



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**Curso de Engenharia Agrônoma**



**Bruno Barbugian Ramalho Siqueira**

**TOXICIDADE AGUDA DE CLOMAZONA, SULFENTRAZONA,  
INDAZIFLAM E TEBUTIURON EM MACRÓFITAS**

**ARARAS – 2024**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**Curso de Engenharia Agrônoma**



**Bruno Barbugian Ramalho Siqueira**

**TOXICIDADE AGUDA DE CLOMAZONA, SULFENTRAZONA,  
INDAZIFLAM E TEBUTIURON EM MACRÓFITAS**

Monografia apresentada ao Curso de  
Engenharia Agrônoma – CCA – UFSCar  
para a obtenção do título de Engenheiro  
Agrônomo.

Orientadora: Profa. Dra. Patricia Andrea Monquero

**ARARAS – 2024**

**Dedico este trabalho a minha família e  
amigos, por todo amor, apoio e ensinamentos  
que me guiaram ao longo da vida.**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pela força e orientação em cada etapa desta jornada.

À minha família, que sempre foi meu alicerce: meu pai, José Carlos Ramalho Siqueira, e minha mãe, Claudia Barbugian Ramalho Siqueira, por acreditarem no meu potencial e nunca medirem esforços para me apoiar. Meu irmão, Cauê Barbugian Ramalho Siqueira, agradeço por ser meu parceiro de todas as horas e me alegrar, mesmo nas dificuldades.

À minha namorada, Julia Storti, meu sincero agradecimento por estar ao meu lado em todos os momentos. Seu carinho e apoio foram fundamentais para que eu pudesse superar os desafios deste caminho.

Agradeço à minha orientadora, professora doutora Patrícia Andrea Monquero, por toda a dedicação, paciência e pelos valiosos ensinamentos que me proporcionaram não só o desenvolvimento deste trabalho, mas também um crescimento pessoal e profissional.

Meus sinceros agradecimentos aos meus amigos, pela amizade e pelos momentos de descontração que tornaram essa caminhada mais leve.

Ao Grupo de Estudos em Ciências Agrárias (GECA), meus agradecimentos a todos os membros e ex-membros, em especial a Bruna e ao Paulo Henrique, que foram mais que colegas de estudo, foram verdadeiros parceiros nessa jornada. Cada discussão, troca de ideia e aprendizado contribuíram de maneira imensurável para a minha formação.

Por fim, agradeço também à Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Centro de Ciências Agrárias (CCA), em especial a todos os professores, e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa (Processo: 2023/00759-9).

**"Que maravilha é ninguém precisar esperar  
um único momento para melhorar o mundo."**

**Anne Frank**

## RESUMO

O uso de herbicidas com longo residual pode impactar a produtividade das culturas agrícolas e provocar efeitos negativos nos ecossistemas terrestres e aquáticos devido ao escoamento superficial ou lixiviação. Nesse contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito residual dos herbicidas clomazona, sulfentrazone, indaziflam e tebutiuron e seus efeitos agudos (CE<sub>50</sub>; CENO e CEO) em diferentes espécies de macrófitas: *Lemna minor* e *Azolla caroliniana*. O experimento foi conduzido em laboratório, de acordo com as normas OECD (2002), de toxicidade (CE<sub>50</sub>;7d; CENO e CEO) para analisar o efeito dos herbicidas em diferentes concentrações, segundo a tabela ecotoxicológica no cultivo de *L. minor* e de *A. caroliniana*, e assim, avaliar a mortalidade e massa fresca (g) por um período de 7 dias. Ao final dos trabalhos conduzidos em laboratório, os dados obtidos quanto aos testes agudos foram avaliados a concentração que causou efeito agudo a 50% dos organismos, o que corresponde à concentração efetiva média (CE<sub>50</sub>), para posteriormente calcular e comparar com o valor médio apresentado na carta-controle do laboratório. A CE<sub>50</sub> foi calculada utilizando o método estatístico Trimmed Spearman-Kärber ( $p < 0,05$ ). Para determinar CENO e CEO, os dados foram submetidos a análise de normalidade (teste de Qui-Quadrado) e homogeneidade das variâncias (teste de Bartlett), e, em seguida a análise de variância, com o teste de Dunnett para verificar a existência de diferenças significativas entre os tratamentos e o controle. Portanto, verificou-se que, para a espécie *Lemna minor*, as CE<sub>50</sub> dos herbicidas clomazona, sulfentrazone, indaziflam e tebutiuron foram de 0,41; 0,73; 0,12 e 0,21 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Já para a macrófita *Azolla caroliniana*, as CE<sub>50</sub> determinadas foram de 3,26 mg.L<sup>-1</sup> para clomazona, 0,51 mg.L<sup>-1</sup> para sulfentrazone, 0,11 mg.L<sup>-1</sup> para indaziflam e 0,71 mg.L<sup>-1</sup> para tebutiuron. Todos os herbicidas demonstraram toxicidade moderada para ambas as espécies testadas, causando reduções significativas na massa fresca, mesmo em concentrações mais baixas.

**Palavras-Chave:** herbicidas, *Lemna minor*, ecotoxicologia, fitotoxicidade, *Azolla caroliniana*.

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1.</b> Doses definidas para os herbicidas clomazona, sulfentrazone, tebutiuron e indaziflam. ....	<b>19</b>
<b>Tabela 2.</b> Concentração Efetiva 50% (CE <sub>50</sub> ) e Classificação de Toxicidade de clomazona, sulfentrazone, indaziflam e tebutiuron em <i>Lemna minor</i> . ....	<b>20</b>
<b>Tabela 3.</b> Concentração Efetiva 50% (CE <sub>50</sub> ) e Classificação de Toxicidade de clomazona, sulfentrazone, indaziflam e tebutiuron em <i>Azolla caroliniana</i> . ....	<b>22</b>

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Porcentagem de redução da massa fresca (%) de *Lemna minor* quando expostas a concentrações crescentes de clomazona (A), sulfentrazone (B), indaziflam (C) e tebutiuron (D) em  $\text{mg.L}^{-1}$  aos 7 dias. \*Diferença estatística significativa ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste de Dunnett para massa fresca. ( $\top$ ) Desvio padrão. .... **21**
- Figura 2.** Porcentagem de redução da massa fresca (%) de *Azolla caroliniana* quando expostas a concentrações crescentes de clomazona (A), sulfentrazone (B), indaziflam (C) e tebutiuron (D) em  $\text{mg.L}^{-1}$  aos 7 dias. \*Diferença estatística significativa ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste de Dunnett para massa fresca. ( $\top$ ) Desvio padrão. .... **23**

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	10
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
3. OBJETIVO.....	17
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	17
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	20
6. CONCLUSÃO .....	27
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	28

## 1. INTRODUÇÃO

---

Os herbicidas clomazona, sulfentrazone, indaziflam e tebutiuron são frequentemente utilizados em aplicações de pré-emergência para o controle de plantas daninhas, especialmente em culturas como a cana-de-açúcar (RODRIGUES; ALMEIDA, 2018). Esses herbicidas são reconhecidos por sua eficácia agrônômica, mas o uso inadequado pode acarretar riscos significativos, já que possuem alta persistência no ambiente, o que pode afetar negativamente culturas subsequentes devido o seu longo período residual (MANCUSO et al., 2011).

Além disso, devido a processos de transporte como lixiviação e escoamento superficial, esses herbicidas podem contaminar corpos d'água, impactando tanto a qualidade de águas superficiais e subterrâneas (SANTOS et al., 2013) quanto causando desequilíbrios ecológicos nos ecossistemas aquáticos (NASCIMENTO; NAVAL, 2019).

De acordo com Renè Truhaut (Truhaut, 1977), toxicologista responsável pela criação do termo ecotoxicologia, a mesma é classificada como a ciência que estuda os efeitos de substâncias sintéticas ou naturais sobre os organismos vivos, populações e comunidades, terrestres ou aquáticas, constituintes da biosfera. A ecotoxicologia possui papel protagonista como ferramenta de monitoramento ambiental, tendo como base a resposta de organismos que estejam sofrendo algum tipo de estresse químico (MAGALHÃES, 2008).

