

## Plantas indicadoras de clomazone na fase vapor

### Plants sensitive to clomazone in vapor phase

Fábio Schreiber<sup>I</sup> Luis Antonio de Avila<sup>II</sup> Ananda Scherner<sup>I</sup> Diogo Da Silva Moura<sup>I</sup>  
Diogo Balbé Helgueira<sup>I</sup>

#### RESUMO

*A volatilização representa um processo importante no deslocamento de agrotóxicos para o ambiente. As características físico-químicas da molécula do clomazone indicam que este possui potencial de volatilização. Em vista do exposto, para a realização deste estudo, foram conduzidos dois experimentos com o objetivo de avaliar a suscetibilidade das espécies: pepino, melão, milho, sorgo e arroz a diferentes formulações do herbicida clomazone na fase vapor. Para isso, foram utilizadas caixas de vidro hermeticamente fechadas, com a presença de diferentes formulações de clomazone e as espécies vegetais. As formulações utilizadas foram Gamit 360 CS<sup>®</sup>, Gamit 500 EC<sup>®</sup> e Gamit Star<sup>®</sup>. Com os resultados obtidos, foi possível concluir que, dentre as espécies avaliadas, independente da formulação utilizada, a de menor tolerância ao herbicida clomazone na fase vapor foi o sorgo, seguido do milho e do arroz.*

**Palavras-chave:** fitotoxicidade, Gamit<sup>®</sup>, herbicida, volatilização.

#### ABSTRACT

*Volatilization represents an important transport process of pesticides for the environment. The clomazone physico-chemical properties indicate that molecule has the potential of volatilization. Therefore, for this study two experiments were carried with the objective of evaluating the species susceptibility: cucumber, melon, corn, sorghum and rice to different formulations of the herbicide clomazone in the vapor-phase. Glass boxes were used with the presence of clomazone formulations and plant species. The formulations used were Gamit 360 CS<sup>®</sup>, Gamit 500 EC<sup>®</sup> and Gamit Star<sup>®</sup>. As a main result it was conclude that among the species that were tested, independent of the formulation used, the lowest tolerance to clomazone herbicide in the vapor phase was sorghum, followed by corn and rice.*

**Key words:** herbicide injury, Gamit<sup>®</sup>, herbicide, volatilization.

#### INTRODUÇÃO

A volatilização representa o resultado global de todos os processos físico-químicos pelo

qual um composto é transferido da solução do solo e/ou da superfície das plantas para a atmosfera (BEDOS et al., 2002). Uma vez na atmosfera, o agrotóxico poderá ser transportado a grandes distâncias, e ser novamente depositado à superfície por meio do vento (deposição seca) e/ou por deposição úmida (chuva, orvalho, neve e neblina) (GAVRILESCU, 2005), podendo esse herbicida, na fase de vapor, contaminar o ambiente e atingir organismos não alvo. No meio ambiente, os agrotóxicos podem afetar e contaminar a biota, a qualidade da água e do ar, a produtividade e a qualidade final dos alimentos de origem animal e vegetal, podendo torná-los impróprios para o consumo.

O clomazone {2-[(2-chlorofenyl)methyl]-4,4-dimethyl-3-isoxazolidinona}, comercializado com os nomes de Gamit Star<sup>®</sup>, Gamit 500 EC<sup>®</sup> e Gamit 360 CS<sup>®</sup>, é um herbicida seletivo, utilizado em pré ou pós-emergência inicial no controle de várias plantas daninhas, na cultura do arroz irrigado no Sul do Brasil (ANDRES & MACHADO, 2004). É também utilizado em culturas como a soja, mandioca, cana-de-açúcar e algodão. O Gamit<sup>®</sup>, devido as suas características físico-químicas, apresenta considerável pressão de vapor (SENSEMAN, 2007) e potencial de volatilização (RODRIGUES & ALMEIDA, 2005).

Esse herbicida pertence ao grupo químico das isoxazolidinonas, atuando indiretamente no processo da fotossíntese, inibindo a enzima deoxixilulose fosfato sintase (DXP sintase), responsável pela síntese de isoterpenoides, precursores básicos dos carotenoides (FERHATOGLU &

<sup>I</sup>Programa de Pós-graduação em Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, RS, Brasil.

