grown sugar cane plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 66, n. 26, p. 6544-6551, 2017.

PREISLER, A. C.; PEREIRA, A. E.; CAMPOS, E. V.; DALAZEN, G.; FRACETO, L. F.; OLIVEIRA, H. C. Atrazine nanoencapsulation improves pre-emergence herbicidal activity against *Bidens pilosa* without enhancing long-term residual effect on *Glycine max*. **Pest Management Science**, v. 76, p. 141-149, 2020.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 6ª ed. Livroceres, Funep, p. 697, 2011.

REA, G.; POLTICELLI, F.; ANTONACCI, A.; SCOGNAMIGLIO, V.; KATIYAR, P.; KULKARNI, S. A.; GIARDI, M. T. Structure-based design of novel *Chlamydomonas*

reinhardtii D1-D2 photosynthetic proteins for herbicide monitoring. **Protein Science**, v. 18, n. 10, p. 2139-2151, 2009.

REINERT, D.J.; REICHERT, J.M.; VEIGA, M.; SUZUKI, L.E.A.S. Qualidade física dos solos. Conference: Reunião Brasileira de Manejo e Conservação do Solo e da Água, Disponível em:https://www.researchgate.net/publication/337869744_Qualidade_e_fisica_dos_solos. Acesso em: 20 de junho de 2020.

RICO, C. M.; MAJUMDAR, S.; DUARTE-GARDEA, M.; PERALTA-VIDEA, J. R.; GARDEA-TORRESDEY, J. LInteraction of nanoparticles with edible plants and their possible implications in the food chain. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 59, n. 8, p. 3485-3498, 2011.

RICO, C. M.; JOHNSON, M. G.; MARCUS, M. A.; ANDERSEN, C. P. Intergenerational responses of wheat (*Triticum aestivum* L.) to cerium oxide nanoparticles exposure. **Environmental Science: Nano**, v. 4, n. 3, p. 700-71, 2017.

RISTROPH, K. D.; ASTETE, C. E.; BODOKI, E.; SABLIOV, C. M. Zein nanoparticles uptake by hydroponically grown soybean plants. **Environmental Science & Technology**, v. 51, n. 24, p. 14065-14071, 2017.

ROMAN, E. S.; VARGAS, L.; & RIBEIRO, M. C. F. (2005). Efeito do teor de umidade do solo na seletividade e na Eficiência de carfentrazone-ethyl no controle de plantas daninhas na cultura de soja. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 4, n. 2, p.114-122, 2005.

SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S.; FREITAS, L. L.; POHLMANN, A. R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, n. 5, p. 726-737, 2003.

SCHNOOR, B.; ELHENDAWY, A.; JOSEPH, S.; PUTMAN, M.; CHAC. N-CERDAS, R.; FLORES-MORA, D.; SALVADOR-MORALES, C. Engineering atrazine loaded poly (lactico-glycolic acid) nanoparticles to ameliorate environmental challenges. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 30, p. 7889-7898, 2018.

SCHÖNHERR, J. Calcium chloride penetrates plant cuticles via aqueous pores. **Planta**, v. 212, n. 1, p. 112-118, 2000.

SCHÖNHERR, J. Characterization of aqueous pores in plant cuticles and permeation of ionic solutes. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 11, p. 2471-2491, 2006.

SCHYMURA, S.; FRICKE, T.; HILDEBRAND, H.; FRANKE, K. Elucidating the role of dissolution in CeO₂ nanoparticle plant uptake by smart radiolabeling, **Angewandte Chemie International Edition**, v. 56, n. 26, p. 7411-7414, 2017.

SCHWAB, F.; ZHAI, G. S.; KERN, M.; TURNER, A.; SCHNOOR, J. L.; WIESNER, M. R. Barriers, pathways and processes for uptake, translocation and accumulation of nanomaterials in plants-Critical review, **Nanotoxicology**, v. 10, p. 257–278, 2016.

SHEKHAWAT, K.; RATHORE, S. S.; PREMI, O. P.; KANDPAL, B. K.; CHAUHAN, J. S. Advances in agronomic management of Indian mustard (*Brassica juncea* (L.) Czernj. Cosson): an overview. **International Journal of Agronomy**, 2012.

SEKHON, B. S. Nanotechnology in agri-foods production: an overview. **Nanotechnology, Science and Applications**, v. 7, p. 31, 2014.

SILVA, V. P.; FERREIRA, L. R.; D'ANTONINO, L.; CARNEIRO, J. E.; SILVA, G. R.; FONTES, D. R. Eficiência e residual no solo de herbicidas na cultura do feijão. **Planta daninha**, v. 31, n. 4, p. 961-970, 2013.

SINGH, S.; KUMAR, V.; CHAUHAN, A.; DATTA, S.; WANI, A. B.; SINGH, N.; SINGH, J. Toxicity, degradation and analysis of the herbicide atrazine. **Environmental Chemistry Letters**, v. 16, n. 1, p. 211-237, 2018.

SINGH, R.P.; HANDA, R.; MANCHANDA, G. Nanopartículas na agricultura sustentável: uma oportunidade emergente. **Journal of Controlled Release**, 2020.

Sistema Nacional Argentino de Vigilancia y Monitoreo de Plagas (SINAVIMO). Disponível em: <https://www.sinavimo.gov.ar/cultivo/brassica-juncea>. Acesso em: 12 de agosto de 2020.

SOUSA, B. T.; PEREIRA, A. E. S.; FRACETO, L. F.; OLIVEIRA, H. C.; DALAZEN, G. Effectiveness of nanoatrazine in post-emergent control of the tolerant weed *Digitaria insularis*. **Journal of Plant Protection Research**, v. 60, n. 2, 2020.

