

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E AMBIENTE**

**BRUNA FERRARI SCHEDENFFELDT**

**EFEITO RESIDUAL DE HERBICIDAS EM SOJA,  
AMENDOIM E CROTALÁRIA E SUA TOXICIDADE EM  
ORGANISMOS NÃO-ALVO**

**ARARAS**

**2023**

**Bruna Ferrari Schedenfeldt**

**Engenheira Agrônoma**

**EFEITO RESIDUAL DE HERBICIDAS EM SOJA,  
AMENDOIM E CROTALÁRIA E SUA TOXICIDADE EM  
ORGANISMOS NÃO-ALVO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agricultura e Ambiente (PPGAA), da Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Agrárias (UFSCar/CCA) para obtenção do título de Mestre em Agricultura e Ambiente.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Patrícia Andrea Monquero

**ARARAS**

**2023**

Ferrari Schedenffeldt, Bruna

Efeito residual de herbicidas em soja, amendoim e  
crotalária e sua toxicidade em organismos não-alvo /  
Bruna Ferrari Schedenffeldt, Patrícia Andrea Monquero -  
- 2023.  
117f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São  
Carlos, campus Araras, Araras  
Orientador (a): Patrícia Andrea Monquero  
Banca Examinadora: Patrícia Andrea Monquero, Paulo  
Vinicius da Silva, Roberta Cornélio Ferreira Nocelli  
Bibliografia

1. Ecotoxicologia de Herbicidas. 2. Residual de  
Herbicidas. I. Ferrari Schedenffeldt, Bruna. II.  
Monquero, Patrícia Andrea. III. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática  
(SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Maria Helena Sachi do Amaral - CRB/8  
7083



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Agrárias

Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente

---

**Folha de Aprovação**

---

Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Bruna Ferrari Schedenfeldt, realizada em 11/12/2023.

**Comissão Julgadora:**

Profa. Dra. Patricia Andrea Monquero (UFSCar)

Profa. Dra. Roberta Cornélio Ferreira Nocelli (UFSCar)

Prof. Dr. Paulo Vinícius da Silva (UFGD)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço aos meus pais, Patricia e Hamilton, por serem exemplos e nunca medirem esforços para que eu chegasse a essa etapa da minha vida.

Ao meu marido, Paulo Henrique, e à minha filha, Luiza, por estarem sempre ao meu lado, sendo minha constante fonte de motivação.

À minha orientadora, Professora Dr<sup>a</sup>. Patricia Andrea Monquero (UFSCar), por ser minha grande mentora ao longo destes últimos anos. Sua amizade, as oportunidades proporcionadas e a confiança em meu potencial foram fundamentais para o meu crescimento acadêmico e pessoal.

Ao Prof. Dr. Paulo Vinicius da Silva (UFGD), agradeço a mentoria, amizade e pelas valiosas oportunidades que me ofereceu.

À Prof. Dra. Roberta Nocelli (UFSCar) pela participação na banca examinadora e contribuições ao trabalho.

À Prof. Dra. Mirella Ortiz (USU) pela participação na banca de qualificação e contribuições ao trabalho.

Ao Grupo de Estudos em Ciências Agrárias (GECA) por todo suporte na elaboração dos experimentos, especialmente aos meus amigos, Bruno e Rafaela.

Ao Felipe Nunes, Diego Carvalho, Wilson Pereira Neto e Paulo Henrique Vieira dos Santos pela cooperação com material de pesquisa.

À Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Centro de Ciências Agrárias (CCA) e ao Programa de Pós-graduação em Agricultura e Ambiente (PPGAA), em especial a todos os professores, foi um privilégio ser aluna de vocês.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa (Processo: 2021/05328-0).

## RESUMO

### EFEITO RESIDUAL DE HERBICIDAS EM SOJA, AMENDOIM E CROTALÁRIA E SUA TOXICIDADE EM ORGANISMOS NÃO-ALVO

O uso de herbicidas, especialmente os produtos com longo residual, pode influenciar a produtividade de culturas agrícolas e ecossistemas terrestres e aquáticos. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito residual de diferentes doses dos herbicidas indaziflam, sulfentrazone e clomazone no crescimento e desenvolvimento de *Crotalaria juncea* L. (crotalária), *Arachis hypogaea* L. (amendoim) e *Glycine max* (L.) Merr (soja). e seus efeitos agudos, crônicos e no comportamento de fuga de *Eisenia andrei* (Bouché) e, a toxicidade aguda em macrófitas da espécie *Lemna minor*. O experimento foi dividido em duas partes, na qual a primeira parte foi realizada em casa-de-vegetação seguindo um delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) para cada cultura (soja, crotalária e amendoim) e herbicidas (indaziflam, sulfentrazone e clomazone) em esquema fatorial 6 x 5, com cinco repetições. O primeiro fator foi composto por 6 diferentes doses (0, 1/8D, 1/4D, 1/2D, 1D e 2D) dos herbicidas, em que "D" representa a dose comercial recomendada para a cultura da cana-de-açúcar, e o segundo fator foi composto por 5 períodos de semeadura das culturas (0, 10, 20, 40 e 60 dias após aplicação - DAA). As plantas foram avaliadas quanto a fitotoxicidade, altura, área foliar e biomassa seca da parte aérea aos 56 dias após a semeadura. O ensaio agudo com *E. andrei* foi conduzido em um delineamento completamente casualizado (DIC), abrangendo seis concentrações (0,0; 10,0; 100,0; 500,0; e 1000,0 mg i.a. kg<sup>-1</sup> solo) para cada herbicida, com cinco repetições. Já o teste de fuga seguiu um DIC com cinco concentrações subletais. Para clomazone e indaziflam, as concentrações foram de 1,0; 10,0; 50,0; 75,0 e 100,0 mg kg<sup>-1</sup>, enquanto para sulfentrazone foram de 1,0; 10,0; 25,0; 50,0 e 75,0 mg kg<sup>-1</sup>, também com cinco replicatas. O ensaio crônico adotou as mesmas diretrizes do ensaio agudo, com a permanência dos adultos por 28 dias, seguida pela coleta e contagem de juvenis e ovos aos 56 dias, sendo as doses dos herbicidas: clomazone 1,0; 10,0; 25,0; 50,0 e 75,0 mg i.a. kg<sup>-1</sup>, sulfentrazone 1,0; 10,0; 100,0; 500,0 e 750,0 mg i.a. kg<sup>-1</sup> e indaziflam 1,0; 10,0; 50,0; 75,0 e 100,0 mg i.a. kg<sup>-1</sup>. Os ensaios com *L. minor* consistiram na exposição das macrófitas por 7 dias para analisar o efeito do clomazone e sulfentrazone nas seguintes concentrações: 0,10; 1,07; 3,44; 11,16; 36,40 e 118 mg

L<sup>-1</sup>. E do indaziflam: 0,03; 0,06; 0,09; 0,12; 0,15 e 0,18 mg L<sup>-1</sup>, por um período de 7 dias. Portanto, constatou-se que as plantas de *C. juncea* mostraram-se extremamente sensíveis ao herbicida indaziflam, independente da dose e período de semeadura e em todos os parâmetros analisados, enquanto a fitotoxicidade do sulfentrazone e clomazone diminuíram a partir de 20 DAA em todas as doses utilizadas. *A. hypogaea* foi altamente sensível aos herbicidas indaziflam e sulfentrazone, principalmente nas maiores doses, independente período de semeadura, com reduções para todos os parâmetros analisados. Enquanto *G. max*, também foi extremamente sensível ao indaziflam, sem influência significativa da dose ou do período de semeadura em todos os parâmetros analisados. O mesmo ocorreu com a aplicação do sulfentrazone com 0 e 10 DAA nas doses de 600,0 e 1200,0 g i.a. ha<sup>-1</sup>. Na análise de toxicidade aguda, os herbicidas clomazone e sulfentrazone demonstraram ser moderadamente tóxicos para minhocas da espécie *E. andrei*, correspondendo a uma CL<sub>50</sub> de 184,12 mg i.a. kg<sup>-1</sup> e 1000,0 mg i.a. kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Não foi possível estimar a dose letal para o herbicida indaziflam. Na análise de comportamento, o herbicida sulfentrazone proporcionou evitação de *E. andrei* a partir da concentração mínima testada, enquanto clomazone e indaziflam em 50,0 e 75,0 mg i.a. kg<sup>-1</sup> e 75,0 e 100,0 mg i.a. kg<sup>-1</sup>. A exposição crônica das minhocas impactou na reprodução, sendo que o clomazone obteve CE<sub>50</sub> de 0,572 mg kg<sup>-1</sup>. O sulfentrazone apresentou CE<sub>50</sub> de 0,3941 mg kg<sup>-1</sup>. Destaca-se que todos os herbicidas, incluindo indaziflam, tiveram CEO de 1,0 mg kg<sup>-1</sup>. Por fim, os herbicidas apresentaram toxicidade moderada para a planta aquática *L. minor*, resultando em reduções significativas na biomassa fresca da planta, mesmo nas menores concentrações.

**Palavras-chave:** *carryover*, ecotoxicologia, *Eisenia andrei*, fuga, *Lemna minor*, persistência.

**ABSTRACT**

**RESIDUAL EFFECT OF HERBICIDES ON SOYBEANS, PEANUTS AND CROTALÁRIA AND THEIR TOXICITY ON NON-TARGET ORGANISMS**

The use of herbicides, especially those with long persistence, can impact the productivity of agricultural crops and terrestrial and aquatic ecosystems. The objective of this study was to evaluate the residual effect of different doses of the herbicides indaziflam, sulfentrazone, and clomazone on the growth and development of *Crotalaria juncea* L., *Arachis hypogaea* L., and *Glycine max* (L.) Merr. The acute, chronic, and avoidance effects on *Eisenia andrei* (Bouché) and acute toxicity on the macrophyte *Lemna minor* were also assessed. The experiment was divided into two parts, with the first part conducted in a greenhouse following a completely randomized design (CRD) for each crop (soybean, sunn hemp, and peanut) and herbicides (indaziflam, sulfentrazone, and clomazone) in a 6 x 5 factorial arrangement, with five replications, the first factor consisted of 6 different doses (0, 1/8D, 1/4D, 1/2D, 1D, and 2D) of herbicides, where "D" represents the commercially recommended dose for sugarcane cultivation. The second factor comprised 5 sowing periods (0, 10, 20, 40, and 60 days after application - DAA) for the crops. Plants were evaluated for phytotoxicity, height, leaf area, and dry aboveground biomass at 56 days after seeding. The acute assay with *E. andrei* followed a completely randomized design (CRD) encompassing six concentrations (0.0; 10.0; 100.0; 500.0 and 1,000.0 mg a.i. kg<sup>-1</sup> soil) for each herbicide, with five replicates. The avoidance test followed a CRD with five sublethal concentrations. For clomazone and indaziflam, concentrations were 1.0; 10.0; 50.0; 75.0 and 100.0 mg a.i. kg<sup>-1</sup>, while for sulfentrazone, concentrations were 1.0; 10.0; 25.0; 50.0 and 75.0 mg a.i. kg<sup>-1</sup>, also with five replicates. The chronic assay adopted the same guidelines as the acute assay, with adults kept for 28 days, followed by collection and counting of juveniles and eggs at 56 days. The herbicide doses were clomazone 1.0; 10.0; 25.0; 50.0 and 75.0 mg a.i. kg<sup>-1</sup>, sulfentrazone 1.0; 10.0; 100.0; 500.0 and 750.0 mg a.i. kg<sup>-1</sup>, and indaziflam 1.0; 10.0; 50.0; 75.0 and 100.0 mg a.i. kg<sup>-1</sup>. The assays with *L. minor* involved exposing the macrophytes for 7 days to analyze the effect of clomazone and sulfentrazone at concentrations of 0.10; 1.07; 3.44; 11.16; 36.40 and 118.0 mg L<sup>-1</sup>, and for indaziflam at concentrations of 0.03; 0.06; 0.09; 0.12; 0.15 and 0.18 mg L<sup>-1</sup>, for a period of 7 days. It was observed that *C. juncea* plants were extremely sensitive to the herbicide indaziflam, regardless of dose or seeding period,



showing reductions in all analyzed parameters. In contrast, the phytotoxicity of sulfentrazone and clomazone decreased from 20 DAA at all doses used. *A. hypogaea* was highly sensitive to the herbicides indaziflam and sulfentrazone, especially at higher doses, regardless of seeding period, with reductions in all analyzed parameters. *G. max* was also extremely sensitive to indaziflam, with no significant influence of dose or seeding period on all analyzed parameters. The same occurred with the application of sulfentrazone at 0 and 10 DAA at doses of 600.0 and 1,200.0 g a.i. ha<sup>-1</sup>. In the acute toxicity analysis, the herbicides clomazone and sulfentrazone were moderately toxic (LC<sub>50</sub> = 10-1,000 mg kg<sup>-1</sup> soil) to earthworms of the species *E. andrei*, corresponding to an LC<sub>50</sub> of 184.12 mg a.i. kg<sup>-1</sup> and 1,000 mg a.i. kg<sup>-1</sup>, respectively. It was not possible to estimate the lethal dose for the herbicide indaziflam. In the avoidance behavior analysis, the herbicide sulfentrazone induced avoidance by *E. andrei* from the minimum tested concentration, while clomazone and indaziflam induced avoidance at concentrations of 50.0 and 75.0 mg a.i. kg<sup>-1</sup> and 75.0 and 100.0 mg a.i. kg<sup>-1</sup>, respectively. Chronic exposure of earthworms impacted reproduction, with clomazone having an EC<sub>50</sub> of 0.572 mg kg<sup>-1</sup>. Sulfentrazone had an EC<sub>50</sub> of 0.3941 mg kg<sup>-1</sup>. It is noteworthy that all herbicides, including indaziflam, had an EC<sub>10</sub> of 1.0 mg kg<sup>-1</sup>. Finally, the herbicides showed moderate toxicity to the aquatic plant *L. minor*, resulting in significant reductions in fresh biomass, even at lower concentrations.

**Keywords:** carryover; ecotoxicology, *Eisenia andrei*, avoidance, *Lemna minor*, persistence.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros químicos para fins de fertilidade e granulometria de amostra (0-20 cm) de Latossolo Vermelho distrófico. ....	33
Tabela 2. Descrição das doses (g i.a. ha <sup>-1</sup> ) utilizadas para cada herbicida.....	33
Tabela 3. Características físicas e químicas do Latossolo utilizado nos testes ecotoxicológicos com <i>E. andrei</i> . ....	67
Tabela 4. Concentrações letais (CL <sub>50</sub> ) dos herbicidas clomazone, sulfentrazone e indaziflam (mg i.a. kg <sup>-1</sup> solo) para a minhoca <i>E. andrei</i> exposta por 14 dias.....	71
Tabela 5. Concentração efetiva mediana (CE <sub>50</sub> ) dos herbicidas clomazone, sulfentrazone e indaziflam (mg i.a. kg <sup>-1</sup> solo) que causaram fuga das minhocas <i>E. andrei</i> após 48 horas.....	75
Tabela 6. Concentração efetiva (CE <sub>50</sub> /CE <sub>10</sub> ) e intervalo de confiança, modelo estatístico e R <sup>2</sup> (%) do ajuste dos dados na curva para os testes de reprodução de minhocas em latossolo com aplicação de doses crescentes de clomazone, sulfentrazone e indaziflam (mg i.a. kg <sup>-1</sup> ). ....	78
Tabela 7. Concentração Efetiva 50% (CE <sub>50</sub> ) em mg i.a. L <sup>-1</sup> e Classificação de Toxicidade de clomazone, sulfentrazone e indaziflam em <i>Lemna minor</i> . ....	90

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Fitotoxicidade de *Crotalaria juncea* após a aplicação de diferentes doses de indaziflam (A), clomazone (B) e sulfentrazone (C) em diferentes períodos de semeadura 0, 10, 20, 40 e 60 DAA. ....36
- Figura 2. Altura (cm) de *Crotalaria juncea* após a aplicação de diferentes doses de clomazone em diferentes períodos de semeadura 0, 10, 20, 40 e 60 DAA. ....38
- Figura 3. Altura (cm) de *Crotalaria juncea* em função do fator doses e períodos de semeadura após a aplicação de indaziflam (A e B) e sulfentrazone (C e D). ....40
- Figura 4. Área foliar (cm<sup>2</sup>) de *Crotalaria juncea* em função do fator doses e períodos de semeadura após a aplicação de indaziflam (A e B), clomazone (C e D) e sulfentrazone (E e F). ....42
- Figura 5. Redução da massa seca da parte aérea (%) de *Crotalaria juncea* após a aplicação de diferentes doses de indaziflam (A), clomazone (B) e sulfentrazone (C) em diferentes períodos de semeadura 0, 10, 20, 40 e 60 DAA. ....44
- Figura 6. Fitotoxicidade (%) de *Arachis hypogaea* (cultivar IAC OL3) após a aplicação de diferentes doses de indaziflam (A), clomazone (B) e sulfentrazone (C) em diferentes períodos de semeadura 0, 10, 20, 40 e 60 DAA. ....45
- Figura 7. Altura (cm) de *Arachis hypogaea* (cultivar IAC OL3) após a aplicação de diferentes doses de indaziflam (A), clomazone (B) e sulfentrazone (C) em diferentes períodos de semeadura 0, 10, 20, 40 e 60 DAA. ....47
- Figura 8. Área foliar (cm<sup>2</sup>) de *Arachis hypogaea* (cultivar IAC OL3) após a aplicação de diferentes doses de indaziflam (A), e sulfentrazone (B) em diferentes períodos de semeadura 0, 10, 20, 40 e 60 DAA. ....47
- Figura 9. Área foliar (cm<sup>2</sup>) de *Arachis hypogaea* (cultivar IAC OL3) em função do fator doses e períodos de semeadura após a aplicação de clomazone (A e B). ....48
- Figura 10. Redução biomassa seca da parte aérea (%) de *Arachis hypogaea* (cultivar IAC OL3) após a aplicação de diferentes doses de sulfentrazone em diferentes períodos de semeadura 0, 10, 20 e 40 DAA. ....49
- Figura 11. Redução biomassa seca da parte aérea (%) de *Arachis hypogaea* (cultivar IAC OL3) em função do fator doses e períodos de semeadura após a aplicação de indaziflam (A e B) e clomazone (C e D). ....50
- Figura 12. Fitotoxicidade (%) de *Glycine max* (cultivar B5710 CE) após a aplicação de diferentes doses de indaziflam (A), clomazone (B) e sulfentrazone (C) em diferentes períodos de semeadura 0, 10, 20, 40 e 60 DAA. ....51

Figura 13. Altura (cm) de <i>Glycine max</i> (cultivar B5710 CE) após a aplicação de diferentes doses de indaziflam (A), clomazone (B) e sulfentrazone (C) em diferentes períodos de semeadura 0, 10, 20, 40 e 60 DAA. ....	53
Figura 14. Área foliar (cm <sup>2</sup> ) de <i>Glycine max</i> (cultivar B5710 CE) após a aplicação de diferentes doses de indaziflam em diferentes períodos de semeadura 0, 10, 20, 40 e 60 DAA. ....	54
Figura 15. Área foliar (cm <sup>2</sup> ) de <i>Glycine max</i> (cultivar B5710 CE) em função do fator doses e períodos de semeadura após a aplicação de clomazone (A e B) e sulfentrazone (C e D). ....	55
Figura 16. Redução biomassa seca da parte aérea (%) de <i>Glycine max</i> (cultivar B5710 CE) após a aplicação de diferentes doses de indaziflam (A), clomazone (B) e sulfentrazone (C) em diferentes períodos de semeadura 0, 10, 20, 40 e 60 DAA. ...	56
Figura 17. Recipiente utilizado nos ensaios de toxicidade aguda e crônica com <i>E. andrei</i> . ....	67
Figura 18. Preparo dos solos contaminados e não contaminados e a divisória para separação entre os tratamentos (A) e introdução das minhocas na divisória entre os solos (B). ....	69
Figura 19. Média da perda/ganho de biomassa (mg) (barras) e número de adultos sobreviventes (linha contínua) de <i>E. andrei</i> com concentrações crescentes de clomazone (A), sulfentrazone (B) e indaziflam (C) (mg i.a. kg <sup>-1</sup> solo seco) aos 14 dias. A sobrevivência e biomassa foram analisados de forma independente. *Diferença estatística significativa (p≤0,05) pelo teste de Dunnett para biomassa e número de sobreviventes. (⊥) Desvio padrão. ....	73
Figura 20. Presença de líquido celomático (A) e controle (B) em adultos de <i>Eisenia andrei</i> sobreviventes após 14 dias. Fonte: produção do próprio autor, 2023. ....	74
Figura 21. Resultados do teste de fuga realizado com minhocas da espécie <i>E. andrei</i> quando expostas a um solo contaminado com diferentes concentrações de clomazone (A), sulfentrazone (B) e indaziflam (C) após 48 horas. Os resultados expressam valores médios ± erro padrão. *Diferença estatística significativa (p<0,05) pelo teste exato de Fisher. ....	76
Figura 22. Média de indivíduos (Ind.) juvenis de <i>E. andrei</i> em Latossolo Vermelho com concentrações crescentes dos herbicida clomazone (A), sulfentrazone (B) e indaziflam (C). *Diferença estatística significativa (p≤0,05) pelo teste de Dunnett. (⊥) Desvio padrão. ....	78
Figura 23. Porcentagem de redução da biomassa fresca (%) de <i>Lemna minor</i> quando expostas a concentrações crescentes de clomazone (A), sulfentrazone (B) e	

indaziflam (C) em mg L<sup>-1</sup> aos 7 dias. \*Diferença estatística significativa ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste de Dunnett para biomassa e número de sobreviventes. (⊖) Desvio padrão.....91

## LISTA DE ABREVIATURAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

B.O.D – Biochemical Oxygen Demand. Pt: Demanda Bioquímica de Oxigênio.

CENO – Concentração de Efeito Não Observado

CEO – Concentração de Efeito Observado

CLx – Concentração Letal em X % da População

COT – Carbono orgânico total

CTC – Capacidade de Troca Catiônica

DAA – Dias após a aplicação

DT – Dissipation time. Pt: Tempo de dissipação.

ECx – Effect Concentration em X % da População. Pt: Concentração de Efeito

i.a. – Ingrediente Ativo

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais

ISO – International Organization for Standardization. Pt: Organização Internacional de Normalização

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MO – Matéria Orgânica

NBR – Norma da Associação Brasileira de Normas Técnicas

OECD – Organization for Economic Co-operation and Development. Pt: Organização para Cooperação de Desenvolvimento Econômico

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL .....	16
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	18
REFERÊNCIAS .....	25
3. EFEITO RESIDUAL DE HERBICIDAS EM <i>Crotalaria juncea</i> , <i>Arachis hypogaea</i> E <i>Glycine max</i> .....	31
3.1. Introdução .....	31
3.2. Objetivo Geral .....	32
3.3.1 Objetivo específico .....	32
3.3. Material e Métodos .....	33
3.4. Resultados e Discussão .....	36
3.5. Conclusões .....	60
REFERÊNCIAS .....	61
4. TOXICIDADE DE HERBICIDAS EM <i>Eisenia andrei</i> .....	64
4.1. Introdução .....	64
4.2. Objetivo Geral .....	64
4.2.1. Objetivos específicos .....	65
4.3. Material e Métodos .....	66
4.4. Resultados e Discussão .....	71
4.5. Conclusões .....	81
REFERÊNCIAS .....	82
5. TOXICIDADE AGUDA DE HERBICIDAS EM <i>Lemna minor</i> .....	86
5.1. Introdução .....	86
5.2. Objetivo Geral .....	87
5.2.1. Objetivo específico .....	87
5.3. Material e Métodos .....	88
5.4. Resultados e Discussão .....	90
5.5. Conclusão .....	94
REFERÊNCIAS .....	95
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	98

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Os herbicidas clomazone, indaziflam e sulfentrazone, aplicados em pré-emergência, apresentam longo residual e são registrados para o controle de plantas daninhas em diversas culturas, entre elas, na cultura da cana-de-açúcar (DAYAN et al., 2018; MENDES et al., 2022). Destacam-se por sua importância agrônômica, porém, seu posicionamento inadequado pode trazer diversos riscos, visto que se tratam de moléculas que possuem a capacidade de permanecer no ambiente por longos períodos, podendo provocar efeitos negativos significativos à outras culturas semeadas na mesma área onde foram aplicados e na sequência da colheita da cultura de registro, em especial aquelas frequentemente utilizadas em reformas de canaviais, como soja, amendoim, crotalária, girassol, dentre outras. Fenômeno conhecido como *carryover* (MENDES et al., 2017).

Na literatura são encontrados diversos relatos de *carryover* em culturas anuais e olerícolas, como por exemplo, após 215 dias da aplicação do herbicida diuron (1250,0 g i.a. ha<sup>-1</sup>) foram constatados sintomas de fitotoxicidade e redução da massa seca de soja, conforme descrito por Gheno et al. (2016). Os mesmos autores encontraram sintomas de fitotoxicidade provocado pelo mesmo herbicida na cultura do milho e feijão aos 70 e 207 dias após a aplicação, respectivamente. Torres et al. (2018) demonstraram que o herbicida indaziflam pode causar danos significativos em soja, amendoim, crotalária e girassol quando semeadas até 60 dias após sua aplicação.

Além disso, os resíduos de herbicidas no solo também estão associados a impactos ambientais negativos. Dentre eles, podem-se citar as consequências da contaminação por agrotóxicos à microbiota e outros organismos do solo, principalmente sobre minhocas, importantes invertebrados que realizam a reciclagem de nutrientes e potencializam a atividade dos microrganismos, como fungos e bactérias que são responsáveis pelos processos de degradação biológica de pesticidas (MARTINS, 2013; MANCUSO et al., 2011).

Para Oliveira (2021), o princípio ativo ametrine mostrou-se altamente tóxico para a população de minhocas da espécie *Enchytraeus crypticus*, inibindo sua reprodução mesmo em concentrações inferiores em relação à dose recomendada. Este fato pode influenciar a biodiversidade e importantes funções no ecossistema do solo (BACH et al., 2020).



Por outro lado, em função dos fenômenos de transporte que sofrem ao longo do perfil do solo, como a lixiviação ou o escoamento superficial (runoff), os herbicidas podem atingir corpos hídricos e proporcionar efeitos negativos na qualidade de águas superficiais e subterrâneas (SANTOS et al., 2013) além de causar desequilíbrio na biota dos ecossistemas aquáticos (NASCIMENTO; NAVAL, 2019).

Utilizando os herbicidas atrazine, diuron, simazine e glyphosate, Kumar e Han (2010), relataram que o diuron foi classificado como o herbicida mais tóxico ( $CL_{50}$  de  $0,016 \mu\text{g L}^{-1}$ ), enquanto o glyphosate ( $CL_{50}$  de  $16 \mu\text{g L}^{-1}$ ) foi o menos tóxico para a macrófita *Lemna minor* (L.). De acordo com Sikorsk et al. (2019), *L. minor* é uma espécie bioindicadora que habita em corpos de água doce e são frequentemente utilizadas em avaliações de risco ambiental para determinar os potenciais impactos de contaminantes nos produtores primários.

Portanto, diante da escassez de informações, principalmente em condições tropicais, mostra-se necessário avaliar o efeito dos herbicidas clomazone, indaziflam e sulfentrazone em culturas cultivadas em sucessão a cana-de-açúcar, sobretudo estudos direcionados para organismos não-alvo, auxiliando na segurança de recomendação e aplicação desses produtos no campo. Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi testar a hipótese de que os herbicidas com longo residual (clomazone, indaziflam e sulfentrazone) causam efeitos em soja, crotalária e amendoim e toxicidade em organismos terrestres e aquáticos não-alvo.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.2 Efeito residual de herbicidas em culturas agrícolas (*carryover*)

A agricultura é uma atividade econômica que frequentemente utiliza agrotóxicos (agricultura convencional) e, portanto, também responsável pela liberação destes produtos em diferentes ecossistemas. Devido ao grande potencial de contaminação ambiental, os agrotóxicos são considerados uma ameaça constante a biodiversidade e equilíbrio dos ambientes afetados (ZARDO, 2011). Segundo o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), as vendas de agrotóxicos no Brasil durante os anos de 2000 a 2019 cresceram em 443,72% (IBAMA, 2023) sendo os herbicidas a classe de uso mais vendida (56,63%).

De acordo com Mancuso *et al.* (2011), os herbicidas podem ser aplicados diretamente no solo ou na parte aérea das plantas, e ao atingirem o solo passam por processos físico-químicos que vão regular seu destino no ambiente. Os autores afirmam que um dos principais problemas constatados é a fitotoxicidade causada pelo efeito residual desses produtos em culturas sucessoras. E este efeito no solo por um longo período é conhecido como *carryover* (ALVES *et al.*, 2019).

*Carryover* é a capacidade do herbicida em permanecer no solo e prejudicar a produtividade e a qualidade dos produtos de culturas agrícolas semeadas em rotação ou sucessão à cultura onde foi aplicado inicialmente o produto (SILVA *et al.*, 2014; MELO *et al.*, 2016). Segundo Monquero e Silva (2021), o efeito residual do herbicida pode variar em função das características físico-químicas da molécula, das propriedades inerentes ao solo e das condições climáticas.

Os herbicidas têm a persistência influenciada por propriedades do solo como o pH, a textura, a umidade e o teor de matéria orgânica (CURRAN, 2016). O imazethapyr e diclosulam causaram reduções na altura e acúmulo da massa seca da parte aérea das plantas de girassol semeado em sucessão à cultura da soja até 200 e 140 dias após a aplicação, respectivamente (DAN *et al.*, 2012). Em outro trabalho, Dan *et al.* (2010) constataram que após 115 dias de aplicação, o sulfentrazone (100 g i.a. ha<sup>-1</sup>) mostrou efeito residual e como consequência, apresentou fitotoxicidade, redução na massa seca da parte aérea e redução na produtividade da cultura do sorgo.

Torres *et al.* (2018) realizaram aos 0, 10, 20, 40 e 60 dias após a aplicação dos herbicidas indaziflam e saflufenacil a semeadura de culturas de soja, amendoim,

crotalária e girassol e constataram que o herbicida indaziflam causou fitotoxicidade até os 60 DAA, no entanto, as notas de fitotoxicidade decaíram ao longo das avaliações para o saflufenacil. Enquanto Concenço et al. (2017) observaram até 70% de fitotoxicidade dos herbicidas clomazone, diclosulam, imazethapyr e sulfentrazone em plantas de sorgo semeadas também aos 60 dias após a aplicação.

Inoue et al. (2011) monitoraram o efeito residual dos herbicidas ametrine, clomazone e diuron, aplicados em pré-emergência em amostras de Neossolo Quartzarênico e de um Latossolo Vermelho, com texturas contrastantes. Verificaram que ametrine proporcionou 80% de controle do pepino e da braquiária até os 40 dias após a aplicação (DAA), independentemente do solo e da dose. O clomazone apresentou efeito residual em sua dose recomendada apenas em solo argiloso, com 80% até os 71 DAA. Diuron apresentou alta estabilidade em solo argiloso, observando-se fitotoxicidade superior a 91% até os 100 DAA na dose recomendada e acima de 80% até os 54 DAA na dose recomendada para solo arenoso.

Trabalhos realizados por Santos et al. (2003) indicaram que o clomazone aplicado na cultura da soja afetou culturas sucessivas de trigo, aveia e cevada devido ao seu residual no solo, o que demanda um intervalo mínimo de 150 DAA para implantação da cultura subsequente. Brighenti et al. (2002) verificaram a fitotoxicidade da atrazine sobre a cultura do girassol em sucessão ao milho, verificaram que a produtividade da cultura do girassol sofreu reduções significativas, em função dos resíduos de atrazine presentes na semeadura realizada aos 60 dias após a aplicação das doses de 3,0 e 6,0 kg ha<sup>-1</sup>.

Assim, os herbicidas conhecidos como persistentes no solo, podem intoxicar as culturas subsequentes. Portanto, a recomendação de herbicida deve estar pautada não somente na eficácia de uso no cultivo em que é recomendada, mas também no potencial de risco para culturas que virão na sequência.

