

ECOTOXICIDADE DE HERBICIDAS PARA OS BIOINDICADORES AQUÁTICOS

LEMNA MINOR E *AZOLLA CAROLINIANA*

VECHIA, J.F.D. (LEEA – UNIFEB, Barretos/SP – jaque_dellavechia@hotmail.com),
CERVEIRA-JUNIOR, W.R. (LEEA – UNIFEB, Barretos/SP – pacokinhajunior@hotmail.com),
GARLICH, N. (NEPEAM/FCAV – UNESP, Jaboticabal/SP – nathalia.garlich@gmail.com),
PERES, L.R.S. (lorenaperess@hotmail.com), CRUZ, C. (NEPEAM/FCAV – UNESP,
Jaboticabal/SP e LEEA – UNIFEB, Barretos/SP – claudineicruz@gmail.com)

RESUMO

As técnicas de bioindicação têm sido usadas para demonstrar a presença e os possíveis efeitos ambientais de produtos químicos, como os herbicidas, uma das classes de agrotóxicos mais utilizada na agricultura mundial. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade aguda (CL₅₀;7d) de atrazine, clomazone e bentazona para as plantas testes aquáticas (*Lemna minor* e *Azolla caroliniana*). As plantas foram aclimatadas, por 48 horas e após esse período foram conduzidos os ensaios de toxicidade aguda. Para tanto, foram selecionadas cinco plantas de *Azolla caroliniana* e quatro plantas de *Lemna minor* em 50 mL de meio de cultivo Hoagland. A seguir foram adicionadas 50 mL de Hoagland mais o herbicida (0,10; 1,07; 3,44; 11,16; 36,40; e 118,0 mg L⁻¹ de cada ingrediente ativo e um controle) completando-se o volume para 100 mL. A avaliação da porcentagem de mortalidade das plantas foi realizada em 3, 5 e 7 dias após exposição aos agrotóxicos. A concentração letal de 50% (CL₅₀;7d) para *Lemna minor* exposta a bentazona foi de 31,58 mg L⁻¹; para a atrazine de 5,27 mg L⁻¹; e para o clomazone de 10,23 mg L⁻¹. Para a *Azolla caroliniana* exposta aos herbicidas a CL₅₀;7d foi > 100,0 mg L⁻¹, pois não ocorreu mortalidade durante o ensaio. Assim, conclui-se que, a *Lemna minor* é mais sensível aos herbicidas e pode ser utilizada como planta bioindicadora.

PALAVRAS CHAVE

Palavras chaves: Agrotóxicos; bioindicadores; efeito residual; plantas aquáticas; toxicidade aguda

INTRODUÇÃO

A utilização de agrotóxico é um fator importante na manutenção de altas produtividades agrícolas. A intensificação do uso destes produtos pode contribuir para a poluição dos ambientes aquáticos através das rotas e dinâmica ambiental, podendo atingir águas superficiais e subterrâneas, modificar a biota e contaminar peixes, crustáceos, moluscos e outros animais aquáticos. Dentre as classes de agrotóxicos, os herbicidas são uma das classes mais utilizadas e oferecem benefícios à cultura, entretanto, este tipo de controle vem acompanhado de algumas desvantagens, dentre elas destacam-se a possibilidade de contaminação ambiental, e a presença de resíduo após o término do ciclo cultural (JARDIM et al., 2009). Algumas plantas e animais podem ser utilizados como indicadores biológicos ou bioindicadores da presença de contaminantes no ambiente. Os organismos bioindicadores, apesar de não morrerem por alterações do ambiente, respondem a elas por meio de reações comportamentais ou metabólicas e, também são utilizados para caracterizar a saúde do ambiente, indicar o grau de perigo e dar suporte aos riscos ecológicos (USEPA, 2002).

Na avaliação ecotoxicológica aquática um dos organismos padronizados são as macrófitas aquáticas. De acordo com SILVA et al., (2012), a *Azolla caroliniana* é uma planta aquática flutuante que pode ser utilizada como bioindicador devido a facilidade de manejo, ciclo de vida curto, pequeno porte e por ser cosmopolita, porém há poucas informações referentes ao uso dessa planta como espécie bioindicadora. Outra planta padronizada para ensaios ecotoxicológicos é a *Lemna minor* (OECD, 2002). Assim, a utilização de bioensaios é uma forma rápida, de baixo custo e de fácil implantação em condições laboratoriais. Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi determinar a toxicidade aguda (CL50;7d) dos herbicidas atrazina, clomazone e bentazona para as macrófitas aquáticas *Lemna minor* e *Azolla caroliniana*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram conduzidos no Laboratório de Ecotoxicologia e Eficácia de Agrotóxicos, LEEA, do Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos, UNIFEB. Os herbicidas testados foram atrazine (500,0 g L⁻¹), clomazone (360,0 g L⁻¹) e bentazona (600,0 g L⁻¹).