Detalhes relacionados a exposição, suscetibilidade do organismo, características químicas do agente e fatores ambientais são fatores de extrema importância quando se trata do estudo de toxicidade de um determinado composto químico. Espécies diferentes podem possuir diferentes níveis de suscetibilidade, principalmente devido a variância de metabolismo, hábitos, comportamentos, e diversos outros pontos responsáveis por tornar cada espécie singular em relação a ecotoxicologia (CARVALHO, 2011).

Em estudos com os herbicidas atrazina, diuron, simazina e glifosato, Kumar e Han (2010) observaram que o diuron apresentou a maior toxicidade (CL<sub>50</sub> de 0,016

$\mu\text{g.L}^{-1}$ ), enquanto o glifosato ( $\text{CL}_{50}$  de  $16 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) foi classificado como o menos tóxico para a macrófita *Lemna minor*. Conforme destacado por Sikorsk et al. (2019), *L. minor* é amplamente reconhecida como uma espécie bioindicadora em ambientes de água doce, sendo frequentemente empregada em avaliações de risco ambiental para medir os impactos potenciais de contaminantes nos produtores primários. Da mesma forma, *A. caroliniana* também é considerada uma importante bioindicadora da qualidade da água (Silva et al., 2012), caracterizando-se pelo seu fácil manuseio, ciclo de vida curto, tamanho pequeno e distribuição cosmopolita (Vechia et al., 2016).

Dada a escassez de informações, especialmente em condições tropicais, é crucial investigar os efeitos dos herbicidas clomazona, sulfentrazone, indaziflam e tebutiuron, principalmente em relação a organismos não-alvo. Esses estudos podem contribuir para garantir maior segurança na recomendação e aplicação desses produtos no campo. Assim, o objetivo deste trabalho é verificar a hipótese de que herbicidas com residual prolongado (clomazona, sulfentrazone, indaziflam e tebutiuron) podem causar toxicidade em organismos aquáticos não-alvo.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

---

O comportamento dos herbicidas no ambiente depende de diversos fatores, principalmente processos de transporte, retenção e transformação. Em termos de transporte, fenômenos como lixiviação, escoamento superficial, volatilização e deriva de pulverização têm grande relevância. Já no contexto de retenção, destacam-se a adsorção por partículas coloidais do solo, absorção pelas plantas e por organismos não-alvos. Quando se trata dos processos de transformação, ocorrem tanto degradações biológicas, como a ação de microrganismos, quanto químicas e físicas (GUERRA et al., 2016; CORREIA, 2018).

As perdas associadas ao transporte de herbicidas podem ser significativas. O escoamento superficial, que ocorre de forma horizontal, resulta no deslocamento dos herbicidas adsorvidos às partículas do solo pela água da chuva, carregando-os até corpos d'água como rios e lagos (SILVA et al., 2014). A lixiviação, por outro lado, envolve o transporte vertical desses compostos pelo perfil do solo, facilitado pela água da chuva ou da irrigação (GUERRA et al., 2016; SPADOTTO; GOMES, 2021). Como

consequência, esses herbicidas podem atingir tanto águas superficiais quanto lençóis freáticos, gerando desafios consideráveis para a descontaminação (TOMITA; BEYRUTH, 2002).

A volatilização refere-se à mudança de estado físico do herbicida, no qual o produto passa para a forma de vapor, sendo disperso na atmosfera (CORREIA, 2018). Nessa transição, o herbicida não perde sua atividade fitotóxica, mas se desloca de uma matriz para outra no ambiente. Esse movimento pode resultar no acúmulo do produto em culturas vizinhas sensíveis, na atmosfera ou em recursos hídricos superficiais e subsuperficiais (CORREIA, 2018).

A sorção corresponde ao processo de atração e retenção do herbicida no solo. Isso envolve a adsorção do composto à fração sólida do solo ou sua absorção por plantas e outros organismos vivos (GEBLER; SPADOTTO, 2008). A adsorção ocorre por meio de interações hidrofóbicas, físicas e químicas, onde as moléculas do herbicida aderem à superfície dos colóides minerais (argila) ou orgânicos (matéria orgânica) presentes no solo. A intensidade dessas forças de adsorção pode variar de fraca a extremamente forte (CORREIA, 2018).

A transformação das moléculas de herbicidas ocorre por meio de reações químicas abióticas, como a degradação química e a fotodegradação, e por processos biológicos, como a biodegradação, que envolve a metabolização e/ou mineralização promovida por fungos e bactérias. Dentre esses processos, a biodegradação geralmente se destaca como a principal via de dissipação desses compostos no ambiente (ANDRIGHETTI et al., 2014).

Os fatores que determinam o comportamento dos herbicidas no ambiente estão fortemente relacionados às características físico-químicas das suas moléculas. Entre essas características estão a solubilidade em água ( $S_w$ ), a pressão de vapor ( $P_v$ ), o coeficiente de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ), e a constante de ionização ácida ( $pK_a$ ) ou básica ( $pK_b$ ). Outros parâmetros importantes incluem o coeficiente de adsorção ( $K_{oc}$ ), a constante da lei de Henry ( $H$ ) e a meia-vida ( $t_{1/2}$ ) do composto (KUVA; SALGADO, 2014). Essas propriedades influenciam significativamente como os herbicidas se comportam, se distribuem e se degradam no ambiente, afetando sua mobilidade, persistência e potencial de contaminação. Um estudo realizado por Ruy e Reis (2012) sobre o risco de contaminação das águas subterrâneas em áreas de cana-de-açúcar revelou que herbicidas com meia-vida longa (alta persistência no ambiente) e baixos

valores de adsorção à fração orgânica do solo ( $K_{oc}$ ), como ametrina, tebutiuron, hexazinona e sulfentrazone, apresentam maior risco de contaminação.

A solubilidade dos herbicidas desempenha um papel crucial no transporte dessas substâncias até corpos d'água, especialmente em condições de precipitação, o que eleva o risco de contaminação ambiental (MARCHESAN et al., 2010; DELLAMATRICE; MONTEIRO, 2014). Em um estudo realizado na microbacia do Córrego Rico, em Jaboticabal-SP, Santos et al. (2015) identificaram a presença de clomazona em mais de 60% das amostras analisadas, associando seu elevado potencial de contaminação às características físico-químicas, como alta solubilidade em água ( $1,1 \text{ L}^{-1}$ ) e baixo coeficiente de adsorção ao solo ( $K_{oc}$  de  $300 \text{ mL.g}^{-1}$ ).

Segundo Dias et al. (2018), o herbicida atrazina apresentou baixa adsorção à fração orgânica do solo ( $K_{oc}$ ), o que favorece sua lixiviação e transporte superficial, aumentando o risco de contaminação de águas superficiais e subterrâneas. Nascimento e Naval (2019), ao analisar o herbicida glifosato, identificaram alta miscibilidade, caracterizando-o como altamente solúvel, o que também representa um significativo potencial poluidor para corpos d'água.

Há vários relatos na literatura sobre a contaminação de águas superficiais e subterrâneas por herbicidas. Um exemplo é o da sub-bacia do Rio Corumbataí, pertencente ao Rio Piracicaba, onde foram detectadas concentrações de tebutiuron em amostras de águas profundas do Aquífero Guarani, em uma região intensamente cultivada com cana-de-açúcar (GOMES; SPADOTTO, 2001).

Armas et al. (2007) identificaram que os herbicidas foram a categoria de agrotóxicos mais amplamente utilizada na cultura de cana-de-açúcar na sub-bacia do Rio Corumbataí, SP. Entre janeiro de 2000 e dezembro de 2003, destacaram-se na aplicação os produtos glifosato, atrazina, ametrina, 2,4-D, metribuzin e diuron, que foram usados com maior frequência. Por outro lado, Britto et al. (2012) relataram a detecção de 2,4-D, clomazona e diuron nas águas do Rio Poxim, SE, que serve como fonte de abastecimento público. Esses herbicidas foram encontrados em áreas adjacentes às plantações de cana-de-açúcar, evidenciando a potencial contaminação dos recursos hídricos devido à atividade agrícola.