## **2.2. Dinâmica de herbicidas no ambiente**

O comportamento dos herbicidas no ambiente é regido por fenômenos de transporte, retenção e/ou transformação. Dentre o transporte se destaca lixiviação, escoamento superficial, volatilização e deriva de pulverizações. Quando se fala em retenção temos adsorção pelas partículas coloidais do solo, absorção e precipitação, já no processo de transformação têm a degradação biótica e abiótica (GUERRA *et al.*, 2016; CORREIA, 2018).

As perdas por transporte podem ser significativas. A volatilização trata-se da mudança do estado físico da matéria, na qual o produto passará para a forma de vapor, sendo perdido para a atmosfera (CORREIA, 2018). De modo geral, a volatilização de herbicidas no solo é aumentada com a elevação da temperatura e aumento da umidade do solo, variando em função da alteração da pressão de vapor das moléculas (MENDES et al., 2022).

O escoamento superficial consiste no movimento horizontal, em que herbicidas adsorvidos às partículas do solo são escoados pela água da chuva, podendo atingir rios e lagos (SILVA et al., 2014). A lixiviação corresponde ao transporte vertical dos herbicidas ao longo do perfil do solo com o auxílio da água de irrigação ou chuva (GUERRA et al., 2016; SPADOTTO; GOMES, 2021). Assim, os agrotóxicos podem alcançar os cursos d'água superficiais e lençóis freáticos, e conseqüentemente gerando grande dificuldade de descontaminação (TOMITA; BEYRUTH, 2002).

A sorção é a retenção do composto, sem especificar qual é o mecanismo, podendo ser: adsorção aos colóides do solo, absorção por organismos vivos ou precipitação (GEBLER; SPADOTTO, 2008). A adsorção envolve processos hidrofóbicos, físicos e químicos, em que a molécula do herbicida fica aderida à superfície dos colóides minerais (argila) ou orgânicos (matéria orgânica) do solo. As forças responsáveis pelas reações de adsorção podem ser fracas ou extremamente fortes (CORREIA, 2018).

A transformação da molécula do herbicida envolve reações químicas de natureza abiótica, como degradação química e fotodegradação, ou biológica, incluindo biodegradação por meio da metabolização e/ou mineralização por ação de fungos e bactérias. De maneira geral, a biodegradação representa a principal via de redução dos herbicidas no ambiente (ANDRIGHETTI et al., 2014).

Fatores que influenciam o destino dos herbicidas no ambiente são as características físico-químicas inerentes à molécula, são elas: solubilidade em água ( $S_w$ ), pressão de vapor (PV), coeficiente de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ), constante de ionização ácido (pKa) ou base (pKb), coeficiente de adsorção ( $K_{oc}$ ), constante da lei de Henry (H) e meia vida ( $t_{1/2}$ ) do produto (KUYA; SALGADO, 2014). Na avaliação do risco de contaminação por agrotóxicos das águas subterrâneas em áreas com cana-de-açúcar, realizado por Ruy e Reis (2012), foi constatado que os herbicidas com meia-vida de 30-180 dias (medianamente persistentes) e baixos valores de adsorção

a fração orgânica do solo ( $K_{oc}$ ), como ametrine, tebuthiuron, hexazinone e sulfentrazone, demonstraram maior risco de contaminação.

Com relação à solubilidade da molécula, esta influencia no transporte até os cursos d'água e, quando associada à ocorrência de chuvas, aumenta a probabilidade de contaminação ambiental (MARCHESAN et al., 2010; DELLAMATRICE; MONTEIRO, 2014). Na microbacia do Córrego Rico, em Jaboticabal-SP, Santos *et al.* (2015) detectaram clomazone em mais de 60% das coletas e atribuíram o alto potencial de contaminação de águas subterrâneas a solubilidade em água ( $1,1 \text{ L}^{-1}$ ) e baixo  $K_{oc}$  ( $300 \text{ mL g}^{-1}$ ) do herbicida encontrado.

Relatos de contaminação de águas superficiais e subterrâneas vêm sendo descritos na literatura há alguns anos, como na sub-bacia do Rio Corumbataí (pertencente ao Rio Piracicaba), uma região bastante explorada para cultivo de cana-de-açúcar, onde foram constatadas concentrações do herbicida tebuthiuron em amostras de águas profundas do aquífero Guarani (GOMES; SPADOTTO, 2001).

Para Dias et al. (2018), o herbicida atrazine apresentou baixa adsorção a fração orgânica do solo ( $K_{oc}$ ) e, por esse motivo, grande capacidade de ser facilmente lixiviado ou conduzido pelo escoamento superficial, evidenciando que águas superficiais e subterrâneas são passíveis de serem contaminadas pela molécula. Enquanto Nascimento e Naval (2019) encontraram miscibilidade no herbicida glyphosate, caracterizando o princípio ativo como muito solúvel e, portanto, um potencial poluidor para as águas superficiais e subterrâneas.

Armas et al. (2005) constataram que herbicidas foram a classe de agrotóxicos mais utilizados em cana-de-açúcar na região da sub-bacia do Rio Corumbataí-SP, sendo glyphosate, atrazine, ametrine, 2,4-D, metribuzin e diuron os mais consumidos entre janeiro de 2000 a dezembro de 2003. Britto et al. (2012) relataram contaminação das águas do Rio Poxim (SE), utilizado para abastecimento público, pelos herbicidas 2,4-D, clomazone e diuron em locais próximos a lavouras de cana-de-açúcar.

Analisando a literatura de resíduos de herbicidas em corpos hídricos, Santos et al. (2013) concluíram que os mais frequentes e quantificados em águas de diferentes estados do Brasil foram o glyphosate e clomazone (RS), diuron (SE), 2,4-D (SC) e atrazine (MT). Botelho (2013) detectou concentrações dos herbicidas ametrine e atrazine que variaram de 0,25 a 1,44 e 0,11 a  $1,92 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente, no Rio Piracicaba (SP). Além disso, as amostras de água demonstraram baixa qualidade,

através de parâmetros físico-químicos, em locais próximos às cidades de Americana e Piracicaba (SP), região produtora de cana-de-açúcar.

### **2.3. Efeito de herbicidas em organismos não-alvo**

O comportamento, destino ambiental e os efeitos adversos potenciais de agrotóxicos sobre o ambiente, podem provocar prejuízos para a dinâmica populacional, composição e funcionamento dos ecossistemas e aos organismos não-alvo (GERÓNIMO et al., 2014; JANSEN et al., 2011). Essas alterações podem ser mensuradas por determinação da concentração dos diferentes compostos presentes no ambiente alvo de estudo, através de análises físicas, químicas, microbiológicas e uso de bioindicadores de qualidade (PARMAR et al., 2016).

Ensaio ecotoxicológicos são essenciais para avaliar os possíveis efeitos sobre a biota após a exposição às substâncias químicas que tenham potencial de contaminação (AZEVEDO; CORONAS, 2018). De acordo com Freches (2015), os ensaios de toxicidade aguda avaliam exposições curtas em elevadas concentrações do produto tóxico e consistem na avaliação de mortalidade dos organismos. Enquanto os ensaios de toxicidade crônica são feitos em concentrações inferiores com avaliações mais longas baseadas em efeitos reprodutivos, comportamentais e bioquímicos. Dessa forma, é necessário o uso de testes ecotoxicológicos padronizados por normas nacionais e/ou internacionais, pois é fundamental para garantir a consistência, confiabilidade e aceitabilidade científica e regulatória dos resultados obtidos nas avaliações de impacto ambiental (ÅGERSTRAND et al., 2014; SANTOS et al., 2015).

Para avaliar os efeitos de poluentes químicos em ambientes aquáticos, as macrófitas do gênero *Lemna* spp. são amplamente utilizadas como organismos-teste em ensaios de toxicidade (KISS et al., 2003). Esse grupo de plantas aquáticas representa um bioindicador de grande relevância para a exposição a agentes poluentes, uma vez que a exposição a esses compostos pode resultar em perturbações que impactam diretamente na estrutura e funcionamento do ecossistema (FREEMARK; BOUTIN, 1994).

*Lemna minor* é uma macrófita de hábito aquático, amplamente distribuída em ambientes de água doce, sua reprodução é assexuada e dentro da cadeia trófica atua como produtor primário, servindo de alimento para pequenos animais, peixes e aves (MOHEDANO, 2004; CROSS et al., 2021). De modo geral, as macrófitas lemnáceas

são as mais utilizadas em testes de toxicidade por possuírem a maior taxa de crescimento entre os vegetais superiores, alta sensibilidade em vista às respostas rápidas de toxicidade aos testes, e, facilidade de manejo e reprodução em laboratório (LALAU, 2014).

Mansano (2016) realizou um estudo para determinar a toxicidade crônica do uso de agrotóxicos em organismos indicadores da qualidade de água. Para tal, foram realizados bioensaios com diuron, no qual foram constatados que tanto o ingrediente ativo como o produto comercial inibiram significativamente o crescimento da macrófita *Raphidocelis subcapitata* nas concentrações de 5,0 a 40,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  e, também encontrou que a maior concentração do diuron, seja o ingrediente ativo ou formulação comercial, com concentração de efeito não observado (CENO) de 2,5  $\mu\text{g L}^{-1}$ , enquanto a menor concentração que causou um efeito observável (CEO) foi 5,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

Nos testes de toxicidade com algas, utilizando diuron e seus subprodutos, Neuwoehner *et al.* (2010) observaram que o MCPDMU (3-(3-chlorophenyl)-1,1-dimethylurea), DCPMU (1-(3,4-dichlorophenyl)3-methylurea) e DCPU (1-(3,4-dichlorophenyl)ureia), alguns dos subprodutos do diuron, demonstraram uma toxicidade específica para a espécie *Pseudokirchneriella subcapitata*. Campos (2015) relatou que as macrófitas *Azolla filiculoides* e *Phyllanthus fluitans* foram as mais sensíveis aos herbicidas glyphosate, paraquat e diuron quando expostas a estes produtos químicos por um período de 21 dias.

Na literatura são encontrados diversos trabalhos que relatam a concentração letal ( $CL_{50}$ ) em testes de toxicidade com herbicidas no cultivo de *Lemna minor*, podendo-se citar os seguintes produtos: diuron, diquat, glyphosate, simazine, metsulfuron, paraquat, 2,4-D e atrazine (FAIRCHILD *et al.*, 1997; KUMAR; HAN, 2010; REBELO; CALDAS, 2014; GATIDOU *et al.*, 2015; GARLICH *et al.*, 2016). O herbicida clomazone apresentou uma  $CL_{50}$  na faixa de concentração entre 708,35 e 129,63  $\text{mg L}^{-1}$  após 7 dias de exposição para a macrófita *Azolla caroliniana*, sendo menos tóxico que os herbicidas oxyfluorfen com 80,50  $\text{mg L}^{-1}$ , glyphosate na formulação Trop com 38,91  $\text{mg L}^{-1}$  e o glyphosate na formulação Scout com 23,66  $\text{mg L}^{-1}$  (SILVA *et al.*, 2012).

Para estimar a toxicidade dos compostos para os organismos aquáticos, é necessário também avaliar a capacidade de degradação dos herbicidas pelos microrganismos e organismos vivos do solo (BASTOS, 2013). As minhocas, por exemplo, são importantes organismos que participam da regulação de funções

estruturais do solo e decomposição da matéria orgânica e, devido ao seu papel na promoção de fertilidade do solo e alta sensibilidade aos poluentes químicos presentes no solo, as tornam adequadas para a avaliação de risco dos agrotóxicos a biota terrestre (SALVIO et al., 2016).

Ensaio ecotoxicológicos, baseados na mortalidade em minhocas, demonstram o potencial de contaminação do solo por agrotóxicos (AZEVEDO; CORONAS, 2018). As minhocas são comumente utilizadas nesses testes com a finalidade de avaliar a capacidade de degradação e o risco de pesticidas em atingirem outros ecossistemas (BENETTI, 2015). Como as minhocas da espécie *Eisenia andrei* (Bouché, 1972) que são organismos de fácil manutenção e que se tornaram ferramenta padrão em pesquisas ecológicas (ANDRÉA, 2010) devido a fácil adaptação em laboratório (FOUNTAIN; HOPKIN, 2005).

Em ensaios agudos e crônicos, com o objetivo de analisar a mortalidade e reprodução de minhocas da espécie *E. andrei*, Domínguez et al. (2016) relataram perdas significativas de biomassa ao aplicar as maiores concentrações do principal metabólito do herbicida glyphosate, ácido aminometilfosfônico (AMPA). Com o objetivo de analisar efeitos comportamentais, agudos e crônicos do herbicida isoxaflutole em minhocas, Santo et al. (2020) constataram que a espécie *E. andrei* apresentou comportamento de fuga e alterações reprodutivas em concentrações >300 e >150 vezes que a dose de campo recomendada, respectivamente.

O herbicida mesotrione quando aplicado duas vezes diminuiu a reprodução da espécie *E. crypticus* em áreas de restauração florestal (SCORIZA et al., 2015). De acordo com Baretta et al. (2011), qualquer alteração na população de invertebrados no solo pode acarretar modificações no ciclo desse ecossistema e incorporação da matéria orgânica nas diferentes camadas do solo.

Desta forma, ao compreender o efeito residual no solo em culturas agrícolas e seus possíveis efeitos em organismos não-alvo em diferentes compartimentos do ambiente, será possível estabelecer uma relação entre as doses agronomicamente eficazes e ambientalmente seguras desses produtos químicos.



## REFERÊNCIAS

- ÅGERSTRAND, M.; EDVARDSSON, L.; RUDÉN, C. Bad reporting or bad science? Systematic data evaluation as a means to improve the use of peer-reviewed studies in risk assessments of chemicals. **Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal**, v. 20, n. 6, p. 1427-1445, 2014.
- ALVES, C.; GALON, L.; MAETHÊ, C.; RODRIGUES, R.; WINTER, F. L.; CONCENÇO, G.; NONEMACHER, F.; PERIN, G. F. Características fisiológicas de plantas hibernais com potencial fitorremediador sob influência dos herbicidas fomesafen e sulfentrazone. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 18, n.1, 1-12, 2019.
- ANDRÉA, M. M. O uso de minhocas como bioindicadores de contaminação de solos. **Acta Zoologica Mexicana**, v. 26, p. 97-107, 2010.
- ANDRIGHETTI, M. S.; NACHTIGALL, G. R., QUEIROZ, S. C. N. de; FERRACINI, V. L.; AYUB, M. A. Z. Biodegradação de glyphosate pela microbiota de solos cultivados com macieira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, n. 5, p. 1643-1653, 2014.
- ARMAS, E. D. D., MONTEIRO, R. T. R., AMÂNCIO, A. V., CORREA, R. M. L., GUERCIO, M. A. Uso de agrotóxicos em cana-de-açúcar na bacia do rio Corumbataí e o risco de poluição hídrica. **Química Nova**, v. 28, n.6, p. 975-982, 2005.
- AZEVEDO, A. R.; CORONAS, M. V. Uso de testes de fuga com minhocas *Eisenia andrei* e *Eisenia fetida* para identificação da toxicidade de agrotóxicos no Brasil: uma breve revisão da literatura. **Ciência e Natura**, v. 40, p. 18-26, 2019.
- BACH, E. M. et al. Soil Biodiversity Integrates Solutions for a Sustainable Future. **Sustainability**, v. 12, n. 7, p. 2662, 2020.
- BARETTA, D.; SANTOS, J. P. C.; SEGAT, J. C.; GEREMIA, E. V.; OLIVEIRAFILHO, L. C. L.; ALVES, M. V. Fauna edáfica e qualidade do solo. In: KLAUBERGFILHO, O.; MAFRA, A. L.; GATIBONI, L. C. Tópicos em Ciências do solo. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 7, p. 141-192, 2011.
- BASTOS, D. N. de. **Toxicidade do herbicida Glyphosate em *Daphnia magna* e pós-larvas de *Rhamdia quelen***. Dissertação (Mestrado em Aquicultura), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2013.
- BENETTI, F. **Avaliação cromatográfica e estudos de sorção e de toxicidade em minhocas de deltametrine, glyphosate e ácido aminometilfosfônico**. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade de São Paulo, 2015.
- BOTELHO, R. G. **Avaliação da qualidade da água do rio Piracicaba (SP) e efeito da vinhaça para os organismos aquáticos antes e após a correção do pH**. 2013. Tese (Doutorado em Ciências), Centro de Energia Nuclear, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

BRITTO, F. B.; PEREIRA, A. P. S.; MELLO, J. R. A. V.; NOGUEIRA, L. C.L. Herbicidas no alto Rio Poxim, Sergipe e os riscos de contaminação dos recursos hídricos. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 43, n. 2, p. 390-398, 2012.

BRIGHENTI, A. M.; MORALES, V. J.; OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; GAZZIERO, D. L.; VOLL, E.; GOMES, J. A. Persistência e fitotoxicidade do herbicida atrazine aplicado na cultura do milho sobre a cultura do girassol em sucessão. **Planta Daninha**, v. 20, n. 2, p. 291- 297, 2002.

BUCH, A. C.; SANTO, F. B.; NIEMEYER, J. C. Efeito de herbicidas na fauna do solo. In: MENDES, K. F.; INOUE, M. H.; TORNISIELO, V. L. (Orgs.) Herbicidas no ambiente: Impacto e Detecção. Viçosa, Minas Gerais: UFV, 2022. p. 68-92.

CAMPOS, P. S. **Efeito dos herbicidas diuron, glyphosate e paraquat e curvas de distribuição de sensibilidade de espécies (CDSE) para a proteção da diversidade de macrófitas aquáticas da região Amazônica**. Tese (Doutorado em Diversidade Biológica) – Universidade Federal do Amazonas, 2015.

CORREIA, N. M. Comportamento dos herbicidas no ambiente. **Embrapa Hortaliças**. Brasília, Distrito Federal, 2018.

CURRAN, WS. Persistência de herbicidas no solo. **Culturas e solos**, v. 49, n. 5, p. 16-21, 2016.

CROSS, J. W. **The Charms of Duckweed**. Disponível em:< <http://www.mobot.org/jwcross/duckweed/>>. Acesso em: 17 maio 2021.

DAN, H. D. A.; DAN, L. G. D. M.; BARROSO, A. L. D. L.; PROCÓPIO, S. D. O.; OLIVEIRA JÚNIOR, R. S. D.; BRAZ, G. B. P.; ALONSO, D. G. Atividade residual de herbicidas usados na soja sobre o girassol cultivado em sucessão. **Ciência Rural**, v.42, n.11, p.1929- 1935, 2012.

DAN, H. A.; DAN, L. G. M.; BARROSO, A. L. L.; PROCÓPIO, S. O.; OLIVEIRA JR, R. S.; SILVA, A. G.; FELDKIRCHER, C. Residual activity of herbicides used in soybean agriculture on grain sorghum crop succession. **Planta Daninha**, v.28, p.1087-1095, 2010.

DAYAN, E. F.; BARKER, A.; BOUGH, R.; ORTIZ, M.; TAKANO, H. K.; DUKE, S. O. Bioactivity of herbicides – Herbicides Mechanisms of Action and Resistance. In: MOO-YOUNG, M. (Org.) *Comprehensive Biotechnology*. 3 ed. Pergamon: Elsevier, 2018. p. 23-35.

DELLAMATRICE, P. M.; MONTEIRO, R. TR. Principais aspectos da poluição de rios brasileiros por pesticidas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 12, p. 1296-1301, 2014.

DIAS, A. C. L.; SANTOS, J. M. B.; SANTOS, A. S. P.; BOTTREL, S. E. C.; OLIVEIRA PEREIRA, R. de. Ocorrência de Atrazine em águas no Brasil e remoção no tratamento

da água: revisão sistemática. **Revista Internacional de Ciências**, v. 8, n. 2, p. 234-253, 2018.

DOMÍNGUEZ, A.; BROWN, G. G.; SAUTTER, K. D.; RIBAS De OLIVEIRA, C. M.; De VASCONCELOS, E. C.; NIVA, C. C.; BEDANO, J. C. Toxicity of AMPA to the earthworm *Eisenia andrei* Bouché, 1972 in tropical artificial soil. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2016.

FAIRCHILD, J.F.; RUESSLER, D.S.; HAVERLAND, P.S.; CARLSON, A.R. Comparative sensitivity of *Selenastrum capricornutum* and *Lemna minor* to sixteen herbicides. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 32, n. 4, p. 353-357, 1997.

FOUNTAIN, M. T.; HOPKIN, S. P. *Folsomia candida* (Collembola): a “standard” soil arthropod. **Annual Review of Entomology**, v. 50, p. 201-222, 2005.

FRECHES, A.R. **Efeitos ecológicos de substâncias químicas: uma nova perspectiva sobre velhas ferramentas**. Dissertação (Mestrado em Ecologia, Ambiente e Território), Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, 2015.

FREEMARK, K.; BOUTIN, C. Nontarget-plant risk assessment for pesticide registration. **Environmental Management**, v. 18, p. 841-854, 1994.

FURLAN, D A. **Efeito residual de Indaziflam em amendoim**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal. 31 p., 2020.

GATIDOU, G., STASINAKIS, A.S., IATROU, E.I. Assessing single and joint toxicity of three phenylurea herbicides using *Lemna minor* and *Vibrio fischeri* bioassays. **Chemosphere**, v. 119, p. 69-74, 2015.

GARLICH, N., DA CRUZ, C., DA SILVA, A. F., CARRASCHI, S. P., MALASPINA, I. C., PITELLI, R. A., BIANCO, S. Diquat associated with copper sources for algae control: Efficacy and ecotoxicology. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 51, n. 4, p. 215-221, 2016.

GEBLER, L.; SPADOTTO, C. A. Comportamento ambiental dos herbicidas. In: VARGAS, L.; ROMAN, E. S. **Manual de manejo e controle de plantas daninhas**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2008. 780 p.

GERÓNIMO, E., APARICIO, V.C., BÁRBARO, S., PORTOCARRERO, R., JAIME, S., COSTA, J.L. Presence of pesticides in surface water from four sub-basins in Argentina. **Chemosphere**, v. 107, p. 423-431, 2014.

GHENO, E. A.; OLIVEIRA JUNIOR, R. S. D.; CONSTANTIN, J.; TAKANO, H. K.; GEMELLI, A. Residual activity of herbicides applied to cotton on crops cultivated in succession. **Revista Caatinga**, v.29, n.1, p.143- 152, 2016.

GOMES, M. A. F.; SPADOTTO, C. A. **Em Biodegradação**. MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L., eds.; Embrapa Meio Ambiente: Jaguariúna, 2001.

GUERRA, N., OLIVEIRA JÚNIOR, R. S., CONSTANTIN, J., OLIVEIRA NETO, A. M., GEMELLI, T. M. D. C. J., GUERRA, A. Potencial de lixiviação de herbicidas utilizados na cultura da cana-de-açúcar. **Campo Digital**, v.11, n.1, 2016.

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, 2021. **Relatório de Comercialização de Agrotóxicos e Afins. Histórico de comercialização 2000 a 2021**. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#hist-comercializacao>>. Acesso em 27 março de 2023.

INOUE, M. H.; SANTANA, C. T. C.; OLIVEIRA JR, R. S.; POSSAMAI, A. C. S.; SANTANA, D. C.; ARRUDA, R. A. D.; SZTOLTZ, C. L. Efeito residual de herbicidas aplicados em pré-emergência em diferentes solos. **Planta Daninha**, v. 29, p. 429-435, 2011.

JANSEN, M. et al. Evolutionary ecotoxicology of pesticide resistance: A case study in *Daphnia*. **Ecotoxicology**, v. 20, n. 3, p. 543–551, 2011.

KISS, I.; KOVÁTS, N.; SZALAY, T. Evaluation of some alternative guidelines for risk assessment of various habitats. **Toxicology letters**, v. 140, p. 411-417, 2003.

KUMAR, K. S.; HAN, T. Physiological response of *Lemna* species to herbicides and its probable use in toxicity testing. **Toxicology and Environmental Health Sciences**, v. 2, n. 1, p. 39-49, 2010.

KUVA, M. A.; SALGADO, T. P. Manejo de Plantas Daninhas nas Principais Culturas Perenes do Brasil. Seção I: Manejo de Plantas Daninhas da cultura de Cana-de-açúcar. In: MONQUERO, P. A. **Manejo de Plantas Daninhas nas Culturas Agrícolas**. São Carlos, São Paulo: RiMa, 2014. p.82-113.

LALAU, C. M. **Avaliação da toxicidade de nanopartículas de óxido de cobre através de macrófitas da espécie *Landoltia punctata***. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental), Universidade Federal de Santa Catarina. 114 p., 2014

MARCHESAN, E.; SARTORI, G. M. S.; AVILA, L. A. DE; MACHADO, S. L. O. DE; ZANELLA, R.; PRIMEL, E. G.; MACEDO, V. R. M.; MARCHEZAN, M.G. Resíduos de agrotóxicos na água de rios da depressão central do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v.40, p.1053-1059, 2010.

MANCUSO, M. A.C.; NEGRISOLI, E.; PERIM, L. Efeito residual de herbicidas no solo (“Carryover”). **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 10, p. 151-164, 2011.

MANSANO, A. da S. **Efeitos dos agrotóxicos diuron e carbofuran, isolados e em mistura, sobre organismos aquáticos e avaliação de risco ecológico**. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade Federal de São Carlos, 2016.

MARTINS, T. Herbicida Paraquat: conceitos, modo de ação e doenças relacionadas. **Semina: Ciências biológicas e da saúde**, v. 34, n. 2, p. 175-186, 2013.

MELO, C.A.D.; DIAS, R. de C.; MENDES, K.F.; ASSIS, A.C. de L.P.; REIS, M.R. dos. Herbicides carryover in systems cultivated with vegetable crops. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.15, p.67-78, 2016.

MENDES, K. F.; DIAS, R. C.; REIS, M. R. *Carryover* e persistência de herbicidas em solos. Boletim Técnico, Viçosa: SBCPD Comitê de Qualidade Ambiental, 2017.

MOHEDANO, R. de A. **Tratamento de efluente e produção de alimento, em cultivos de tilápias (*Oreochromis niloticus*), através da macrófita aquática *Lemna valdiviana***. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 44p., 2004.

MONQUERO, P. A.; SILVA, P. V. Comportamento de herbicidas no ambiente. In: BARROSO, A. A.; MURATA, A. T. (Org.). **Matologia: estudos sobre plantas daninhas**. Jaboticabal: Fábrica da Palavra, p. 547, 2021.

NASCIMENTO, L. de C.; NAVAL, L. P. Toxicidade determinada pelo uso dos agrotóxicos em organismos indicadores de qualidade da água. **Brazilian Journal of Environmental Sciences**, n. 53, p. 69-80, 2019.

NEUWOEHNER, J., ZILBERMAN, T., FENNER, K., ESCHER, B.I. QSAR-analysis and mixture toxicity as diagnostic tools: Influence of degradation on the toxicity and mode of action of diuron in algae and daphnids. **Aquatic Toxicology**, v. 97, p. 58-67, 2010.

PARMAR, T.K.; RAWTANI, D.; AGRAWAL, Y.K. Bioindicators: the natural indicator of environmental pollution. **Frontiers in Life Science**, v. 9, n. 2, p. 110-118, 2016.

RUY, R.; REIS, T. E. Da S. Risco de contaminação por agrotóxicos das águas subterrâneas em áreas cultivadas com cana-de-açúcar. **Pesticidas: revista de ecotoxicologia e meio ambiente**, v. 22, 2012.

SALVIO, C. et al. Survival, Reproduction, Avoidance Behavior and Oxidative Stress Biomarkers in the Earthworm *Octolasion cyaneum* Exposed to Glyphosate. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 2016.

SANTO, F. B. de; RAMOS, G. A.; RICARDO FILHO, A. M.; MARCHIORO, C. A.; NIEMEYER, J. C. Ecotoxicity of the isoxaflutole herbicide to soil invertebrates. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 19, n. 2, p. 217-223, 2020.

SANTOS, R. L. B.; SPEHAR, C. R.; VIVALDI, L. Quinoa (*Chenopodium quinoa*) reaction to herbicide residue in a Brazilian Savannah soil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 6, p. 771-776, 2003.

SANTOS, E.A.; CORREIA, N. M.; BOTELHO, R.G. Resíduos de herbicidas em corpos hídricos – Uma revisão. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.12, n.2, p.188-201, 2013.

SANTOS, E. R. dos; BALOTTIN, L. B.; DE OLIVEIRA, M. A. L.; GRANJEIRO, J. M. Panorama brasileiro do Programa de Boas Práticas de Laboratório. Impacto na redução do uso de animais. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, v. 3, n.2, p. 20-28, 2015.

SANTOS, E.; CORREIA, N.; SILVA, J.; VELINI, E.; PASSOS, A.; DURIGAN, J. Detecção de herbicidas em água subterrânea na microbacia do Córrego Rico-SP. **Planta Daninha**, v. 33, n. 1, p. 147-155, 2015.

SCORIZA, R. N.; SILVA, A. D. P.; CORREIA, M. E. F.; LELES, P. S. D. S.; RESENDE, A. S. D. Efeito de Herbicidas sobre a Biota de Invertebrados do Solo em Área de Restauração Florestal. **Revista Brasileira da Ciência do Solo**, vol.39, n.6, pp.1576-1584, 2015.

SIKORSKI, Ł; BACIAK, M.; BEŚ, A.; ADOMAS, B. The effects of glyphosate-based herbicide formulations on *Lemna minor*, a non-target species. **Aquatic Toxicology**, v. 209, p. 70-80, 2019.

SILVA, A. F.; CRUZ, C.; NETO, A.N.; PITELLI, R.A. Ecotoxicidade de herbicidas para a macrófita aquática (*Azolla caroliniana*). **Planta Daninha**, v.30, n.3, p.541-546, 2012.

SILVA, A. D.; D'ANTONIO, L.; VIVIAN, R.; OLIVEIRA JR, R. S. Comportamento de herbicidas no solo. In: MONQUERO, P. A. (Org.). **Aspectos da biologia e manejo das plantas daninhas**. São Carlos: Rima, 2014. p. 145-165.

SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F. **Agricultura e meio ambiente: Perdas de agrotóxicos**. Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura\\_e\\_meio\\_ambiente/arvore/CONTAG01\\_39\\_210200792814.html#:~:text=O%20carreamento%20superficial%20favorece%20a,solo%20erodido%20ou%20em%20solu%C3%A7%C3%A3o.&text=As%20estimativas%20de%20res%C3%ADduos%20de,do%20m%C3%A9todo%20de%20aplica%C3%A7%C3%A3o%20usado.](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura_e_meio_ambiente/arvore/CONTAG01_39_210200792814.html#:~:text=O%20carreamento%20superficial%20favorece%20a,solo%20erodido%20ou%20em%20solu%C3%A7%C3%A3o.&text=As%20estimativas%20de%20res%C3%ADduos%20de,do%20m%C3%A9todo%20de%20aplica%C3%A7%C3%A3o%20usado.)> Acesso em: 26 de março de 2021.

TORRES, B. A.; MENEGHIN, S. P.; RIBEIRO, N. M.; Dos SANTOS, H. V.; SCHEDENFFELDT, B. F.; MONQUERO, P. A. Saflufenacil and indaziflam herbicide effects on agricultural crops and microorganisms. **African Journal of Agricultural Research**, v. 13, n. 16, p. 872-885, 2018.

ZARDO, D. C. **Ocorrência de macroinvertebrados bentônicos em ecossistema aquático localizado em área agrícola no município de Campo Verde-MT**. Dissertação (Mestrado em Recursos hídricos), Universidade Federal do Mato Grosso, 2011.

### 3. EFEITO RESIDUAL DE HERBICIDAS EM *Crotalaria juncea*, *Arachis hypogaea* E *Glycine max*

#### 3.1. Introdução

Em diversas culturas, o controle químico de plantas daninhas é o método mais empregado, como no caso dos herbicidas pré-emergentes. Neste sentido, a ação residual desses herbicidas garante que a cultura se desenvolva inicialmente num ambiente livre da competição com plantas daninhas, (SILVA et al., 2018), reduzindo o número de aplicações e, conseqüentemente, o custo de produção (MENDES et al., 2017; GONÇALVES et al., 2018). No entanto, a persistência dos herbicidas no solo além do ciclo de cultivo, pode causar problemas do ponto de vista ambiental (GEHRKE et al., 2021), além de acarretar fitotoxicidade e afetar o crescimento e desenvolvimento de uma cultura cultivada em sucessão, processo este conhecido como carryover (MELO et al., 2016).

