

TOXICIDADE DOS HERBICIDAS CLOMAZONE E QUINCLORAC PARA O INVERTEBRADO AQUÁTICO *Daphnia similis* NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE SEDIMENTO

CLAUDIO MARTÍN JONSSON *
ALINE DE HOLANDA NUNES MAIA *

O Clomazone e o Quinclorac são dois herbicidas amplamente utilizados na região sul do Brasil em cultivo de arroz irrigado. A contaminação de corpos de água por estes produtos pode ocorrer a partir das áreas de cultivo com conseqüente impacto na fauna aquática. A toxicidade aguda destes herbicidas foi avaliada pela exposição do invertebrado aquático *Daphnia similis*, em sistemas na presença e ausência de sedimento, e aplicação dos produtos mediante dois procedimentos. Com relação ao Clomazone os resultados foram: CE50-48h de 11,28 a 21,7 mg/L e de 1,51 mg/L, respectivamente, para o sistemas com sedimento e sem sedimento. Para o Quinclorac, os valores de CE50-48h registrados foram equivalentes a 264,7 mg/L (na ausência de sedimento) e 114,22-140,39 mg/L (na presença de sedimento).

1 INTRODUÇÃO

Devido a sua ampla distribuição e natureza tóxica, os herbicidas podem causar sério impacto no ecossistema aquático e exercer efeitos adversos nos organismos associados a este compartimento ambiental (2).

O Clomazone (2-(2-chlorofenil)metil-4,4-dimetil-isoxazolidinona) e o Quinclorac (ácido 3,7-dicloro-8-quinolil carboxílico) são dois herbicidas amplamente utilizados na região sul do Brasil em cultivo de arroz irrigado com atividade contra gramíneas (1, 4), sendo que a contaminação de mananciais por estes produtos pode ocorrer a partir das áreas de cultivo.

Em cultivos de arroz irrigado, os herbicidas, assim como outros agrotóxicos, podem sofrer partição entre a fase aquosa e o solo. Este fenômeno depende das propriedades físicas e químicas do solo, da água e da natureza da molécula. Portanto, assume-se que a disponibilidade dos herbicidas para os organismos aquáticos, e por sua vez o potencial destes

* Pesquisadores II, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, Brasil.
(e-mail:jonsson@cnpma.embrapa.br / ahmaia@cnpma.embrapa.br).

produtos em manifestar efeitos adversos, são afetados pela partição das moléculas entre as fases aquosa e sólida (6, 15).

No presente trabalho comparou-se a toxicidade dos herbicidas Clomazone e Quinclorac pela exposição do invertebrado aquático *Daphnia similis* em diferentes sistemas, na presença ou ausência de sedimento, associados a dois métodos de aplicação dos produtos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL-TESTE

Utilizaram-se os dois herbicidas sob a forma de produtos comerciais em duas formulações: Clomazone (concentrado emulsionável contendo 50% i.a., Gamit^R, FMC do Brasil Ind. e Com.) e Quinclorac (pó contendo 50% i.a., FACET^R, BASF Brasileira S.A. Ind.Quim.).

2.2 ORGANISMO-TESTE

Culturas do invertebrado aquático *Daphnia similis* foram mantidas em cristalizadores de vidro de 2 L, contendo água reconstituída (pH=7,8; condutividade = 320 uS/cm; dureza total = 110 mg CaCO₃/L), preparada conforme procedimento recomendado por HOSOKAWA et al. (9) e enriquecida com macronutrientes, elementos traço e vitaminas (3). Os recipientes foram mantidos em sala climatizada, com temperatura controlada de 20±2 °C e luminosidade de 1000 lux.

Os organismos foram alimentados três vezes por semana com cultura de microalga clorofícea *Selenastrum capricornutum*.

2.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

O sedimento empregado correspondeu ao solo de uma das parcelas experimentais, usadas como controle pela Estação Experimental Terras Baixas, pertencente à EMBRAPA Clima Temperado (Pelotas, RS), utilizada na realização de estudos em arroz irrigado e isenta de possível contaminação por agrotóxicos.