Ao revisar a literatura sobre resíduos de herbicidas em corpos hídricos, Santos et al. (2013) constataram que os compostos mais frequentemente detectados e

quantificados em águas de diferentes estados brasileiros foram: glifosato e clomazona no Rio Grande do Sul, diuron em Sergipe, 2,4-D em Santa Catarina e atrazina no Mato Grosso. Botelho (2013) relatou concentrações dos herbicidas ametrina e atrazina variando de 0,25 a 1,44  $\mu\text{g.L}^{-1}$  e 0,11 a 1,92  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente, no Rio Piracicaba (SP). Além disso, a qualidade da água foi considerada baixa, com base em parâmetros físico-químicos, em amostras coletadas em áreas próximas às cidades de Americana e Piracicaba (SP), uma importante região produtora de cana-de-açúcar.

O destino ambiental e os impactos dos agrotóxicos sobre organismos não-alvo influenciam negativamente a estrutura populacional, a composição e o funcionamento dos ecossistemas (JANSEN et al., 2011; GERÓNIMO et al., 2014). Essas mudanças podem ser monitoradas por meio de análises físicas, químicas e microbiológicas, além da utilização de bioindicadores da qualidade da água, que oferecem uma visão integrada dos efeitos desses compostos no ambiente aquático (PARMAR et al., 2016)

Ensaio ecotoxicológicos são ferramentas essenciais para a avaliação dos impactos potenciais que substâncias químicas podem ter sobre a biota em ambientes contaminados (AZEVEDO; CORONAS, 2018). Segundo Freches (2015), os ensaios de toxicidade aguda analisam a mortalidade de organismos após exposições de curta duração a altas concentrações de compostos tóxicos, enquanto os ensaios de toxicidade crônica, realizados em concentrações mais baixas, buscam identificar efeitos em aspectos como reprodução, comportamento e alterações bioquímicas ao longo de períodos prolongados.

As macrófitas, pertencentes ao gênero *Lemna spp.*, são organismos-testes amplamente utilizados em ensaios de toxicidade para determinação de impactos químicos no ambiente aquático (KISS et al., 2003). Esse bioindicador é um importante sinalizador de exposição a poluentes químicos, visto que ao serem expostos resultam em problemas que afetam diretamente a estrutura e função do ecossistema (FREEMARK; BOUTIN, 1994).

*Lemna minor* é uma macrófita aquática com ampla distribuição em ambientes de água doce e reproduz-se predominantemente de forma assexuada. Ela desempenha um papel crucial na cadeia alimentar aquática, funcionando como produtor primário e servindo de alimento para uma variedade de organismos, como pequenos animais, peixes e aves (MOHEDANO, 2004; CROSS et al., 2021). Devido à sua elevada taxa de crescimento, sensibilidade a alterações rápidas de toxicidade e facilidade de cultivo

e manejo em ambiente laboratorial, as macrófitas da família *Lemnaceae* são frequentemente selecionadas para ensaios ecotoxicológicos (LALAU, 2010).

*Azolla caroliniana* é uma espécie de pteridófito aquática, de dimensões reduzidas e com capacidade de flutuação. Caracteriza-se por apresentar raízes delicadas em quantidade limitada e folhas bilobadas sobrepostas. Nas porções inferiores de suas folhas, encontram-se agrupamentos de cianobactérias pertencentes ao gênero *Anabaena*, desempenhando um papel crucial na fixação do nitrogênio atmosférico (TRYON; TRYON, 1982). A distribuição geográfica de *A. caroliniana* abrange extensivamente os trópicos e as regiões das Américas, sendo particularmente comum em corpos d'água estagnados. O rápido crescimento desta planta justifica sua aplicação em estudos voltados para a fitorremediação (GUIMARÃES, 2006).

A *A. caroliniana* é uma planta aquática flutuante que possui potencial como bioindicadora devido à sua fácil manipulação, ciclo de vida curto, tamanho reduzido e distribuição geográfica cosmopolita (VECHIA et al., 2016). No entanto, há uma carência de dados abrangentes sobre o uso específico dessa espécie como indicador biológico.

De acordo com um estudo relacionado com efeito do herbicida imazapyr em plantas não alvo, o herbicida em questão causou efeito hormético na população de macrófitas (*Lemna minor*), tanto a massa seca quanto a massa fresca obtiveram um aumento na maioria das subdoses testadas (PEREIRA, 2020). De acordo com Silva (2020), o herbicida sulfentrazone estimulou o crescimento apical nas macrófitas (*Lemna minor*), indicando também possível efeito hormético desse herbicida em relação a planta aquática em estudo.

Em um estudo conduzido por Mansano (2016) sobre os impactos crônicos de agrotóxicos em organismos bioindicadores da qualidade da água, bioensaios com o herbicida diuron demonstraram que tanto o princípio ativo quanto a formulação comercial causaram uma inibição significativa no crescimento da macrófito *Raphidocelis subcapitata* em concentrações variando de 5 a 40  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Nesse estudo, a concentração máxima na qual não se observou efeito adverso (CENO) foi determinada em 2,5  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , enquanto a menor concentração que apresentou efeito adverso (CEO) foi 5  $\mu\text{g.L}^{-1}$ .

Em estudos sobre toxicidade envolvendo algas, Neuwoehner et al. (2010)

descobriram que os subprodutos do diuron, como MCPDMU (3-(3-clorofenil)-1,1-dimetilureia), DCPMU (1-(3,4-diclorofenil)3-metilureia) e DCPU (1-(3,4-diclorofenil)ureia), demonstraram uma toxicidade específica para a alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. Além disso, Campos (2015) observou que as macrófitas *Azolla filiculoides* e *Phyllanthus fluitans* mostraram uma sensibilidade particularmente alta aos herbicidas glifosato, paraquat e diuron, quando expostas a esses produtos químicos por um período de 21 dias.

Em um estudo realizado com macrófitas da espécie *L. minor* como bioindicadores na ecotoxicologia, também foi constatado que o herbicida diuron pode ser considerado tóxico para essa espécie. A utilização desse produto levou a uma redução do desenvolvimento das plantas, evidenciada pelo baixo número de frondes quando comparado com a testemunha. (FRANÇA et al., 2013).

Diversos estudos relatam concentrações letais ( $CL_{50}$ ) em testes de toxicidade com herbicidas utilizando *L. minor* e *A. caroliniana*, incluindo os produtos: diuron, diquat, glifosato, simazina, metsulfuron, paraquat, 2,4-D e atrazina (FAIRCHILD et al., 1997; KUMAR; HAN, 2010; REBELO; CALDAS, 2014; GATIDOU et al., 2015; GARLICH et al., 2016). O herbicida clomazona apresentou uma  $CL_{50}$  variando entre 708,35 e 129,63  $mg.L^{-1}$  após 7 dias de exposição para a macrófita *Azolla caroliniana*, demonstrando menor toxicidade em comparação com o oxyfluorfen, que teve uma  $CL_{50}$  de 80,50  $mg.L^{-1}$ , o glifosato na formulação Trop com 38,91  $mg.L^{-1}$ , e o glifosato na formulação Scout com 23,66  $mg.L^{-1}$  (SILVA et al., 2012).

Nos testes de toxicidade aguda de herbicidas em relação a planta aquática (*Wolffia brasiliensis*) como organismo bioindicador, a macrófita estudada mostrou muita sensibilidade para os herbicidas diquat e paraquat, uma relativa sensibilidade ao imazapyr. Já os herbicidas atrazina, 2,4-D, saflufenacil, imazamox, penoxsulam e metsulfuron-methyl foram considerados não tóxicos para *Wolffia brasiliensis* (PEREIRA et al., 2019).

Assim, compreender os efeitos potenciais de herbicidas com longo residual no solo sobre organismos não-alvo é essencial para estabelecer uma relação entre as doses eficazes para a agricultura e as concentrações ambientalmente seguras desses produtos químicos.

### 3. OBJETIVO

---

O objetivo do presente trabalho foi:

Testar a hipótese de que os herbicidas com longo residual especificamente clomazona, sulfentrazone, indaziflam e tebutiuron, causam toxicidade em organismos aquáticos não-alvo. Para alcançar esse objetivo, foram determinadas:

A toxicidade aguda dos herbicidas clomazona, sulfentrazone, indaziflam e tebutiuron em *Lemna minor* e em *Azolla caroliniana*.