<sup>II</sup>Departamento de Fitossanidade, UFPel, 96010-900, Pelotas, RS, Brasil. E-mail: laavilabr@gmail.com. Autor para correspondência.

BARRET, 2006), os quais possuem a função de proteção da clorofila à foto-oxidação. O sintoma visual dá-se nas folhas das plantas sensíveis que perdem a coloração verde, tornando-se brancas, gerando o sintoma característico desse grupo de herbicidas (SENSEMAN, 2007). Assim, uma das principais formas de avaliar a seletividade ou a tolerância desse herbicida nas plantas é através de sintomas de fitotoxicidade.

Porém, para que o herbicida exerça a sua ação, não basta simplesmente atingir as folhas e/ou ser aplicado no solo, pois a tolerância da planta a um determinado herbicida ocorre de acordo com a absorção, a translocação, o metabolismo e a sensibilidade da planta a este e/ou a seus metabólitos. Assim, há necessidade de que o produto penetre na planta, transloque e atinja a organela onde irá atuar. Já a metabolização é uma das ferramentas utilizadas pelas plantas para a detoxificação dos herbicidas, embora algumas vezes estes possam ser ativados por esse mecanismo, como no caso do clomazone. Por isso, diferentes espécies de plantas podem ter tolerância diferenciada a cada tipo de formulação do herbicida.

Uma técnica acessível para informar sobre um possível problema de contaminação do ecossistema, por ser de baixo custo e de fácil realização (NUNES & VIDAL, 2009), é a utilização de bioindicadores. Esses são organismos, animais ou vegetais, com potencial de sofrer alterações nas suas funções vitais ou composição química (ARNDT & SCHWEIZER, 1991), indicando a presença de determinado contaminante no ambiente.

Em vista do exposto, para a realização deste estudo, foram conduzidos dois experimentos, com o objetivo de avaliar a suscetibilidade das espécies: pepino, melão, milho, sorgo e arroz a diferentes formulações do herbicida clomazone na fase vapor.

## MATERIAL E MÉTODOS

O primeiro experimento foi desenvolvido no mês de fevereiro e repetido em março de 2011, em câmara com ambiente controlado e consistiu de um estudo exploratório para selecionar espécies indicadoras da presença do herbicida na fase vapor. As temperaturas diurna e noturna adotadas foram de 25 e 20°C, respectivamente, com uma fotofase de 12 horas. O experimento foi arranjado no delineamento de blocos casualizados com três

repetições. Os tratamentos foram constituídos pelas espécies vegetais: milho, sorgo, pepino, melão, arroz (sem tratamento de sementes) e arroz tratado com o protetor de sementes Dietholate (Permit Star®) na dose de 0,6L 100kg<sup>-1</sup> de sementes. As unidades experimentais foram constituídas por linhas das culturas e o bloco por caixas de vidro com dimensões de 25, 30 e 20cm de altura, comprimento e largura, respectivamente.

O segundo estudo foi realizado em dois períodos: outubro de 2011 (época 1) e repetido em novembro de 2011 (época 2). Arranjado em delineamento inteiramente casualizado com parcelas subdivididas com três repetições, em esquema fatorial (3x3), em que as parcelas foram as diferentes formulações do herbicida clomazone e as subparcelas as espécies vegetais. O fator A foi constituído pelas formulações do herbicida clomazone: Gamit 360 CS® (clomazone 360g i.a. L<sup>-1</sup>), Gamit 500 EC® (clomazone 500g i.a. L<sup>-1</sup>) e Gamit Star® (clomazone 800g i.a. L<sup>-1</sup>), além da testemunha, sem a presença de herbicida, e o fator B pelas espécies vegetais: milho, sorgo e arroz. Cada unidade experimental foi composta por duas linhas de cada espécie, localizadas dentro de caixas de vidro com dimensões de 30, 20 e 45cm de comprimento, largura e altura respectivamente.