Numa série de recipientes (sistema de exposição), constituída por béqueres de vidro de 50 mL, que não continham sedimento foram preparadas soluções-teste, diluindo-se alíquotas de soluções estoque dos herbicidas em água reconstituída (SISTEMA 1). Neste sistema, assim como nos outros, as soluções-teste continham concentrações crescentes dos ingredientes ativos.

Em outras duas séries de recipientes foram colocados 5,0 g de sedimento coletado até profundidade de 10 cm, com as seguintes características: pH = 5,4; %C = 0,48; %argila = 19; densidade = 1,58 g/cm³; %macroporosidade = 5,62; %microporosidade = 30,37 e %porosidade total = 36,69.

Foram adotados dois procedimentos de adição de cada um dos herbicidas nos recipientes, contendo sedimento. Em uma série de recipientes adicionaram-se sobre o sedimento pequenas alíquotas (5 mL como máximo) de solução aquosa, contendo o herbicida, de modo a incorporar homogeneamente o ingrediente ativo ao sedimento. Após o período de 15 minutos, completou-se o volume total de 20 mL, utilizando água reconstituída (SISTEMA 2). Em outra série de recipientes, alíquotas de 20 mL de água reconstituída, contendo o herbicida foram adicionados ao sedimento (SISTEMA 3).

Para cada um dos diferentes sistemas de ensaio foram preparados recipientes nos quais não se adicionou o herbicida e que serviram como controle.

As concentrações nominais dos herbicidas nos três sistemas variaram entre 5,0 a 52,4 mg/L e 50,0 a 500,0 mg/L de ingrediente ativo, respectivamente, para o Clomazone e Quinclorac. A escolha destas doses de exposição teve como base estudos preliminares de avaliação da toxicidade aguda.

Em cada um dos recipientes foram colocados 10 exemplares jovens de *Daphnia similis*, com idade inferior a 24 h. O ensaio teve três repetições.

Os organismos permaneceram durante 48 horas em condições semelhantes de luz e temperatura, utilizados na manutenção das culturas. No final do período de exposição os organismos foram avaliados quanto a sua mobilidade. Para cada sistema de exposição foi avaliada a concentração efetiva média (CE₅₀-48h), ou seja, a concentração de ingrediente ativo que afeta 50 por cento da população de organismos-teste.

2.4 AJUSTE DAS CURVAS DOSE-RESPOSTA

Inicialmente, as curvas dose-resposta para cada tratamento foram ajustadas pelo método de máxima verossimilhança (5), utilizando-se o módulo Proc PROBIT do System SAS® (14).

No ensaio com o herbicida Clomazone não foi possível utilizar o modelo probit no tratamento referente ao sistema 2, que não apresentou nenhuma dose com mortalidade parcial. Neste caso, a CE50 foi estimada pelo método binomial (16). Nos ensaios com Quinclorac não foi possível ajustar o modelo probit pelo método de máxima verossimilhança para o tratamento referente ao sistema 2, possivelmente devido ao pequeno

número de doses, que resultaram em porcentagem de imobilidade parcial (entre 0 e 100%).

Devido à inadequação do modelo probit para estimar as curvas dose-resposta, em alguns tratamentos, foi então utilizado o método Spearman-Kärber para estimar as CE50 e respectivos limites fiduciais (18). Este método exige que a resposta correspondente à menor dose seja 0% e na mais alta 100%. Além disso, para cálculo dos limites fiduciais é necessário a existência de pelo menos uma dose com resposta parcial, neste caso, porcentagem de imobilidade entre 0 e 100, exclusive.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são apresentados os valores de CE50-48h para os dois herbicidas nos diferentes sistemas de exposição. Segundo os valores de CE50-48h estimados nestes ensaios, os herbicidas Clomazone e Quinclorac apresentaram-se como moderadamente e praticamente não tóxicos, respectivamente, para o organismo-teste (17). Em ensaios anteriormente realizados com Clomazone e o mesmo organismo-teste (10), o valor de CE50-48h estimado foi equivalente a 13,8 (10,7-17,2) mg/L. Esta diferença no padrão de toxicidade de Clomazone para *D. similis* poderia ser atribuída a mudanças na susceptibilidade por parte das várias culturas de *D. similis* realizadas ao longo do tempo, já que aqueles ensaios foram conduzidos em 1995.