De acordo com Mancuso et al. (2011), a persistência de um herbicida no solo é dependente de características físico-químicas da molécula, como a constante de equilíbrio de ionização do ácido (pKa), o coeficiente de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ), a solubilidade em água (S), a pressão de vapor (PV), além das características inerentes ao solo e as condições climáticas. Logo, conhecer cada um destes componentes e suas interações pode fornecer informações importantes para o desenvolvimento de estratégias e recomendações seguras no uso de herbicidas (RANI et al., 2019; PONTES JÚNIOR et al., 2020).

Neste contexto, estudar o efeito residual de herbicidas é fundamental para compreender o comportamento dos herbicidas no solo e utilizá-los de maneira racional, a fim de reduzir o risco do impacto ambiental que o efeito residual (*carryover*) possa vir a causar, além de minimizar problemas de fitotoxicidade e perdas em culturas subsequentes.

Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar se o uso de herbicidas com longo residual (indaziflam, clomazone e sulfentrazone) influenciam no crescimento e desenvolvimento de diferentes espécies cultivadas. Especificamente, focou-se na avaliação do efeito desses herbicidas sobre plantas destinadas à adubação verde, como a crotalária, e cultivos voltados para a produção de grãos, como o amendoim e a soja.

### **3.2. Objetivo Geral**

O objetivo do presente trabalho foi testar a hipótese de que os herbicidas com longo residual (indaziflam, clomazone e sulfentrazone) influenciam no crescimento e desenvolvimento de soja, crotalária e amendoim.

#### **3.3.1 Objetivo específico**

a) Determinar as diferentes doses dos herbicidas indaziflam, sulfentrazone e clomazone proporcionam fitotoxicidade e afetam negativamente a altura, área foliar e biomassa de plantas de soja, crotalária e amendoim semeadas em diferentes períodos após a aplicação.



### 3.3. Material e Métodos

Os experimentos foram desenvolvidos em casa-de-vegetação pertencente ao Departamento de Recursos Naturais e Proteção Ambiental (DRNPA) da Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Agrárias, Campus Araras/SP.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado para cada herbicida (indaziflam, sulfentrazone e clomazone) e espécie (*Crotalaria juncea*, *Arachis hypogaea* - cultivar IAC OL3 e *Glycine max* – cultivar B5710 CE), em esquema fatorial 6 × 5, com cinco repetições, sendo 5 doses para cada um dos herbicidas (0,0; 1/8D; 1/4D; 1/2D; 1D e 2D) e 5 períodos de semeadura para cada espécie (0, 10, 20, 40 e 60 dias após aplicação).

As unidades experimentais foram constituídas de vasos de polietileno com capacidade para 10,0 L de solo com dimensões de 0,05088 m<sup>2</sup>, que foram preenchidos com Latossolo Vermelho distrófico oriundo da camada arável previamente peneirado e serão mantidos em casa-de-vegetação. Análise química e física do solo foi realizada pelo Laboratório de química e fertilidade do solo do CCA/UFSCar (Tabela 1).

**Tabela 1.** Parâmetros químicos para fins de fertilidade e granulometria de amostra (0-20 cm) de Latossolo Vermelho distrófico.

Latossolo Vermelho Escuro									
P Resina	M.O.	pH	K	Ca	Mg	H+Al	SB	CTC	V
mg dm <sup>-3</sup>	g dm <sup>-3</sup>	CaCl <sub>2</sub>				mmolc dm <sup>-3</sup>			%
13,0	12,0	4,6	2,6	43,0	8,0	28,0	53,6	81,0	66,0

Os herbicidas indaziflam (Alion), sulfentrazone (Boral 500 SC) e clomazone (Gamit 360 CS) foram aplicados diretamente sobre o solo em suas subdoses, dose comercial e sobredoses, de acordo com a recomendação do fabricante (AGROFIT, 2023), conforme pode ser visualizado na tabela 2.

**Tabela 2.** Descrição das doses (g i.a. ha<sup>-1</sup>) utilizadas para cada herbicida.

Herbicidas	Doses (g i.a. ha <sup>-1</sup> )					
	0D*	1/8D	1/4D	1/2D	1D	2D
Indaziflam	-	12,5	25,0	50,0	100,0	200,0
Clomazone	-	157,5	315,0	630,0	1260,0	2520,0
Sulfentrazone	-	75,0	150,0	300,0	600,0	1200,0

\*D: maior dose comercial para a cultura da cana-de-açúcar, conforme bula comercial dos produtos.

Os tratamentos foram aplicados diretamente no solo e na fase pré-emergencial das culturas. Para *C. juncea*, a aplicação ocorreu em 03/06/2022; para *A. hypogaea*, em 13/10/2022; e para *G. max*, em 25/01/2023. Utilizou-se um pulverizador costal pressurizado com CO<sub>2</sub>, equipado com uma barra de pulverização contendo dois bicos tipo leque Teejet 110.02. O volume de aplicação foi de 200 L ha<sup>-1</sup>. As condições ambientais no momento da aplicação relativas à umidade, temperatura e velocidade do vento foram: 58%, 26,4° C e 0,2 m s<sup>-1</sup>, respectivamente.

Após a aplicação, os vasos foram levados para casa-de-vegetação com irrigação controlada (10 mm de água diariamente), onde foram mantidos até o período de semeadura das espécies (0, 10, 20, 40 e 60 DAA) e por mais 56 dias após cada semeadura até a avaliação final de *C. juncea*, *A. hypogaea* e *G. max*. As sementes de ambas as espécies foram semeadas a uma profundidade de 2,0 cm, de forma a garantir pelo menos 5 plantas por vaso. Os vasos após semeadura foram retornados em casa de vegetação e foram mantidos sob irrigação com x mm água por dia.

Aos 56 dias as plantas de crotalária e amendoim foram avaliadas com relação à altura (cm), a partir da base até a inserção da primeira folha, à área foliar (cm<sup>2</sup>), utilizando um medidor de área foliar portátil (LICOR 3000C), biomassa seca da parte aérea (g) e fitotoxicidade, a qual foi baseada em notas visuais, de acordo com os critérios da ALAM (1974), que utiliza uma escala percentual de notas, onde 0,0% corresponde à ausência de injúria nas plantas e 100,0%, a morte das plantas. Após o corte das plantas rente ao solo, as plantas foram levadas para secar em estufa de circulação forçada de ar a 65°C por 48 horas para obtenção da massa seca da parte aérea.

Para cada variável analisada, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e quando significativos foi realizada a análise de regressão para seleção do modelo explicativo da curva de dose-resposta baseada na significância estatística ( $p < 0,05$ ) e nos valores dos coeficientes de determinação ( $R^2$ ) no software SigmaPlot. Quando não significativo, os fatores foram analisados de forma isolada.

É válido ressaltar os valores obtidos na massa seca por herbicidas foram divididos por aqueles encontrados para o tratamento testemunha, o quociente foi subtraído de 1 (trata-se de uma redução, e não equivalência) e então multiplicado por 100 para obtenção em percentual. Assim a porcentagem de redução da massa seca da parte aérea (MSPA), foi obtida através da seguinte fórmula:

$$\text{Redução da MSPA (\%)} = \left[ 1 - \left( \frac{\text{massa tratamento}}{\text{massa testemunha}} \right) \right] \times 100$$

Onde,

Redução da MSPA (%) = redução percentual da massa seca da parte aérea;

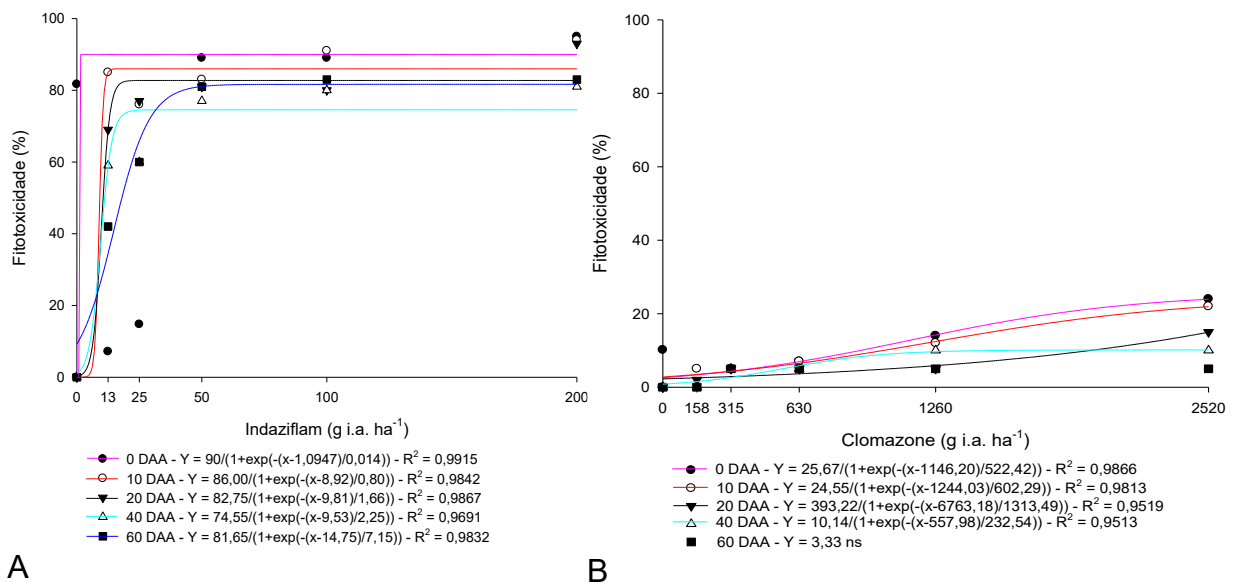
Massa tratamento = massa seca da parte aérea de cada unidade amostral do tratamento, em gramas;

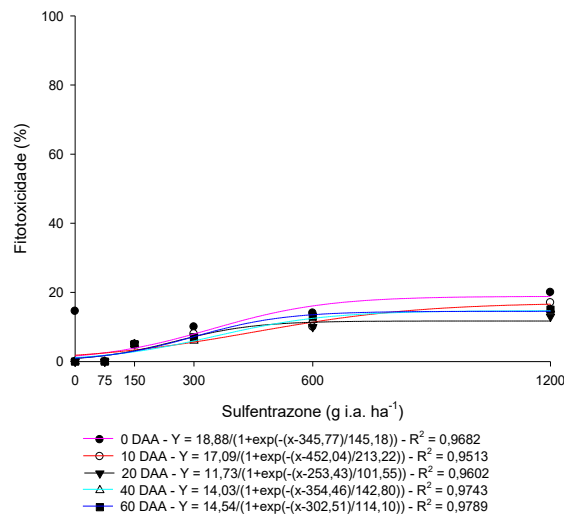
Massa da testemunha = massa seca da parte aérea da média das unidades amostrais da testemunha, em gramas.

### 3.4. Resultados e Discussão

As análises de regressão para a fitotoxicidade em *C. juncea*, para cada um dos herbicidas, são apresentadas na Figura 1. Após a realização da ANOVA, observou-se uma interação significativa entre os fatores, confirmada pelo teste F (Apêndice I, II e III).

A fitotoxicidade do indaziflam foi caracterizada através de ajustes sigmoidais em relação às diferentes doses, considerando todos os períodos de semeadura (0, 10, 20, 40 e 60 DAA). Nota-se que, para os períodos de 0, 10 e 20 DAA, independentemente da dose aplicada, as injúrias foram consistentemente superiores a 80%. Os dados para esses períodos de semeadura revelaram um excelente ajuste, com coeficientes de determinação ( $R^2$ ) superiores a 0,98, como ilustrado na Figura 1A.





C

**Figura 1.** Fitotoxicidade de *Crotalaria juncea* após a aplicação de diferentes doses de indaziflam (A), clomazone (B) e sulfentrazone (C) em diferentes períodos de semeadura 0, 10, 20, 40 e 60 DAA.

À medida que avançamos para os períodos de 40 DAA e 60 DAA, os modelos sigmóides continuaram a explicar de maneira robusta a variação na fitotoxicidade em função da dose. No período de 40 DAA, observou-se um intervalo de notas na faixa de 70-80,0% somente para as doses de 50,0; 100,0 e 200,0 g i.a. ha<sup>-1</sup>.

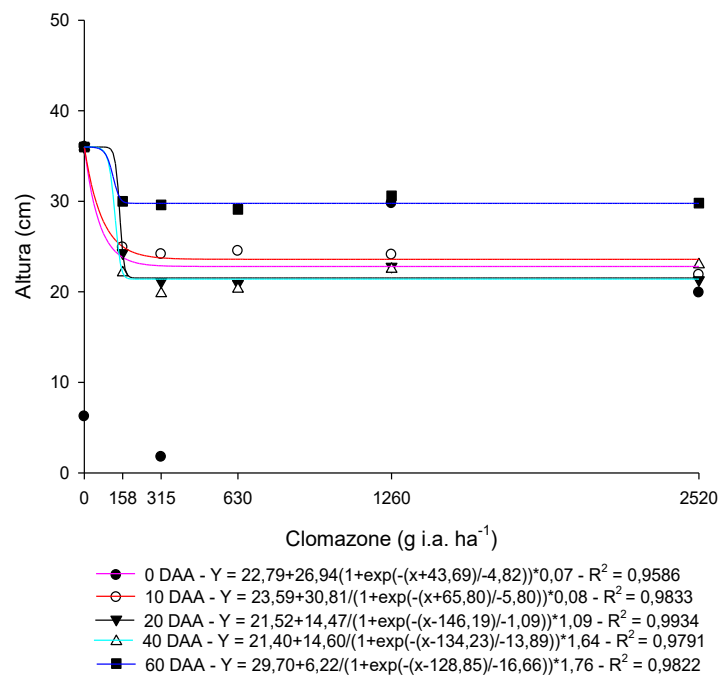
Aos 60 DAA, constatou-se um aumento significativo na fitotoxicidade nas plantas de crotalária, apresentando uma relação positiva com o aumento das doses aplicadas. Nesse estágio, as porcentagens de injúrias variaram de 40,0 a 60,0% para as doses de 12,5 e 25,0 g i.a. ha<sup>-1</sup>, enquanto as demais doses exibiram níveis de fitotoxicidade entre 70,0 e 83,0% (Figura 1A).

Para o clomazone somente os períodos 0, 10, 20 e 40 DAA foram significativos e se ajustaram ao modelo sigmóide (Figura 1B). Com 0 e 10 DAA observou-se as maiores notas de fitotoxicidade para *C. juncea* nas doses de 1260,0 e 2520,0 g i.a. ha<sup>-1</sup> correspondendo a uma faixa de 12,0 a 14,0% e 22,0 a 24,0%, respectivamente. No entanto, aos 20, 40 e 60 DAA as injúrias foram inferiores a 15,0% para todas as doses, sem haver danos econômicos para a espécie.

Houve aumento da fitotoxicidade conforme fez-se um acréscimo nas doses de sulfentrazone em todos os períodos (Figura 1C). Apesar de terem sido simulados diferentes períodos de semeadura da crotalária, a fitotoxicidade na dose de 1200,0 g i.a. ha<sup>-1</sup> manteve-se na faixa de 13,0 a 15,0%, independente dessas épocas. Sendo

estas notas consideradas aceitáveis e não prejudiciais para a espécie, refletindo em uma leve clorose nas plantas.

Com relação ao parâmetro altura de *C. juncea*, a interação foi significativa somente para o tratamento clomazone (Apêndice IV). Dessa forma, estes foram descritos por ajustes sigmoidais em função das doses para todos os períodos de semeadura (0, 10, 20, 40 e 60 DAA) (Figura 2). Nota-se que houve aumento do porte das plantas de crotalária em função do aumento do período de semeadura após a aplicação do clomazone, independente da dose utilizada. Para todas as épocas foram ajustados modelos sigmoidais com coeficientes de determinação ( $R^2$ ) superiores a 0,95. Em todas as doses nos períodos de 0, 10, 20 e 40 DAA foram encontrados o menor porte das crotalárias. Enquanto com 60 DAA constatou-se uma recuperação das plantas, que apresentaram alturas próximas ao tratamento controle (Figura 2B).

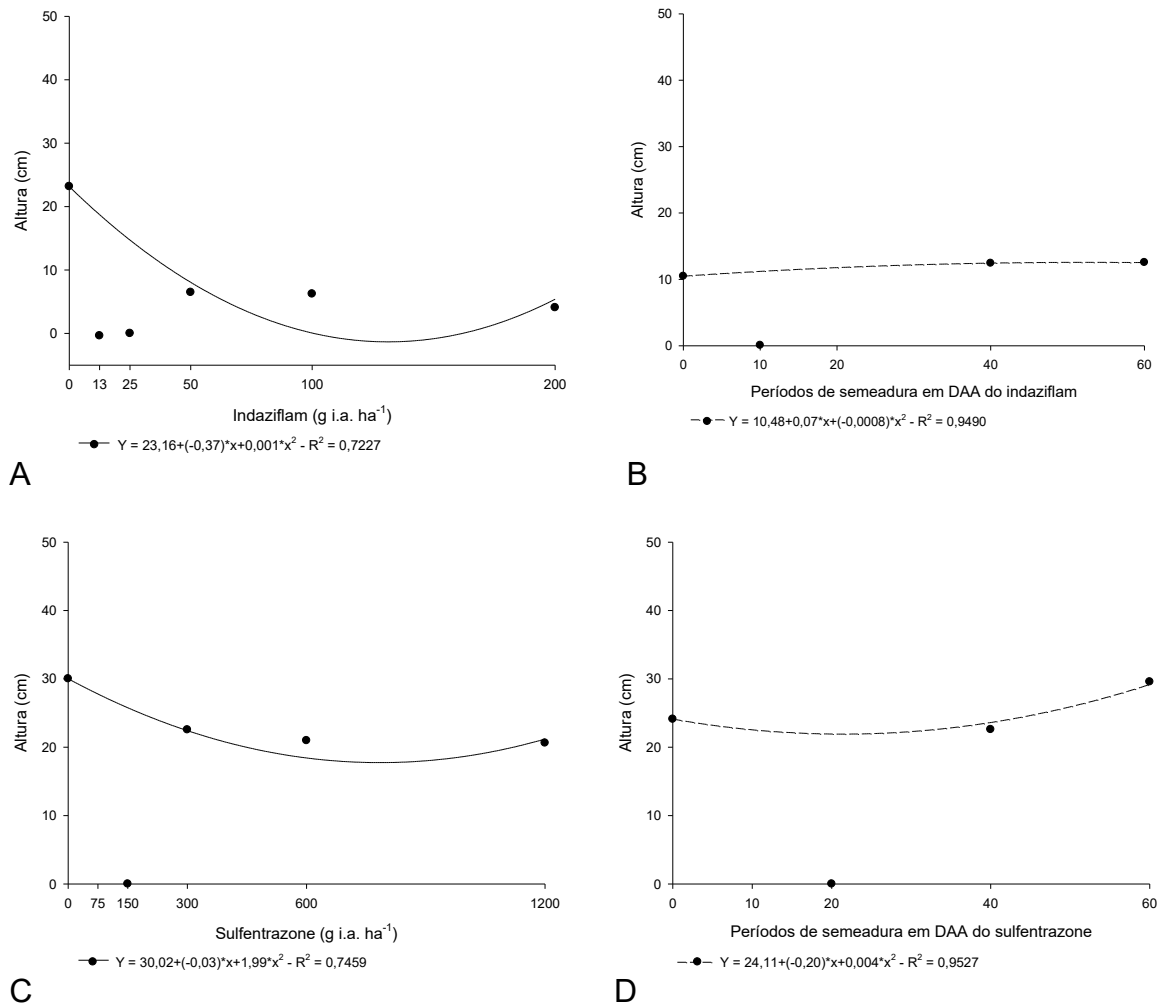


**Figura 2.** Altura (cm) de *Crotalaria juncea* após a aplicação de diferentes doses de clomazone em diferentes períodos de semeadura 0, 10, 20, 40 e 60 DAA.

Com base na ausência de interação significativa entre os fatores para o parâmetro de altura (cm) da crotalária, quando submetida à aplicação dos herbicidas sulfentrazone e indaziflam (conforme detalhado nos Apêndices V e VI), serão apresentadas a seguir as regressões em função de cada fator doses e períodos (Figura 3).

Ao analisar o fator dose do indaziflam, observa-se uma redução significativa na altura das plantas de crotalária à medida que as doses aumentam, evidenciada por um coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,72 (Figura 3A). Em contraste, ao analisar os períodos de semeadura, verifica-se que as alturas das plantas permanecem relativamente uniformes com um alto ajuste dos dados ( $R^2=0,94$ ) (Figura 3B).

No caso do sulfentrazone, os períodos de 0 até 40 dias após a aplicação (DAA) exerceram influência nas alturas das plantas, resultando em médias menores para *C. juncea* (Figura 3D). Apenas aos 60 DAA, observam-se valores de altura próximos aos da testemunha, indicados por um coeficiente de determinação robusto ( $R^2=0,96$ ). Entretanto, ao examinar o fator dose, tanto a dose comercial quanto o dobro da dose comercial apresentaram uma redução acentuada na altura ( $R^2=0,74$ ).



**Figura 3.** Altura (cm) de *Crotalaria juncea* em função do fator doses e períodos de semeadura após a aplicação de indaziflam (A e B) e sulfentrazone (C e D).

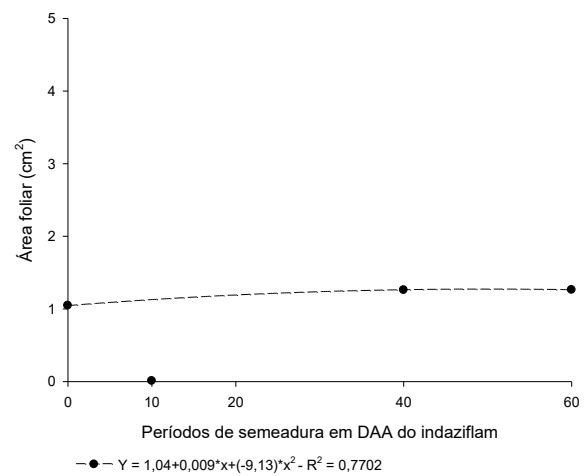
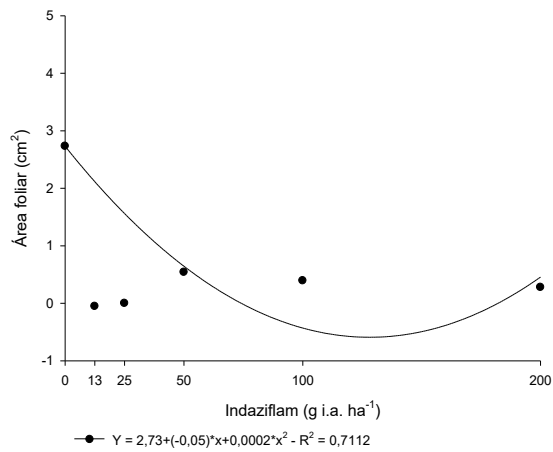
Na Figura 4, os resultados das médias da área foliar (cm<sup>2</sup>) das plantas de crotalária aos 56 DAS são apresentados. Nessa análise, não foi observada nenhuma diferença significativa (Apêndice VII, VIII e IX). A análise de variância revelou a ausência de interação entre os fatores, conforme o teste de F. Portanto, os fatores serão apresentados individualmente para cada herbicida.

O indaziflam reduziu significativamente a área foliar de *C. juncea* principalmente nas maiores doses utilizadas (dose comercial e dobro da dose comercial) (Figura 4A). O mesmo se repetiu para todos os períodos de semeadura da espécie (Figura 4B).

Apesar de não terem induzido uma fitotoxicidade severa nas folhas, a avaliação dos parâmetros biométricos revela que tanto o clomazone quanto o sulfentrazone exerceram uma restrição no crescimento da área foliar de *C. juncea* durante os

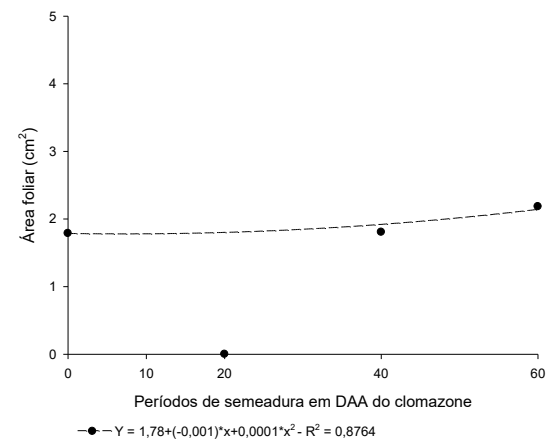
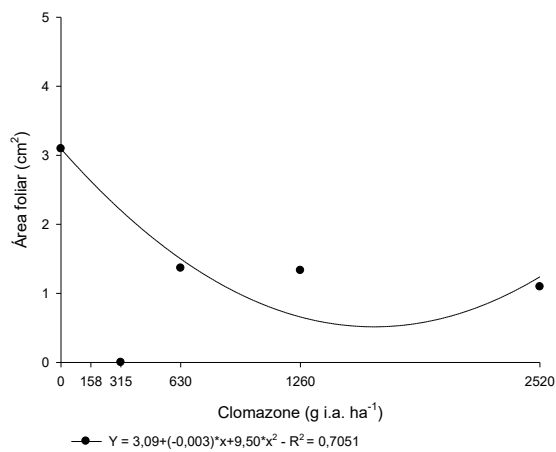


estágios iniciais de semeadura (Figura 4D e 4F). Ao explorar o fator dose, constatou-se uma correlação direta entre a concentração dos herbicidas e a redução na área foliar, indicando que o aumento da concentração resultou em uma maior restrição do crescimento foliar.



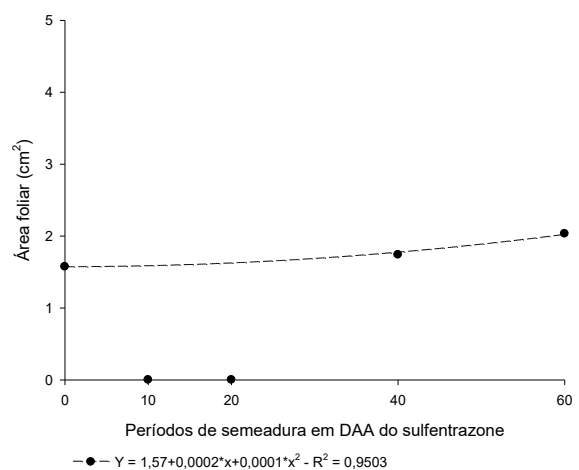
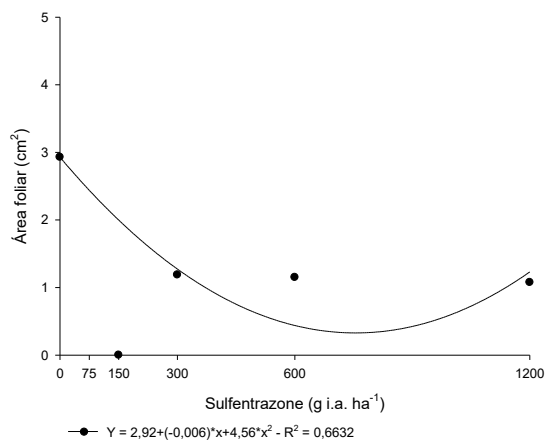
A

B



C

D



E

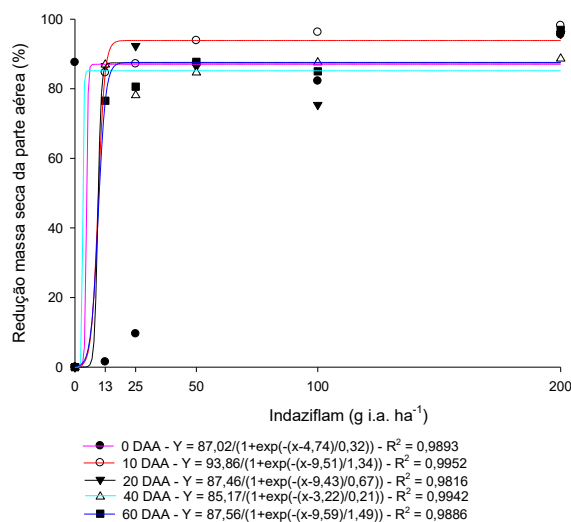
D

**Figura 4.** Área foliar ( $\text{cm}^2$ ) de *Crotalaria juncea* em função do fator doses e períodos de semeadura após a aplicação de indaziflam (A e B), clomazone (C e D) e sulfentrazone (E e F).

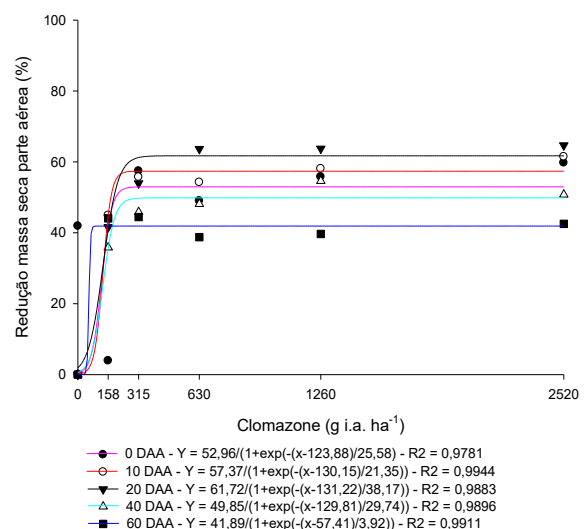
A análise do parâmetro porcentagem de redução da massa seca da parte aérea (%) revelou uma interação significativa entre os três herbicidas estudados (Apêndice X, XI e XII). Nesse contexto, como já destacado anteriormente, o indaziflam mostrou-se como o mais prejudicial para o desenvolvimento de *C. juncea* até os 56 DAS. Independentemente do período e da dose testada, verificou-se uma consistente redução na massa seca da parte aérea (%) que variou em uma faixa de 75,0% a 99,0% (conforme ilustrado na Figura 5A).

O clomazone proporcionou menor redução da massa seca da parte aérea na dose de 157,5 g i.a. ha<sup>-1</sup> em todos os períodos de semeadura (Figura 5B). A partir da dose de 315,0 g i.a. ha<sup>-1</sup> em 0, 10 e 20 DAA houve uma maior redução da massa de *C. juncea*, sendo descrito por ajustes sigmoidais com R<sup>2</sup> = 0,97, R<sup>2</sup> = 0,99 e R<sup>2</sup> = 0,98, respectivamente. Somente o período de 60 DAA manteve-se na faixa de 38,0 a 45,0% para todas as doses.

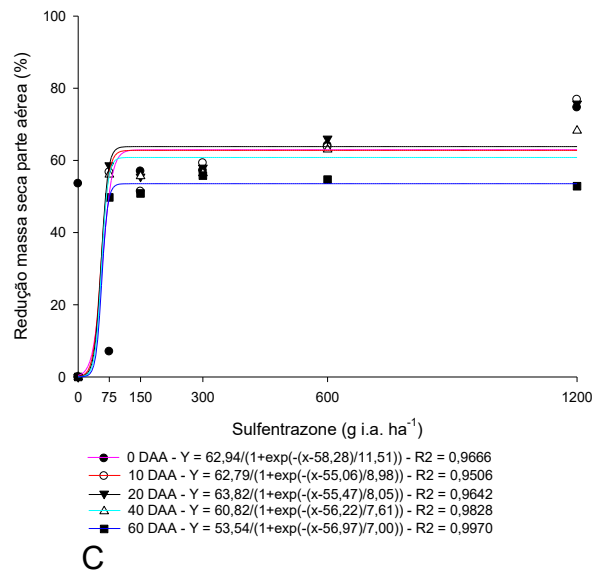
No caso do sulfentrazone, as maiores reduções foram observadas na dose de 1200,0 g i.a. ha<sup>-1</sup> nos períodos de 0, 10 e 20 DAA, variando de 74,0% a 76,0%. No entanto, não se evidenciou uma relação positiva entre o aumento da dose e o período de semeadura da cultura após a aplicação. De fato, independentemente desses fatores, ainda foram registradas reduções significativas, abrangendo uma faixa que variou de 49,0 a 67,0% (Figura 5C).