Tanto no primeiro experimento como no segundo, as caixas foram preenchidas com aproximadamente 22kg de solo previamente destorroado e peneirado, correspondendo a 20cm de altura na caixa. O solo não tinha histórico de aplicação de herbicidas nos últimos cinco anos, e foi coletado do horizonte A de uma área de várzea, sendo classificado como Planossolo Hidromórfico eutrófico solódico (Unidade de Mapeamento Pelotas). As diferentes espécies foram semeadas em linhas espaçadas de cinco cm, contendo dez sementes por linha. Após a emergência das plantas, procedeu-se o desbaste, selecionando cinco plantas por linha.

Aos sete dias após a semeadura, no interior de cada caixa, foram distribuídos uniformemente seis copos plásticos de 80mL de capacidade com 30g de solo, quando, posteriormente, foi feita a aplicação das diferentes formulações do herbicida clomazone, com auxílio de pipetas graduadas, na concentração correspondente a 960g ha<sup>-1</sup> de ingrediente ativo. No primeiro experimento, foi aplicado somente o herbicida clomazone (Gamit 500 EC®), já no segundo, cada caixa de vidro

recebeu apenas um tipo de formulação. O uso de copos plásticos teve por finalidade evitar a absorção radicular do herbicida pelas plantas e somente avaliar o efeito da volatilização. Após a aplicação do herbicida nos copos, as caixas foram hermeticamente fechadas a fim de se evitar as perdas de herbicida para o ambiente. Após um período de 72 horas de exposição, as caixas foram abertas e retirados os copos plásticos para evitar exposição continuada às plantas. As temperaturas médias diárias no segundo experimento foram coletadas com o auxílio de um *Data Logger*, que foi instalado na Casa de Vegetação, provido de sensores de temperatura do ar calibrados para realizar coletas automáticas a cada 15 minutos, durante todo o período dos experimentos.

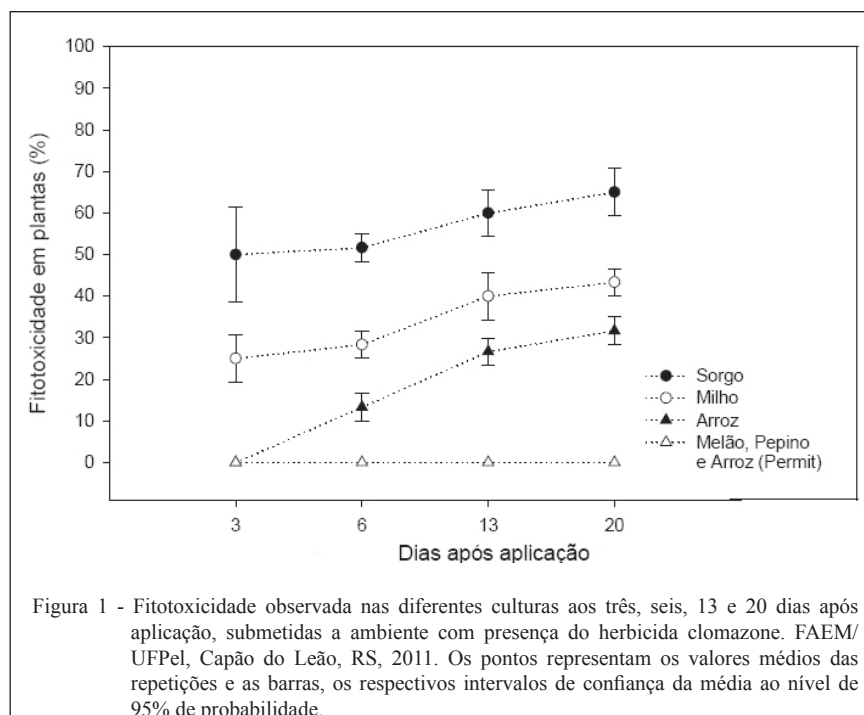
No primeiro experimento, a variável avaliada foi a fitotoxicidade, observada visualmente nas plantas aos três, seis, 13 e 20 dias após aplicação do herbicida (DAA). No segundo experimento, as variáveis avaliadas foram fitotoxicidade observada visualmente nas plantas aos três, cinco, sete, 10, 14, 20 e 24 dias após aplicação do herbicida (DAA), utilizando a escala percentual de zero a 100, onde zero representou ausência de sintomas (branqueamento) e 100 a morte das plantas, e massa da matéria seca da parte aérea (g) aos 24DAA. Para isso, o material vegetal colhido foi submetido à secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60°C, até se obter massa constante, quando foram pesadas.