TABELA 1 - ESTIMATIVAS DE CE50-48h PARA OS HERBICIDAS CLOMAZONE E QUINCLORAC EM *Daphnia similis* E SEUS RESPECTIVOS LIMITES FIDUCIAIS INFERIOR (LI) E SUPERIOR (LS) DE 95%, NOS DIFERENTES SISTEMAS DE EXPOSIÇÃO

CLOMAZONE			
TRATAMENTO	CE ₅₀ -48h (mg/L)	LI	LS
SISTEMA 1	1,51	1,40	1,64
SISTEMA 2	21,70 ⁽¹⁾	16,20	29,10
SISTEMA 3	11,28	10,25	12,21

QUINCLORAC			
TRATAMENTO	CE ₅₀ -48h (mg/L)	LI	LS
SISTEMA 1	264,73	230,25	304,36
SISTEMA 2	114,22	107,90	120,90
SISTEMA 3	140,39	124,09	158,84

⁽¹⁾ CE₅₀ estimada pelo método binomial. O nível de confiança do intervalo fiducial é superior a 99,80%.

Comparando-se as toxicidades dos dois herbicidas observa-se que na ausência de sedimento, o Clomazone é aproximadamente 175 vezes mais tóxico que o Quinclorac. Esta maior toxicidade do Clomazone em relação ao Quinclorac é menos acentuada para as exposições em que os herbicidas foram diretamente adicionados ao sedimento (SISTEMA 2), ou quando foram previamente solubilizados em água reconstituída (SISTEMA 3) antes da incorporação ao mesmo (12,4 e 5,5 vezes mais tóxico que o Quinclorac, respectivamente).

Os valores calculados de CE_{50} -48h indicaram que a presença de sedimento exerceu diminuição no efeito tóxico para o herbicida Clomazone. Por outro lado, o Quinclorac demonstrou maior toxicidade nos recipientes contendo sedimento, sendo esta mais acentuada quando a incorporação deste composto foi realizada diretamente no sedimento.

Os dados demonstraram que houve redução na toxicidade de Clomazone de aproximadamente 7,5 vezes, quando o herbicida solubilizado no meio foi adicionado ao sedimento. Esta redução tornou-se mais intensa (aproximadamente 14 vezes) quando o herbicida foi diretamente adicionado ao sedimento, antes da incorporação de água.

Contrariamente ao observado para o Clomazone, a exposição de *D. similis* ao Quinclorac provocou aumento na toxicidade de aproximadamente 1,9 vezes, quando o composto solubilizado no meio foi posteriormente adicionado ao sedimento. Quando o herbicida foi diretamente adicionado ao sedimento, antes da incorporação de água, o aumento foi de $\pm 2,3$ vezes.

A importância da presença de material particulado, em suspensão ou não, sobre a biodisponibilidade e toxicidade de grande variedade de contaminantes sobre diversas formas de espécies aquáticas tem sido estudada (8, 13). HARTMAN & MARTIN (7) observaram diferença na taxa de imobilidade de *Daphnia pulex* exposta ao inseticida Carbofuran e ao herbicida Atrazina, em sistemas de exposição sem sedimento e com sedimento. Constataram que a toxicidade diminuiu aproximadamente 1,3 vezes no sistema contendo sedimento. Em ensaios conduzidos com a macrófita aquática *Lemna minor*, o herbicida Glifosato, na presença de sedimento em suspensão, demonstrou claramente ser menos tóxico quando comparado a concentrações do herbicida na ausência de sedimento. Nesta situação, o valor calculado de CE_{50} foi de 2,0 mg/L, enquanto que na presença de sedimento foram registrados valores de CE_{50} superiores a 10 mg/L (6). KNEZOVICH & INOUYE (11) constataram que, a acumulação de agente surfactante em brânquias de peixes pode diminuir em até aproximadamente 14 vezes, em ambiente contendo sedimento. A maioria dos estudos indica que o sedimento influencia a toxicidade aguda ou a bioconcentração de agentes químicos, de modo que a redução do efeito é causada pelo fenômeno de adsorção ao material particulado, que por sua vez diminui a biodisponibilidade para o organismo-teste. No presente trabalho, a qualidade dos resultados

apresentados no três sistemas de exposição, associados ao Clomazone, poderia ser explicada por tal fenômeno, sendo que a redução da toxicidade mais drástica foi apresentada no sistema 1, em que o herbicida foi incorporado diretamente ao sedimento.