### 4. MATERIAL E MÉTODOS

---

#### 4.1 Descrição geral

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, Centro de Ciências Agrárias, Campus Araras/SP. Seguiu-se um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 6 concentrações de cada um dos herbicidas e 3 repetições.

Os herbicidas avaliados, e seus respectivos ingredientes ativos foram: 1) Gamit 360 CS, cujo ingrediente ativo é o clomazona (1.260 g. i.a. ha<sup>-1</sup>) de classe toxicológica III – moderadamente tóxico; 2) Boral 500 SC, cujo ingrediente ativo é o sulfentrazone (600 g. i.a. ha<sup>-1</sup>) de classe toxicológica II – altamente tóxico; 3) Alion, cujo ingrediente ativo é o indaziflam (100 g. ha<sup>-1</sup>) de classe toxicológica III – moderadamente tóxico; 4) Tebutiuron Nortox, cujo ingrediente ativo é o tebutiuron (1.200 g. i.a ha<sup>-1</sup>) de classe toxicológica II – altamente tóxico (Agrofit , 2024).

#### 4.2 Toxicidade aguda de *Lemna minor* e *Azolla caroliniana*

##### *Teste Agudo*

As plantas *Lemna minor* e *Azolla caroliniana* foram escolhidas para os ensaios ecotoxicológicos conforme as normas da OECD (2002) e Silva et al. (2012). Para o cultivo, as macrófitas foram mantidas em caixas plásticas com volume de 2,5 litros,

contendo água e uma mistura de substrato composta por latossolo, areia (com fração granulométrica entre 0,25 e 0,5 mm) e matéria orgânica de origem animal (esterco bovino) na proporção 2:1:1 (v/v).

Posteriormente, as plantas foram aclimatadas em sala de bioensaio, com temperatura entre 23,0 a 27,0 °C, e iluminação constante de 1000 lux e foram analisadas as variáveis quanto a qualidade de água, como o pH, condutividade elétrica e oxigênio dissolvido por um período de três dias. Após a aclimatação das espécies, as plantas foram desinfectadas com solução aquosa de hipoclorito de sódio 3,0% e água destilada.

Após análise referente as variáveis qualitativas da água, pôde-se obter os seguintes valores: pH: 3,97; Condutividade elétrica: 259 uS/cm a 20°C; Oxigênio dissolvido: 0,95 mg/L.

Em seguida, foram selecionadas quatro colônias de *L. minor*, cada uma composta por três frondes, totalizando 12 frondes por recipiente, e cinco exemplares de *A. caroliniana*, transferidos para recipientes de vidro com capacidade de 100 mL, contendo 50 mL do meio de cultivo Hoagland's (que inclui macro e micro nutrientes). Esses organismos foram aclimatados por 24 horas. Após esse período, foram adicionados mais 50 mL do meio de cultivo Hoagland's com diferentes concentrações dos herbicidas clomazona, sulfentrazone, indaziflam e tebutiuron em mg.L<sup>-1</sup>. Cada tratamento contou com um controle e três repetições por concentração, sendo realizados dois a três testes para cada produto.

Para realizar a classificação ecotoxicológica seguiu-se os critérios da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA, 2024), categorizando as substâncias com base em sua concentração aguda (CE<sub>50</sub>). Substâncias com concentrações abaixo de 0,1 mg.L<sup>-1</sup> são consideradas "muito altamente tóxicas". Concentrações entre 0,1 e 1 mg.L<sup>-1</sup> são classificadas como "altamente tóxicas". Valores de 1 a 10 mg.L<sup>-1</sup> indicam "moderadamente tóxicas", enquanto concentrações entre 10 e 100 mg.L<sup>-1</sup> são consideradas "ligeiramente tóxicas". Substâncias com concentrações acima de 100 mg.L<sup>-1</sup> são consideradas "praticamente não tóxicas" para organismos aquáticos.

Primeiramente foram realizados testes preliminares para o estabelecimento do intervalo de concentração que causa efeitos sobre as espécies de macrófitas. Após o estabelecimento, foram realizados os testes definitivos sob as mesmas condições.

Após a realização dos testes preliminares, foram definidas as doses trabalhadas

no presente estudo (Tabela 1), levando em consideração os herbicidas utilizados e suas respectivas concentrações de ingrediente ativo: clomazona (360,0 g. i.a. L<sup>-1</sup>); sulfentrazone (500 g. i.a. L<sup>-1</sup>); indaziflam (500 g. i.a. L<sup>-1</sup>) e tebutiuron (500 g. i.a. L<sup>-1</sup>).

**Tabela 1.** Doses definidas para os herbicidas clomazona, sulfentrazone, tebutiuron e indaziflam.

Herbicidas	Doses (mg i.a L <sup>-1</sup> )					
	Clomazona	0,10	1,07	3,44	11,16	36,4
Sulfentrazone	0,10	1,07	3,44	11,16	36,4	118,0
Tebutiuron	0,10	1,07	3,44	11,16	36,4	118,0
Indaziflam	0,03	0,06	0,09	0,12	0,15	0,18

As avaliações de toxicidade aguda dos herbicidas em *L. minor* e *A. caroliniana* foram realizadas aos 3, 5 e 7 dias após a exposição. Os parâmetros avaliados incluíram a contagem do número de plantas e frondes, além de observações de clorose e necrose das frondes (OECD, 2002) para identificar mudanças nas funções vitais, como crescimento, reprodução e mortalidade. Também foi mensurado o peso fresco (g) como um parâmetro adicional para determinar a toxicidade dos herbicidas.

Os dados referentes à CE<sub>50</sub> para cada parâmetro e porcentagem de mortalidade dos organismos não-alvo foram calculados utilizando o método estatístico Trimmed Spearman-Kärber ( $p < 0,05$ ), com o auxílio do programa Trimmed Spearman-Kärber Method Version 1.5 (Hamilton et al., 1977). A classificação ecotoxicológica foi realizada conforme a tabela da USEPA (2017).

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.

Para os dados relacionados à inibição da taxa de crescimento de *L. minor* e *A. caroliniana* no teste agudo, as concentrações de efeito não observado (CENO) e concentração de efeito observado (CEO) foram submetidas à análise de normalidade (teste de Chi-Quadrado) e homogeneidade das variâncias (teste de Bartlett). Posteriormente, foi realizada a análise de variância (ANOVA). O teste de Dunnett foi utilizado para identificar diferenças significativas entre os tratamentos e o controle em dados que seguiram uma distribuição normal.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 2 apresenta os dados sobre a  $CE_{50}$  de quatro herbicidas - clomazona, sulfentrazone, indaziflam e tebutiuron - em *L. minor*, uma planta aquática frequentemente utilizada em testes ecotoxicológicos. A  $CE_{50}$  é uma medida que indica a concentração necessária para causar um efeito adverso em 50% da população de organismos testados.

Os resultados mostram que todos os herbicidas são classificados como "Altamente tóxicos" para *L. minor*. O clomazona tem uma  $CE_{50}$  de 0,41 mg.L<sup>-1</sup>, o sulfentrazone possui uma  $CE_{50}$  de 0,73 mg.L<sup>-1</sup>, o indaziflam apresenta uma  $CE_{50}$  de 0,12 mg.L<sup>-1</sup> e o tebutiuron tem uma  $CE_{50}$  de 0,21 mg.L<sup>-1</sup>. Esses valores indicam que apenas concentrações relativamente baixas desses herbicidas são suficientes para causar efeitos adversos nas plantas aquáticas.

**Tabela 2.** Concentração Efetiva 50% ( $CE_{50}$ ) e Classificação de Toxicidade de clomazona, sulfentrazone, indaziflam e tebutiuron em *Lemna minor*.