Tanto no primeiro como no segundo experimento, os dados foram submetidos aos testes de normalidade e homogeneidade, sendo transformados em  $\sqrt{Y+0,5}$ , quando necessário por não apresentarem distribuição normal. Após, foram submetidos à análise da variância ( $P \leq 0,05$ ). Constatada significância, foi procedida comparação a partir dos dados de fitotoxicidade. Para isso, foi calculado o intervalo de confiança ao nível de 95% da formulação em estudo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No primeiro experimento, foi observada diferença significativa entre as espécies avaliadas quanto ao potencial indicador de clomazone na fase vapor. O sorgo foi a espécie que apresentou maior sensibilidade, seguido por milho e arroz (sem Dietholate). Já o tomate, o pepino e o arroz que tiveram a semente tratada com Permit Star® (Dietholate) não manifestaram sintomas de fitotoxicidade e, por isso, não apresentaram potencial para identificação da volatilização do herbicida (Figura 1).

O arroz tratado com Permit Star® (Dietholate) não apresentou sintoma de fitotoxicidade, pois o dietholate é um protetor utilizado no tratamento de sementes de arroz para evitar a ação do clomazone. Tal fato possui suporte na literatura, em que SANCHOTENE et al. (2010) concluem que



o uso do dietholate permite a utilização de até 2,5 vezes a dose recomendada de clomazone em arroz. O clomazone é considerado um pré-herbicida, não ativo, e necessita ser convertido a metabólitos ativos. Esse processo ocorre através de uma reação de oxidação, promovida pelos complexos enzimáticos chamados de citocromos P450 monooxigenases. Com a finalidade de aumentar a seletividade desse herbicida à cultura do arroz, tem-se utilizado o protetor de sementes dietholate, o qual se caracteriza por ser um inseticida organofosforado que possui a característica de inibição de citocromos P450 monooxigenases, implicando menores sintomas de fitotoxicidade às plantas (FERHATOGLU et al., 2005).

De modo geral, a seletividade de um herbicida à cultura está relacionada a uma série de fatores, como características do produto, das plantas e métodos de aplicação (OLIVEIRA, 2001). Com relação à tolerância diferenciada entre as plantas, pode-se afirmar que existem diferenças tanto morfológicas quanto fisiológicas entre as espécies, exibindo diferenciados obstáculos que afetam desde sua entrada na planta, sua translocação, tempo e intensidade de exposição de partes da planta ao obstáculo, assim como diferenças na metabolização do produto (DEUBER, 1992).

A diferença de seletividade do clomazone entre as culturas avaliadas pode estar relacionada às características morfológicas e genéticas entre as magnoliopsidas e liliopsidas, proporcionando diferenciadas respostas da enzima citocromo P450 monooxigenase, devido a diferentes famílias dessa enzima serem induzidas, bem como diferenças no próprio metabolismo desse herbicida. A partir desses resultados, foi possível selecionar as culturas mais sensíveis que foram sorgo milho e arroz, respectivamente.

No segundo experimento, tanto na primeira como na segunda época de condução (outubro e novembro, respectivamente), foi observada interação entre as espécies analisadas (arroz, milho e sorgo) e entre as formulações quanto ao efeito na fitotoxicidade. No entanto, para contemplar o objetivo do trabalho, foram apresentados somente os resultados de fitotoxicidade em função das espécies para cada formulação de clomazone.