HARTMAN & MARTIN (6) constataram que a ação deletéria de agrotóxicos pode também aumentar na presença de sedimento. Tais autores determinaram valores de CE50-48h do herbicida Glifosato para *Daphnia pulex* equivalentes a 3,2 (3,0-3,4) mg/L e 7,9 (7,2-8,6) mg/L em sistemas com e sem sedimento, respectivamente. Em outro experimento, observaram que a população total de *D. pulex* foi significativamente reduzida quando exposta ao Glifosato em todas as concentrações testadas (1 a 4 mg/L) na presença e ausência de sedimento. Porém constataram que houve menor redução no número total de organismos jovens produzidos nas soluções do herbicida que não continham sedimento. De acordo com estes autores, o Glifosato, juntamente com o material particulado pode ter sido ingerido pelo organismo-teste, que é um invertebrado filtrador, tornando-se mais tóxico por esta via de exposição. Tais considerações sugerem que no presente trabalho a ingestão de material sedimentar, contendo partículas de Quinclorac, possa ter sido de extrema importância para expressar a toxicidade deste herbicida. Este fenômeno, que não foi observado para o Clomazone, sugere que diferentes mecanismos estejam envolvidos na manifestação da toxicidade dos dois herbicidas em *D. similis*. Propriedades físico-químicas diferentes dos dois compostos, tais como o coeficiente de partição octanol/água (Kow), 350 para o Clomazone e 0,07 para o Quinclorac (19), e a solubilidade em água (1,1 mg/L para o Clomazone e 0,065 mg/L para o Quinclorac (19), talvez possam auxiliar na explicação do ocorrido. O Kow é diretamente proporcional à toxicidade de pesticidas para organismos aquáticos e a solubilidade em água é inversamente proporcional à afinidade pelo sedimento (12). Assim, a maior toxicidade apresentada pelo Clomazone em relação ao Quinclorac seria justificada pelo maior Kow do primeiro. Por sua vez, o Quinclorac ao apresentar menor solubilidade em água, teria maior tendência em se adsorver no sedimento, e portanto, estaria mais disponível ao ingresso no organismo-teste pela ingestão de material particulado.

4 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados apresentados no presente trabalho pode-se concluir que, tanto na presença, quanto na ausência de sedimento, o herbicida Clomazone é mais tóxico que o Quinclorac para o microcrustáceo *Daphnia similis*. A toxicidade do primeiro é diminuída na presença de sedimento, enquanto que a do segundo é aumentada.

A toxicidade dos herbicidas para os organismos aquáticos não-alvo parece estar mais relacionada à natureza química do composto do que ao sistema de manejo das culturas de arroz irrigado, seja pela incorporação dos produtos diretamente sobre o solo, com posterior inundação da área, seja pela incorporação dos produtos diretamente na água em área previamente inundada.

Abstract

Clomazone and Quinclorac are two herbicides widely used in flooded rice cultures of the southern region of Brazil. The aquatic contamination by these products may occur from the growing areas of the crops with consequent impact in the aquatic fauna. The acute toxicity of the herbicides was evaluated by the exposure of the aquatic invertebrate *Daphnia similis*, in systems in presence and absence of sediment, and by the application of the products by two different procedures. The results in relation to Clomazone showed values of EC50-48h of 11,28 to 21,7 mg/L and of 1,51 mg/L, respectively, for the systems with and without sediment. For the Quinclorac, the values of EC50-48h registered were equivalent to 264,7 mg/L (in the absence of sediment) and 114,22-140,39 mg/L (in the presence of sediment).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ANDRES, A., MENEZES, V.G., OLIVEIRA, J.C.S. de, SOUZA, P.R. de, OLIVEIRA, M.A.B. Controle de capim arroz (*Echinochloa crusgalli*) e rendimento de grãos de arroz em três épocas de irrigação após a aplicação de herbicidas. In: REUNIÃO DA CULTURA DE ARROZ IRRIGADO, 22., Balneário Camboriú, 1997. **Anais...** Balneário Camboriú : EPAGRI/IRGA/ EMBRAPA/CPACT, 1997. p. 423-425.
- 2 BOWMER, K.H. Herbicides in surface waters. In: HUTSON, D.H., ROBERTS, T.R. **Herbicides**. New York : John Wiley, 1987. Cap. 9, p. 271-355.
- 3 ELENDET, B.P., BIAS, W.R. Trace nutrient deficiency in *Daphnia magna* cultured in standard medium for toxicity testing. Effects of the optimization of culture conditions on life history parameters of *D. Magna*. **Water Research**, Elmsford, v. 24, n. 9, p. 1152-1167, 1990.
- 4 EPAGRI. **Sistema de produção de arroz irrigado em Santa Catarina (pré-germinado)**. Florianópolis, 1998. 79 p. (EPAGRI. Sistemas de Produção, 32).