As macrófitas, *Lemna minor* e *Azolla caroliniana*, foram cultivadas em caixa plástica, contendo água e substrato composto por solo, areia e matéria orgânica (2:1:1; $v\cdot v^{-1}$), em casa de vegetação. A aclimação das plantas foi realizada em sala de bioensaio com condições controladas. Após aclimação, as plantas foram desinfetadas com solução aquosa de hipoclorito de sódio 3%, para *Azolla caroliniana*, e a 2% para *Lemna minor* e água destilada.

Em seguida foram adicionados 50 mL de meio de cultivo Hoagland em recipientes de vidro, com capacidade de 100 mL, mais quatro plantas de *Lemna minor* (três frondes cada), por 24 horas. Após esse período, foram adicionados 50 mL de Hoagland com o herbicida a ser testado. O mesmo procedimento foi utilizado para *Azolla caroliniana*, porém foram selecionadas cinco plantas em cada recipiente de vidro.

Para ambas as plantas foram utilizadas as concentrações teste de: 0,10; 1,07; 3,44; 11,16; 36,40; e 118,0 $mg\ L^{-1}$ de cada ingrediente ativo e um controle (sem adição do ingrediente ativo) em triplicata. Após a exposição foi realizada a avaliação da porcentagem de mortalidade das plantas em três, cinco e sete dias após exposição aos ingredientes ativos.

Para a *Lemna minor* foi avaliado o padrão de clorose e necrose dos frondes conforme a recomendação da OECD (2002) e para a *Azolla caroliniana* foi utilizado a escala de notas (E a A) de acordo com SILVA et al., (2012). A toxicidade aguda (CL50;7d) foi calculada pelo software Trimmed Spearman Karber (HAMILTON et al., 1977).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para *Lemna minor* exposta ao herbicida bentazona, na formulação Amplo[®], a concentração letal 50% (CL50;7d) foi de 31,58 $mg\ L^{-1}$ com limite inferior de 23,99 e superior de 41,56 $mg\ L^{-1}$. No controle, 0,10 e 1,07 $mg\ L^{-1}$ não ocorreram frondes clorótico/necróticos. Em 3,44 $mg\ L^{-1}$ ocorreu 10,0%; em 11,16 $mg\ L^{-1}$ ocorreu 25,0%; em 36,40 $mg\ L^{-1}$, 56,25%; e em 118,0 $mg\ L^{-1}$ foi de 75,0% de frondes cloróticos/necróticos. Assim, este foi considerado pouco tóxico ($10,0 > CL50 > 100,0\ mg\ L^{-1}$) conforme classificação de ZUCKER (1985).

Para a atrazina, a CL50;7d foi de 5,27 $mg\ L^{-1}$ com limite inferior de 4,39 e superior de 6,33 $mg\ L^{-1}$. No controle, 0,10 e 1,07 $mg\ L^{-1}$ não ocorreram mortalidades das plantas testes. Em 3,44 $mg\ L^{-1}$ ocorreu 61,1% de mortalidade; em 11,16 $mg\ L^{-1}$ ocorreu 66,0%; em 36,40 $mg\ L^{-1}$, 85%; e em 118,0 $mg\ L^{-1}$ foi de 100,0% de frondes cloróticos/necróticos. Assim, este ingrediente ativo foi considerado moderadamente tóxico ($1,0 > CL50 > 10,0\ mg\ L^{-1}$).

Na avaliação do clomazone, na formulação Gamit®, a CL50;7d foi de 10,23 mg L⁻¹ com limite inferior de 7,91 e superior de 13,23 mg L⁻¹. No controle e em 0,10 mg L⁻¹ não ocorreram mortalidades das plantas testes. Em 1,07 mg L⁻¹ ocorreu 43% dos frondes com clorose/necrose; em 3,44 mg L⁻¹ ocorreu 36,0% de mortalidade; em 11,16 mg L⁻¹ ocorreu 30,0%; em 36,40 mg L⁻¹, 30,0%; e em 118,0 mg L⁻¹ foi de 100,0% de frondes cloróticos/necróticos, sendo considerado moderadamente tóxico (1,0 > CL50 > 10,0 mg L⁻¹).