A



B



**Figura 5.** Redução da massa seca da parte aérea (%) de *Crotalaria juncea* após a aplicação de diferentes doses de indaziflam (A), clomazone (B) e sulfentrazone (C) em diferentes períodos de semeadura 0, 10, 20, 40 e 60 DAA.

Para a cultura do amendoim, a figura 6 apresenta análises de fitotoxicidade proporcionada por indaziflam, clomazone e sulfentrazone. As curvas sigmóides representam a fitotoxicidade proporcionada por esses herbicidas em relação às diferentes doses, abrangendo todos os períodos de semeadura (0, 10, 20, 40 e 60 DAA).

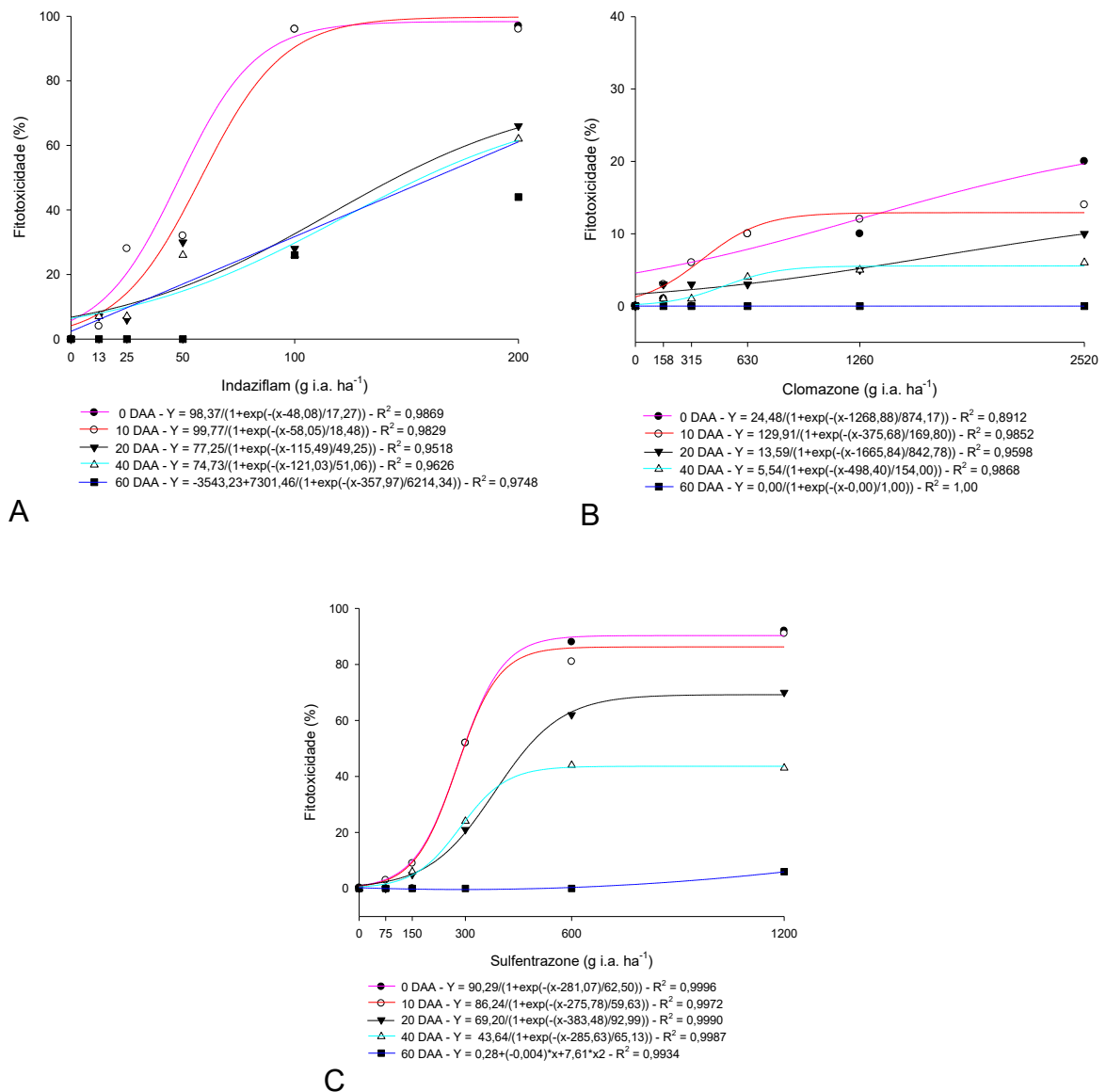
Com 0 e 10 DAA o indaziflam nas doses de 100,0 e 200,0 g i.a. ha<sup>-1</sup> proporcionaram injúrias superiores a 95,0%. Estes dados se ajustaram com  $R^2 = 0,98$  e  $R^2 = 0,98$ , respectivamente (Figura 6A). Para as menores doses a fitotoxicidade observou-se fitotoxicidade de até 50%. Com 20 e 40 DAA constatou-se queda nas notas de fitotoxicidade, apresentando-se inferiores a 70,0%, independente da dose testada.

Modelos sigmóides com altos coeficientes de determinação ( $R^2 > 0,94$ ) explicaram a variação na fitotoxicidade do clomazone em função da dose aos 0, 10, 20 e 40 DAA (Figura 6B). As maiores notas de fitotoxicidade para *A. hypogaea* foi na dose de 2520,0 g i.a. ha<sup>-1</sup> com 0 DAA, apresentando em média 20,0%. Para os demais períodos e doses não foram observadas injúrias superiores a 15,0%.

O herbicida sulfentrazone promoveu injúrias para a cultura do amendoim quando aplicado em sua dose comercial e o dobro da dose (Figura 6C), principalmente aos 0 e 10 DAA. Com 20 e 40 DAA as notas de fitotoxicidade encontraram-se na faixa

de 60,0 a 70,0% para as maiores doses, porém, nota-se uma queda conforme ocorreu redução da concentração testada.

Considerando a dose comercial (600,0 g i.a. ha<sup>-1</sup>) e as injúrias causadas até 40 DAA, é evidente a necessidade de um intervalo maior para implantação da cultura do amendoim após a aplicação do sulfentrazone.



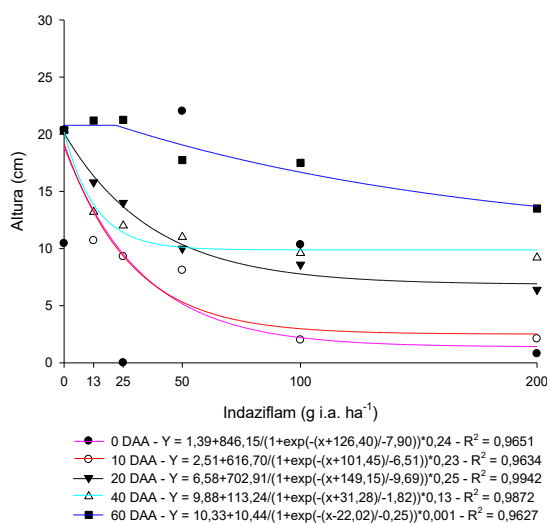
**Figura 6.** Fitotoxicidade (%) de *Arachis hypogaea* (cultivar IAC OL3) após a aplicação de diferentes doses de indaziflam (A), clomazone (B) e sulfentrazone (C) em diferentes períodos de semeadura 0, 10, 20, 40 e 60 DAA.

Ao analisar a altura das plantas de amendoim, nota-se que o indaziflam (Figura 7A) reduziu significativamente aos 0 e 10 DAA em todas as doses testadas ( $R^2 > 0,97$ ). Para os períodos de 20 e 40 DAA foi constatado menor altura de A.

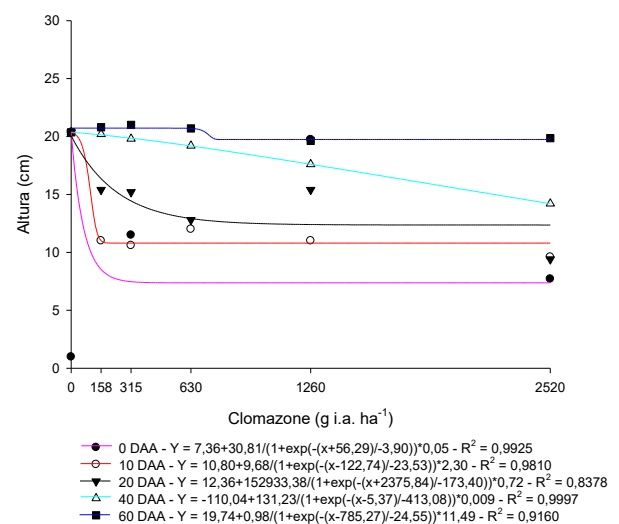
*hypogaea* somente com as doses de 100,0 e 200,0 g i.a. ha<sup>-1</sup>. As doses de 300,0; 150,0 e 75,0 g i.a. ha<sup>-1</sup> apresentaram médias próximas a altura encontrada para a testemunha (sem aplicação de herbicida).

Houve aumento da altura das plantas de amendoim conforme aumentou o período de semeadura após a aplicação do herbicida clomazone (Figura 7B), porém, nas concentrações de 1250,0 e 2520,0 g i.a. ha<sup>-1</sup> nota-se redução no tamanho das plantas. De modo geral, *A. hypogaea* apresentou altura inferior a 10 cm somente no período de 0 DAA, independente da dose. Para 10, 20 e 40 DAA, nota-se que o clomazone não afetou significativamente a altura média das plantas de amendoim. Para 40 DAA a dose de 1/8D apresentou altura semelhante ao tratamento testemunha.

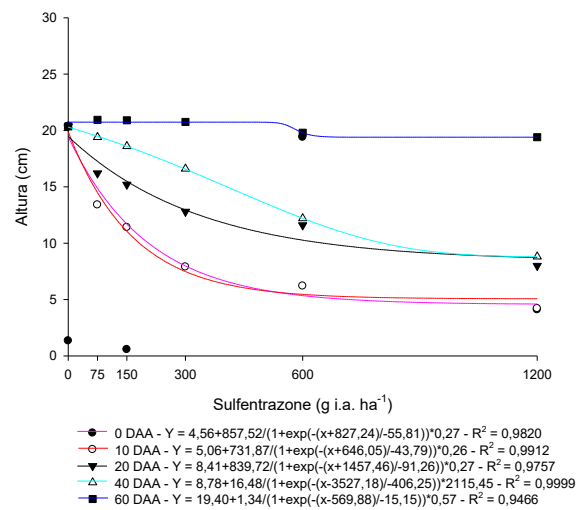
Com a aplicação da maior dose do sulfentrazone nota-se decréscimo da altura das plantas, principalmente nos períodos de 0 e 10 DAA com R<sup>2</sup> de 0,99 e 0,99, respectivamente. (Figura 7C), onde foi constatado médias próximas a 4,0 cm na maior concentração. No entanto, com o aumento do intervalo entre a aplicação e semeadura das plantas (20 e 40 DAA), observou-se o dobro da altura das plantas de amendoim.



A



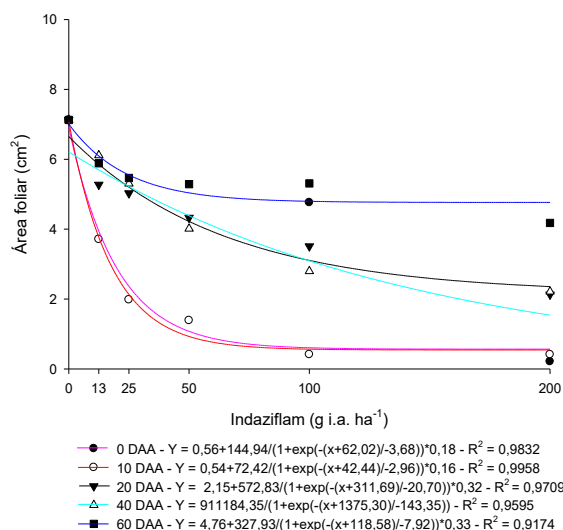
B



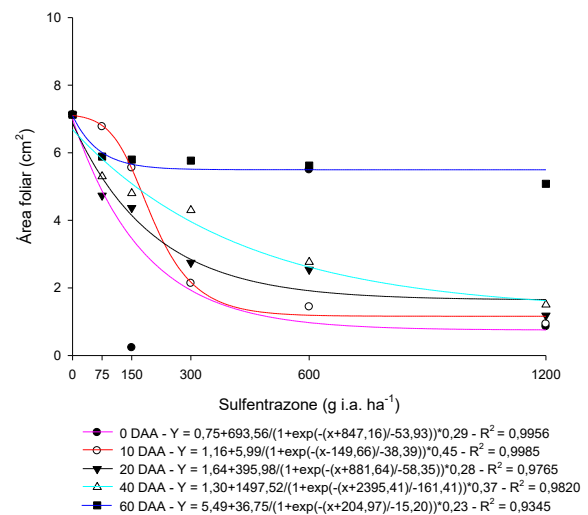
C

**Figura 7.** Altura (cm) de *Arachis hypogaea* (cultivar IAC OL3) após a aplicação de diferentes doses de indaziflam (A), clomazone (B) e sulfentrazone (C) em diferentes períodos de semeadura 0, 10, 20, 40 e 60 DAA.

Para o parâmetro de área foliar, constatou-se significância apenas nos tratamentos com indaziflam e sulfentrazone pela ANOVA (Apêndice XVII e XIV). Assim, os tratamentos com indaziflam (Figura 8A) e sulfentrazone (Figura 8B) impactaram negativamente na expansão foliar das plantas de amendoim do 0 ao 40 DAA, exceto pelo indaziflam, que apresentou médias superiores aos 20 e 40 DAA, embora ainda inferiores à testemunha.



A

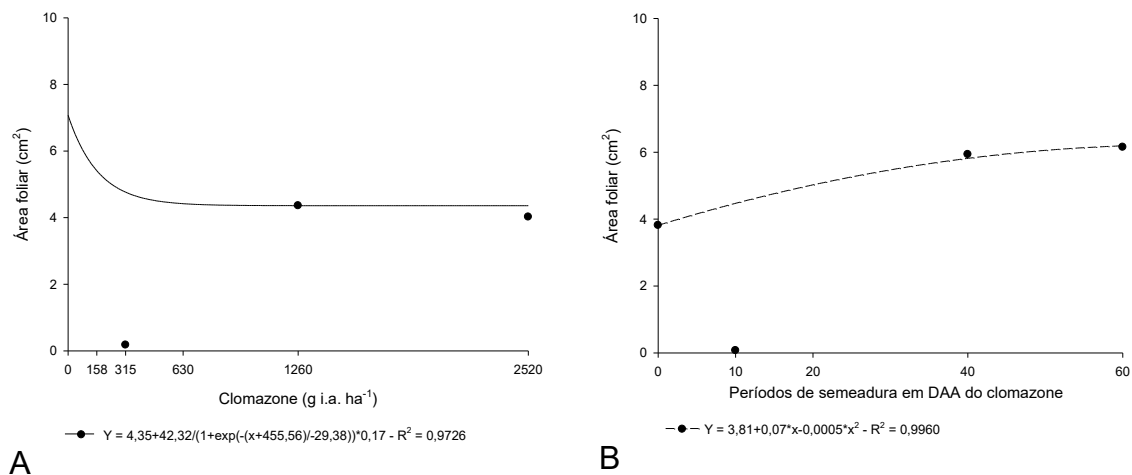


B

**Figura 8.** Área foliar (cm<sup>2</sup>) de *Arachis hypogaea* (cultivar IAC OL3) após a aplicação de diferentes doses de indaziflam (A), e sulfentrazone (B) em diferentes períodos de semeadura 0, 10, 20, 40 e 60 DAA.

Os resultados da análise estatística apontam que, no contexto da variável área foliar, apenas o clomazone não demonstrou significância, como constatado pelo teste de F (Apêndice XVIII). Ao examinar o fator dose (Figura 9A), destaca-se uma diminuição notável na área foliar à medida que a dose de clomazone aumenta, demonstrando-se pelo ajuste dos dados com um coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,97.

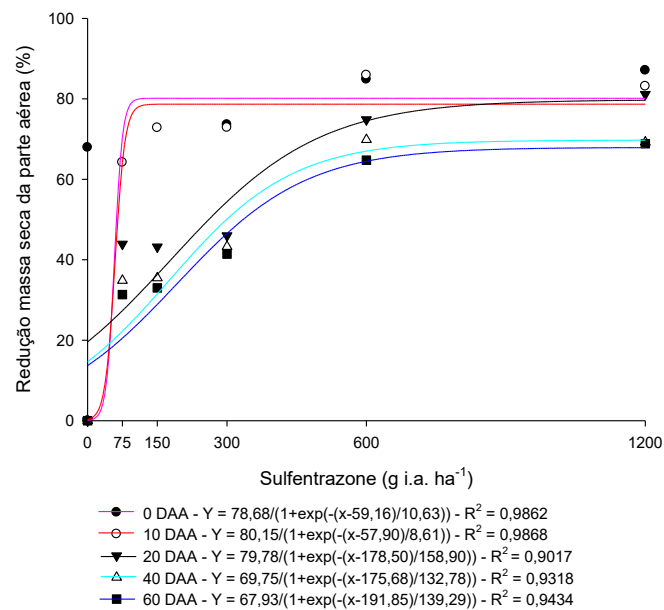
Além disso, ao analisar a influência dos períodos de semeadura de *A. hypogaea* após a aplicação do clomazone, é observado um aumento significativo na área foliar à medida que o intervalo entre o plantio e a aplicação se estende, conforme evidenciado por um elevado coeficiente de determinação ( $R^2=0,99$ ).



**Figura 9.** Área foliar (cm<sup>2</sup>) de *Arachis hypogaea* (cultivar IAC OL3) em função do fator doses e períodos de semeadura após a aplicação de clomazone (A e B).

A partir da análise do teste F, somente o herbicida sulfentrazone demonstrou significância estatística (Apêndice XXXIII) para redução da massa seca (%) das plantas de amendoim. Logo, ao aplicar o sulfentrazone (Figura 10), observou-se uma correlação positiva entre o aumento na dosagem e a diminuição da biomassa, com médias superiores a 80% para os períodos iniciais de 0, 10 e 20 DAA.

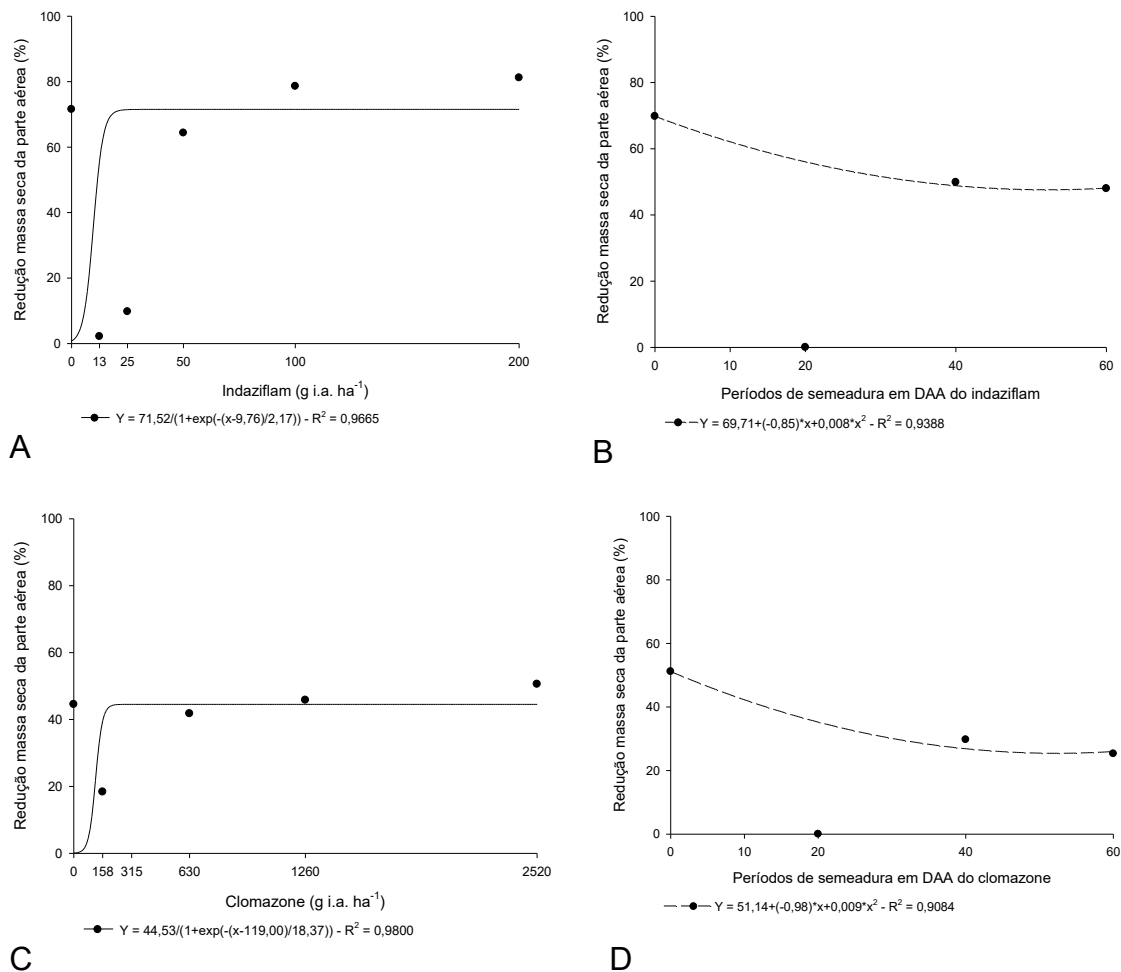




**Figura 10.** Redução biomassa seca da parte aérea (%) de *Arachis hypogaea* (cultivar IAC OL3) após a aplicação de diferentes doses de sulfentrazone em diferentes períodos de semeadura 0, 10, 20 e 40 DAA.

Para o parâmetro redução da massa (%) de *A. hypogaea*, a análise de variância não foi significativa para os herbicidas clomazone e indaziflam (Apêndice XXXI e XXXII). Ao analisar o fator dose, observou-se que a redução da biomassa nas plantas de amendoim, com o tratamento indaziflam, aumentou significativamente, ultrapassando 60% à medida que a dose aumentou (Figura 11A). No entanto, ao considerar o fator períodos de semeadura (conforme ilustrado na Figura 11B), as médias de redução da biomassa decresceram em função do aumento do período de semeadura. Para ambos os fatores, dose e períodos de semeadura, os dados foram adequadamente ajustados, apresentando coeficientes de determinação ( $R^2$ ) de 0,96 e 0,93, respectivamente.

Nas plantas de amendoim semeadas nos solos tratados com clomazone, observou-se uma redução na massa seca (%) próxima a 40,0%, independentemente da dose utilizada, como evidenciado na Figura 11. Por outro lado, ao analisar os períodos de semeadura, notou-se um aumento significativo na massa das plantas à medida que o período de semeadura da espécie foi estendido (Figura 11D). Para estes fatores foi observado um ajuste dos dados com coeficientes de determinação ( $R^2$ ) superiores a 0,90.



**Figura 11.** Redução biomassa seca da parte aérea (%) de *Arachis hypogaea* (cultivar IAC OL3) em função do fator doses e períodos de semeadura após a aplicação de indaziflam (A e B) e clomazone (C e D).

Para a cultura da soja, a figura 12 exibe análises de fitotoxicidade dos três herbicidas. No que diz respeito ao herbicida indaziflam, as observações a 0, 10 e 20 dias após a aplicação (DAA) revelam injúrias superiores a 80,0%, a partir da dose de 50,0 g i.a. ha<sup>-1</sup>, constatando morte das plantas principalmente com 0 e 10 DAA. Estes resultados demonstram um ajuste com coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) superior a 0,97 (Figura 12A). Já a semeadura aos 20 e 40 DAA, verifica-se uma redução nas notas de fitotoxicidade, sendo que somente na concentração mais elevada (200,0 g i.a. ha<sup>-1</sup>) permanecem na faixa de 70-80,0%.

O herbicida clomazone (Figura 12B) não ocasionou injúrias significativas à cultura da soja, registrando as maiores notas nos períodos de 0 e 10 dias após a aplicação (DAA), mantendo-se na faixa de 5,0 a 15,0% na maior dose (2520,0 g i.a. ha<sup>-1</sup>). Os dados foram ajustados com coeficientes de determinação (R<sup>2</sup>) de 0,91 e

0,97, respectivamente. Entretanto, ao realizar a semeadura aos 20, 40 e 60 DAA, não foram observados sinais de fitotoxicidade nas plantas de soja.

No que diz respeito ao herbicida sulfentrazone, observaram-se injúrias na cultura da soja quando aplicado em sua dose comercial e no dobro da dose (Figura 12C), especialmente aos 0 dias após a aplicação (DAA), onde as notas visuais não ultrapassaram 40%. A partir dos 10 DAA, as notas diminuíram para valores inferiores a 10%, independentemente da dose utilizada. Notavelmente, aos 20, 40 e 60 DAA não foram constatadas quaisquer injúrias nas plantas de soja.

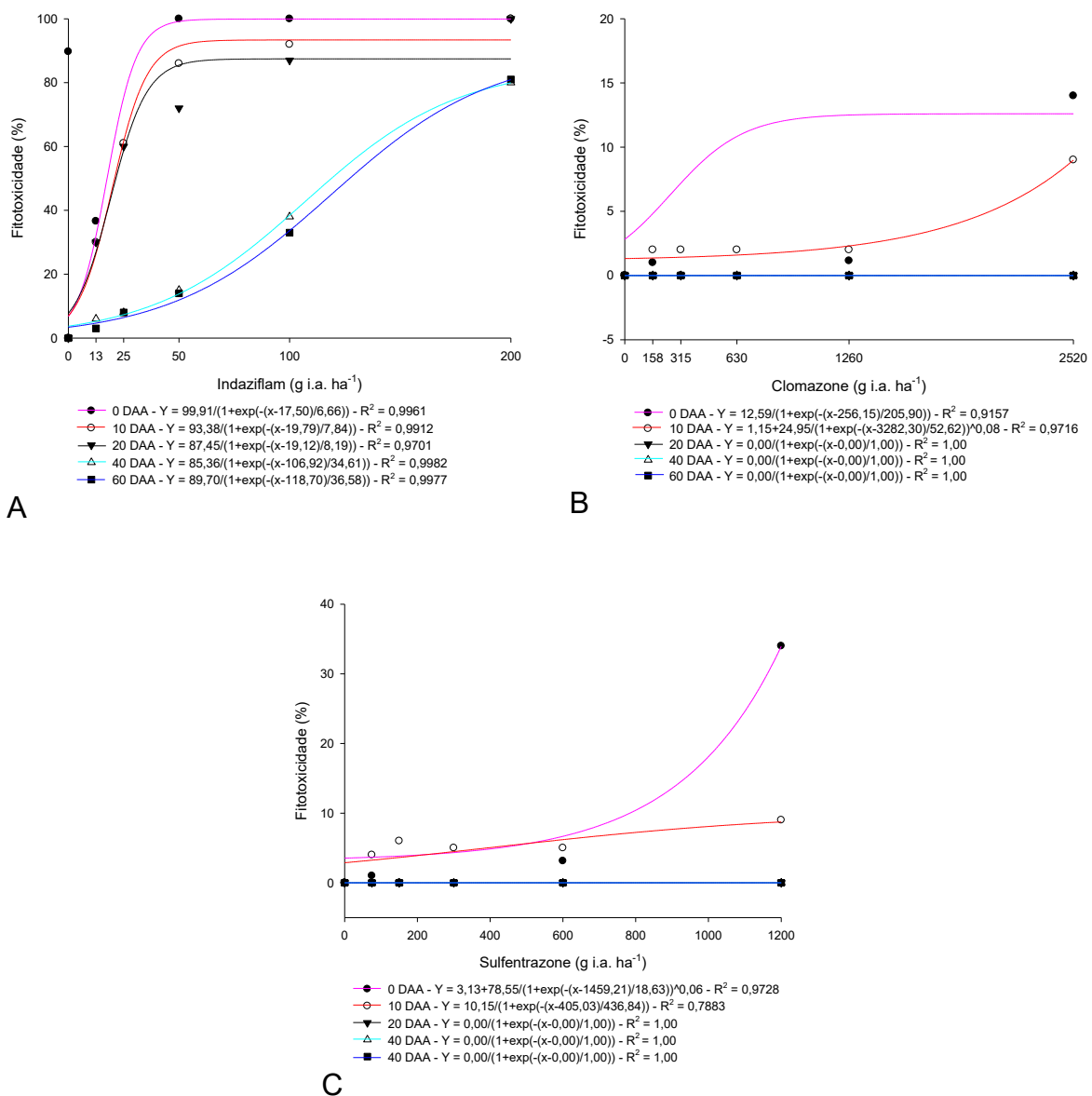
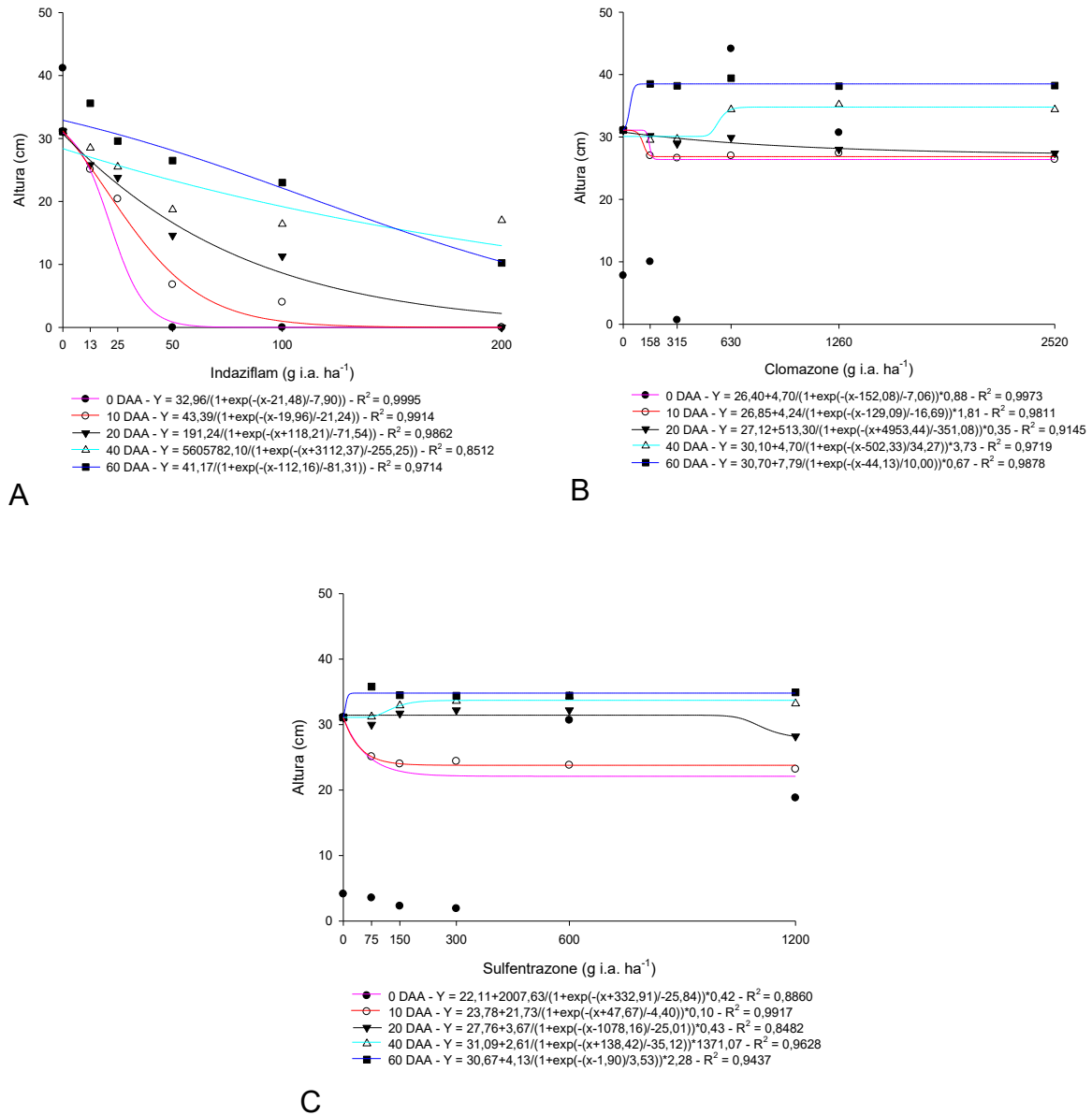


Figura 12. Fitotoxicidade (%) de *Glycine max* (cultivar B5710 CE) após a aplicação de diferentes doses de indaziflam (A), clomazone (B) e sulfentrazone (C) em diferentes períodos de semeadura 0, 10, 20, 40 e 60 DAA.