SOUSA, G. F.; GOMES, D. G.; CAMPOS, E. V.; OLIVEIRA, J. L.; FRACETO, L. F.; STOLF-MOREIRA, R.; OLIVEIRA, H. C. Post-Emergence Herbicidal Activity of Nanoatrazine Against Susceptible Weeds. **Frontiers in Environmental Science**, v. 6, p. 12, 2018.

SOPPIRNATH, K. S.; & AMINABHAVI, T. M. Water transport and drug release study from cross-linked polyacrylamide grafted guar gum hydrogel microspheres for the controlled release application. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 53, n. 1, p.87-98, 2002.

SOLTANI, N.; MASHHADI, H. R.; MESGARAN, M. B.; COWBROUGH, M.; TARDIF, F. J.; CHANDLER, K.; NURSE, R. E.; SWANTON, C. J.; SIKKEMA, P. H. (2011). The effect of residual corn herbicides on injury and yield of soybean seeded in the same season. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 91, n. 3, p. 571-576, 2011.

SOUTO, E. B.; SEVERINO, P.; & SANTANA, M. H. A. Preparation of polymeric nanoparticles by polymerization of monomers: part I. **Polímeros**, v. 22, n. 1, p.96-100, 2012.

SOUZA, L.; SILVA, N.; Uchôa, T. L.; ALMEIDA, W.; FERREIRA, R. L. F.; ARAÚJO NETO, S. E. Aumento da produtividade de mostarda-folhas utilizando mudas de alta qualidade produzidas com substratos alternativos. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 13, n. 4, p. 291-296, 2017.

SPIELMAN-SUN, E.; AVELLAN, A.; BLAND, G. D.; TAPPERO, R. V.; ACERBO, A. S.; UNRINE, J. M.; GIRALDO, J.P.; LOWRY, G. V. Nanoparticle surface charge influences translocation and leaf distribution in vascular plants with contrasting anatomy. **Environmental Science: Nano**, v. 6, n. 8, p. 2508-2519, 2019.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.; MURPHY, A. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. 6.ed. Porto Alegre: **Artmed**, 2017.

TRIPATHI, D. K.; SINGH, S.; SINGH, S.; PANDEY, R.; SINGH, V. P.; SHARMA, N. C.; PRASAD, S.M.; DUBEY, N.K.; CHAUHAN, D. K. An overview on manufactured nanoparticles in plants: uptake, translocation, accumulation and phytotoxicity. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 110, p. 2-12, 2017.

TURNER, N. C.; & GRANITI, A. Fusicoccin: a fungal toxin that opens stomata. **Nature**, v. 223, n. 5210, p.1070-1071,1969.

USDA, United States Department of Agriculture, **World Agricultural Production**. Circular Series WAP 3–19:1–32. Available:

apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf. Acesso em: 17 de abril de 2019.

USMAN, M.; FAROOQ, M.; WAKEEL, A.; NAWAZ, A.; CHEEMA, S. A.; UR REHMAN, H.; REHAMAN, H.UR.; ASHRAF, I.; SANAULLAH, M. Nanotechnology in agriculture: Current status, challenges and future opportunities. **Science of the Total Environment**, v. 721, p. 137778, 2020.

VIDAL, R. A.; FLECK, N. G.; & MEROTTO JR, A. Período anterior ao dano no rendimento econômico (PADRE): nova abordagem sobre os períodos de interferência entre plantas daninhas e cultivadas. **Planta Daninha**, v.23, n. 3, p. 387-396, 2005.

VONBERG, D.; HOFMANN; D.; VANDERBORGHT, J.; LELICKENS, A.; KÖPPCHEN S.; PÜTZ, T.; BARUEL, P.; VEREECKEN, H. Atrazine soil core residue analysis from an agricultural field 21 years after its ban. **Environmental Quality** v. 43, p. 1450–1459, 2014.

WANG, M.; ZHANG, G.; ZHOU, L.; WANG, D.; ZHONG, N.; CAI, D.; WU, Z. Fabrication of pH-controlled-release ferrous foliar fertilizer with high adhesion capacity based on nanobiomaterial. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 4, n. 12, p. 6800-6808, 2016.

WOODRUFF, M.A.; HUTMACHER, D. W. The return of a forgotten polymer polycaprolactone in the 21st century. **Progress in Polymer Science**, v. 35, n. 10, p. 1217-1256, 2010.

YUAN, Joshua S.; TRANEL, Patrick J.; STEWART JR, C. Neal. Non-target-site herbicide resistance: a family business. **Trends in Plant Science**, v. 12, n. 1, p. 6-13, 2007.

ZHAO, L.; PERALTA-VIDEA, J. R.; REN, M.; VARELA-RAMIREZ, A.; LI, C.; HERNANDEZ-VIEZCAS, J. A.; AGUILERA, R.J.; GARDEA-TORRESDEY, J. L. Transport of Zn in a sandy loam soil treated with ZnO NPs and uptake by corn plants: Electron microprobe and confocal microscopy studies. **Chemical Engineering Journal**, v. 184, p. 1-8, 2012.

ZHU, R.; MACFIE, S. M. & DING, Z. Effects of cadmium on photosynthetic oxygen evolution from single stomata in *Brassica juncea* (L.) Czern. **Langmuir** v. 24, n. 24, p. 14261–14268, 2008.

ZHU, Z. J.; WANG, H.; YAN, B.; ZHENG, H.; JIANG, Y.; MIRANDA, O. R ROTELLO, V.M.; XING, B.; VACHET, R. W. Effect of surface charge on the uptake and distribution of gold nanoparticles in four plant species. **Environmental Science & Technology**, v. 46, n. 22, p. 12391-12398, 2012.

ZISKA, L. H. The role of climate change and increasing atmospheric carbon dioxide on weed management: herbicide efficacy. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 231, p. 304-309, 2016.