Herbicidas	Lim. Superior (95%)	$CE_{50}$	Lim. Inferior (95%)	Classificação*
Clomazona	4,45	0,41	0,01	Altamente tóxico
Sulfentrazone	114,62	0,73	0,001	Altamente tóxico
Indaziflam	0,26	0,12	0,05	Altamente tóxico
Tebutiuron	0,55	0,21	0,08	Altamente tóxico

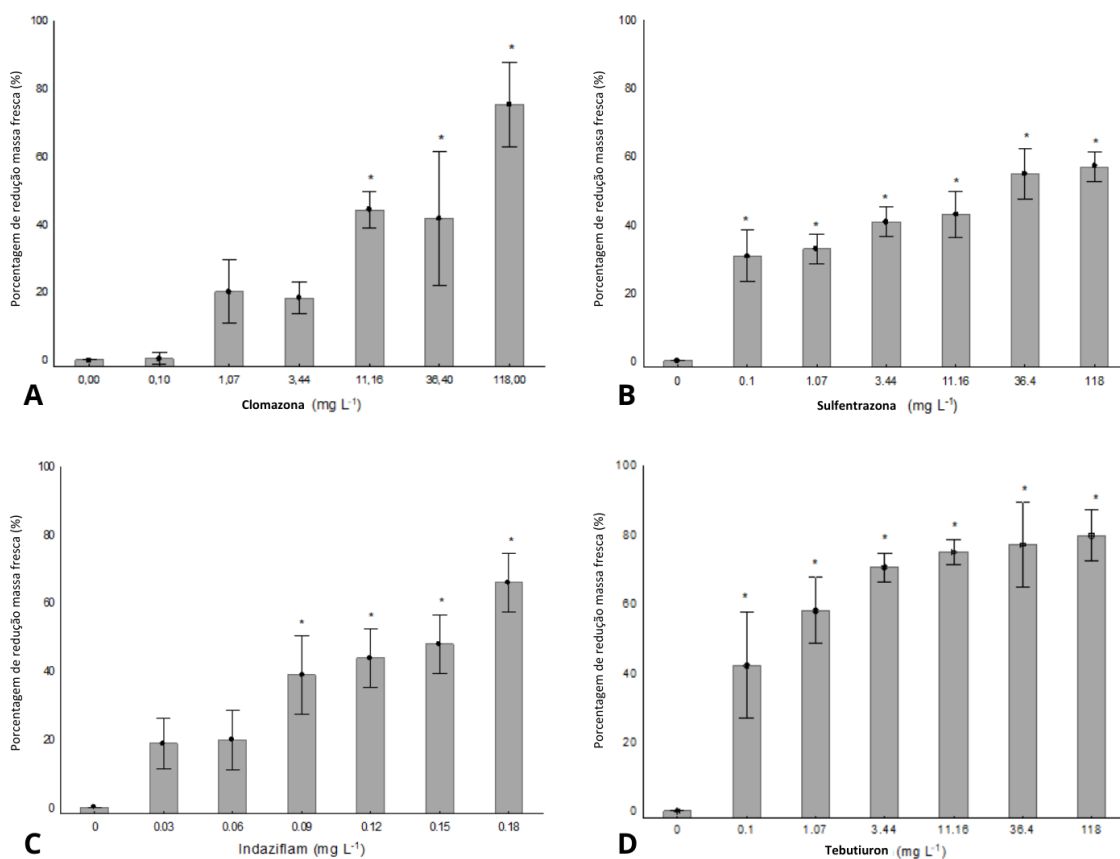
\*EPA (2024).

A figura 1 ilustra as porcentagens de redução da massa fresca (%) de *L. minor*

após a exposição aos diferentes herbicidas. Para o clomazona (Figura 1A), as maiores reduções foram observadas nas concentrações de 11,16; 36,4 e 118 mg.L<sup>-1</sup>, sendo estes resultados estatisticamente significativos. Os dados de CENO e CEO para o clomazona foram, respectivamente, 3,44 mg.L<sup>-1</sup> e 11,16 mg.L<sup>-1</sup>. As informações sobre CENO e CEO dos herbicidas testados podem ser visualizadas na figura 1, conforme os resultados obtidos no teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).

Para o sulfentrazone (Figura 1B), todas as concentrações testadas apresentaram significância estatística, sendo possível identificar apenas o CEO de 0,10 mg.L<sup>-1</sup>. Enquanto para o indaziflam (Figura 1C), as concentrações 0,09; 0,012; 0,015 e 0,018 mg.L<sup>-1</sup> foram significativas e provocaram 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.

Por fim, para o tebutiuron (Figura 1D) todas as concentrações provocaram porcentagem de redução de massa fresca significativas, com isso apenas foi possível identificar seu CEO de 0,10 mg.L<sup>-1</sup>.



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

A tabela 3 apresenta os dados sobre a CE<sub>50</sub> para quatro herbicidas - clomazona, sulfentrazone, indaziflam e tebutiuron - em *A. caroliniana*. A CE<sub>50</sub> indica a concentração necessária para afetar negativamente 50% da população de organismos testados.

Os resultados indicam que todos os herbicidas são classificados como "Altamente tóxicos" para *A. caroliniana*, com exceção do clomazona, que foi classificado como "Moderadamente tóxico". O clomazona tem uma CE<sub>50</sub> de 3,26 mg.L<sup>-1</sup>, o sulfentrazone apresenta uma CE<sub>50</sub> de 0,51 mg.L<sup>-1</sup>, o indaziflam possui uma CE<sub>50</sub> de 0,11 mg.L<sup>-1</sup> e o tebutiuron tem uma CE<sub>50</sub> de 0,71 mg.L<sup>-1</sup>. Esses valores sugerem que concentrações relativamente baixas desses herbicidas são suficientes para causar efeitos adversos nas plantas aquáticas.

**Tabela 03.** Concentração Efetiva 50% (CE<sub>50</sub>) e Classificação de Toxicidade de clomazona, sulfentrazone, indaziflam e tebutiuron em *Azolla caroliniana*.

Herbicidas	Lim. Superior (95%)	CE <sub>50</sub>	Lim. Inferior (95%)	Classificação*
Clomazona	4,91	3,26	2,16	Moderadamente tóxico
Sulfentrazone	0,82	0,51	0,32	Altamente tóxico
Indaziflam	0,14	0,11	0,13	Altamente tóxico
Tebutiuron	1,51	0,71	1,03	Altamente tóxico

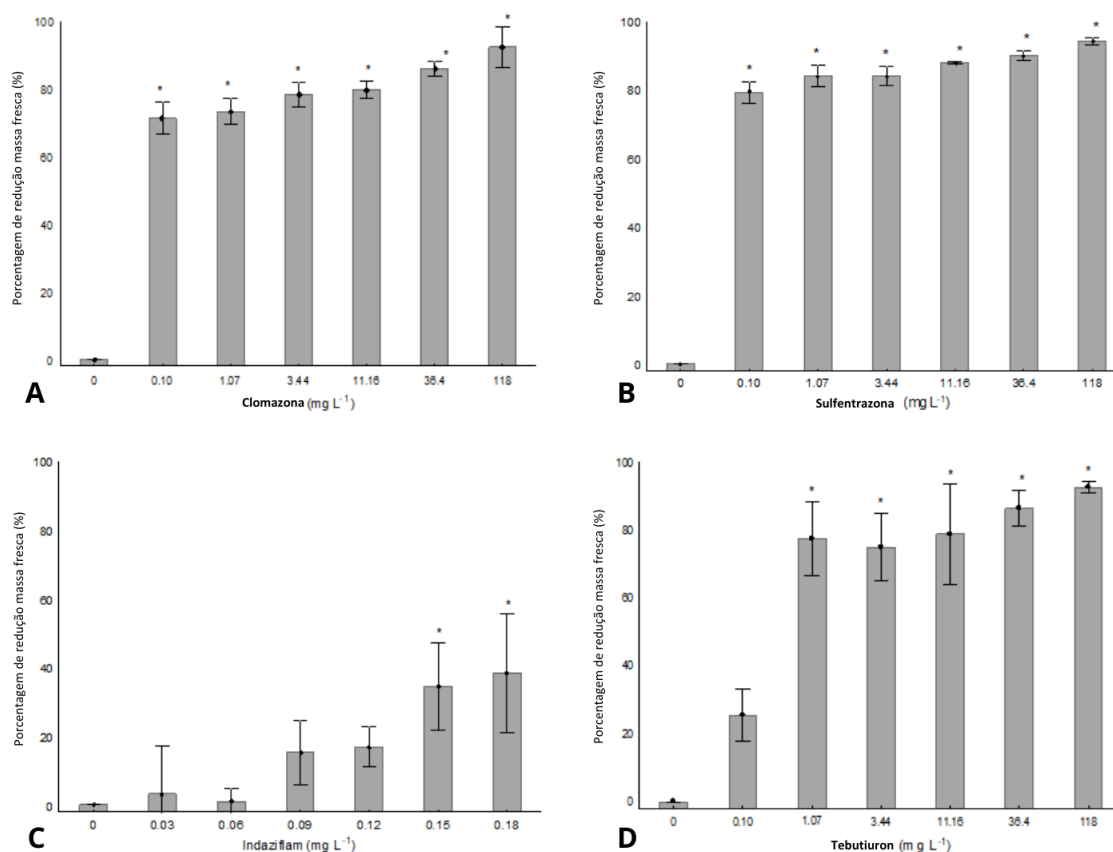
\* EPA (2024).