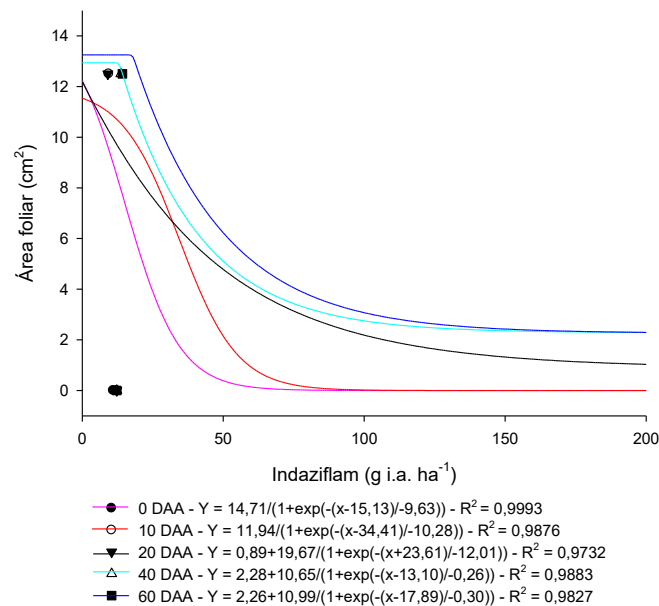
Quanto ao parâmetro de altura das plantas de soja, evidenciou-se uma interação significativa entre os fatores para os três herbicidas (Apêndices XXVII, XXVIII e XXIX). No contexto do herbicida indaziflam (Figura 13A), verificou-se reduções significativas a partir da dose de 50,0 g i.a. ha<sup>-1</sup>, principalmente nos períodos de 0, 10 e 20 dias após a aplicação (DAA). Para todos os intervalos de tempo analisados, os dados apresentaram um ajuste com coeficientes de determinação (R<sup>2</sup>) superiores a 0,85.

Para clomazone e sulfentrazone (Figura 13B e 13C), notou-se um padrão semelhante ao analisar a altura das plantas, caracterizado por uma redução nos períodos iniciais de semeadura (0 e 10 dias após a aplicação - DAA), independentemente da dose utilizada. Contudo, aos 20, 40 e 60 DAA, observou-se alturas superiores em relação às registradas na testemunha.



**Figura 13.** Altura (cm) de *Glycine max* (cultivar B5710 CE) após a aplicação de diferentes doses de indaziflam (A), clomazone (B) e sulfentrazone (C) em diferentes períodos de semeadura 0, 10, 20, 40 e 60 DAA.

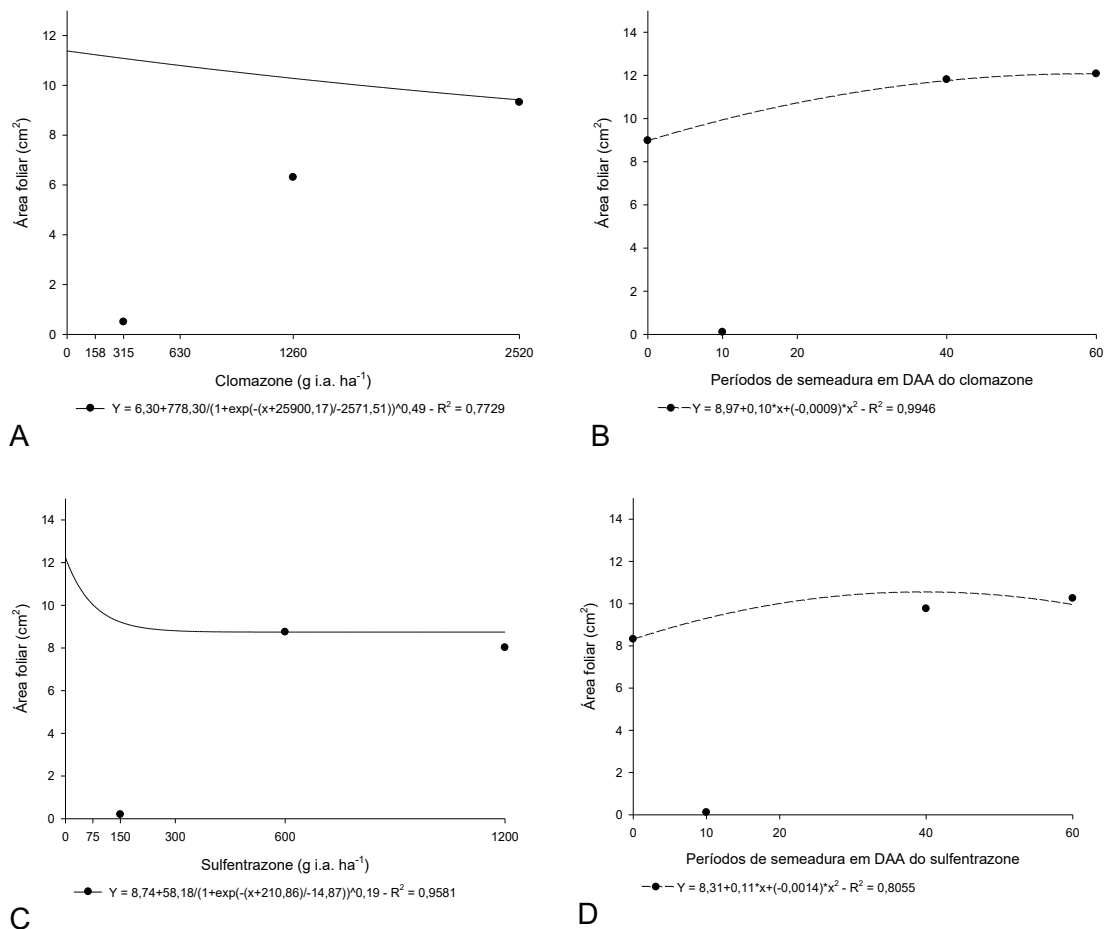
Ao analisar a área foliar (cm<sup>2</sup>) na cultura da soja, destacou-se a interação significativa entre os fatores apenas nos dados referentes ao herbicida indaziflam (ver Apêndice XXXII). Independentemente do período de semeadura, foi observado um coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) superior a 0,97. Nos períodos de semeadura de 0, 10 e 20 DAA, houve uma redução expressiva na área foliar das plantas à medida que as doses aumentaram, alcançando zero com as doses de 100 e 200 g i.a. ha<sup>-1</sup>. Nos períodos de 40 e 60 DAA, nas concentrações mais elevadas, a área foliar foi reduzida a menos da metade em comparação com a testemunha (12,27 cm<sup>2</sup>) (Figura 14).



**Figura 14.** Área foliar ( $\text{cm}^2$ ) de *Glycine max* (cultivar B5710 CE) após a aplicação de diferentes doses de indaziflam em diferentes períodos de semeadura 0, 10, 20, 40 e 60 DAA.

Na Figura 15, são apresentadas as áreas foliares da soja para cada fator com a aplicação de clomazone e sulfentrazone, considerando a ausência de interação entre os fatores (Apêndice XXX e XXXI). Nota-se que, com a aplicação de clomazone, há uma leve redução na área foliar em relação à dose, indicando uma influência modesta nesse parâmetro (Figura 15A). Por outro lado, em relação aos períodos de semeadura, observa-se uma redução no residual do herbicida, refletida pelo aumento na área foliar das plantas de soja (Figura 15B).

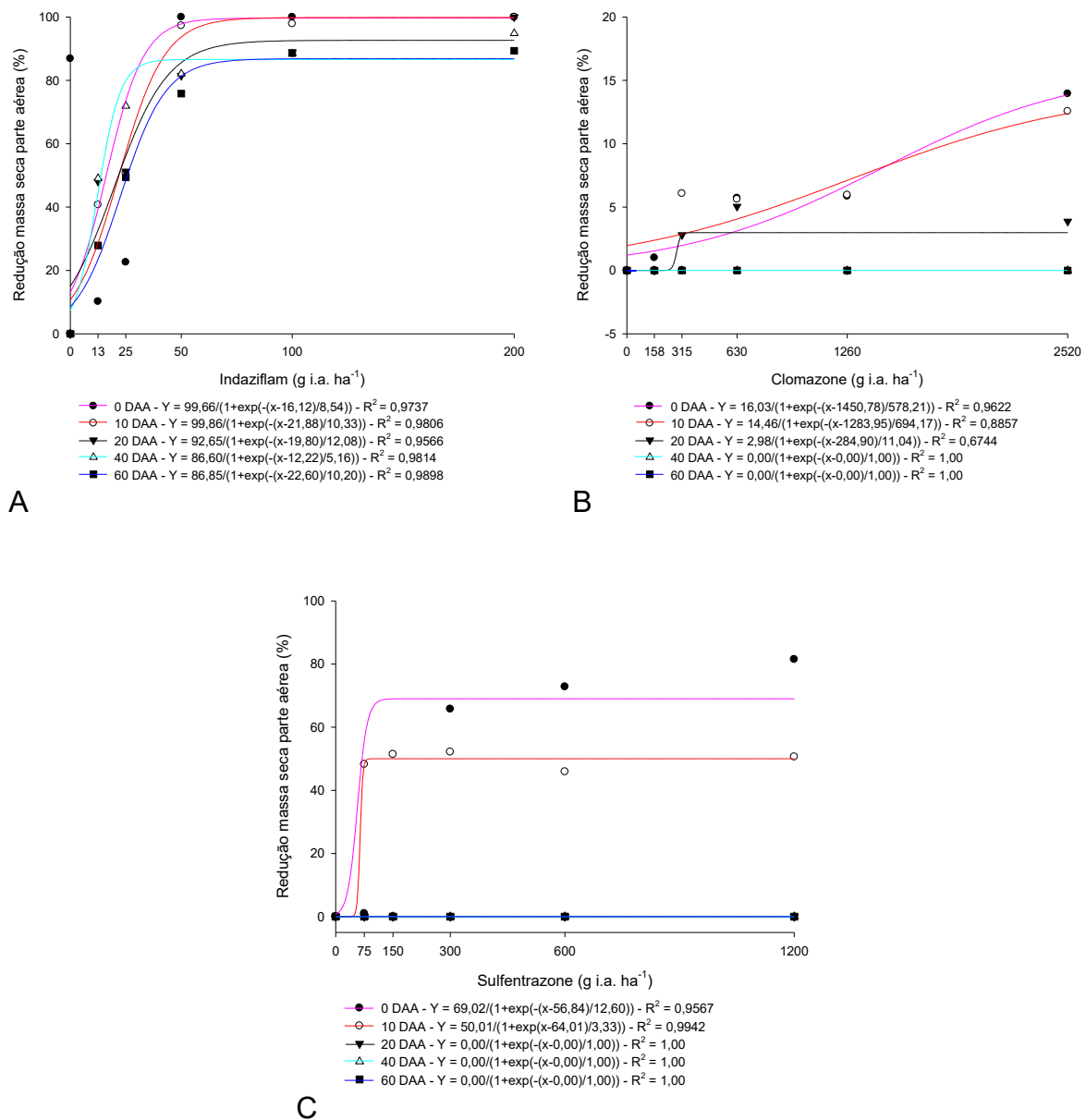
O padrão mencionado é igualmente evidente ao analisar os dados relacionados ao sulfentrazone. Entretanto, a diminuição na área foliar revela-se mais expressiva em resposta às doses (Figura 16C), enquanto um sutil aumento na área foliar é notado à medida que o intervalo entre os períodos de semeadura se amplia em relação à aplicação do herbicida (Figura 16D).



**Figura 15.** Área foliar (cm<sup>2</sup>) de *Glycine max* (cultivar B5710 CE) em função do fator doses e períodos de semeadura após a aplicação de clomazone (A e B) e sulfentrazone (C e D).

Em relação à redução da massa seca da parte aérea (%) de *G. max*, observou-se interação entre os fatores para os três herbicidas estudados (Apêndice XXXII, XXXIII e XXXIV). Com a aplicação do indaziflam (Figura 16A), ocorreram reduções superiores a 80%, principalmente nas maiores doses, independentemente do período de semeadura. Ressalta-se que reduções próximas a 100% foram observadas quando a semeadura da soja ocorreu logo após a aplicação (0 DAA) e aos 10 DAA ( $R^2 > 0,97$ ).

Com a aplicação do clomazone (Figura 16B) e sulfentrazone (Figura 16C), observa-se uma redução na faixa de 5,0% a 15,0% e de 50,0% a 70,0%, respectivamente, nos períodos de 0, 10 e 20 DAA, considerando doses a partir da metade da dose comercial. Entretanto, nos períodos de 40 e 60 DAA para ambos os herbicidas, não foi registrada redução na massa seca em comparação com a testemunha, resultando em  $R^2 = 1,0$ .



**Figura 16.** Redução biomassa seca da parte aérea (%) de *Glycine max* (cultivar B5710 CE) após a aplicação de diferentes doses de indaziflam (A), clomazone (B) e sulfentrazone (C) em diferentes períodos de semeadura 0, 10, 20, 40 e 60 DAA.

De maneira geral, constatou-se que crotalária, amendoim e soja demonstraram uma notável sensibilidade ao indaziflam em relação a todos os parâmetros avaliados, independentemente da dose aplicada, até 60 DAA. Essa sensibilidade é diretamente atribuída à alocação espacial do herbicida em relação à planta, um fenômeno conhecido como seletividade por posicionamento (DIAS et al., 2017).

Isso ocorre devido ao fato dessas culturas serem de ciclo anual, o que resulta na localização direta do sistema radicular, principal via de absorção de herbicidas residuais, na área tratada com o indaziflam (DIAS, 2014). Esse ponto também é



fortemente influenciado pela atividade residual do indaziflam, que possui uma meia-vida superior a 150 dias, classificando-o como herbicida moderadamente persistente (U.S. EPA, 2010), além de sua baixa solubilidade em água ( $S_w = 0,0028 \text{ mg dm}^{-3}$  a  $20^\circ\text{C}$ ) e uma constante de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ) de 2,8, sendo caracterizado como moderadamente lipofílico (LEWIS et al., 2016). Neste sentido, foram observados no presente trabalho um residual as plantas até 60 DAA, principalmente na dose comercial e no dobro da dose comercial. Somando-se a este fato, já era esperado a fitotoxicidade para crotalária, soja e amendoim, visto que o indaziflam não é seletivo (TORRES et al., 2018).

Na literatura, diversos estudos destacam a sensibilidade de espécies anuais ao indaziflam. Torres et al. (2018) concluíram, com base em suas investigações, que o indaziflam demonstrou elevada fitotoxicidade para *C. juncea* e *A. hypogaea*, apresentando efeitos significativos em doses variando de 6,5 a 100,0 g i.a.  $\text{ha}^{-1}$ , especialmente quando aplicado em semeaduras realizadas até 60 dias após a aplicação (DAA). Guerra et al. (2014), não observaram a emergência de algodão, tabaco, tomate, abóbora, pimenta e soja após a aplicação de indaziflam, mesmo em concentrações de até 100 g i.a.  $\text{ha}^{-1}$ . Enquanto Jhala et al. (2012) observaram a inibição da germinação de *Lolium multiflorum* em doses superiores a 29,2 g i.a.  $\text{ha}^{-1}$  de indaziflam.

Os dados do presente trabalho corroboram com Furlan (2020) quando se considera a cultura do amendoim com aplicação de indaziflam no solo. O autor constatou a morte de plantas de *A. hypogaea* em doses de indaziflam superiores a 40 g i.a.  $\text{ha}^{-1}$ . Além disso, também evidenciou um efeito residual do herbicida por até 150 dias após a aplicação, reforçando a necessidade de cuidado ao utilizar o indaziflam em ambientes agrícolas e cultura anuais.

Dessa forma, embora tenha recomendação de doses baixas de aplicação para indaziflam, é necessário cautela, pois essa molécula pode trazer prejuízos para culturas em sucessão, principalmente culturas de ciclo anual, pois seu posicionamento é destinado a perenes e semi-perenes (GUERRA et al., 2016; MENDES et al., 2022) em função de seu comportamento no solo (MENDES et al., 2021).

Neste estudo, a sensibilidade extrema da cultura do amendoim ao sulfentrazone foi evidenciada em todos os parâmetros analisados nas doses de 600,0 g i.a.  $\text{ha}^{-1}$  e 1200,0 g i.a.  $\text{ha}^{-1}$ , quando semeada até 60 dias após a aplicação (DAA). Essa constatação assume importância considerando que, de acordo com o AGROFIT

(2023), o sulfentrazone é um herbicida registrado para culturas de grande relevância comercial no Brasil, tais como cana-de-açúcar, soja e eucalipto. Além disso, seu tempo de meia-vida no solo varia de 60 a 116 dias a uma profundidade de 0-30 cm, com temperaturas de até 30 °C (BRUM et al., 2013), sendo marcado por um baixo coeficiente de partição de carbono orgânico ( $K_{oc}$ ) de 43,0 mL g<sup>-1</sup> (SHANER, 2014).

Por outro lado, os estudos de Belo et al. (2011) e Maladão et al. (2011) destacaram *A. hypogaea* e *C. juncea*, como tolerantes ao sulfentrazone em concentrações de até 400,0 g i.a. ha<sup>-1</sup>, sugerindo a possibilidade de utilização dessas espécies como fitorremediadoras do herbicida. Contudo, é crucial ressaltar que, ao contrário deste estudo, esses resultados foram obtidos com uma dose 33,33% inferior à dose comercial recomendada para cana-de-açúcar, segundo AGROFIT (2023). Essa diferença salienta a relevância de considerar cuidadosamente a dosagem ao avaliar a tolerância de diferentes culturas ao sulfentrazone, principalmente para a cultura do amendoim muito empregada em sucessão com a cana.

Em relação à baixa fitotoxicidade evidenciada com o clomazone nas três espécies, é relevante destacar que o efeito residual persistiu somente até 10 DAA, mantendo as injúrias dentro da faixa de 10,0 a 20,0%. Essas injúrias, caracterizadas por leves sintomas de albinismo em algumas folhas, foram consideradas aceitáveis, de acordo com a escala de ALAM (1989). A associação desse residual de clomazone com seu tempo de meia-vida no solo, que varia de 9,5 dias em condições de campo a 8,8 dias em laboratório, especialmente em solos argilosos (SZPYRKA et al., 2020), evidencia a capacidade do herbicida de manter seu efeito por um período controlado, sem causar danos fitotóxicos significativos para essas culturas.

Além disso, as características físico-químicas do clomazone, como a alta pressão de vapor ( $1,44 \times 10^{-4}$  mm Hg a 25 °C) (SENSEMAN, 2007), podem ser associadas diretamente à baixa fitotoxicidade observada. Nesse contexto, a escolha da formulação microencapsulada, como no caso do Gamit 360 CS utilizado neste estudo, desempenha um papel estratégico. A liberação gradual e controlada do herbicida (CAMPOS et al., 2014) contribui não apenas para reduzir a volatilização, mas também para otimizar a seletividade do clomazone nas culturas de soja e amendoim, minimizando os potenciais efeitos adversos que são utilizadas em sucessão. Dessa forma, o residual dos herbicidas no solo pode variar em função da formulação que venha a ser utilizada.

Portanto, levando-se em consideração os resultados obtidos, pode-se afirmar que a escolha dos herbicidas pré-emergentes a serem aplicados na última safra da cana-de-açúcar, principalmente aqueles com longo residual, deve ser criteriosa tendo em visto a cultura que será implementada em rotação durante os períodos de pousio da cana-de-açúcar. Além disso, são necessárias mais pesquisas sobre a segurança e eficácia dos herbicidas indaziflam, clomazone e sulfentrazone em condições diferentes do presente trabalho.

### 3.5. Conclusões

Para as condições do presente estudo, pode-se afirmar que:

As plantas de *C. juncea* mostraram-se sensíveis ao herbicida indaziflam, independente da dose, período de semeadura em todos os parâmetros analisados. Em geral, a fitotoxicidade do sulfentrazone e clomazone reduziram quando a semeadura da espécie foi feita a partir de 20 DAA em todas as doses utilizadas.

Para *A. hypogaea* constatou-se alta sensibilidade aos herbicidas indaziflam e sulfentrazone, principalmente nas maiores doses, independente período de semeadura, com reduções significativas na altura, área foliar e biomassa seca da parte aérea das plantas.

Para *G. max*, observou-se sensibilidade à aplicação do indaziflam, sem influência da dose ou do período de semeadura em todos os parâmetros analisados. Já o herbicida sulfentrazone apresentou injúrias para a espécie, especialmente quando a semeadura ocorreu nos períodos de 0 e 10 DAA e com a aplicação nas doses de 600 e 1200 g i.a. ha<sup>-1</sup>.

## REFERÊNCIAS

- AGROFIT – SISTEMA DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS. Consulta de produtos formulados. Disponível em: [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: jan. 2023.
- ASOCIATION LATINOAMERICANA DE MALEZAS [ALAM]. Recomendaciones sobre unificación de los sistemas de evaluación em ensayos de control de malezas. **ALAM**, v. 1, p. 35-38, 1974.
- BELO, A. F.; COELHO, A. T. C. P.; FERREIRA, L. R.; SILVA, A. A.; SANTOS, J. B. Potencial de espécies vegetais na remediação de solo contaminado com sulfentrazone. **Planta daninha**, 29, 821-828, 2011.
- BRUM, C. S.; FRANCO, A. A.; SCORZA JÚNIOR, R. P. Degradação do herbicida sulfentrazone em dois solos de Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, p. 558-564, 2013.
- CAMPOS, E.V.R.; 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.
- DIAS, J. L. C. de S. **Seletividade de herbicidas em mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar**. 2014. 90 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2014.
- DIAS, J. L. C. S.; SILVA JUNIOR, A. C.; QUEIROZ, J. R. G.; MARTINS, D. Herbicides selectivity in pre-budded seedlings of sugarcane. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 84, e0112015, 2017.
- GEHRKE, V. R.; FIPKE, M. V., AVILA, L. A. D., & CAMARGO, E. R. Understanding the opportunities to mitigate carryover of imidazolinone herbicides in lowland rice. **Agriculture**, v. 11, n. 4, p.299, 2021.
- GONÇALVES, F. A. R., MELO, C. A. D., DE QUEIROZ, P. C., ENDO, R. T., DA SILVA, D. V.; DOS REIS, M. R. Atividade residual de herbicidas nas culturas do milho e da soja. **Revista de Ciências Agrárias-Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, 61, p. 1-6, 2018.
- GUERRA, N.; De OLIVEIRA JÚNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J.; De OLIVEIRA NETO, A. M.; BRAZ, G. B. P. Aminocyclopyrachlor e indaziflam: Seletividade, controle e comportamento no ambiente. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 12, n. 3, 285-295, 2013.
- GUERRA, N.; OLIVEIRA NETO, A.M.; OLIVEIRA, J.R.; CONSTANTIN, J.; TAKANO, H.K. Sensibility of plant species to herbicides aminocyclopyrachlor and indaziflam. **Planta Daninha**, v,32, n.3, p.609-617, 2014.
- GUERRA, N.; OLIVEIRA JUNIOR, R.S.; CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA NETO, A.M.; GEMELLI, A.; PEREIRA JUNIOR, D. M.; GUERRA, A. Persistence of Biological

Activity and Leaching Potential of Herbicides Aminocyclopyrachlor and Indaziflam in Soils with Different Textures<sup>1</sup>. **Planta Daninha**, v.34, n.2, p.345-356, 2016.

MANCUSO, M. A.C.; NEGRISOLI, E.; PERIM, L. Efeito residual de herbicidas no solo (“*Carryover*”). *Revista Brasileira de Herbicidas*, v. 10, p. 151-164, 2011.

MADALÃO, J. C.; PIRES, F. R.; CHAGAS, K.; CARGNELUTTI FILHO, A.; PROCÓPIO, S. O. Uso de leguminosas na fitorremediação de solo contaminado com sulfentrazone. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, p. 390-396, 2012.

MELO, C.A.D.; DIAS, R. de C.; MENDES, K.F.; ASSIS, A.C. de L.P.; REIS, M.R. dos. Herbicides carryover in systems cultivated with vegetable crops. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.15, p.67-78, 2016.

MENDES, K. F.; DIAS, R. C.; REIS, M. R. *Carryover* e persistência de herbicidas em solos. Boletim Técnico, Viçosa: SBCPD Comitê de Qualidade Ambiental, 2017.

MENDES, K. F., SOARES, M. B., SOUSA, R. N. D., MIELKE, K. C., BROCHADO, M. G. D. S.; TORNISIELO, V. L. Indaziflam sorption–desorption and its three metabolites from biochars-and their raw feedstock-amended agricultural soils using radiometric technique. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 56, n. 8, p. 731-740, 2021.

MENDES, K. F.; SILVA, A. A.; MIELKE, K. C. Classificação, seletividade e mecanismo de ação de herbicidas. In: MENDES, K. F.; SILVA, A. A. (Orgs.) **Plantas Daninhas: Herbicidas**. São Paulo, SP: Oficina de Textos, 2022.

PONTES JUNIOR, V. B.; MENDES, K. F.; SILVA, A. A.; BROCHADO, M. G. S.; SOUZA, P. S. R.; PAULA, D. F.; INOUE, M. H. Potencial de *carryover* de herbicidas residuais inibidores da enzima acetolactato-sintase (ALS). In: SANTOS, C. C. (Org.) Resultados econômicos e de sustentabilidade nos sistemas nas ciências agrárias. Ponta Grossa, Paraná: Atena Editora, 2020.

RANI, D.; DUHAN, A.; PUNIA, S. S.; YADAV, D. B.; DUHAN, S. Behavior of pre-mix formulation of imazethapyr and imazamox herbicides in two different soils. **Environmental monitoring and assessment**, 191, 1-8.4, 2019.

SENSEMAN, S.A. Herbicide handbook. 9.ed. Lawrence: Weed Science Society of America, 2007, 458p.

SILVA, G. S.; SILVA, A. F. M.; GIRALDELI, A. L.; GHIRARDELLO, G. A.; VICTORIA FILHO, R.; DE TOLEDO, R. E. B. Manejo de plantas daninhas no sistema de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 17, n. 1, 86-94, 2018.

SHANER, D. L. Herbicide handbook. 10<sup>a</sup>.ed. Lawrence: Allen Press; 2014. 513p.

SZPYRKA, E.; SŁOWIK-BOROWIEC, M.; KSIĄŻEK, P.; ZWOLAK, A.; PODBIELSKA, M. The difference in dissipation of clomazone and metazachlor in soil under field and laboratory conditions and their uptake by plants. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1-9, 2020.

TORRES, B. A.; MENEGHIN, S. P.; RIBEIRO, N. M.; Dos SANTOS, H. V.; SCHEDENFFELDT, B. F.; MONQUERO, P. A. Saflufenacil and indaziflam herbicide

effects on agricultural crops and microorganisms. **African Journal of Agricultural Research**, v. 13, n. 16, p. 872-885, 2018.

U.S. EPA. **Pesticide fact sheet, 2010**. Conditional registration, 2010, 108p

## 4. TOXICIDADE DE HERBICIDAS EM *Eisenia andrei*

### 4.1. Introdução

O controle químico de plantas daninhas é a estratégia mais utilizada em virtude da eficiência, praticidade e baixo custo (MONQUERO et al., 2011; KUVA; SALGADO, 2014). No entanto, embora os herbicidas tenham como alvo as plantas daninhas, seus ingredientes ativos podem ter muitos efeitos diretos (ZALLER; BRÜHLE, 2021) e indiretos (BRÜHL; ZALLER, 2021) em organismos não-alvo, especialmente para os invertebrados do solo (BONMATIN et al., 2014).

Na literatura já foram relatados diversos efeitos letais e subletais de herbicidas em minhocas (CORREIA; MOREIRA, 2010; BUCH et al., 2013; GAUPP-BERGHAUSEN et al., 2015; ZALLER et al., 2021), portanto, é essencial a avaliação de potenciais riscos nesses organismos vivos do solo, por participarem de importantes funções e serviços na agricultura (BERTRAND et al., 2015). Dessa forma, o nível de toxicidade dos agrotóxicos a fauna do solo pode variar em função da resposta biológica do organismo, do ingrediente ativo e dos demais compostos que compõe a formulação comercial, além das características ambientais (BUCH et al., 2022).

Diante disso, os ensaios ecotoxicológicos possuem notoriedade em diferentes sistemas e organismos por avaliarem os principais riscos de contaminação e responsabilidade ambiental (AZEVEDO; CORONAS, 2018). As minhocas da espécie *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) e *Eisenia andrei* (Bouché, 1972) são comumente utilizadas em testes ecotoxicológicos visando a avaliação de risco ambiental pela contaminação de solos por herbicidas (ISO, 1993, 2007, 2012).

Os efeitos dos herbicidas em curto prazo podem ser avaliados através de ensaios de letalidade. No entanto, nem todas as substâncias químicas podem causar a mortalidade em um período de até 14 dias (ANDRÉA, 2010). Logo, também é fundamental o desenvolvimento de ensaios que expressem os efeitos subletais dos produtos químicos em estudo, como por exemplo, os ensaios de reprodução e fuga com oligoquetas (NIVA; BROWN, 2019).

Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a toxicidade aguda e comportamento de fuga de minhocas da espécie *E. andrei* aos herbicidas clomazone, indaziflam e sulfentrazone.

### 4.2. Objetivo Geral



O objetivo do presente trabalho foi testar a hipótese de que os herbicidas indaziflam, sulfentrazone e clomazone afetam o comportamento e causam letalidade em minhocas da espécie *Eisenia andrei*.

#### **4.2.1. Objetivos específicos**

- a) Determinar a toxicidade aguda ( $CL_{50}$ ) dos herbicidas indaziflam, sulfentrazone e clomazone em *E. andrei*.
- b) Avaliar efeitos na biomassa dos adultos sobreviventes após exposição aos herbicidas.
- c) Determinar as doses dos herbicidas indaziflam, sulfentrazone e clomazone proporcionam fuga de *E. andrei*.
- d) Determinar a  $EC_{50}$  e  $EC_{10}$  dos herbicidas indaziflam, sulfentrazone e clomazone que afetam a reprodução de *E. andrei*.

### 4.3. Material e Métodos

#### 4.3.1. Teste agudo

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Ecotoxicologia Ambiental (LEQA) pertencente ao Departamento de Recursos Naturais e Proteção Ambiental (DRNPA) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Centro de Ciências Agrárias (CCA), Campus Araras/SP.

Os ensaios foram conduzidos de acordo com as normas ISO 11268-1 (ISO, 2012a). Para a realização dos testes ecotoxicológicos foi selecionada a espécie de minhoca *Eisenia andrei* (Lumbricidae), adquirida de lotes da empresa Minhobox® e então foram mantidas e cultivadas em laboratório em caixas plásticas com volume de 12 L. O experimento foi desenvolvido seguindo um delineamento inteiramente casualizado (DIC) composto por seis concentrações, com cinco repetições, para cada herbicida. Foram realizados três testes de mortalidade, um para cada herbicida avaliado.

