

FORMAÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO EM *Pontederia crassipes* MART. EXPOSTA AO HERBICIDA CLOMAZONE

EDUARDO DE BASTOS PAZINI¹; BIANCA JAQUELINE SANTOS RODRIGUES²;
JUNIOR BORELLA³; MARCOS ANTONIO BACARIN⁴

¹Universidade Federal de Pelotas – eduardobpazini@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – jaquelyne1949@hotmail.com

³Universidade Federal do Rio Grande - borellaj@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – bacarin@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

A poluição dos corpos d'água pelos agrotóxicos é atualmente uma das principais preocupações ambientais, resultando em impactos negativos para o meio ambiente e para espécies não-alvo, frequentemente comprometendo a qualidade da água e restringindo seu uso (Almeida et al., 2019). Os herbicidas são uma das classes encontradas dentro do grupo dos agrotóxicos, representando cerca de 70% do total de moléculas comercializados no mundo (Alengebawy et al., 2021).

Entre os herbicidas destaca-se, o Clomazone, composto amplamente utilizado em cultivos de arroz, soja, milho e cana-de-açúcar no Brasil (AGROFIT, 2023). O clomazone é um herbicida não ionizável, com alta solubilidade em água e moderadamente persistente (meia-vida média de 50 dias) (Ppdb, 2018). Essas características o tornam um grande contribuidor para a poluição de ambientes aquáticos. Atua inibindo a enzima 1-deoxi-xilulose 5-fosfatase sintase (DOXP), (Ferhatoglu; Barrett, 2006), impedindo a síntese dos carotenoides e, consequentemente, desencadeando a foto-oxidação das moléculas de clorofila (Ferhatoglu; Barrett, 2006). A redução no conteúdo de clorofilas pode ocasionar a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), devido ao escape de elétrons da cadeia de transporte da fotossíntese (Cobb, 2021). Dentre as EROs, destacam o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) que em altas concentrações promovem o estresse oxidativo nas plantas (Ivanov et al., 2018; Gao et al., 2019).

Uma alternativa viável para amenizar os efeitos dos herbicidas em ambientes aquáticos é a fitorremediação, técnica que utiliza plantas para remover, acumular e, ou degradar compostos tóxicos de solos, corpos hídricos e ar (Lacerda et al., 2021; Sharma et al., 2023). Uma espécie amplamente reconhecida por seu potencial fitorremediador é a macrófita *P. crassipes* (aguapé), demonstrando fácil capacidade de desenvolvimento em ambientes estressantes (De Laet et al., 2019; Santos et al., 2022). Este trabalho teve como objetivo quantificar os teores de espécies reativas de oxigênio em plantas de aguapé expostas ao herbicida clomazone.

2. METODOLOGIA

As plantas de *P. crassipes* foram coletadas manualmente em um lago na zona urbana do município de Pelotas-RS. As plantas selecionadas por peso e tamanho similares foram aclimatadas por 30 dias em vasos plásticos não furados contendo solução nutritiva de Hoagland 1/3 da força (Hoagland; Arnon, 1950). O

herbicida utilizado foi o Clomazone {GAMIT® 360 CS [360 g L⁻¹; 36% m/v (relação entre massa e volume, em porcentagem) de ingrediente ativo; i.a.] + 798 g L⁻¹ de outros ingredientes não descritos na bula}, com aplicação direta na água. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado onde os tratamentos aplicados consistiram em três doses: controle (0 mg L⁻¹); 0,1 mg L⁻¹ (36 µg L⁻¹ i.a.) e 0,3 mg L⁻¹ (108 µg L⁻¹ i.a) de clomazone, contendo seis repetições cada. A coleta do material vegetal foi realizada aos 11 dias após a aplicação do herbicida. Foram coletadas amostras de folhas velhas (última folha expandida no momento da montagem do experimento) e folhas novas (última folha expandida no momento da coleta) e armazenadas em freezer a -80°C até o processamento das análises.

Os teores de superóxido (O₂^{•-}) foram determinados de acordo com Li et al. (2010). As absorbâncias foram lidas em 530 nm e calculadas utilizando curva padrão com concentrações de 0 a 1mM de radical dióxido de nitrogênio (NO₂) e expressa em µmol g⁻¹ de matéria fresca (MF). Os teores de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) foram determinados de acordo com metodologia proposta por Velikova et al. (2000). As absorbâncias foram lidas em 390 nm e o teor de H₂O₂ foi determinado por meio de uma curva padrão preparada com concentrações conhecidas de H₂O₂, e expressa em µmol g⁻¹ de matéria fresca.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao inibir a biossíntese de pigmentos fotossintéticos, devido ao mecanismo de ação do herbicida clomazone, as plantas podem sofrer com o aumento de EROs e peroxidação lipídica das membranas (Cobb, 2021). Neste trabalho foi observado que os teores de superóxido quantificados aos 11 dias após a aplicação do herbicida foram maiores nas doses 0,1 e 0,3 mg L⁻¹ em relação ao controle tanto na folha velha quanto na nova (Fig. 1A). Esse aumento nos teores de superóxido observado nessas folhas pode ser atribuído a redução de pigmentos fotossintéticos, demonstrada através da clorose (principal sintoma da ação do herbicida clomazone), que podem causar distúrbios na fotossíntese e ocasionar o escape de elétrons da cadeia de transporte e assim formar esse ânion. Em razão disso, o processo fotossintético é considerado a principal fonte de EROs em plantas (Mishra; Sharma, 2019).