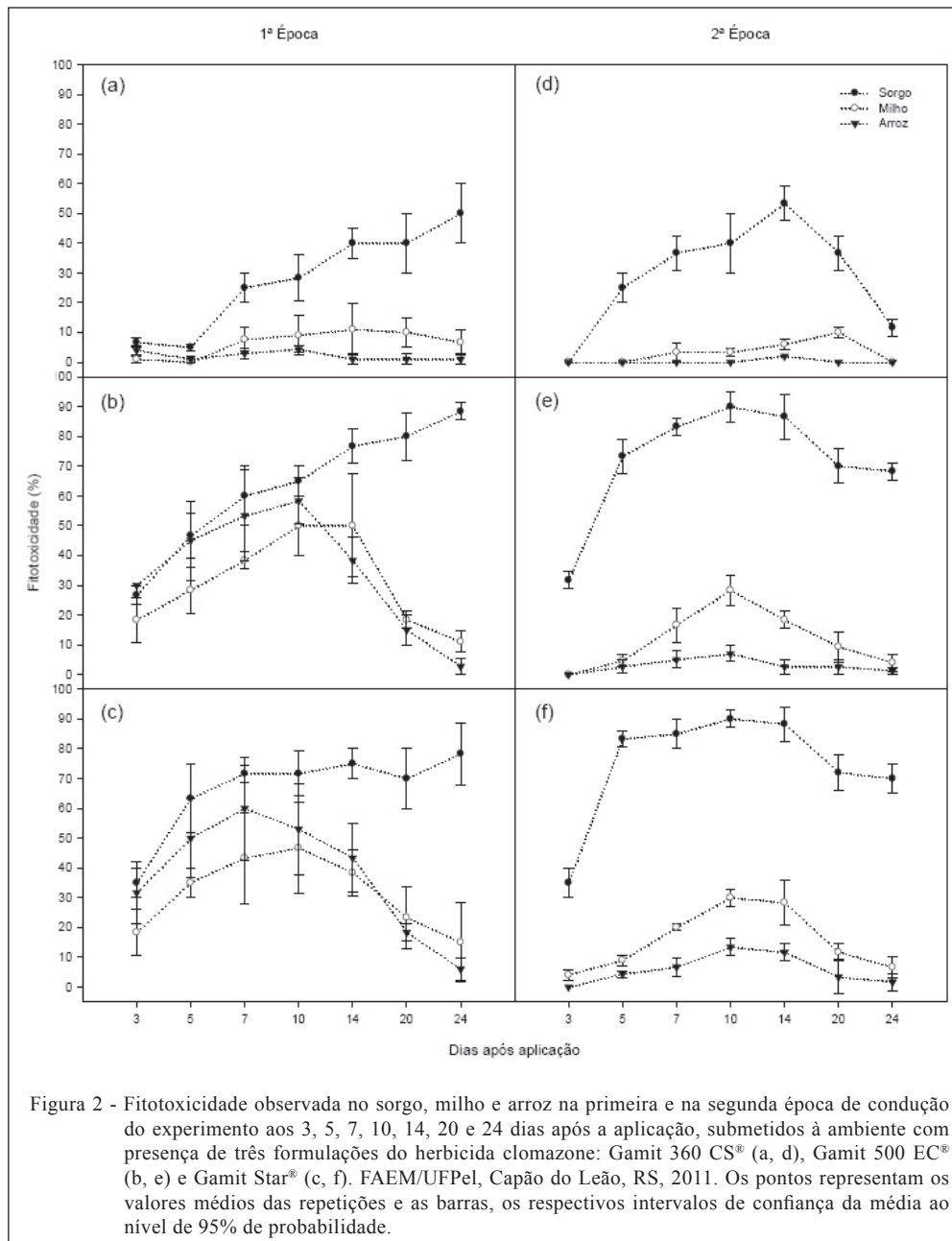
Em todas as culturas, foram observados sintomas de fitotoxicidade a partir dos 3DAA (Figura 2). No sorgo, a fitotoxicidade teve um aumento gradual durante o período de avaliação.