Na determinação da toxicidade aguda para *Eisenia andrei* foram utilizados organismos adultos com massa individual de 250,0 a 600,0 mg e com idade superior a dois meses (ISO, 2012a). Os organismos foram expostos a concentrações dos herbicidas indaziflam, sulfentrazone e clomazone formando um gradiente de concentração e foram preparados separadamente. A escolha das concentrações testadas para cada um dos herbicidas foi baseada nas recomendações da norma ISO (2012a): 0,0 mg i.a. kg<sup>-1</sup>, 1,0 mg i.a. kg<sup>-1</sup>, 10,0 mg i.a. kg<sup>-1</sup>, 100,0 mg i.a. kg<sup>-1</sup>, 500,0 mg i.a. kg<sup>-1</sup> e 1000,0 mg i.a. kg<sup>-1</sup>, sendo estas expressas em miligramas de ingrediente ativo por quilograma de solo seco.

Para o controle de sensibilidade dos organismos testes foram realizados ensaios de 14 dias de duração com ácido bórico (substância referência) na concentração de 4500,0 mg H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> kg<sup>-1</sup> de solo.

O solo para os ensaios foi coletado na camada de 0-20 cm e tamisados em peneira de malha 2 mm, sendo este caracterizado como Latossolo vermelho escuro e com <2% de carbono orgânico (Laboratório de Química e Fertilidade do solo – UFSCar/CCA), conforme pode ser observado na tabela 3 a seguir.

**Tabela 3.** Características físicas e químicas do Latossolo utilizado nos testes ecotoxicológicos com *E. andrei*.

P Resina	M.O.	pH	K	Ca	Mg	H+Al	SB	CTC	V	COT
mg dm <sup>-3</sup>	g dm <sup>-3</sup>	CaCl <sub>2</sub>				mmolc dm <sup>-3</sup>				%
13,0	12,0	4,6	2,6	43,0	8,0	28,0	53,6	81,0	66,0	3,3

\*COT: Carbono orgânico total.

Posteriormente esse solo foi seco naturalmente e exposto a dois ciclos de congelamento de 48h seguidos por igual período em temperatura ambiente para eliminação de casulos de minhocas e outros invertebrados (PESARO et al., 2003). Para o início do ensaio, os organismos foram aclimatados em solo por 24 horas.

O experimento foi conduzido em uma incubadora BOD nas condições de temperatura entre 18 °C a 22 °C e com fotoperíodo de 12h de luz (ABNT, 2014). Os organismos foram mantidos em recipientes de 1000,0 mL cobertos com tampas transparentes e alguns furos para a aeração (Figura 17). Os recipientes foram preenchidos com 500,0 g de solo contaminado com os herbicidas ou somente água destilada (controle), correspondendo a altura do solo entre cinco e seis centímetros. Logo no início do experimento também foram adicionados 5,0 g de esterco misturado com 5,0 mL de água destilada por recipiente, visando a alimentação das minhocas.



**Figura 17.** Recipiente utilizado nos ensaios de toxicidade aguda e crônica com *E. andrei*.

Foram realizadas avaliações aos 7 e 14 dias determinando o efeito na letalidade através do número de minhocas mortas ou sobreviventes e, quando vivas, foram pesadas para obtenção da biomassa (mg) (ABNT, 2014). Dessa forma, a CL<sub>50</sub> foi calculada por meio do método estatístico de Trimmed Spearman-Kärber ( $p < 0,05$ ),

com o auxílio do programa computacional Trimmed Spearman-Kärber Method Version 1.5 (HAMILTON et al., 1977).

Os dados de variação de biomassa (mg) e número de adultos sobreviventes foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk  $W$  ( $p > 0,05$ ), homogeneidade de Bartlett ( $p > 0,05$ ), à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ). Para estas análises foi utilizado *software* Statistica v7.0 (STATSOFT, 2004). Quando um dos pressupostos da ANOVA não foi atendido, foi realizada a transformação  $\log(x+1)$  (NIVA; BROWN, 2019). Portanto, quando significativo o efeito na redução da biomassa ou número de adultos sobreviventes, pode-se aferir que há um efeito prejudicial de uma determinada concentração e com isso foi determinado o CENO (concentração de efeito não observado) e CEO (concentração de efeito observado) entre as concentrações testadas quando comparadas com o controle.

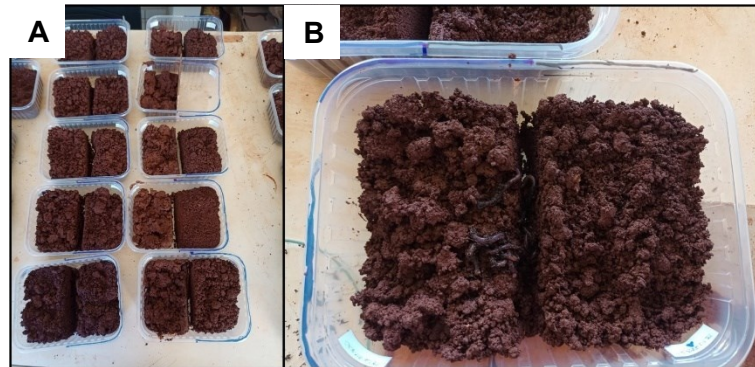
#### **4.3.2. Teste de fuga**

Este experimento foi realizado de acordo com as normas ISO 17512-1 (2008). Os testes foram realizados separados para cada um dos herbicidas, no qual foi seguido um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com cinco concentrações subletais para clomazone, indaziflam e sulfentrazone e cinco repetições.

As doses subletais foram definidas de acordo com os testes de letalidade realizados anteriormente, sendo que para clomazone foram testadas as doses de 1,0; 10,0; 25,0; 50,0 e 75,0 mg i.a.  $\text{kg}^{-1}$  solo seco e para sulfentrazone e indaziflam 1,0; 10,0; 50,0; 75,0 e 100,0 mg i.a.  $\text{kg}^{-1}$  solo seco. Também foi realizado um teste de controle duplo usando solo controle em ambos os lados para verificar a distribuição aleatória de organismos quando não há contaminação (ISO, 2008).

Para o controle de sensibilidade dos organismos testes foram realizados com ácido bórico (substância referência) na concentração de 750,0 mg  $\text{H}_3\text{BO}_3$   $\text{kg}^{-1}$  de solo. Dessa forma, na condução do experimento foram utilizados recipientes plástico retangulares (26,2 cm  $\times$  17,7 cm  $\times$  8,5 cm) que foram preenchidos com Latossolo até 4–5 cm altura (cerca de 300,0 g de solo em peso seco) (NIEMEYER et al., 2018). Portanto, metade dos potes estavam com solo não tratado (controle) e a outra metade com o solo contaminado pelos herbicidas, os quais foram mantidos com uma divisória de papelão entre eles até o momento da introdução de dez minhocas adultas cliteladas com um peso corporal individual de 250,0–600,0 mg, logo na linha entre as duas seções (Figura 18).

Os recipientes foram fechados com tampas que continham furos para aeração e mantidos em uma incubadora BOD com temperatura de  $20 \pm 4^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 12h de luz e 12h de escuro, e nenhum alimento foi adicionado. Após 48h o divisor de papelão foi reintroduzido entre os solos tratados e não tratados e foi contabilizado o número de minhocas de cada lado.



**Figura 18.** Preparo dos solos contaminados e não contaminados e a divisória para separação entre os tratamentos (A) e introdução das minhocas na divisória entre os solos (B).

O cálculo do percentual de fuga do solo-teste (ou de uma concentração de uma substância) é realizado de acordo com a equação a seguir.

$$x (\%) = \left( \frac{nc - nt}{N} \right) \times 100$$

Onde:

x = fuga, expressa em porcentagem;

nc = número de minhocas no solo controle (por recipiente-teste ou no solo controle de todas as replicatas);

nt = número de minhocas no solo-teste (por recipiente-teste ou no solo-teste de todas as replicatas);

N = número total de minhocas (geralmente 10 por recipiente-teste ou no solo controle de todas as replicatas).

Os resultados obtidos nos testes de fuga foram analisados com o teste exato de Fisher ( $p < 0,05$ ) utilizando um teste unicaudal, permitindo comparações da distribuição de minhocas observadas em relação a distribuição esperada, assumindo a inexistência de resposta de fuga (NATAL-DA-LUZ et al., 2004). A Concentração Efetiva Mediana que causou fuga após 48 horas de exposição ( $CE_{50-48h}$ ) foi estimada

por meio do método estatístico de Trimmed Spearman-Kärber ( $p < 0,05$ ) (ABNT, 2011), com o auxílio do programa computacional Trimmed Spearman-Kärber Method Version 1.5 (HAMILTON et al., 1977).

#### **4.3.3. Teste crônico**

Para o ensaio de toxicidade crônica foram seguidos os mesmos protocolos que o ensaio de letalidade, de acordo com as normas OECD nº 222 (OECD, 2004a) e ISO 11268-2 (ISO, 2012b). Foram selecionadas as seguintes concentrações subletais de acordo com o teste agudo: clomazone nas doses de 1,0; 10,0; 25,0; 50,0 e 75,0 mg i.a.  $\text{kg}^{-1}$ , a sulfentrazone 1,0; 10,0; 100,0; 500,0 e 750,0 mg i.a.  $\text{kg}^{-1}$  e indaziflam 1,0; 10,0; 50,0; 75,0 e 100,0 mg i.a.  $\text{kg}^{-1}$ .

Para monitoramento da sensibilidade da espécie foi utilizada a substância referência ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) na concentração de 450,0 mg i.a.  $\text{kg}^{-1}$  solo. A duração do teste foi de 56 dias e semanalmente os organismos foram alimentados com 5,0 g de esterco bovino seco e mais 5,0 mL de água destilada e pesados até 28 dias. No final deste período as minhocas adultas foram removidas e quantificadas a mortalidade, e os casulos foram deixados nos solos contaminados por até 56 dias. Após este período, foi realizada a contagem do número de casulos e dos juvenis.

Os dados dos testes de toxicidade crônica foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk W ( $p > 0,05$ ), homogeneidade de Bartlett ( $p > 0,05$ ), à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ). Os valores de  $\text{EC}_{50}$  e  $\text{EC}_{10}$  foram determinados por análise de regressão não linear, usando o modelo que melhor se ajustou aos dados. Para estas análises foi utilizado software Statistica v7.0 (STOATSOFT, 2004).

## 4.4. Resultados e Discussão

### 4.4.1. Toxicidade aguda

Os testes com *E. andrei* foram validados conforme os critérios ISO 11268-1 (ISO, 2012). Onde, a mortalidade das adultas foi inferior a 10,0% e no tratamento controle a média da perda de biomassa foi inferior a 20,0%.

Dessa forma, no ensaio de toxicidade aguda para *E. andrei*, a concentração letal 50% (CL<sub>50</sub>;14d) do clomazone foi de 184,12 mg i.a. kg<sup>-1</sup> solo (Tabela 4). Este resultado mostrou-se próximo ao encontrado por Cao et al. (2015), em que relataram uma CL<sub>50</sub> para 7 e 14 dias de 174,9 mg i.a. kg<sup>-1</sup> e 123,44 mg i.a. kg<sup>-1</sup>, respectivamente, para *E. fetida* pelo teste com solo artificial.

O herbicida sulfentrazone apresentou uma CL<sub>50</sub> na maior dosagem testada dentro deste estudo, sendo de 1000,0 mg i.a. kg<sup>-1</sup> solo (Tabela 4). Para o indaziflam não houve letalidade para as minhocas (Tabela 4) mesmo em concentrações >104 vezes a dose máxima recomendada para a cultura da cana-de-açúcar, por exemplo, equivalente a 0,2 mg i.a. kg<sup>-1</sup> solo (AGROFIT, 2023). No entanto, os ensaios agudos são geralmente menos sensíveis do que os ensaios crônicos, os quais fornecem resultados mais realistas sobre efeitos subletais a longo prazo com base no crescimento e reprodução das minhocas (DOMÍNGUEZ et al., 2016).

De acordo com Lewis et al. (2016), a classificação de ingredientes ativos de herbicidas para toxicidade aguda com minhocas pode ser dividida em três graus: CL<sub>50</sub> < 10 mg kg<sup>-1</sup> solo - altamente tóxico; CL<sub>50</sub> = 10-1000 mg kg<sup>-1</sup> solo - moderadamente tóxico; CL<sub>50</sub> > 1000 mg kg<sup>-1</sup> – não tóxico. Portanto, pode-se aferir que os herbicidas clomazone e sulfentrazone são classificados como moderadamente tóxicos para minhocas, em função da necessidade de maiores doses para que ocorra a morte de pelo menos 50% das cobaias.

Estudos científicos têm demonstrado a dificuldade para chegar na CL<sub>50</sub> de herbicidas para *E. andrei*. Belden et al. (2005), Chelinho et al. (2010), Buch et al. (2013) e Santo et al. (2020) não conseguiram estimar a CL<sub>50</sub> de pendimethalin, atrazine, glyphosate e isoxaflutole, respectivamente, para esses organismos, dentro das condições e concentrações testadas em cada estudo. Este resultado demonstra a baixa toxicidade aguda deste grupo de agrotóxicos a minhocas.

**Tabela 4.** Concentrações letais (CL<sub>50</sub>) dos herbicidas clomazone, sulfentrazone e indaziflam (mg i.a. kg<sup>-1</sup> solo) para a minhoca *E. andrei* exposta por 14 dias.

Herbicidas	Lim. Sup. (95%)	CL <sub>50</sub>	Lim. Inf. (95%)	Eq. Linear	R <sup>2</sup>
Clomazone	228,17	184,12	148,57	$y = 2,2571x - 4,2$	0,74
Sulfentrazone	-	1000,00	-	$y = 0,84x - 1,3067$	0,75
Indaziflam	-	-	-	$y = 0,3657x - 0,5467$	0,52

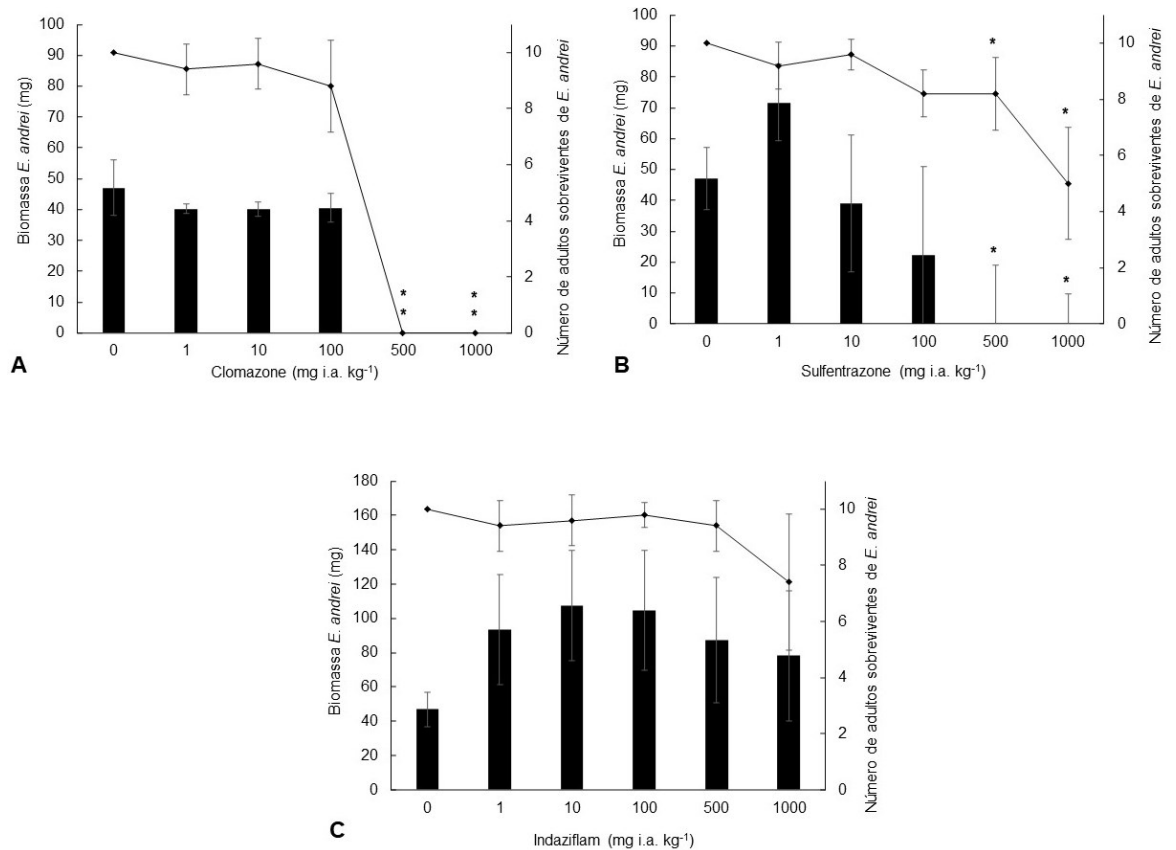
Lim. Sup.: limite superior; Lim. Inf.: limite inferior; Eq.: equação.

A figura 19A apresenta a média da perda/ganho de biomassa (mg) e o número de adultos sobreviventes de *E. andrei* com diferentes concentrações do herbicida clomazone (mg i.a. kg<sup>-1</sup> solo seco) aos 14 dias. Para o herbicida clomazone a maior média de biomassa foi para o controle, além de não haver nenhuma letalidade das minhocas para esse grupo, diante das condições do presente estudo.

Não foi observado nenhum efeito significativo nas concentrações de 1,0; 10,0 e 100,0 (mg i.a. kg<sup>-1</sup>) para biomassa ou sobrevivência de *E. andrei* em relação ao controle. Clomazone causou uma letalidade significativa (100,0%) somente quando as minhocas foram expostas as concentrações de 500,0 e 1000,0 (mg i.a. kg<sup>-1</sup>). Para ambas as variáveis, os dados de CENO (100,0 mg kg<sup>-1</sup>) e CEO (500,0 mg kg<sup>-1</sup>) podem ser observados na figura abaixo (Figura 19A) de acordo com o teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).

Em um trabalho desenvolvido por Cao et al. (2015) foi constatado que clomazone pode bioacumular rapidamente em minhocas. A absorção de clomazone mostrou uma boa correlação com a concentração de exposição. Após o 14º dia, ocorreu redução para o valor mínimo, sendo que cerca de 74,0% a 80,0% do clomazone acumulado foi eliminado em 1 dia após a exposição ao solo livre do herbicida. No entanto, uma quantidade residual de clomazone persistiu por um tempo relativamente longo em *E. fetida*.





**Figura 19.** Média da perda/ganho de biomassa (mg) (barras) e número de adultos sobreviventes (linha contínua) de *E. andrei* com concentrações crescentes de clomazone (A), sulfentrazone (B) e indaziflam (C) (mg i.a. kg<sup>-1</sup> solo seco) aos 14 dias. A sobrevivência e biomassa foram analisados de forma independente. \*Diferença estatística significativa ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste de Dunnett para biomassa e número de sobreviventes. (⊥) Desvio padrão.

Para o sulfentrazone, embora haja adultos sobreviventes, constatou-se que não houve variação média da biomassa de cada indivíduo em relação ao peso inicial nas concentrações de 500,0 e 1000,0 mg i.a. kg<sup>-1</sup> (Figura 19B). Conforme também encontrado para o clomazone, as concentrações de 100,0 mg kg<sup>-1</sup> e 500,0 mg kg<sup>-1</sup> correspondem ao CENO e CEO, respectivamente, de acordo com o teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).

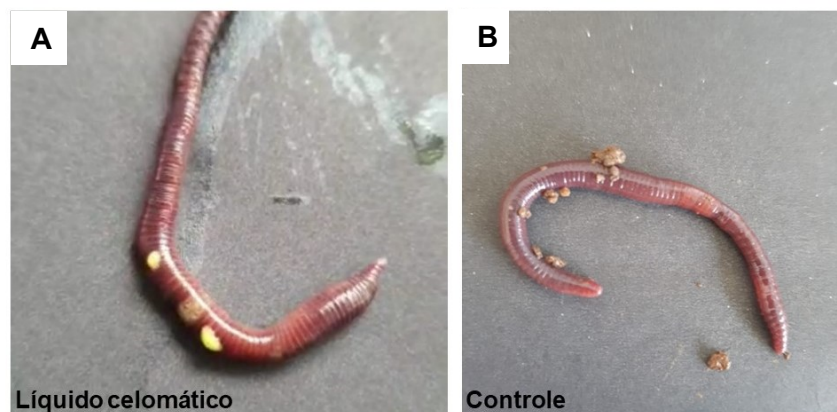
Ao contrário do observado para o clomazone e sulfentrazone, não foram encontradas perdas de biomassa individual e diminuição significativa no número de adultos sobreviventes de *E. andrei* independente da concentração de indaziflam testada (Figura 19C). Nota-se médias de biomassa superiores ao controle em todas as doses. Apesar disso, constatou-se uma redução acentuada no número médio de adultos sobreviventes na dose de 1000,0 mg i.a. kg<sup>-1</sup>, porém, as doses não foram

significativas no teste de Dunnett, não sendo possível estimar CENO e CEO para ambas as variáveis analisadas.

A ausência de toxicidade aguda para indaziflam demonstram que a presença de minhocas pode ser fundamental para a recuperação de solos contaminados, auxiliando na decomposição de compostos tóxicos, melhorando a fertilidade do solo e promovendo a incorporação de matéria orgânica (YEARLEY et al., 1996). De modo geral, os herbicidas são considerados o grupo de pesticidas que apresentam menor ecotoxicidade quando comparado aos fungicidas e inseticidas (BUCH et al., 2022).

Embora indaziflam e sulfentrazone não tenham causado letalidade e em algumas concentrações proporcionaram até mesmo a maior variação de biomassa em relação ao controle, sabe-se que a aplicação de herbicidas no solo tem efeito sobre a reprodução (SCHAEFER, 2004) e metabolismo (PELOSI et al., 2013) desses organismos, sendo que essa absorção de produtos químicos aumenta a bioconcentração de pesticidas em minhocas (MIGLANI; BRISHT, 2019).

Além disso, os organismos adultos sobreviventes de indaziflam e sulfentrazone apresentaram grande quantidade de um líquido amarelado, semelhante ao líquido celomático (Figura 20A). A importância na liberação deste líquido celomático está diretamente relacionada ao sistema excretor e serve de proteção a processos químicos, como substâncias indesejadas no ambiente em que estes organismos estão inseridos (EDWARDS; BOHLEN, 1996; PONTES, 2013), no caso do presente trabalho, os herbicidas.



**Figura 20.** Presença de líquido celomático (A) e controle (B) em adultos de *Eisenia andrei* sobreviventes após 14 dias. Fonte: produção do próprio autor, 2023.

#### 4.4.2. Teste de fuga

Após 48h de testes não foi observado mortalidade de minhocas para nenhum dos tratamentos e também se constatou uma distribuição aleatória entre os organismos para os testes de controle duplo. Dessa forma, os testes de fuga com *E. andrei* foram validados conforme os critérios ISO 17512-1 (2008).

Com base nos valores de ( $CE_{50-48h}$ ), as fugas revelaram sensibilidade aos herbicidas clomazone e indaziflam nas concentrações de 17,50 e 29,66 mg i.a.  $kg^{-1}$  solo, respectivamente (Tabela 5). A não estimativa da  $CE_{50}$  para sulfentrazone está relacionada a alta porcentagem de fuga independente da concentração utilizada, sendo que a partir da dose de 1,0 mg i.a.  $kg^{-1}$  foi constatado em média 40% de fuga (Figura 13B).

**Tabela 5.** Concentração efetiva mediana ( $CE_{50}$ ) dos herbicidas clomazone, sulfentrazone e indaziflam (mg i.a.  $kg^{-1}$  solo) que causaram fuga das minhocas *E. andrei* após 48 horas.

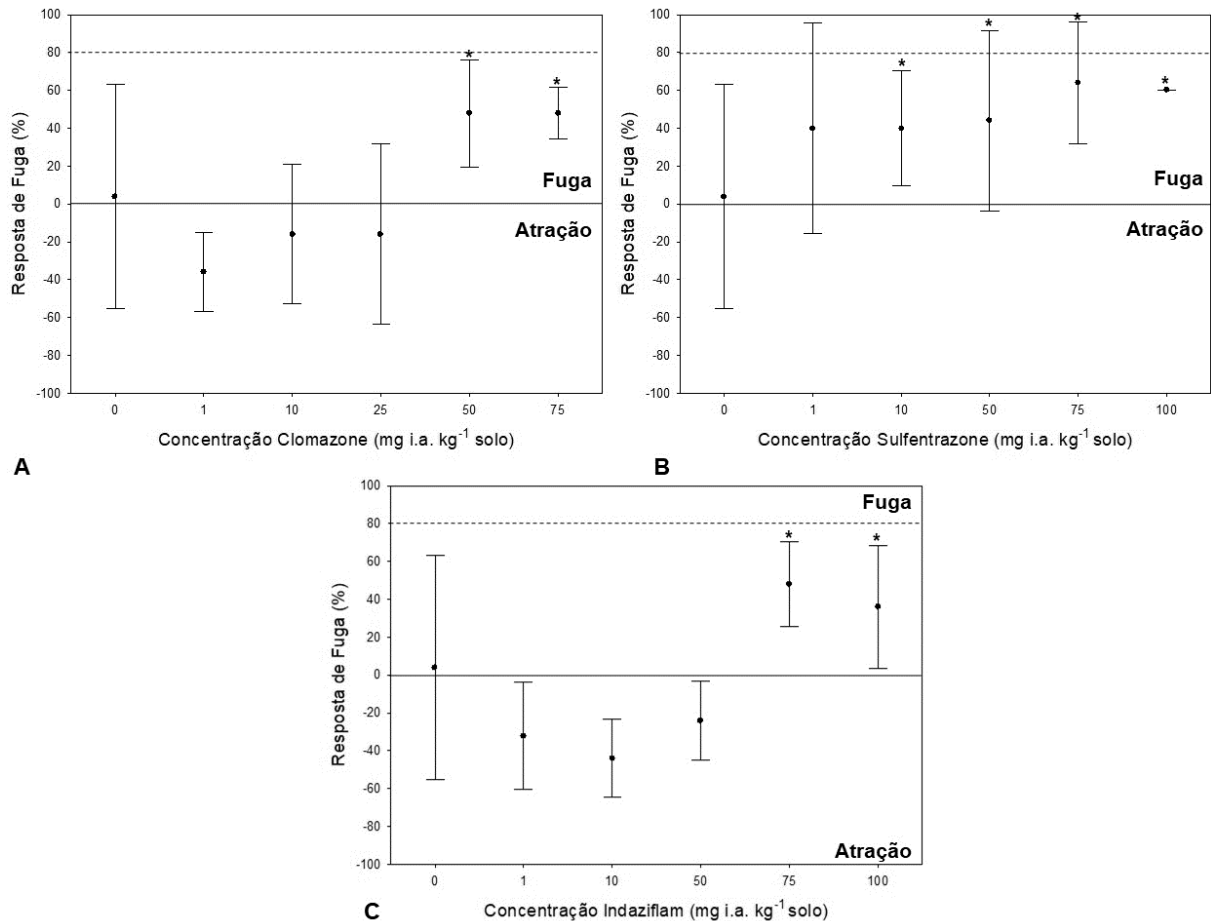
Herbicidas	Lim. Sup. (95%)	$CE_{50}$	Lim. Inf. (95%)
Clomazone	39,07	17,25	7,62
Sulfentrazone	-	-	-
Indaziflam	47,15	29,66	18,66

Na figura 13 consta os resultados do teste de fuga em diferentes concentrações para os três herbicidas. O herbicida clomazone (Figura 21A) proporcionou uma fuga significativa das minhocas nas concentrações de 50,0 e 75,0 mg i.a.  $kg^{-1}$  solo, com média de 48,0%. Ao analisar a fuga, a CENO e CEO correspondem a 25,0 mg  $kg^{-1}$  e 50,0 mg  $kg^{-1}$ , respectivamente.

Os resultados para o sulfentrazone (Figura 21B) apontam para um comportamento de evitação das minhocas, o qual se manifesta a partir da concentração mínima testada de 1,0 mg i.a.  $kg^{-1}$  de solo, e se torna estatisticamente significativo a partir da concentração de 10,0 mg i.a.  $kg^{-1}$ . Além disso, nas concentrações mais elevadas, de 75,0 e 100,0 mg i.a.  $kg^{-1}$ , observou-se uma média de 64,0% e 60,0% de fuga do solo-teste, respectivamente.

O comportamento de fuga ao indaziflam mostrou-se significativo a partir da concentração de 75,0 mg i.a.  $kg^{-1}$  solo (Figura 21C), com média de 48% de evitação. Os dados de CENO (50,0 mg  $kg^{-1}$ ) e CEO (75,0 mg  $kg^{-1}$ ) podem ser observados na

figura abaixo de acordo com o teste exato de Fisher ( $p < 0,05$ ). Este herbicida é de classe toxicológica III (moderadamente tóxico).



**Figura 21.** Resultados do teste de fuga realizado com minhocas da espécie *E. andrei* quando expostas a um solo contaminado com diferentes concentrações de clomazone (A), sulfentrazone (B) e indaziflam (C) após 48 horas. Os resultados expressam valores médios  $\pm$  erro padrão. \*Diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) pelo teste exato de Fisher.

A ausência de resposta de fuga nas concentrações mais baixas dos herbicidas clomazone e indaziflam pode estar associada a baixa sensibilidade das minhocas da espécie *E. andrei* a pesticidas de modo geral (ALVES et al., 2014; NIEMEYER et al., 2018), visto que resultados diferentes vêm sendo obtidos quando utilizados calêmbolos como organismos testes (PELOSI et al., 2014; SANTO et al., 2020).

Na literatura há relatos da ausência de fuga das minhocas por herbicidas em concentrações baixas. Santo et al. (2020) constataram a fuga de *E. andrei* somente em concentrações  $>300$  e  $>600$  vezes as doses comerciais recomendadas do isoxaflutole. Enquanto Niemeyer et al. (2018) não notaram respostas de evitação

significativas para aplicação de glyphosate em suas diferentes formulações comerciais.

Embora tenha sido constatado um comportamento de fuga para todos os herbicidas estudados, principalmente nas maiores concentrações, nenhum deles proporcionaram >80,0% e não podem ser considerados tóxicos, visto que, de acordo com as normas ISO 17512-1 (2008), a função de habitat dos solos é considerada limitada se, em média, 80,0% das minhocas forem encontradas no solo controle (somente água destilada), indicando um impacto direto no comportamento destes organismos.