A figura 2 ilustra as porcentagens de redução da massa fresca (%) de *A. caroliniana* após a exposição aos diferentes herbicidas. No caso do clomazona (Figura 2A), todas as concentrações testadas apresentaram significância estatística, permitindo identificar apenas o CEO de 0,10 mg.L<sup>-1</sup>. As informações sobre CENO e CEO dos herbicidas avaliados podem ser visualizadas na figura 2, de acordo com o teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).

No caso do sulfentrazone (Figura 2B), todas as concentrações testadas mostraram significância estatística, permitindo identificar apenas o seu CEO de 0,10 mg.L<sup>-1</sup>. Já

para o indaziflam (Figura 2C), as concentrações de 0,15 e 0,18 mg.L<sup>-1</sup> apresentaram significância estatística e alcançaram as maiores reduções percentuais na massa fresca das macrófitas. Os valores de CENO e CEO correspondem a 0,12 e 0,15 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Por último, no caso do tebutiuron (Figura 2D), somente a concentração de 0,10 mg.L<sup>-1</sup> não demonstrou uma redução significativa da massa fresca, com os valores de CENO de 0,10 mg.L<sup>-1</sup> e CEO de 1,07 mg.L<sup>-1</sup>.



**Figura 2.** Porcentagem de redução da massa fresca (%) de *Azolla acorliniana* quando expostas a concentrações crescentes de clomazona (A), sulfentrazone (B), indaziflam (C) e tebutiuron (D) em mg.L<sup>-1</sup> aos 7 dias. \*Diferença estatística significativa ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste de Dunnett para massa fresca. (⊥) Desvio padrão.

Quando se trata da exposição das macrófitas ao clomazona, há uma disparidade entre os valores de toxicidade encontrados na literatura e os dados obtidos neste estudo. Neste estudo o valor de CE<sub>50</sub> para *L. minor* foi de 0,41 mg.L<sup>-1</sup>, com os valores de CENO e CEO de 3,44 mg.L<sup>-1</sup> e 11,16 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Entretanto, Vechia et al. (2016), utilizando a mesma formulação Gamit 360 CS e semelhante metodologia, observaram

que a concentração de clomazona 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 100,0% de mortalidade. Além disso, para U.S. EPA (2017), os valores de toxicidade (CE<sub>50</sub>) do clomazona para a espécie *Lemna gibba* foram registrados como 12,0 mg.L<sup>-1</sup>.

Vechia et al. (2016) também constataram que, para a *A. caroliniana*, concentrações de clomazona de 3,44 mg.L<sup>-1</sup> e 11,19 mg.L<sup>-1</sup> resultaram em 20,0% de mortalidade, enquanto 118,0 mg.L<sup>-1</sup> causou 56,6% de mortalidade. Com isso, foi considerada praticamente não tóxica com CL<sub>50</sub>>100,0 mg.L<sup>-1</sup>. Em outro estudo, Silva et al. (2012), não especificando a formulação exata do herbicida utilizado, observaram que clomazona na concentração de 120 mg.L<sup>-1</sup> em *A. caroliniana* resultou em mortalidade de 36,67%. Além da sensibilidade da planta *A. caroliniana* ao herbicida clomazona, o estudo também revelou que a concentração letal (CL<sub>50</sub>;7d) de clomazona para *A. caroliniana* foi superior a 100,0 mg.L<sup>-1</sup>, indicando baixa sensibilidade desse bioindicador ao herbicida.

O clomazona possui mecanismo de ação relacionado à inibição da biossíntese de carotenoides, pigmentos essenciais para a fotossíntese e a proteção das células vegetais contra o dano oxidativo causado pela luz solar. Especificamente, o clomazona interfere na via biossintética dos carotenoides, resultando na diminuição da produção de carotenoides, levando à descoloração das plantas sensíveis (branqueamento) e, eventualmente, à morte das mesmas devido à incapacidade de realizar a fotossíntese de maneira eficiente (PRADEEP et al., 2018).

Além disso, devido à sua alta solubilidade em água (1212,0 mg.L<sup>-1</sup>) (PPDB, 2023), combinada com uma pressão de vapor relativamente elevada (1,44 x 10<sup>-4</sup> mm Hg a 25 °C) (SENSEMAN, 2007) e uma moderada propensão à volatilização (RODRIGUES; ALMEIDA, 2018), esse herbicida possui um considerável potencial de contaminação das águas subterrâneas (SANTOS et al., 2013). Por conta dessas características, o composto foi detectado em mais de 60% das amostras coletadas no Córrego Rico, em São Paulo (SANTOS et al., 2015), além de figurar como o segundo pesticida mais encontrado em diversas fontes de água, abrangendo amostras de chuva, cisternas, córregos, lagoas, nascentes, poços semiartesianos, represas e um rio na sub-bacia do Rio Samambaia, que cobre áreas no Distrito Federal e leste de Goiás, especialmente durante a estação seca (CORREIA et al., 2020).

Com relação ao herbicida sulfentrazone Pereira et al. (2019) verificaram que o

herbicida sulfentrazone é tóxico para *L. minor*, com um  $CE_{50;7d}$  de 21,10  $mg.L^{-1}$ . Por outro lado, Silva et al. (2020), utilizando a mesma formulação Boral 500 SC, estão em concordância com os dados obtidos nesta pesquisa ( $CE_{50;7d}$  0,73  $mg.L^{-1}$ ), uma vez que esses pesquisadores encontraram um  $CE_{50}$  de 0,80  $mg.L^{-1}$  para *L. minor*.

Quando se trata da interação do sulfentrazone com *A. caroliniana*, os resultados deste estudo diferem dos valores encontrados na literatura. Silva et al. (2020), identificaram uma  $CE_{50}$  maior que 118,0  $mg.L^{-1}$  para *A. caroliniana*, utilizando a mesma formulação de produto. No mesmo estudo, foi concluído que, para *A. caroliniana*, a relação entre concentração e porcentagem de inibição do crescimento/mortalidade pôde ser observada nas concentrações de 0,1, 1,07, 3,5, 11,2, 36,5 e 118,0  $mg.L^{-1}$ , com porcentagens de inibição no crescimento de 5, 10, 13, 20, 25 e 30%, respectivamente. Além disso, nenhuma das concentrações resultou em necrose total.

O mecanismo de ação do sulfentrazone envolve a inibição da enzima protoporfirinogênio oxidase (PROTOX), que é uma enzima localizada nos cloroplastos das plantas. A inibição da PROTOX pelo sulfentrazone impede a síntese de porfirinas e tetrapirróis, fundamentais na conversão do protoporfirinogênio IX em protoporfirina IX por meio da aromatização oxidativa (CARVALHO; GONÇALVES NETTO, 2016). No citoplasma, o acúmulo de protoporfirina IX, um composto fotodinâmico, leva à formação de oxigênio singlete na presença de luz, um estado altamente reativo de oxigênio. Esse oxigênio singlete causa peroxidação de lipídeos e oxidação de proteínas nas membranas celulares, resultando na perda de clorofila, ruptura das membranas e eventual morte celular (PEREZ, 2023).