O milho e o arroz demonstraram potencial de recuperação dos sintomas de fitotoxicidade a partir dos 10DAA (Figura 2). Independente do tipo de formulação ou da época de semeadura, no geral, o sorgo foi a espécie que apresentou maior fitotoxicidade, seguido do milho e do arroz.

O efeito fitotóxico para o arroz e o milho foi mais intenso na primeira época, o que pode ser atribuído às menores temperaturas encontradas durante o mês de outubro (Figura 3). Temperaturas baixas causam menor ativação do herbicida, menor volatilização e, conseqüentemente, menor atividade das enzimas citocromos P450 monooxigenases, o que normalmente causaria menor fitotoxicidade. Porém, ao mesmo tempo, ocorre uma diminuição da fluidez de membranas, proporcionando decréscimo na taxa metabólica da planta e prejudicando a atividade de suas enzimas (MURATA & LOS, 1997), havendo decréscimo no processo de detoxificação do herbicida, o qual é baseado principalmente em reação de N-desalquilação, seguida por conjugação glicosídica (ELNAGGAR, 1992).

Foi observada interação entre os fatores estudados (espécies e formulações) para a variável redução da massa da matéria seca da parte aérea das plantas (Figura 4). O sorgo foi a espécie com maior redução dessa variável, sendo essa redução maior para as formulações de Gamit 500 EC<sup>®</sup> e Gamit Star<sup>®</sup>. O arroz teve pouca redução de massa da matéria seca da parte aérea quando comparado com a testemunha, sendo essa redução maior na primeira época com o Gamit 500 EC<sup>®</sup>. Na segunda época, não foram observadas diferenças entre a testemunha e as formulações no arroz, corroborando os dados de fitotoxicidade encontrados no presente trabalho. No milho, ao contrário do sorgo e do arroz, foi observado um aumento de massa da matéria seca da parte aérea quando comparado à testemunha, sendo que, para as formulações de Gamit 500 EC<sup>®</sup> e Gamit Star<sup>®</sup>, foi maior o incremento desse parâmetro. Esse fato ocorreu provavelmente devido ao efeito hormético, causado pelo herbicida nas plantas. Efeito hormético ocorre quando a substância considerada tóxica, em baixas doses, pode estimular a performance de organismos, ou como, neste caso, estimular o desenvolvimento vegetal (CALABRESE & BALDWIN, 2002). WAGNER (2003) observaram que o herbicida glyphosate em subdoses apresentou efeito hormético no milho, com o aumento da massa verde.

Características relacionadas às sementes das culturas, como o tamanho e o formato, também



podem influenciar na seletividade de herbicidas aplicados em pré-emergência, todavia são pouco estudadas. ANDERSEN (1970) verificou diminuição na biomassa seca da parte aérea de várias cultivares de soja, quando as sementes foram semeadas em solo que recebeu aplicações do herbicida atrazine, e que essa redução aumentava à medida que o tamanho das sementes das cultivares diminuía, concluindo que cultivares de soja que apresentam sementes grandes são mais tolerantes ao atrazine. A semente de milho, por possuir tamanho maior quando comparada com

arroz e sorgo, possui maiores reservas, as quais podem ser usadas para reverter os danos iniciais causados pelo herbicida clomazone em baixas doses, conseqüentemente, proporcionando maior tolerância e menor redução da massa da matéria seca.

## CONCLUSÃO

O melão, pepino e o arroz tratado com Permit não são bons indicadores de clomazone na fase vapor. Tanto para a formulação Gamit 360 CS®,