#### **4.4.3. Teste crônico**

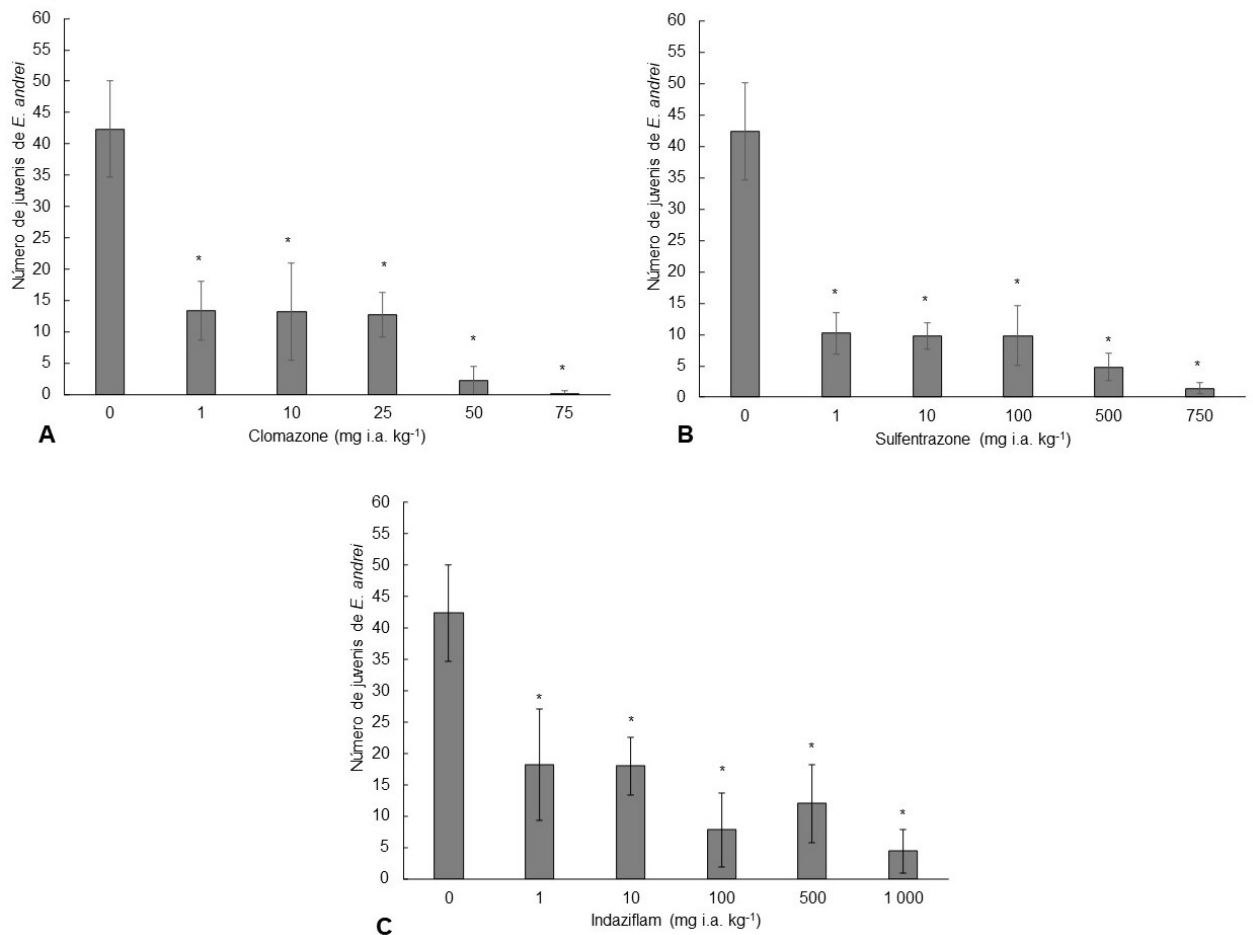
Para os ensaios de toxicidade crônica com *E. andrei* os critérios de validação também foram atendidos de acordo com a norma ISO 11268-2 (ISO, 2012b). Onde, não foi constatado mortalidade das minhocas adultas no tratamento controle e foi contabilizado no mínimo 30 juvenis por repetição nos recipientes sem herbicida, os quais apresentaram coeficiente de variação inferior a 30,0%.

Ressalta-se que os dados referentes ao número de juvenis apresentaram um ajuste à curva exponencial com coeficientes de determinação ( $R^2$ ) de 87,98%, 94,18% e 85,45% para clomazone, sulfentrazone e indaziflam, respectivamente.

Dessa forma, a exposição de *E. andrei* ao herbicida clomazone teve um impacto significativo na reprodução das minhocas, resultando em um  $EC_{50}$  de 0,572 (0,212-0,933 mg kg<sup>-1</sup>) e um  $EC_{10}$  de 0,2144 (0,068 - 0,3605 mg kg<sup>-1</sup>) (Tabela 6). Da mesma forma, a exposição das minhocas ao herbicida sulfentrazone também resultou em efeitos adversos na reprodução, com  $EC_{50}$  de 0,3941 (0,172 - 0,615 mg kg<sup>-1</sup>) e um  $EC_{10}$  de 0,134 (0,058 - 0,209 mg kg<sup>-1</sup>). Os dados de Concentração Sem Efeito Observável (CEO) de 1,0 mg kg<sup>-1</sup> são apresentados na Figura 22A e 22B. Quanto ao indaziflam, seu  $EC_{50}$  foi de 0,768(0,249-1,286 mg kg<sup>-1</sup>), e, consistentemente com clomazone e sulfentrazone, o indaziflam também demonstrou um CEO de 1,0 mg kg<sup>-1</sup> (Figura 22C).

**Tabela 6.** Concentração efetiva (CE<sub>50</sub>/CE<sub>10</sub>) e intervalo de confiança, modelo estatístico e R<sup>2</sup> (%) do ajuste dos dados na curva para os testes de reprodução de minhocas em latossolo com aplicação de doses crescentes de clomazone, sulfentrazone e indaziflam (mg i.a. kg<sup>-1</sup>).

Herbicidas	CE <sub>50</sub> (mg kg <sup>-1</sup> )	CE <sub>10</sub> (mg kg <sup>-1</sup> )	Modelo estatístico	R <sup>2</sup> (%)
Clomazone	0,572 (0,212-0,933)	0,214 (0,068-0,3605)	Exponencial	87,98
Sulfentrazone	0,3941(0,172-0,615)	0,134 (0,058-0,209)	Exponencial	94,18
Indaziflam	0,768 (0,249-1,286)	0,355 (0,090-0,621)	Exponencial	85,45



**Figura 22.** Média de indivíduos (Ind.) juvenis de *E. andrei* em Latossolo Vermelho com concentrações crescentes dos herbicida clomazone (A), sulfentrazone (B) e indaziflam (C). \*Diferença estatística significativa ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste de Dunnett. (⌊) Desvio padrão.

Neste contexto, a exposição a curto prazo (toxicidade aguda) revelou impactos menos pronunciados nas minhocas. No entanto, os efeitos sobre a reprodução

proporcionaram insights significativos. Observou-se uma notável redução de 50% (EC<sub>50</sub>) e 10% (EC<sub>10</sub>) no número de juvenis nas concentrações de 0,572 e 0,214 mg kg<sup>-1</sup> quando expostas ao clomazone. Esses resultados são particularmente relevantes quando se considera a dose comercial recomendada para a cultura da cana-de-açúcar em condições tropicais do Brasil, que corresponde a 2,52 mg kg<sup>-1</sup>, de acordo com AGROFIT (2023). Isso indica que as concentrações utilizadas no estudo estão consideravelmente abaixo da recomendação para aplicação na agricultura.

A toxicidade mais alta observada foi para o sulfentrazone (EC<sub>50</sub>= 0,394 mg ai kg<sup>-1</sup>). Da mesma forma que Li et al. (2020) desenvolveram um trabalho para avaliar os efeitos toxicológicos do sulfentrazone usando múltiplos biomarcadores e respostas integradas de biomarcadores. Os autores constataram que os efeitos toxicológicos diminuiriam gradativamente após 14 dias, sugerindo que o sulfentrazone (≤5,0 mg kg<sup>-1</sup>) causou efeitos toxicológicos reversíveis em *E. fetida*.

Esses resultados sugerem que, embora a toxicidade aguda possa não ser alarmante, as doses subletais desses herbicidas têm um impacto considerável na reprodução das minhocas. Esta ligação entre exposição crônica e reprodução é especialmente relevante quando se considera o tempo de meia-vida dos herbicidas no solo, como para os produtos testados, clomazone, sulfentrazone e indaziflam. Esses herbicidas exibem variações significativas em seus tempos de meia-vida, estendendo-se de 40,1 a 93,5 dias (RONG et al., 2021), 43 a 82 dias (MELO et al., 2019) e >150 dias (US EPA, 2010), respectivamente.

A persistência prolongada dos herbicidas, que é medida pelo tempo de meia-vida e representa como o período necessário para a degradação de 50% da concentração inicial do herbicida (SHANER, 2014), é um fator que desencadeia uma exposição cumulativa de considerável preocupação ao longo do tempo. Mesmo em doses inferiores àquelas que induziriam mortalidade até 14 dias, essa exposição crônica exerceu influência significativa na reprodução das minhocas (Figura 3). Essa interação sutil e prolongada entre doses subletais e o tempo de meia-vida pode culminar em efeitos substanciais na geração de novas progênies.

Por outro lado, em função dos dados obtidos para os dados de reprodução, ressalta-se que para o desenvolvimento de novos estudos, também devem ser considerados contextos de solos com diferentes texturas, uma vez que é amplamente reconhecido que a reprodução de *E. andrei* é limitada em Latossolos. Um estudo anterior conduzido por Bandeira et al. (2019) constatou que a espécie apresenta uma

taxa de reprodução significativamente inferior nesse tipo de solo, enquanto observou um desempenho reprodutivo mais satisfatório em solos de textura fina. Adicionalmente, os autores associaram este efeito à maior dificuldade que os organismos enfrentam na colonização e ocupação dos espaços porosos presentes em solos de textura argilosa. Essa observação realça a importância de avaliar os riscos ambientais em um contexto mais amplo, considerando a interação entre os herbicidas e a variabilidade da textura do solo.

Diante disso, os resultados do presente trabalho fornecem uma linha base para órgãos ambientais estabelecerem limites de proteção para exposição de herbicidas, quando usados de maneira exacerbada, em relação a uma espécie não-alvo de invertebrados do solo. No entanto, estudos complementares com outros organismos vivos do solo precisam ser realizados para avaliar os efeitos tóxicos em diferentes níveis tróficos. Essa abordagem mais abrangente permitirá uma análise mais aprofundada e a quantificação precisa dos riscos que esses herbicidas podem representar no ambiente, contribuindo assim para uma gestão ambiental mais eficaz e sustentável.



#### 4.5. Conclusões

Para as condições do presente estudo, pode-se afirmar que:

Os resultados dos ensaios de toxicidade aguda revelaram que os herbicidas clomazone e sulfentrazone demonstraram ser moderadamente tóxicos para as minhocas da espécie *E. andrei*. A  $CL_{50}$  para clomazone foi de 184,12 mg i.a.  $kg^{-1}$ , enquanto para sulfentrazone foi de 1000 mg i.a.  $kg^{-1}$ , durante um período de exposição de 14 dias. É importante notar que somente o clomazone provocou uma redução significativa na biomassa das minhocas, independente da concentração, enquanto o sulfentrazone causou variações na biomassa em concentrações mais elevadas (500 e 1000,0 mg i.a.  $kg^{-1}$ ).

No que diz respeito aos testes de fuga, o herbicida sulfentrazone levou as minhocas a evitar a concentração mínima testada de 1,0 mg i.a.  $kg^{-1}$ . Por outro lado, para o clomazone e indaziflam, observou-se uma maior porcentagem de fuga em concentrações de 50,0 a 75 mg  $kg^{-1}$  e 75,0 a 100,0 mg i.a.  $kg^{-1}$ , respectivamente.

Além disso, a exposição das minhocas ao herbicida clomazone teve um impacto significativo na reprodução, com um  $CE_{50}$  de 0,572 mg  $kg^{-1}$  e um  $CE_{10}$  de 0,214 mg  $kg^{-1}$ . Da mesma forma, o herbicida sulfentrazone também afetou negativamente a reprodução, com um  $CE_0$  de 0,394 mg  $kg^{-1}$  e um  $CE_{10}$  de 0,134 mg  $kg^{-1}$ . É importante destacar que todos os herbicidas, incluindo o indaziflam, demonstraram um  $CEO$  de 1,0 mg  $kg^{-1}$ . Esses resultados destacam a importância de considerar os impactos desses herbicidas no solo e nas espécies não-alvo, como as minhocas, ao planejar práticas agrícolas e regulamentações ambientais.

## REFERÊNCIAS

- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR ISO 17512-1/2011: qualidade do solo: ensaio de fuga para avaliar a qualidade de solos e efeitos de substâncias químicas no comportamento: parte 1: ensaio com minhocas (*Eisenia fetida* e *Eisenia andrei*). Rio de Janeiro, 2011.
- ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas NBR 15537). Ecotoxicologia terrestre – Toxicidade aguda – Método de ensaio com minhocas (Lumbricidae). São Paulo. 17p, 2014.
- AGROFIT – SISTEMA DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS. Consulta de produtos formulados. Disponível em: [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: jan. 2023.
- ALVES, P. R. L.; CARDOSO, E. J.; MARTINES, A. M.; SOUSA, J. P.; PASINI, A. Seed dressing pesticides on springtails in two ecotoxicological laboratory tests. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 105, p. 65-71, 2014.
- ANDRÉA, M. M. O uso de minhocas como bioindicadores de contaminação de solos. **Acta Zoologica Mexicana**, v. 26, p. 97-107, 2010.
- BANDEIRA, F. O.; ALVES, P. R. L.; HENNIG, T. B.; SCHIEHL, A.; CARDOSO, E. J. B. N.; BARETTA, D. Toxicity of imidacloprid to the earthworm *Eisenia andrei* and collembolan *Folsomia candida* in three contrasting tropical soils. **Journal of Soils and Sediments**, v. 20, p. 1997-2007, 2020.
- BELDEN, J. B.; PHILLIPS, T. A.; CLARK, B. W.; COATS, J. R. Toxicity of pendimethalin to nontarget soil organisms. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 74, p. 769-776, 2005.
- BERTRAND, M.; BAROT, S.; BOULIN, W. J.; De OLIVEIRA, T.; ROGER-ESTRADE, J. Earthworm services for cropping systems. A Review. **Agron Sustain Dev**, v. 35, p. 553–567, 2015.
- BONMATIN, J. M.; GIORIO, C.; GIROLAMI, V.; GOULSON, D.; KREUTZWEISER, D. P.; KRUPKE, C.; LIESS, M.; LONG, E.; MARZARO, M.; MITCHELL, E. A. D.; NOOME, D. A.; SIMON-DELISO, N.; TAPPARO, A. Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. **Environmental Science Pollution Research**, v. 22, p. 35–67, 2014.
- BUCH, A. C.; BROWN, G. G.; NIVA, C. C.; SAUTTER, K. D.; SOUSA, J. P. Toxicity of three pesticides commonly used in Brazil to *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857) and *Eisenia andrei* (Bouché, 1972). **Applied Soil Ecology**, 69, 32-38, 2013.

BUCH, A. C.; SANTO, F. B.; NIEMEYER, J. C. Efeito de herbicidas na fauna do solo. In: MENDES, K. F.; INOUE, M. H.; TORNISIELO, V. L. (Orgs.) **Herbicidas no ambiente: Impacto e Detecção**. Viçosa, Minas Gerais: UFV, 2022. p. 68-92.

BRÜHL C. A.; ZALLER, J. G. Indirect herbicide effects on biodiversity, ecosystem functions, and interactions with global changes. In: Mesnage R, Zaller JG (eds) **Herbicidas: Chemistry, Efficacy, Toxicology, and Environmental Impacts Emerging Issues in Analytical Chemistry**. Elsevier, Amsterdam, pp 231–272. 2021.

CAO, J.; LI, P.; LI, Q. X.; ZHENG, P.; DIAO, X. Bioaccumulation and Elimination of the Herbicide Clomazone in the Earthworms *Eisenia fetida*. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, 95, 606-610, 2015.

CORREIA, F. V.; MOREIRA, J. C. Effects of Glyphosate and 2,4-D on earthworms (*Eisenia foetida*) in laboratory tests. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 85, p. 264-268, 2010.

EDWARDS, C. A., BOHLEN, P. J. Biology and Ecology of Earthworms. Chapman and Hall Ltd, London, 1996.

GAUPP-BERGHAUSEN, M.; HOFER, M.; REWALD, B.; ZALLER, J. G. Glyphosate based herbicides reduce the activity and reproduction of earthworms and lead to increased soil nutrient concentrations. **Scientific Reports**, v. 5, p. 1-9, 2015.

HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environmental Science & Technology**, v.7, p.714-719, 1977.

ISO - International Organisation for Standardisation. ISO 11268-1: soil quality: effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*). Part 1: determination of acute toxicity using artificial soil substrate. Geneva, 1993.

ISO - International Organization for Standardization. ISO 23611-3: soil quality: sampling of soil invertebrates: part 3: sampling and soil extraction of enchytraeids. Geneva, 2007.

ISO - International Organization For Standardization, 2008. ISO 17512e1: Soil Quality e Avoidance Test for Determining the Quality of Soils and Effects on Behaviour e Part 1: Test with Earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). Geneva, 2008.

ISO - International Organization for Standardization. Soil quality-Effect of pollutants on earthworms-Part 1: Determination of acute toxicity to *Eisenia fetida/Eisenia andrei*. ISO 11268-1: 2012a.

ISO - International Organization for Standardization. Soil quality-Effect of pollutants on earthworms-Part 2: Determination of effects on reproduction of *Eisenia fetida/Eisenia andrei*. ISO 11268-1: 2012b.

KUVA, M. A.; SALGADO, T. P. Manejo de Plantas Daninhas nas Principais Culturas Perenes do Brasil. Seção I: Manejo de Plantas Daninhas da cultura de Cana-de-açúcar. In: MONQUERO, P. A. (Org.) **Manejo de Plantas Daninhas nas Culturas Agrícolas**. São Carlos, São Paulo: RiMa, 2014. p.82-113.

MELO, C. A. D.; De JESUS PASSOS, A. B. R.; MADALÃO, J. C.; SILVA, D. V.; MASSENSINI, A. M.; Da SILVA, A. A.; De FREITAS SOUZA, M. Bioaugmentation as an associated technology for bioremediation of soil contaminated with sulfentrazone. **Ecological Indicators**, v. 99, p. 343-348, 2019.

MIGLANI, R.; BISHT, S. S. World of earthworms with pesticides and insecticides. Interdisciplinary. **Toxicology**, v. 12, n. 2, 71, 2019.

MONQUERO, P. A.; BINHA, D. P.; INÁCIO, E. M.; SILVA, P. V. D.; AMARAL, L. R. D. Seletividade de herbicidas em variedades de cana-de-açúcar. **Bragantia**, v. 70, 286-293, 2011.

NATAL-DA-LUZ, T.; RIBEIRO, R.; SOUSA, J. P. Avoidance tests with collembola and earthworms as early screening tools for site-specific assessment of polluted soils. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 23, n. 9, p. 2188-2193, 2004.

NIEMEYER, J. C.; CARNIEL, L. S. C.; DE SANTO, F. B.; SILVA, M.; KLAUBERG-FILHO, O. Boric acid as reference substance for ecotoxicity tests in tropical artificial soil. **Ecotoxicology**, v. 27, n. 4, p. 395-401, 2018.

NIVA, C. C., BROWN, G. G. Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas. **Embrapa**. 258 p., 2019.

PELOSI, C.; JOIMEL, S. E.; MAKOWSKI, D. Searching for a more sensitive earthworm species to be used in pesticide homologation tests—a meta-analysis. **Chemosphere**, v. 90, p. 895-900, 2013.

PELOSI, C.; BAROT, S.; CAPOWIEZ, Y.; HEDDE, M.; VANDENBULCKE, F. Pesticides and earthworms. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 34, p. 199-228, 2014.

PESARO, M.; WIDMER, F.; NICOLLIER, G.; ZEYER, J. Effects of freeze–thaw stress during soil storage on microbial communities and methidathion degradation. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 35, n. 8, p. 1049-1061, 2003.

PONTES, A. R. D. C. **Toxicidade de lixiviado de aterro controlado em *Eisenia andrei* (Bouché, 1972) (Oligochaeta), em substrato artificial tropical**. UNIVERSIDADE POSITIVO. Dissertação (Mestrado em Gestão Ambiental). Curitiba, 2013.

RONG, L.; WU, X.; XU, J.; DONG, F.; LIU, X.; XU, H.; ZHENG, Y. Clomazone improves the interactions between soil microbes and affects C and N cycling functions. **Science of the Total Environment**, v. 770, p. 144730, 2021

SANTO, F. B. de; RAMOS, G. A.; RICARDO FILHO, A. M.; MARCHIORO, C. A.; NIEMEYER, J. C. Ecotoxicity of the isoxaflutole herbicide to soil invertebrates. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 19, n. 2, p. 217-223, 2020.

SCHAEFER M. Assessing 2, 4, 6-trinitrotoluene (TNT)- contaminated soil using three different earthworm test methods. **Ecotoxicol Environ Safety**, v. 57, p. 74–80, 2004.

SHANER, D. L. Herbicide Handbook (10th edn, Lawrence, KS: Weed Science Society of America. Pp, v. 13, p. 177-178, 2014.

STATSOFT, Inc., **STATISTICA (Data analysis software system). Version 7.** Disponível em: [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com), 2007.

YEARDLEY, R. B.; GAST, L. C.; LAZORCHAK, J. M. The potential of an earthworm avoidance test for evaluation of hazardous waste sites. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 15, n. 9, p.1532–1537, 1996.

ZALLER, J. G.; BRÜHL, C. A. Direct herbicide effects on terrestrial nontarget organisms belowground and aboveground. In: Mesnage R, Zaller JG (eds) **Herbicides: Chemistry, Efficacy, Toxicology, and Environmental Impacts Emerging Issues in Analytical Chemistry**. Elsevier, Amsterdam, pp 181–230.

## 5. TOXICIDADE AGUDA DE HERBICIDAS EM *Lemna minor*

### 5.1. Introdução

O emprego frequente de herbicidas de longa persistência é uma prática amplamente adotada na agricultura brasileira (PINTO et al., 2009). No entanto, existem evidências indicando que o uso contínuo e repetido de pesticidas na agricultura contribui consideravelmente para a contaminação das águas subterrâneas (APARICIO et al., 2013). Diversos estudos documentaram a presença de herbicidas em ecossistemas aquáticos, ressaltando a preocupação com os impactos desses produtos na qualidade da água (ARMAS et al., 2005; BRITTO et al., 2012; SANTOS et al., 2013; BOTELHO, 2013; MENCHEN et al., 2017; CORREIA et al., 2020).

Nesse contexto, é importante compreender a dinâmica ambiental desses produtos, uma vez que parte dos herbicidas não atinge o alvo principal de controle e acaba afetando organismos não destinados à aplicação (SILVA et al., 2020). Assim, além de entender o comportamento ambiental dos pesticidas, é essencial avaliar o impacto de substâncias contaminantes no meio ambiente por meio de testes de toxicidade utilizando organismos bioindicadores (SILVA et al., 2020). Esses testes possibilitam a análise da interação entre os contaminantes e as propriedades ambientais, fornecendo informações cruciais para compreender os efeitos e os riscos ambientais associados a esses agentes (MASESE et al., 2013).

Dessa forma, no contexto dos ambientes aquáticos, as macrófitas da espécie *Lemna minor* (L.) assumem uma relevância singular como indicadores de qualidade da água. Amplamente empregadas em testes ecotoxicológicos, essas plantas são reconhecidas pela sua alta sensibilidade a uma variedade de substâncias tóxicas. Além disso, desempenham um papel fundamental como componentes primários na cadeia trófica desses ecossistemas, reforçando seu valor como bioindicadores (ROSSETTO, 2014; SIKORSK et al., 2019).

Considerando a urgência em adotar uma abordagem responsável no uso dos insumos agrícolas para mitigar os impactos ambientais decorrentes da prática agrícola (MANCUSO et al., 2011), observa-se uma crescente realização de estudos ecotoxicológicos. Esses estudos têm como objetivo compreender de maneira mais abrangente o comportamento, a toxicidade e os riscos ambientais associados aos herbicidas no ambiente aquático.

## **5.2. Objetivo Geral**

O objetivo do presente trabalho foi testar a hipótese de que os herbicidas indaziflam, sulfentrazone e clomazone causam toxicidade em macrófitas da espécie *Lemna minor*.

### **5.2.1. Objetivo específico**

- a) Determinar a toxicidade aguda ( $CE_{50}$ ) dos herbicidas indaziflam, sulfentrazone e clomazone em *L. minor*.
- b) Avaliar efeitos na biomassa de *L. minor* após exposição aos herbicidas.

### 5.3. Material e Métodos

A planta padronizada para ensaios ecotoxicológicos é a *Lemna minor* de acordo com as normas da OECD, 2002. Dessa forma, as macrófitas *L. minor* foram cultivadas em caixa plástica com volume de 2,5 litros, contendo água e substrato composto por solo, areia e matéria orgânica, em casa de vegetação.

Posteriormente, as plantas foram aclimatadas em uma sala de bioensaio mantida a uma temperatura entre 23,0 a 27,0 °C, com iluminação constante de 1000,0 lux. Durante um período de três dias, foram monitoradas variáveis relacionadas à qualidade da água, incluindo pH (3,97), condutividade elétrica (259 uS/cm a 20°C) e oxigênio dissolvido (0,95 mg/L). Após a aclimação da espécie, as plantas foram desinfestadas por imersão em uma solução aquosa de hipoclorito de sódio a 3,0% seguida por enxágue com água destilada.

Em seguida, foram selecionadas quatro colônias de *L. minor* com três frondes que foram transferidas para um recipiente de vidro com capacidade máxima de 100,0 mL contendo 50,0 mL de meio de cultivo Hoagland's (macro e micro/nutriente) e aclimatadas por 24 horas. Após esse período foi adicionado mais 50 mL de Hoagland's com diferentes concentrações dos herbicidas indaziflam, clomazone e sulfentrazone em mg L<sup>-1</sup>. Além disso, todos tiveram um controle e quatro repetições por concentração. No total foram realizados quatro testes para cada produto. No presente trabalho está sendo apresentados os dados referentes ao último ensaio.

A definição das concentrações dos herbicidas que foram testados foi baseada em valores aproximados aos intervalos de testes ecotoxicológicos para a concentração letal (CL<sub>50</sub>) em organismos não-alvo, segundo Lewis et al. (2016), CE<sub>50</sub> > 10 mg L<sup>-1</sup> – baixa toxicidade; CE<sub>50</sub> = 0,01 – 10,0 mg L<sup>-1</sup> – moderadamente tóxico; CE<sub>50</sub> < 0,01 mg L<sup>-1</sup> – altamente tóxico.

Inicialmente, foram conduzidos testes preliminares para determinar o intervalo de concentração que provocaria efeitos sobre *L. minor*. Após o estabelecimento desse intervalo, os testes definitivos foram realizados nas mesmas condições. Assim, as doses selecionadas para sulfentrazone e clomazone após os testes preliminares foram: 0,10; 1,07; 3,44; 11,16; 36,40 e 118 mg L<sup>-1</sup>. Já para o indaziflam, as doses escolhidas foram: 0,03; 0,06; 0,09; 0,12; 0,15 e 0,18 mg L<sup>-1</sup>.

A avaliação de toxicidade aguda dos herbicidas no cultivo de *L. minor* foi realizada em 3, 5, e 7 dias após a aplicação através da contagem do número de plantas, número de frondes, clorose e necrose total das frondes (OECD, 2002) de



cada recipiente que apresentaram mudanças nas suas funções vitais (crescimento, reprodução e morte). Também foi avaliado o parâmetro peso fresco (g) para determinar a toxicidade dos herbicidas.

Os dados da  $CE_{50}$  para cada um dos parâmetros e porcentagem de mortalidade para os organismos não-alvo foram calculados por meio do método estatístico de Trimmed Spearman-Kärber ( $p < 0,05$ ), com o auxílio do programa computacional Trimmed Spearman-Kärber Method Version 1.5 (HAMILTON et al. 1977).

Para os dados de massa fresca das plantas, foi realizado o cálculo da porcentagem de redução da massa fresca (MF), conforme a seguinte fórmula:

$$\text{Redução da MF (\%)} = \left[ 1 - \left( \frac{\text{massa tratamento}}{\text{massa testemunha}} \right) \right] \times 100$$

Onde,

Redução da MF (%) = redução percentual da massa fresca;

Massa tratamento = massa fresca de cada unidade amostral do tratamento, em gramas;

Massa da testemunha = massa fresca média das unidades amostrais da testemunha, em gramas.

Os dados quanto à inibição da taxa de crescimento de *L. minor* foi estimado através CENO (concentração de efeito não observado) e CEO (concentração de efeito observado). Estes foram submetidos à análise de normalidade (teste de Chi-Quadrado) e homogeneidade das variâncias (teste de Bartlett) e, em seguida a análise de variância (ANOVA). O teste de Dunnett foi utilizado para verificar a existência de diferenças entre os tratamentos e o controle em dados que seguiram uma distribuição normal.

#### 5.4. Resultados e Discussão

A tabela 7 apresenta dados sobre a  $CE_{50}$  (Concentração Efetiva 50%) dos três herbicidas (clomazone, sulfentrazone e indaziflam) em *Lemna minor*.

Os resultados revelam que todos os herbicidas são classificados como “Moderadamente tóxicos” para a espécie. O clomazone possui uma  $CE_{50}$  de 0,41 mg L<sup>-1</sup> (4,45-0,01), o sulfentrazone tem uma  $CE_{50}$  de 0,73 (114,62-0,00) e o indaziflam possui uma  $CE_{50}$  de 0,12 mg L<sup>-1</sup> (0,26-0,05). Esses valores indicam que é necessário apenas uma concentração relativamente baixa desses herbicidas para causar efeitos adversos nas plantas aquáticas.

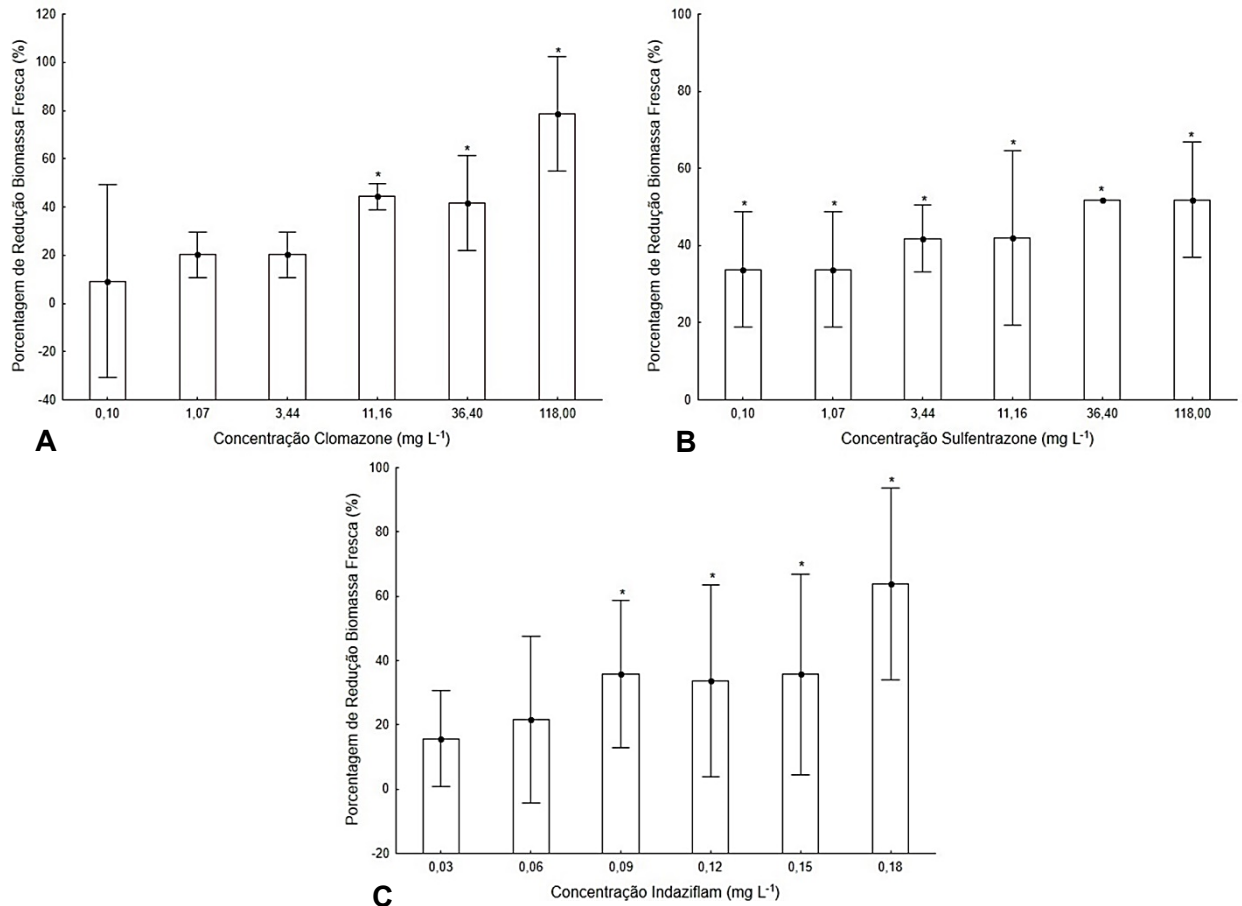
**Tabela 7.** Concentração Efetiva 50% ( $CE_{50}$ ) em mg i.a. L<sup>-1</sup> e Classificação de Toxicidade de clomazone, sulfentrazone e indaziflam em *Lemna minor*.