Resultados semelhantes foram descritos por Landolt & Kandeler, (1987) em estudos ecotoxicológicos utilizando herbicidas, em que demonstraram que as macrófitas aquáticas sofreram alterações em relação ao crescimento e reprodução quando expostas as herbicidas.

Nos ensaios com *Azolla caroliniana* com o herbicida bentazona, na formulação Amplo®, não foi possível realizar o cálculo da concentração letal 50%. No controle não ocorreu clorose/necrose. Em 0,10 mg L⁻¹ ocorreu 5,0% de plantas com clorose/necrose. Em 1,07 mg L⁻¹ a mortalidade foi de 20%; 3,44 mg L⁻¹ foi de 25,0%; em 11,19 mg L⁻¹ foi de 13,3%; em 36,40 mg L⁻¹ foi de 23,6%% de clorose/necrose; e em 118,0 mg L⁻¹ foi de 51,6%. Assim, este herbicida foi classificado como praticamente não tóxico com CL50;7d > 100,0 mg L⁻¹. Diferente do trabalho realizado por SILVA et al., (2012) utilizando oxyfluorfen, para a mesma planta, classificando se como moderadamente tóxico.

Para a atrazina também não foi possível realizar o cálculo da CL50;7d. No controle não ocorreu clorose/necrose. Em 0,10 mg L⁻¹ ocorreu 10,0% de plantas com clorose/necrose. Em 1,07 mg L⁻¹ a mortalidade foi de 23,3%; 3,44 mg L⁻¹ foi de 26,6%; em 11,19 mg L⁻¹ foi de 26,6%; em 36,40 mg L⁻¹ foi de 51,6%% de clorose/necrose; e em 118,0 mg L⁻¹ foi de 66,6%.

Para o clomazone também não foi possível realizar o cálculo da CL50;7d. No controle não ocorreu clorose/necrose. Em 0,10 mg L⁻¹ ocorreu 11,6% de plantas com clorose/necrose. Em 1,07 mg L⁻¹ a mortalidade foi de 10,0%; 3,44 mg L⁻¹ e em 11,19 mg L⁻¹ foi de 20,0%; em 36,40 mg L⁻¹ foi de 15,0% de clorose/necrose; e em 118,0 mg L⁻¹ foi de 56,6%. Foi considerada praticamente não tóxica com CL50>100,0 mg L⁻¹, similar ao trabalho realizado por SILVA et al., (2012).

CONCLUSÕES

Com base nos resultados conclui-se que, a *Azolla caroliniana* não possui sensibilidade aos herbicidas devido a impossibilidade de realizar o cálculo da concentração letal e, *Lemna*

minor pode ser empregada no monitoramento de herbicidas à base de bentazona, atrazine e clomazone pela grande sensibilidade deste organismos na detecção desses agrotóxicos.

AGRADECIMENTOS

Primeiro Autor, bolsista de iniciação científica da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, proc. 2013/10462-1.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

HAMILTON, M.A. et al. Trmed Spearman-Karber method for estimating medial lethal concentrations in toxicoty bioassays. **Environ. Scien. Techonol.** v. 7, p. 714-719, 1977.

JARDIM, I.C.S.F. et al. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global – um enfoque às maçãs. **Quim. Nova**, v. 32, n. 4, p. 996-1012, 2009.

LANDOLT, E.et al. The family of Lemnaceae – a monographic study: phytochemistry, physiology, application, bibliography. Biosystematic investigation the family of duckweeds.Stifung Rubel: Veroffenteichungendes Geobotanischen Institutes der ETH, Zurich, v.4, 638 p., 1987.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-APERATION AND DEVELOPMENT – OECD. **Guidelines for the testing of chemicals, Lemna sp. Growth inhibition test.** Paris-França: 2002. 22 p.

SILVA, A.F. et al. Ecotoxicidade de herbicidas para a macrófita aquática (*Azolla caroliniana*). **Planta Daninha**, v. 30, n. 3, p. 541-546, 2012.

USEPA, United State of America agency environmental protection. **Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms**, 275 p. 2002.

ZUCKER, E. Hazard Evaluation Division - Standard Evaluation Procedure. Acute toxicity test for freshwater fish. (USEPA Publication 540/9-85-006); 1985.