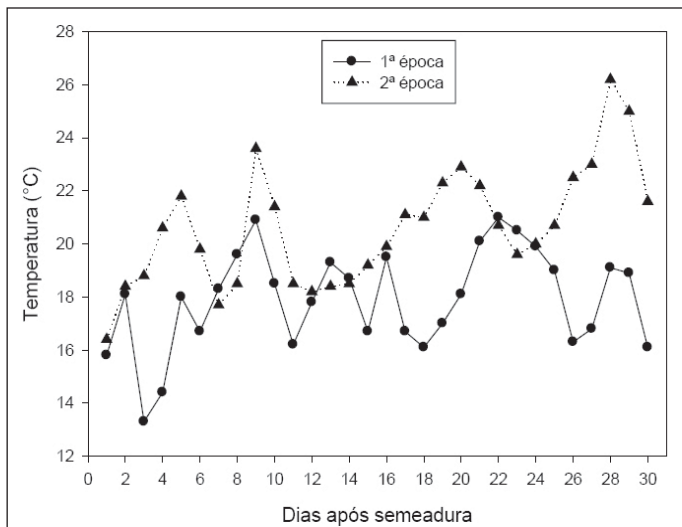


Figura 3 - Temperatura média diária do ar (°C) durante o período de condução (primeira e segunda épocas, outubro e novembro, respectivamente) dos experimentos, após a semeadura das espécies, coletadas com o auxílio de um Data Logger FAEM/UFPel, Capão do Leão, RS, 2011. Os pontos representam os valores médios diários da temperatura.

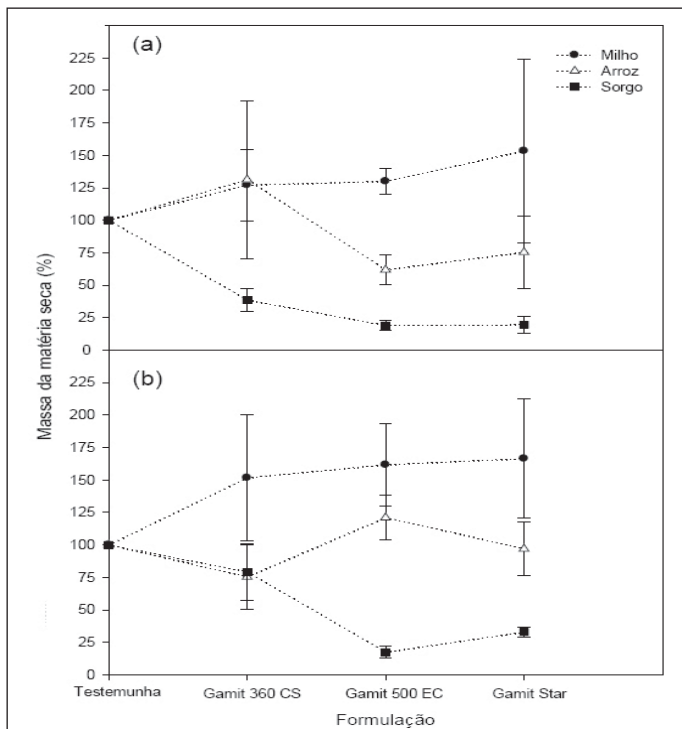


Figura 4 - Percentagem de massa da matéria seca da parte aérea observada na primeira (a) e na segunda (b) época de condução do experimento, em relação à testemunha, das espécies de arroz, milho e sorgo aos 24 dias após a aplicação, submetidas a ambiente com presença de três formulações do herbicida clomazone: Gamit 360 CS®, Gamit 500 EC® e Gamit Star®. FAEM/UFPel, Capão do Leão, RS, 2011. Os pontos representam os valores médios das repetições e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média ao nível de 95% de probabilidade.

Gamit 500 EC® e Gamit Star®, o sorgo é a espécie mais sensível ao clomazone presente na fase vapor (volatilizado), seguido de milho e arroz. A técnica utilizada demonstra-se eficiente na detecção de clomazone na fase vapor, além de ser de baixo custo.