Herbicidas	Lim. Sup. (95%)	$CE_{50}$	Lim. Inf. (95%)	Classificação*
Clomazone	4,45	0,41	0,01	Moderadamente tóxico
Sulfentrazone	114,62	0,73	0,001	Moderadamente tóxico
Indaziflam	0,26	0,12	0,05	Moderadamente tóxico

\*Lewis et al. (2016).

A figura 23 apresenta a porcentagem de redução da biomassa fresca (%) de *L. minor* após a exposição aos diferentes herbicidas. Para o herbicida clomazone (Figura 23A) as maiores porcentagens de redução (11,16; 36,4 e 118,0 mg L<sup>-1</sup>) foram significativas. Os dados de CENO (3,44 mg L<sup>-1</sup>) e CEO (11,16 mg L<sup>-1</sup>) podem ser observados de acordo com o teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).

Para indaziflam (Figura 23C), as concentrações 0,09; 0,012; 0,015 e 0,018 foram significativas e obtiveram as maiores porcentagens de redução da massa fresca das macrófitas. Os dados de CENO e CEO correspondem a 0,06 e 0,09 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. Enquanto o sulfentrazone (Figura 23B) apresentou significância desde a menor concentração testada, sendo possível identificar apenas o CEO (0,0 e 10,0 mg L<sup>-1</sup>).



**Figura 23.** Porcentagem de redução da biomassa fresca (%) de *Lemna minor* quando expostas a concentrações crescentes de clomazone (A), sulfentrazone (B) e indaziflam (C) em mg L<sup>-1</sup> aos 7 dias. \*Diferença estatística significativa ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste de Dunnett para biomassa e número de sobreviventes. (⊥) Desvio padrão.

No que diz respeito a exposição das macrófitas ao clomazone, observa-se uma discrepância em relação aos valores de toxicidade encontrados na literatura quando considerado os dados obtidos no presente trabalho. Segundo a U.S. EPA (2005), os valores de toxicidade (CE<sub>50</sub>) do clomazone para a espécie *Lemna gibba* foram registrados como 12,0 mg L<sup>-1</sup>. Além disso, Vechia et al. (2016) constataram que a concentração de clomazone de 3,44 mg L<sup>-1</sup> resultou em 36,0 % de mortalidade em *L. minor*, enquanto 118,0 mg L<sup>-1</sup> causou a mortalidade de 100,0%.

Este herbicida já foi detectado em mais de 60% das amostras coletadas no Córrego Rico (SP) (SANTOS et al., 2015), e foi o segundo mais detectado (62,0%) em amostras de água de chuva, cisternas, córregos, lagoas, nascentes, poços semi-artesianos, represas e um rio na sub-bacia do Rio Samambaia, no Distrito Federal e leste de Goiás, durante a estação seca (CORREIA et al., 2020). Devido à sua alta solubilidade em água (1212,0 mg L<sup>-1</sup>) (PPDB, 2023), associada à sua elevada pressão

de vapor ( $1,44 \times 10^{-4}$  mm Hg a 25 °C) (SENSEMAN, 2007) e moderada capacidade de volatilização (RODRIGUES; ALMEIDA, 2018), apresenta um considerável potencial de contaminação de águas subterrâneas (SANTOS et al., 2013).

Em relação ao sulfentrazone, os dados de Silva et al. (2020) corroboram com os resultados obtidos no presente estudo ( $CE_{50;7d}$  0,73 mg L<sup>-1</sup>), uma vez que esses autores constataram um  $CE_{50}$  de 0,80 mg L<sup>-1</sup> para *L. minor*. Em contraste, de acordo com Pereira et al. (2019), o herbicida sulfentrazone revelou-se mais tóxico para este bioindicador, demonstrando um  $CE_{50;7d}$  de 21,10 mg L<sup>-1</sup>.

Thorngren et al. (2016), destacaram que a margem de segurança (MOS10 - margem de segurança de 10,0%) para os efeitos da concentração de água de escoamento de sulfentrazone foi de 7,8 para *Pseudokirchneriella subcapita* e 1,1 para *L. minor*, sendo que valores MOS10 superiores a 1,0 indicam um potencial risco significativo. Além disso, a lixiviação pronunciada do sulfentrazone nos horizontes mais profundos tanto do Argissolo quanto do Latossolo, quando ultrapassa os primeiros 10 cm da superfície do solo, intensifica consideravelmente o potencial de contaminação das águas subterrâneas (BARCELLOS JÚNIOR et al., 2022).

Na literatura, até o momento, não há informações documentadas sobre a  $CE_{50}$  e/ou os efeitos na biomassa de *L. minor* em resposta ao indaziflam. Portanto, a presença deste herbicida representa uma potencial preocupação para esse ecossistema, uma vez que evidenciou uma redução significativa na biomassa de *L. minor* a partir da concentração de 0,09 mg L<sup>-1</sup>. Importante notar que, apesar dessa influência negativa, o indaziflam demonstra uma baixa propensão à lixiviação. A sua movimentação no perfil do solo até 35 cm de profundidade, mesmo com sua baixa solubilidade (0,0028 kg m<sup>-3</sup> a 20°C), é atribuída à sua baixa capacidade de sorção, conforme observado em um Latossolo Vermelho-Amarelo (GONÇALVES, 2018; SOUZA, 2018).

O mecanismo de ação do indaziflam, que está relacionado à inibição da biossíntese de celulose, atua no complexo celulose sintase, resulta na incapacidade de formação de novas células na parede celular, impactando o desenvolvimento de novas folhas. Em contraste, as folhas já desenvolvidas raramente são afetadas. Essa sequência de eventos conduz à paralisação do crescimento, clorose, seguida de necrose e, por fim, à morte da planta (GUERRA et al.; BRABHAM et al., 2014).

Portanto, esses resultados salientam a importância de avaliar os potenciais impactos dos herbicidas clomazone, sulfentrazone e indaziflam no ambiente aquático,

realçando a sensibilidade da *L. minor* a esses compostos e um ótimo bioindicador deste ambiente. Destaca-se, ademais, a necessidade de investigar as interações desses herbicidas entre si e com outros organismos do mesmo ecossistema, com o intuito de compreender mais detalhadamente os efeitos e comportamentos dessas substâncias no ambiente aquático. Dessa forma, essas constatações fornecem informações cruciais para orientar o monitoramento e a formulação de estratégias na gestão ambiental.

## 5.5. Conclusão

Para as condições do presente estudo, pode-se concluir:

Os herbicidas testados - clomazone, sulfentrazone e indaziflam - são considerados moderadamente tóxicos para a planta aquática *L. minor*. Esses compostos revelaram uma notável sensibilidade, mostrando que mesmo em concentrações baixas podem causar efeitos prejudiciais. Além disso, as análises demonstraram reduções significativas na biomassa fresca de *L. minor*.

## REFERÊNCIAS

- APARICIO, V. C.; De GERÓNIMO, E.; MARINO, D.; PRIMOST, J.; CARRIQUIRIBORDE, P.; COSTA, J. L. Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins. **Chemosphere**, v. 93, n. 9, p. 1866-1873, 2013.
- ARMAS, E. D. D., MONTEIRO, R. T. R., AMÂNCIO, A. V., CORREA, R. M. L., GUERCIO, M. A. Uso de agrotóxicos em cana-de-açúcar na bacia do rio Corumbataí e o risco de poluição hídrica. **Química Nova**, v. 28, n.6, p. 975-982, 2005.
- BOTELHO, R. G. **Avaliação da qualidade da água do rio Piracicaba (SP) e efeito da vinhaça para os organismos aquáticos antes e após a correção do pH**. 2013. Tese (Doutorado em Ciências), Centro de Energia Nuclear, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.
- BRABHAM, C.; LEI, L.; GU, Y.; STORK, J.; BARRETT, M.; DEBOLT, S. Indaziflam herbicidal action: a potent cellulose biosynthesis inhibitor. **Plant physiology**, v. 166, n. 3, p. 1177-1185, 2014.
- BRITTO, F. B.; PEREIRA, A. P. S.; MELLO, J. R. A. V.; NOGUEIRA, L. C.L. Herbicidas no alto Rio Poxim, Sergipe e os riscos de contaminação dos recursos hídricos. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 43, n. 2, p. 390-398, 2012.
- CORREIA, N. M.; CARBONARI, C. A.; VELINI, E. D. Detection of herbicides in water bodies of the Samambaia River sub-basin in the Federal District and eastern Goiás. **Journal of Environmental Science and Health, Part b**, v. 55, n.6, p. 574-582, 2020.
- GONÇALVES, V. A. **Dinâmica do indaziflam em solos do Brasil avaliada pelas técnicas da planta indicadora e cromatografia**. 2018. 65f. Tese (doutorado em fitotecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2018.
- GUERRA, N., DE OLIVEIRA JÚNIOR, R. S., CONSTANTIN, J., DE OLIVEIRA NETO, A. M., & BRAZ, G. B. P. Aminocyclopyrachlor e indaziflam: seletividade, controle e comportamento no ambiente. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 12, n. 3, p. 285-295, 2013.
- HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating medial lethal concentrations in toxicoty bioassays. **Environmental Science & Techonology**, v.7, p.714-719, 1977.
- LEWIS, K.A.; TZILIVAKIS, J.; WARNER, D.J.; GREEN, A. An international database for pesticide risk assessments and management. **Human Ecological Risk Assess INTERNATIONAL JOURNAL**, V. 22, P. 1050–1064, 2016.
- MASESE, F.O.; MUKOTO, J. O.; NYAKEYA, K. Biomonitoring as a prerequisite for sustainable water resources: a review of current status, opportunities and challenges

to scaling up in East Africa. **Ecohydrology & Hydrobiology**, v. 13, n. 3, p. 173-191, 2013.

MENCHEN, A.; HERAS, J. L.; ALDAY, J. J. Pesticide contamination in groundwater bodies in the Júcar River European Union pilot basin (SE Spain). **Environmental monitoring and assessment**, v. 189, p. 1-18, 2017.

PEREIRA, P. C.; BRUNETTI, I. A.; CASTRO, K. S.; CHIAROTTI, L. F.; SANTOS, B. E.; MORAES, J. C.; CRUZ, C. Acute toxicity of herbicides and sensibility of aquatic plant *Wolffia brasiliensis* as a bioindicator organism. **Planta Daninha**, v. 37, p. e019201636, 2019.

PINTO, J. J. O.; NOLDIN, J. A.; ROSENTHAL, M. D.; PINHO, C. F.; ROSSI, F.; MACHADO, A.; GALON, L. Atividade residual de (imazethapyr+ imazapic) sobre azevém anual (*Lolium multiflorum*), semeado em sucessão ao arroz irrigado, sistema Clearfield®. **Planta daninha**, v. 27, p. 609-619, 2009.

PPDB. The Pesticide Properties Database (PPDB). Disponível em: <<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/index.htm>. > Acesso em: 29 de outubro de 2023.

ROSSETTO, O. F. De; MELEGARI, A. L.; OURIQUES, S. P.; MATIAS, W. G. Comparative evaluation of acute and chronic toxicities of CuO nanoparticles and bulk using *Daphnia magna* and *Vibrio fischeri*. **Science of the total environment**, v. 490, p. 807-814, 2014.

SANTOS, E. A.; CORREIA, N. M.; SILVA, J. R. M.; VELINI, E. D.; PASSOS, A. B. R. J.; DURIGAN, J. C. Herbicide detection in groundwater in Córrego Rico-SP watershed. **Planta Daninha**, v. 33, p. 147-155, 2015.

SANTOS, E. A.; CORREIA, N. M.; BOTELHO, R. G. Resíduos de herbicidas em corpos hídricos - uma revisão. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 12, n. 2, p. 188-201, 2013.

SIKORSKI, Ł; BACIAK, M.; BEŚ, A.; ADOMAS, B. The effects of glyphosate-based herbicide formulations on *Lemna minor*, a non-target species. **Aquatic Toxicology**, v. 209, p. 70-80, 2019.

SILVA, J. M.; NAVONI, J. A.; FREIRE, E. M. X. Lizards as model organisms to evaluate environmental contamination and biomonitoring. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 192, p. 1-13, 2020.

SOUZA, W. M. de. **Influência dos atributos do solo na sorção e lixiviação do indaziflam em solos tropicais**. 2018. 76 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2018.

THORNGREN, J. L.; HARWOOD, A. D.; MURPHY, T. M.; HUFF HARTZ, K. E.; FUNG, C. Y.; LYDY, M. J. Fate and risk of atrazine and sulfentrazone to nontarget species at



an agriculture site. *Environmental toxicology and chemistry*, v. 36, n. 5, p. 1301-1310, 2017.

VECHIA, J.D.; CRUZ, C.; SILVA, A.F.; GARLICH, N. Aplicações de bioensaios de macrófitas para monitoramento de pesticidas no ambiente aquático. **Planta Daninha**, v. 34, p. 597-603, 2016.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, destacam-se considerações finais relevantes para melhor compreensão do impacto dos herbicidas clomazone, sulfentrazone e indaziflam em diversos ecossistemas.

Em relação ao carryover desses herbicidas em soja, amendoim e crotalária, verificou-se que tanto clomazone quanto sulfentrazone não causaram efeitos adversos no crescimento e desenvolvimento das plantas estudadas, independentemente do período de semeadura e das concentrações testadas até a dose comercial recomendada. Contudo, observou-se impacto significativo na biomassa de *L. minor* a partir de concentrações específicas desses herbicidas, indicando a necessidade de atenção quanto aos potenciais efeitos em organismos aquáticos não-alvo. Em relação à toxicidade desses herbicidas para organismos terrestres, a exposição aguda de *E. andrei* revelou valores de  $CL_{50}$  indicativos de sensibilidade desses organismos às concentrações dos herbicidas, porém ainda bem superiores ao equivalente a dose comercial recomendada para campo. Além disso, as minhocas apresentaram alterações no comportamento de fuga e reprodução em concentrações mínimas testadas.

Quanto a aplicação do herbicida indaziflam, observou-se alta fitotoxicidade para soja, amendoim e crotalária, bem como para as plantas aquáticas não-alvo, evidenciando seu impacto em diferentes ambientes. A biomassa de *L. minor* foi afetada em concentrações inferiores a  $0,1 \text{ mg i.a. L}^{-1}$ . Quanto à toxicidade para organismos terrestres, embora os resultados revelem uma baixa toxicidade para *E. andrei* em exposições agudas, efeitos adversos foram observados em exposições crônicas. É importante notar que esses efeitos ainda se mantêm abaixo da dose comercial recomendada para cana-de-açúcar, que equivale a  $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$ , proporcionando uma abordagem *tier level* I sobre os riscos associados ao uso desse herbicida em ambientes terrestres.

## APÊNDICES

**Apêndice I.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro fitotoxicidade do herbicida clomazone em crotalária.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	734,33333333	183,58333333	64,79**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	3611,33333333	722,26666667	254,92**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	1023,66666667	51,18333333	18,06**	< 0,0001
(Tratamentos)	29	5369,33333333	-	-	
Resíduo	120	340,00000000	2,83333333	-	
Total	149	5709,33333333	-	-	

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice II.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro fitotoxicidade do herbicida sulfentrazone em crotalária.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	91,00000000	22,75000000	9,10**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	5149,33333333	1029,86666667	411,95**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	159,00000000	7,95000000	3,18**	< 0,0001
(Tratamentos)	29	5399,33333333	-	-	
Resíduo	120	300,00000000	2,50000000	-	
Total	149	5699,33333333	-	-	

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao

nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice III.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro fitotoxicidade do herbicida indaziflam em crotalária.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	6455,0000000	1613,7500000	13,99**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	138586,83333	27717,366667	240,32**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	6239,0000000	311,95000000	2,70**	0,0004
(Tratamentos)	29	151280,83333	-	-	
Resíduo	120	13840,000000	115,33333333		-
Total	149	165120,83333	-	-	

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice IV.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro altura das plantas de crotalária com aplicação do herbicida clomazone.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	928,36006667	232,09001667	30,88**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	3033,4528833	606,69057667	80,73**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	297,85153333	14,892576667	1,98*	0,0126
(Tratamentos)	29	4259,6644833	-	-	
Resíduo	120	901,81200000	7,5151000000		-
Total	149	5161,4764833	-	-	

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice V.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro altura das plantas de crotalária com aplicação do herbicida sulfentrazone.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	1090,3756000	272,59390000	17,30**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	4252,5552000	850,51104000	53,97**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	308,11080000	15,405540000	0,98NS	0,4938
(Tratamentos)	29	5651,0416000	-	-	
Resíduo	120	1891,1320000	15,759433333		-
Total	149	7542,1736000	-	-	

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice VI.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro altura das plantas de crotalária com aplicação do herbicida indaziflam.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	98,942933333	24,735733333	1,51NS	0,2034
Efeito Fator B	5	18104,829933	3620,9659867	221,14**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	274,11306667	13,705653333	0,84NS	0,6648
(Tratamentos)	29	18477,885933	-	-	
Resíduo	120	1964,8800000	16,374000000		-
Total	149	20442,765933	-	-	

=====

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice VII.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro área foliar das plantas de crotalária com aplicação do herbicida clomazone.

=====

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	3,7103190266	0,9275797567	4,39**	0,0024
Efeito Fator B	5	210,35813185	42,071626370	199,12**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	2,5149414624	0,1257470731	0,60NS	0,9097
(Tratamentos)	29	216,58339234	-	-	
Resíduo	120	25,354476530	0,2112873044		-
Total	149	241,93786887	-	-	

=====

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice VIII.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro área foliar das plantas de crotalária com aplicação do herbicida sulfentrazone.

=====

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	4,8253306667	1,2063326667	5,91**	0,0002
Efeito Fator B	5	236,33018600	47,266037200	231,54**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	2,8771173333	0,1438558667	0,70NS	0,8149
(Tratamentos)	29	244,03263400	-	-	
Resíduo	120	24,496440000	0,2041370000		-
Total	149	268,52907400	-	-	

=====

=====

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice IX.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro área foliar das plantas de crotalária com aplicação do herbicida indaziflam.

=====

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	1,7646633333	0,4411658333	2,39NS	0,0550
Efeito Fator B	5	337,65661221	67,531322442	365,10**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	2,7602396667	0,1380119833	0,75NS	0,7709
(Tratamentos)	29	342,18151521	-	-	
Resíduo	120	22,195715000	0,1849642917		-
Total	149	364,37723021	-	-	

=====

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice X.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro porcentagem de redução da massa seca da parte aérea (%) das plantas de crotalária com aplicação do herbicida clomazone.

=====

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	44031,434260	11007,858565	263,70**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	4678,7410385	935,74820769	22,42**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	7004,6889542	350,23444771	8,39**	< 0,0001
(Tratamentos)	29	55714,864253	-	-	
Resíduo	120	5009,3096904	41,744247420		-

=====

Total	149	60724,173943	-	-
-------	-----	--------------	---	---

=====

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XI.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro porcentagem de redução da massa seca da parte aérea (%) das plantas de crotalária com aplicação do herbicida sulfentrazone.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	55491,145972	13872,786493	255,37**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	3282,1245646	656,42491292	12,08**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	10901,733159	545,08665796	10,03**	< 0,0001

(Tratamentos)	29	69675,003696	-	-	
Resíduo	120	6518,9767981	54,324806651		-

Total	149	76193,980494	-	-
-------	-----	--------------	---	---

=====

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XII.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro porcentagem de redução da massa seca da parte aérea (%) das plantas de crotalária com aplicação do herbicida indaziflam.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	22165,836536	5541,4591339	54,01**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	7543,4066893	1508,6813379	14,70**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	22717,002207	1135,8501104	11,07**	< 0,0001

(Tratamentos)	29	52426,245432	-	-	
---------------	----	--------------	---	---	--



Resíduo	120	12312,110604	102,60092170	-
---------	-----	--------------	--------------	---

Total	149	64738,356036	-	-
-------	-----	--------------	---	---

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XIII.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro fitotoxicidade do herbicida clomazone em amendoim.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	3592,4565334	898,11413336	21,98**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	4175,2011439	835,04022879	20,44**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	1697,5361021	84,876805105	2,08**	0,0083
(Tratamentos)	29	9465,1937795	-	-	
Resíduo	120	4902,9517262	40,857931052		-
Total	149	14368,145506	-	-	

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XIV.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro fitotoxicidade do herbicida sulfentrazone em amendoim.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	31901,000000	7975,2500000	368,09**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	93192,000000	18638,400000	860,23**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	29633,000000	1481,6500000	68,38**	< 0,0001

(Tratamentos)	29	154726,00000	-	-
Resíduo	120	2600,0000000	21,666666667	-

---

Total	149	157326,00000	-	-
-------	-----	--------------	---	---

---

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XIV.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro fitotoxicidade do herbicida indaziflam em amendoim.

---

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	25681,000000	6420,2500000	46,83**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	106979,33333	21395,866667	156,08**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	23009,000000	1150,4500000	8,39**	< 0,0001

---

(Tratamentos)	29	155669,33333	-	-
Resíduo	120	16450,000000	137,08333333	-

---

Total	149	172119,33333	-	-
-------	-----	--------------	---	---

---

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XV.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro altura das plantas de amendoim com aplicação do herbicida clomazone.

---

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	2492,8789333	623,21973333	201,32**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	517,83893333	103,56778667	33,46**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	846,50906667	42,325453333	13,67**	< 0,0001

---

(Tratamentos)	29	3857,2269333	-	-
---------------	----	--------------	---	---

Resíduo	120	371,48000000	3,0956666667	-
---------	-----	--------------	--------------	---

---

Total	149	4228,7069333	-	-
-------	-----	--------------	---	---

---

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XVI.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro altura das plantas de amendoim com aplicação do herbicida sulfentrazone.

---

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
--------------------	----	----	----	---	---

---

Efeito Fator A	4	2085,8733333	521,46833333	157,08**	< 0,0001
----------------	---	--------------	--------------	----------	----------

Efeito Fator B	5	1358,2165333	271,64330667	81,82**	< 0,0001
----------------	---	--------------	--------------	---------	----------

Ef. Interação AxB	20	651,13946667	32,556973333	9,81**	< 0,0001
-------------------	----	--------------	--------------	--------	----------

---

(Tratamentos)	29	4095,2293333	-	-
---------------	----	--------------	---	---

Resíduo	120	398,38400000	3,3198666667	-
---------	-----	--------------	--------------	---

---

Total	149	4493,6133333	-	-
-------	-----	--------------	---	---

---

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XVII.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro altura das plantas de amendoim com aplicação do herbicida indaziflam.

---

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
--------------------	----	----	----	---	---

---

Efeito Fator A	4	2167,5690667	541,89226667	78,58**	< 0,0001
----------------	---	--------------	--------------	---------	----------

Efeito Fator B	5	2403,4715333	480,69430667	69,71**	< 0,0001
----------------	---	--------------	--------------	---------	----------

Ef. Interação AxB 20 356,46613333 17,823306667 2,58\*\* 0,0008

-----

(Tratamentos) 29 4927,5067333 - -

Resíduo 120 827,49600000 6,8958000000 -

-----

Total 149 5755,0027333 - -

=====

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XVIII.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro área foliar das plantas de amendoim com aplicação do herbicida clomazone.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	86,694202093	21,673550523	22,00**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	163,55130518	32,710261036	33,20**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	28,607531587	1,4303765793	1,45NS	0,1120
(Tratamentos)	29	278,85303886	-	-	
Resíduo	120	118,23408440	0,9852840367		-
Total	149	397,08712326	-	-	

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XIX.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro área foliar das plantas de amendoim com aplicação do herbicida sulfentrazone.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	98,470866507	24,617716627	48,35**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	447,89966683	89,579933367	175,92**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	126,40393933	6,3201969667	12,41**	< 0,0001
(Tratamentos)	29	672,77447267	-	-	
Resíduo	120	61,104897200	0,5092074767		-
Total	149	733,87936987	-	-	

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XX.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro área foliar das plantas de amendoim com aplicação do herbicida indaziflam.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	163,11625863	40,779064657	48,62**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	491,61140523	98,322281047	117,23**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	55,271433933	2,7635716967	3,30**	< 0,0001
(Tratamentos)	29	709,99909779	-	-	
Resíduo	120	100,64479280	0,8387066067		-
Total	149	810,64389059	-	-	

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XXI.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro porcentagem de redução da massa seca da parte aérea (%) das plantas de amendoim com aplicação do herbicida clomazone.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	14785,000616	3696,2501540	37,23**	< 0,0001
Efeito Fator B	4	2732,3497685	683,08744213	6,88**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	16	1136,9044754	71,056529710	0,72NS	0,7721
(Tratamentos)	24	18654,254860	-	-	
Resíduo	100	9927,9301691	99,279301691		-
Total	124	28582,185029	-	-	

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XXII.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro porcentagem de redução da massa seca da parte aérea (%) das plantas de amendoim com aplicação do herbicida sulfentrazone.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	14423,706558	3605,9266395	46,76**	< 0,0001
Efeito Fator B	4	12085,600849	3021,4002123	39,18**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	16	4963,5064045	310,21915028	4,02**	< 0,0001
(Tratamentos)	24	31472,813812	-	-	
Resíduo	100	7711,2480700	77,112480700		-
Total	124	39184,061882	-	-	

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XXIII.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro porcentagem de redução da massa seca da parte aérea (%) das plantas de amendoim com aplicação do herbicida indaziflam.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	13720,238967	3430,0597417	48,48**	< 0,0001
Efeito Fator B	4	12141,088503	3035,2721257	42,90**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	16	1515,8721452	94,742009075	1,34NS	0,1891
(Tratamentos)	24	27377,199615	-	-	
Resíduo	100	7074,8572527	70,748572527		-
Total	124	34452,056868	-	-	

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XXIV.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro fitotoxicidade do herbicida clomazone em soja.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	1590,6666667	397,66666667	132,56**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	293,50000000	58,700000000	19,57**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	537,33333333	26,866666667	8,96**	< 0,0001
(Tratamentos)	29	2421,5000000	-	-	
Resíduo	120	360,00000000	3,0000000000		-
Total	149	2781,5000000	-	-	



=====

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XXV.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro fitotoxicidade do herbicida sulfentrazone em soja.

=====

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	1367,33333333	341,83333333	6,27**	0,0001
Efeito Fator B	5	1163,33333333	232,66666667	4,27**	0,0013
Ef. Interação AxB	20	3116,66666667	155,83333333	2,86**	0,0002
(Tratamentos)	29	5647,33333333	-	-	
Resíduo	120	6540,00000000	54,50000000		-
Total	149	12187,333333	-	-	

=====

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XXVI.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro fitotoxicidade do herbicida indaziflam em soja.

=====

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	41749,333333	10437,333333	43,72**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	143222,833333	28644,566667	119,98**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	22124,666667	1106,233333	4,63**	< 0,0001
(Tratamentos)	29	207096,833333	-	-	
Resíduo	120	28650,000000	238,75000000		-

=====

Total	149	235746,83333	-	-
-------	-----	--------------	---	---

=====

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XXVII.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro altura das plantas de soja com aplicação do herbicida clomazone.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	2525,2578500	631,31446250	84,66**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	19,652287500	3,9304575000	0,53NS	0,7554
Ef. Interação AxB	20	781,48165000	39,074082500	5,24**	< 0,0001
(Tratamentos)	29	3326,3917875	-	-	
Resíduo	120	894,80750000	7,4567291667	-	
Total	149	4221,1992875	-	-	

=====

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XVIII.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro altura das plantas de soja com aplicação do herbicida sulfentrazone.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	1911,9709333	477,99273333	17,45**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	302,45633333	60,491266667	2,21NS	0,0578
Ef. Interação AxB	20	1108,4186667	55,420933333	2,02*	0,0105
(Tratamentos)	29	3322,8459333	-	-	
Resíduo	120	3286,3480000	27,386233333	-	

---

Total	149	6609,1939333	-	-
-------	-----	--------------	---	---

---

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XXIX.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro altura das plantas de soja com aplicação do herbicida indaziflam.

---

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	3066,0564000	766,51410000	17,45**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	12129,129333	2425,8258667	55,24**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	2269,4740000	113,47370000	2,58**	0,0008

---

(Tratamentos)	29	17464,659733	-	-	
Resíduo	120	5269,9920000	43,916600000		-

---

Total	149	22734,651733	-	-
-------	-----	--------------	---	---

---

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XXX.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro área foliar das plantas de soja com aplicação do herbicida clomazone.

---

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	235,28801973	58,822004932	19,32**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	118,99816721	23,799633442	7,82**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	73,720636646	3,6860318323	1,21NS	0,2577

---

(Tratamentos)	29	428,00682358	-	-	
---------------	----	--------------	---	---	--

Resíduo	120	365,41692750	3,0451410625	-
---------	-----	--------------	--------------	---

---

Total	149	793,42375108	-	-
-------	-----	--------------	---	---

---

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XXXI.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro área foliar das plantas de soja com aplicação do herbicida sulfentrazone.

---

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	1656,8563550	414,21408875	0,67NS	0,6152
Efeito Fator B	5	3081,0626293	616,21252587	0,99NS	0,4243
Ef. Interação AxB	20	12146,153699	607,30768495	0,98NS	0,4910

---

(Tratamentos)	29	16884,072683	-	-
Resíduo	120	74370,406000	619,75338333	-

---

Total	149	91254,478683	-	-
-------	-----	--------------	---	---

---

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XXXII.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro área foliar das plantas de soja com aplicação do herbicida indaziflam.

---

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	312,19445840	78,048614600	21,99**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	2945,6919493	589,13838987	166,02**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	167,18537600	8,3592688000	2,36**	0,0023

---

(Tratamentos)	29	3425,0717837	-	-
Resíduo	120	425,82371560	3,5485309633	-
-----				
Total	149	3850,8954993	-	-

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XXXIII.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro porcentagem de redução da massa seca da parte aérea (%) das plantas de soja com aplicação do herbicida clomazone.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	308,42956400	77,107391000	82,70**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	203,75506733	40,751013467	43,71**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	102,29995600	5,1149978000	5,49**	< 0,0001

(Tratamentos)	29	614,48458733	-	-
Resíduo	120	111,88088000	0,9323406667	-
-----				
Total	149	726,36546733	-	-

Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XXXIV.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro porcentagem de redução da massa seca da parte aérea (%) das plantas de soja com aplicação do herbicida sulfentrazone.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	415,85814267	103,96453567	64,07**	< 0,0001
Efeito Fator B	5	241,33981933	48,267963867	29,75**	< 0,0001

Ef. Interação AxB 20 100,19185733 5,0095928667 3,09\*\* < 0,0001

-----

(Tratamentos)	29	757,38981933	-	-
Resíduo	120	194,71048000	1,6225873333	-
-----				
Total	149	952,10029933	-	-

=====  
 Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Apêndice XXXV.** Análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro porcentagem de redução da massa seca da parte aérea (%) das plantas de soja com aplicação do herbicida indaziflam.

=====  

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	4	42,756016000	10,689004000	5,17**	0,0007
Efeito Fator B	5	1608,0806080	321,61612160	155,54**	< 0,0001
Ef. Interação AxB	20	116,76391200	5,8381956000	2,82**	0,0003

-----

(Tratamentos)	29	1767,6005360	-	-
Resíduo	120	248,13228000	2,0677690000	-
-----				
Total	149	2015,7328160	-	-

=====  
 Fator A: Períodos; Fator B: Doses. \*significativo a 5%, \*\*significativo a 1% e NS não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.