- 5 FINNEY, D.J. **Probit analysis**. 3. ed. Cambridge : Cambridge University Press, 1971. 333 p.
- 6 HARTMAN, W.A., MARTIN, D.B. Effect of suspended bentonite clay on the acute toxicity of glyphosate to *Daphnia pulex* and *Lemna minor*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, Lake Alfred, v. 33, p. 355-361, 1984.
- 7 HARTMAN, W.A., MARTIN, D.B. Effects of four agricultural pesticides on *Daphnia pulex*, *Lemna minor*, and *Potamogeton pectinatus*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, Lake Alfred, v. 35, p. 646-651, 1985.
- 8 HONGVE, D., SKOGHEIM, O.K., HINDAR, A., ABRAHAMSEN, H. Effects of heavy metals in combination with NTA, humic acid, and suspended sediment on natural phytoplankton photosynthesis. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, Lake Alfred, v. 25, p. 594-600, 1980.
- 9 HOSOKAWA, M., ENDO, G., KURODA, K., HORIGUCHI, S. Influence of sulfate, Ca and Mg on the acute toxicity of potassium dichromate to *Daphnia similis*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, Lake Alfred, v. 46, p. 461-465, 1991.
- 10 JONSSON, C.M., MAIA, A.H.N., FERREIRA, C.J.A., RIBEIRO, E.O. Risk assessment of the herbicide Clomazone in the aquatic life. **Verhandlungen des Internationalen Vereins de Limnologie**, Stuttgart, v. 26, p. 1724-1726, 1997.
- 11 KNEZOVICH, J.P., INOUE, L.S. The influence of sediment and colloidal material on the bioavailability of a quaternary ammonium surfactant. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Orlando, v. 26, p. 253-264, 1993.
- 12 MURTY, A.S. **Toxicity of pesticides to fish**. Boca Raton : CRC Press, 1986. p.13 e101.
- 13 PESCH, C.E., MORGAN, D. Influence of sediment in copper toxicity tests with the polychaete *Neanthes arenaceodentata*. **Water Research**, Elmsford, v. 12, p. 747-751, 1978.
- 14 SAS Institute Inc. **SAS/STAT[®] user's guide, version 6**. 4.ed. Cary, NC, 1989. v.2, p. 1325-1350.

- 15 SPRAGUE, J.B. Factors that modify toxicity. In: RAND, G.M., PETROCELLI, S.R. **Fundamentals of aquatic toxicology**. Washington : Hemisphere, 1985. Cap. 6, p. 124-163.
- 16 STEPHAN, C.E. Methods for calculating an LC50. In: MEYER, F.L., HAMELINK, J.L. **Aquatic toxicology and hazard evaluation: ASTM STP 634**. Philadelphia : American Society for Testing and Materials, 1977. p. 76-78.
- 17 USEPA. Hazard Evaluation Division. Standard Evaluation Procedure. **Acute toxicity test for estuarine and marine organisms**. Washington : EPA, 1985. (EPA-540 / 9 -85-009).
- 18 USEPA. Environmental Monitoring Systems Laboratory. **Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms**. 4.ed. Cincinnati : EPA, 1991. (EPA-600/4-90-027).
- 19 WORTHING, C.R., HANCE, R.J. (Ed.). **The pesticide manual: a world compendium**. Surrey : British Crop Protection Council, 1991. 1141 p.

Agradecimentos

Ao Dr. Manoel Dornelas de Souza pelos dados fornecidos sobre as características do sedimento.