## REFERÊNCIAS

- ANDERSEN, R.N. Influence of soybean seed size on response to atrazine. **Weed Science**, v.18, n.1, p.162-164, 1970. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/4041430>>. Acesso: 26 dez. 2012. doi: 10.2307/4041430.
- ANDRES, A.; MACHADO, S.L.O. Plantas daninhas em arroz irrigado. In: GOMES, A.S.; MAGALHÃES Jr., A.M. (Eds.). **Arroz irrigado no sul do Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. p.457-546.
- ARNDT, U.; SCHWEIZER, B. The use of bioindicators for environmental monitoring in tropical and subtropical countries. In: ELLENBERG, H. et al (Eds.). **Signals from the environment**. Vieweg, Eschborn: Biological monitoring, 1991. 298p.
- BEDOS, C. et al. Mass transfer of pesticides into the atmosphere by volatilization from soils and plants: overview. **Agronomie**, v.22, n.1, p.21-33, 2002. Disponível em: <<http://www.agronomy-journal.org/index.php?option=comarticle&access=standard&Itemid=129&url=/articles/agro/abs/2002/01/03/03.html>>. Acesso em: 23 dez. 2011. doi: 10.1051/agro:2001003.
- CALABRESE, E.J.; BALDWIN, L.A. Applications of hormones in toxicology, risk assessment and chemotherapeutics. **Trends in Pharmacological Sciences**, v.23, n.7, p.323-331, 2002. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165614702020345>>. Acesso em: 20 dez. 2011. doi: 10.1016/S0165-6147(02)02034-5.
- DEUBER, R. **Ciência das plantas daninhas: fundamentos**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. V.1, 431p.
- ELNAGGAR, S.F. Metabolism of clomazone herbicide in soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.40, n.5, p.880-883, 1992. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf00017a036>>. Acesso em: 15 nov. 2011. doi: 10.1021/jf00017a036.
- FERHATOGLU, Y. et al. The basic for safening of clomazone by phorate insecticide in cotton and inhibitors of cytochrome P450s. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.81, n.1, p.59-70, 2005. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048357504001099>>. Acesso em: 23 dez. 2011. doi: pii/S0048357504001099.
- FERHATOGLU, Y.; BARRET, M. Studies of clomazone mode of action. **Pesticide Biochemistry Physiology**, v.85, n.1, p.7-14, 2006. Disponível em: <<http://www.mendeley.com/research/studies-clomazone-mode-action/>>. Acesso em: 19 nov. 2011. doi: 10.1016/j.pestbp.2005.10.002.
- GAVRILESCU, M. Fate of pesticides in the environment and its bioremediation. **Engineering in Life Sciences**, v.5, n.6, p.497-526, 2005. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/elsc.200520098/pdf>>. Acesso em: 10 nov. 2011. doi: 10.1002/elsc.200520098.
- MURATA, N.; LOS, D.A. Membrane fluidity and temperature perception. **Plant Physiology**, v.115, n.3, p.875-879, 1997. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC158550/>>. Acesso em: 20 nov. 2011. doi: 10.1104/pp.115.3.875.
- NUNES, A.L.; VIDAL, R.A. Seleção de plantas quantificadoras de herbicidas residuais. **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v.19, n.1, p.19-28, 2009. Disponível em: <<http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs2/index.php/pesticidas/article/viewArticle/16550>>. Acesso em: 20 dez. 2011.
- OLIVEIRA JR., R.S. Seletividade de herbicidas e plantas daninhas. In: OLIVEIRA Jr., R.S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p.291-313.
- RODRIGUES, B.N.; ALMEIRA, F.S. **Guia de herbicidas**. Londrina: Edição dos autores, 2005. 697p. Disponível em: <<http://universoagrico.com.br/index.php/agricultura/culturas-1/guia-de-herbicidas-6a-edicao.html>>. Acesso em: 17 dez. 2011.
- SANCHOTENE, D.M et al. Efeito do protetor dietholate na seletividade de clomazone em cultivares de arroz irrigado. **Planta Daninha**. v.28, n.2, p.339-346, 2010. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-83582010000200013&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-83582010000200013&script=sci_arttext)>. Acesso em: 15 dez. 2012. doi: 10.1590/S0100-83582010000200013.
- SENSEMAN, S.A. **Herbicide handbook**. 9.ed. Lawrence: Weed Science Society of America, 2007. 458p.
- WAGNER, R. Phytotoxic activity of root absorbed glyphosate in corn seedlings (*Zea mays* L.). **Weed Biology and Management**, v.3, n.4, p.228-232, 2003. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1444-6162.2003.00110.x/abstract>>. Acesso em: 21 out. 2011. doi: 10.1046/j.1444-6162.2003.00110.x.