Além disso, o herbicida sulfentrazone apresenta solubilidade em água de aproximadamente 490  $mg.L^{-1}$ , tornando-o altamente solúvel. Além disso, possui um pKa de 6,56, caracterizando-o como um ácido fraco. Essa característica resulta em maior solubilidade em água à medida que o pH do solo diminui (PASSOS, 2011). A baixa capacidade de sorção do sulfentrazone em solos arenosos e com baixo teor de matéria orgânica facilita sua movimentação vertical no perfil do solo, aumentando o risco de contaminação de lençóis freáticos e corpos d'água. A pressão de vapor do sulfentrazone, embora relativamente baixa ( $1 \times 10^{-9}$  mm Hg a 25°C), pode influenciar sua volatilização e impactar sua distribuição ambiental (FAUSTINO et al., 2015).

Pesquisas indicam que a margem de segurança (MOS10 - margem de segurança

de 10,0%) para os efeitos da concentração de água de escoamento de sulfentrazone foi estimada em 1,1 para *L. minor*, sugerindo um risco potencial considerável quando valores de MOS10 superiores a 1,0 são identificados (THORNGREN et al., 2016). Além disso, a elevada lixiviação do sulfentrazone para as camadas mais profundas, tanto em Argissolos quanto em Latossolos, ao ultrapassar os primeiros 10 cm do solo, eleva substancialmente o risco de contaminação das águas subterrâneas (BARCELLOS JÚNIOR et al., 2022).

Até o presente momento, não existem registros na literatura que documentem a CE<sub>50</sub> ou os impactos na massa fresca de *L. minor* e *A. caroliniana* em resposta à exposição ao herbicida indaziflam. Esse cenário levanta uma preocupação relevante para esses ecossistemas aquáticos, já que o indaziflam demonstrou causar uma redução significativa na massa fresca dessas espécies a partir da concentração de 0,09 mg.L<sup>-1</sup>.

É relevante observar que, apesar desse impacto negativo, o indaziflam apresenta uma tendência baixa à lixiviação. Sua penetração no perfil do solo até 35 cm de profundidade, mesmo com sua solubilidade reduzida (0,0028 kg m<sup>-3</sup> a 20°C), é explicada pela sua baixa capacidade de sorção, conforme constatado em um estudo realizado em um Latossolo Vermelho-Amarelo (GONÇALVES, 2018; SOUZA, 2018).

O mecanismo de ação do indaziflam, que está ligado à inibição da biossíntese de celulose, interfere no complexo celulose sintase, resultando na incapacidade de formar novas células na parede celular, o que afeta o desenvolvimento de novas folhas. Por outro lado, as folhas já formadas raramente são afetadas. Esse processo leva à interrupção do crescimento, clorose, seguida de necrose e, por fim, à morte da planta (GUERRA et al., 2016; BRABHAM et al., 2014).

Em relação ao tebutiuron em *L. minor*, as informações na literatura são bastante escassas. Segundo Peterson et al. (1994), os herbicidas triazina, diquat, acroleína e tebutiuron são reconhecidos por representarem riscos extremamente elevados para algas e macrófitas, resultando em 100% de inibição no crescimento de *L. minor*. No caso específico do tebutiuron, essa inibição ocorreu na concentração de 5,867 mg.L<sup>-1</sup>.

Ao se tratar do herbicida tebutiuron em macrófitas *A. caroliniana*, até o momento, não há informações documentadas sobre a CE<sub>50</sub> e/ou os efeitos em sua massa fresca em resposta a esse herbicida. Portanto, assim como o indaziflam, a presença deste produto representa uma possível preocupação para o ecossistema, levando em consideração que

esse herbicida evidenciou uma redução significativa na massa fresca de *A. caroliniana* a partir da concentração de 0,10 mg.L<sup>-1</sup>.

O herbicida tebutiuron pode demonstrar uma capacidade de lixiviação moderada a alta, como observado por Faria (2013), que identificou uma alta capacidade de lixiviação do tebutiuron, detectando-o em amostras coletadas até uma profundidade de 50 cm em latossolos. De acordo com Matallo et al. (2005), a capacidade de lixiviação do tebutiuron é superior à de outros herbicidas inibidores do fotossistema II. Dentro do grupo das ureias, o tebutiuron é o segundo herbicida com maior solubilidade em água.

Herbicidas com longa persistência no solo têm um maior potencial de contaminação das águas subterrâneas (OLIVEIRA JR; REGITANO, 2009). Isso acontece devido ao prolongado tempo de exposição de suas moléculas às condições climáticas, incluindo períodos chuvosos, uma vez que sua degradação microbiológica, física ou química no solo é lenta.

O tebutiuron atua como um herbicida inibidor do fotossistema II, interferindo na fotossíntese ao bloquear o transporte de elétrons durante a fase luminosa. Isso resulta em uma rápida queda na taxa de fixação de CO<sub>2</sub> apenas algumas horas após sua aplicação em plantas sensíveis. As plantas suscetíveis tendem a morrer mais rapidamente quando expostas à luz após a aplicação do herbicida do que quando mantidas no escuro (BRENNECKE et al. 2015).

Essas descobertas evidenciam a relevância de se avaliar os impactos potenciais de herbicidas como clomazona, sulfentrazone, indaziflam e tebutiuron em ecossistemas aquáticos, especialmente considerando a alta sensibilidade de macrófitas como *L. minor* e *A. caroliniana*. Além disso, é fundamental investigar as interações desses herbicidas entre si e com outros organismos presentes no ecossistema. Uma análise mais detalhada proporcionará maior entendimento sobre seus efeitos e comportamentos em ambientes aquáticos, auxiliando no desenvolvimento de estratégias eficientes de monitoramento e gestão ambiental.

## 6. CONCLUSÃO

---

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, todos os herbicidas

testados foram classificados como “Altamente tóxicos” para as espécies de macrófitas, com exceção do clomazona para *A. caroliniana*, que foi classificado como "Moderadamente tóxico". Para ambas as espécies estudadas também se tornou possível observar impacto significativo na massa fresca a partir de concentrações específicas desses herbicidas, indicando a necessidade de atenção quanto aos potenciais efeitos em organismos aquáticos não-alvo.

O herbicida clomazona apresentou uma  $CE_{50}$  de 0,41 e 3,26  $mg.L^{-1}$  para *L. minor* e *A. caroliniana*, respectivamente. O mesmo herbicida apresentou maiores porcentagens de redução de massa fresca a partir da concentração de 11,16  $mg.L^{-1}$  para *L. minor*, e em todas as concentrações testadas para a *A. caroliniana*.

Para o sulfentrazone, sua  $CE_{50}$  foi de 0,73 e 0,51  $mg.L^{-1}$  para *L. minor* e *A. caroliniana*, respectivamente. Para ambas as espécies, todas as concentrações testadas mostraram significância estatística com relação a redução de massa fresca após o contato com o herbicida.

No caso do indaziflam, foi relatado uma  $CE_{50}$  de 0,12 e 0,11  $mg.L^{-1}$  para *L. minor* e *A. caroliniana*, respectivamente. Para a macrófita *L. minor*, maiores porcentagens de redução de massa fresca foram observadas a partir da concentração de 0,09  $mg.L^{-1}$ , enquanto para *A. caroliniana*, apenas a partir da concentração de 0,015  $mg.L^{-1}$  houve diferença estatística. Ao se tratar de indaziflam em macrófitas, torna-se evidente que essa interação merece atenção também pelo fato da massa fresca das macrófitas terem sido afetadas em concentrações inferiores a 0,1  $mg i.a. L^{-1}$ .

Por fim, o herbicida tebutiuron obteve uma  $CE_{50}$  de 0,21 e 0,71  $mg.L^{-1}$  para *L. minor* e *A. caroliniana*, respectivamente. O tebutiuron apresentou maiores porcentagens de redução de massa fresca em todas as concentrações testadas em *L. minor* e a partir da concentração de 1,07  $mg.L^{-1}$  no caso da *A. caroliniana*.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

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:

maio. 2021.

ANDRIGHETTI, M. S.; NACHTIGALL, G. R., QUEIROZ, S. C. N. de; FERRACINI, V. L.; AYUB, M. A. Z. Biodegradação de glifosato 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, 2007.

BARCELLOS JÚNIOR; LUCAS HERINGER. Comportamento do sulfentrazone nos horizontes do argissolo vermelho-amarelo e do latossolo vermelho-amarelo. 2022.

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.

BRENNECKE, Kathery et al. Efeito de doses de herbicida inibidor de fotossistema II em plântulas de *Brachiaria decumbens* spp. *Revista Agrogeoambiental*, v. 7, n. 4, 2015.

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 Agronômica**, v. 43, n. 2, p. 390-398, 2012.

Campos, P. S. **Efeito dos herbicidas diuron, glifosato 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.

CARVALHO, Nathália Leal; PIVOTO, Thiago Salbego. Ecotoxicologia: conceitos, abrangência e importância agronômica. **Revista Monografias Ambientais**, v. 2, n. 2, p. 176-192, 2011.

CARVALHO, S. J. P.; GONÇALVES NETTO, A. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da Protox (Grupo E). In: CHRISTOFFOLETI, P. J.; NICOLAI, M. Aspectos da resistência de plantas daninhas a herbicidas. 4 ed. Piracicaba: ESALQ, 2016.

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.

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

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

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. et al. Ocorrência de Atrazina em águas no Brasil e remoção no tratamento da água: revisão sistemática. **Revista Internacional de Ciências**, v. 8, n. 2, p. 234-253, 2018.

EPA (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos). Visão geral técnica da Avaliação de Risco Ecológico — Fase de Análise: Caracterização de efeitos ecológicos. EPA. Recuperado em 16 de setembro de 2024, de <https://www.epa.gov/pesticide-science-and-assessing-pesticide-risks/technical-overview-ecological-risk-assessment-0>.

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.

FARIA, A. T. Sorção, dessorção, meia-vida e lixiviação do tebuthiuron em latossolos brasileiros. 2013. Tese de Doutorado. Dissertação Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 71p.

FAUSTINO, L. A. et al. Mobilidade do sulfentrazone em solos com diferentes características físicas e químicas. **Planta Daninha**, v. 33, n. 4, p. 795-802, 2015.

FRANÇA, J.B.A et al. A UTILIZAÇÃO DA LENTILHA D'ÁGUA (*Lemna minor*) E

DO PEIXE GUARU (*Phalloceros caudimaculatus*) COMO BIOINDICADORES NA ECOTOXICOLOGIA. **7ª Jornada Acadêmica – Crescimento regional: Inovação e tecnologia no mercado de trabalho**, v. 7, n. 1, 2013.

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.

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** 119, 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.

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* 107, 423-431, 2014.

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

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

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., 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.

GUIMARÃES, Fernanda Pereira. Potencial de macrófitas para remoção de arsênio e atrazine em solução aquosa. 2006.

HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, V. Trmed Spearman-Karber method for estimating medial lethal concentrations in toxicoty bioassays.

**Environmental Science & Techonology**, v.7, p.714-719, 1977.

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

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 Brasi. 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. **Uso de macrófitas lemnáceas como organismos-teste em avaliações toxicológicas**. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

Lewis KA, Tzilivakis J, Warner DJ, Green A (2016) An international database for pesticide risk assessments and management. *Hum Ecol Risk Assess Int J* 22:10501064. <https://doi.org/10.1080/10807039.2015.1133242>

MAGALHÃES, Danielly de Paiva et al. A ecotoxicologia **como ferramenta no**

**biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. 2008.**

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.

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.

MATALLO, Marcus B. et al. Sorption, degradation, and leaching of tebuthiuron and diuron in soil columns. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, v. 40, n. 1, p. 39-43, 2005.

MOHEDANO, Rodrigo de Almeida. **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.

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 (Online)**, 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. **Aquat. Toxicol.** 97, 58-67, 2010.

OECD, **Guideline for testing of chemicals: *Lemna* sp. Growth inhibition**

test. Organization for economic cooperation and development. 2002, 22p.

OLIVEIRA JR., R. S.; REGITANO, J. B. Dinâmica de pesticidas no solo. In: MELO, V. F.; ALLEONI, L. R. F. (Eds.). Química e mineralogia do solo. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2009. p. 187-248.

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.

PASSOS, Ana Beatriz Rocha de Jesus. Sorção, dessorção e lixiviação do sulfentrazone em diferentes solos brasileiros. 2011.

PEREIRA, Pâmela Castro. Eficácia do imazapyr no controle de plantas daninhas e seu impacto sobre plantas não alvo. 2020.

PEREIRA, P.C. et al. Toxicidade Aguda de Herbicidas e Sensibilidade da Planta Aquática *Wolffia brasiliensis* como Organismo Bioindicador. *Planta Daninha* [online]. 2019, v. 37

PEREZ, Leonardo Lombardi. Dinâmica da mistura formulada de sulfentrazone com diuron e o herbicida diclosulam no solo e os efeitos residuais em milho, sorgo e feijão. 2023. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

PETERSON. (n.d.). AQUATIC PHYTO-TOXICITY OF 23 PESTICIDES APPLIED AT EXPECTED ENVIRONMENTAL CONCENTRATIONS. *Aquatic Toxicology*, 28(3–4), 275–292. <https://doi.org/info:doi/>

PPDB. The Pesticide Properties Database (PPDB). Disponível em: Acesso em:

29 de outubro de 2023.

Pradeep, P., Shetty, P. K., & Pradhan, S. (2018). Impacts of herbicide use: from biochemical and physiological perspectives to agronomic and environmental aspects. **In "Clomazone and Carotenoid Biosynthesis Inhibition: Mechanistic Insights"**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 66(30), 7894-7904.

REBELO, R.M., CALDAS, E.D. Avaliação de risco ambiental de ambientes aquáticos afetados pelo uso de agrotóxicos. **Quím. Nova**. v. 37, p.1199-1208, 2014.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S (*in memoriam*). **Guia de Herbicidas**, 7. ed. Edição dos autores: Londrina, 2018. 763 p.

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.

SANTOS, E. A. et al. Detecção de herbicidas em água subterrânea na microbacia do Córrego Rico-SP. **Planta Daninha**, v. 33, n. 1, p. 147-155, 2015.

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

SENSEMAN, S.A. Herbicide handbook. 9.ed. Lawrence: Weed Science Society

of America, 2007, 458p.

SIKORSKI, Ł. et al. The effects of glyphosate-based herbicide formulations on *Lemna minor*, a non-target species. **Aquatic Toxicology**, v. 209, p. 70-80, 2019.

Silva, Tales & Brunetti, Isabella & Perez, Luiz & Pereira, Pâmela & Santos, Karina & Cruz, Claudinei. (2020). EFEITO DE SUBDOSES DE SULFENTRAZONE EM PLANTAS AQUÁTICAS E ECOTOXICOLOGIA PARA BIOINDICADORES. *Ciência e cultura* (Barretos). 16. 10.4322/1980-0029.162020.

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. A. da; A., L.; VIVIAN, R.; OLIVEIRA JÚNIOR, R. S. Comportamento de Herbicidas no Solo. In: MONQUERO, P. A. **Aspectos da Biologia e Manejo das Plantas Daninhas**. São Carlos, São Paulo: RiMa, 2014. p.167- 215.

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.

TOMITA, R. Y.; BEYRUTH, Z. Toxicologia de agrotóxicos em ambiente aquático. **Biológico**, v. 64, n. 2, p. 135-142, 2002.

TRUHAUT, R. 1977. Ecotoxicology: objectives, principles and perspectives. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1: 151-173.

Tryon, R. M., e Tryon, A. F. 1982. *Ferns and allied plants*. Springer-Verlag, New York.

USEPA. United States **Environmental Protection Agency. Technical Overview of Ecological Risk Assessment - Analysis Phase: Ecological Effects Characterization**. 2017. 9p

VECHIA, JF della et al. Macrophyte bioassay applications for monitoring pesticides in the aquatic environment. *Planta Daninha*, v. 34, p. 597-603, 2016.