Os teores de peróxido de hidrogênio não apresentaram aumentos quando analisado 11 dias após a aplicação do herbicida, apresentando maiores concentrações de H₂O₂ na dose controle em relação as demais doses analisadas (Fig. 1B). A folha nova apresentou maiores teores de H₂O₂ nas doses 0,1 e 0,3 mg L⁻¹ quando comparadas a dose controle (Fig. 1B). O aumento no conteúdo de H₂O₂ apenas na folha nova pode ser explicado pelo fato dessa folha ter maior influência do herbicida clomazone, já que se desenvolve completamente na presença do herbicida. Enquanto isso, a folha velha tem um tempo de ação mais lento pelo fato do clomazone não afetar carotenoides pré-existentes nas plantas (De Oliveira et al., 2011), fazendo com que essas folhas demorem mais a perceber o estresse gerado e ocasionando a conversão de O₂^{•-} em H₂O₂ também de forma mais lenta (Mittler, 2017).

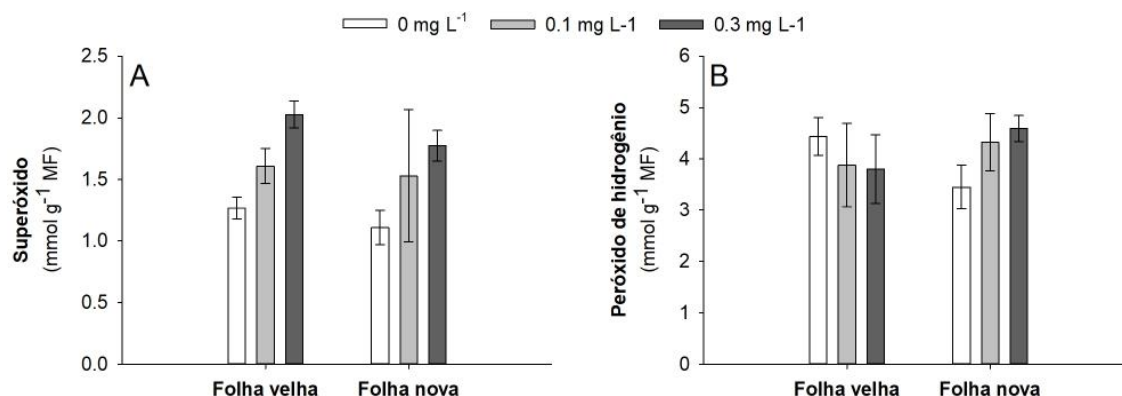


Figura 1: Teores de espécies reativas de oxigênio em plantas de *Pontederia crassipes* Mart. submetidas a diferentes doses de herbicida clomazone. Teores de superóxido, expresso em mmol g⁻¹ massa fresca (A) e peróxido de hidrogênio, mmol g⁻¹ massa fresca (B).

4. CONCLUSÃO

Os teores de O₂⁻ foram maiores nas doses 0,1 e 0,3 mg L⁻¹ em relação ao controle em ambas as folhas analisadas. Os teores de H₂O₂ foram maiores na dose controle na folha velha, enquanto na folha nova os maiores teores foram nas doses 0,1 e 0,3 mg L⁻¹.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- COBB, A. H. Herbicides and Plant Physiology. Third edition. | Hoboken, NJ : **Wiley Blackwell**, P 14, 2021.
- DE LAET, C.; MATRINGE, T.; PETIT, E.; GRISON, C. *Eichhornia crassipes*: a Powerful Bio-indicator for Water Pollution by Emerging Pollutants. **Scientific Reports**. 9:7326, 2019.
- FERHATOGLU, Y.; BARRETT, M. Studies of clomazone mode of action. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. 85, 7–14, 2006.
- GAO, S.; LIU, Y.; JIANG, J.; FU, Y.; ZHAO, L.; LI, C.; YE, F. Protective Responses Induced by Chiral 3-Dichloroacetyl Oxazolidine Safeners in Maize (*Zea mays* L.) and the Detoxification Mechanism. **Molecules**, 24(17), 3060, 2019.
- IVANOV, B. N.; BORISOVA-MUBARAKSHINA, M. M.; KOZULEVA, M. A. Formation mechanisms of superoxide radical and hydrogen peroxide in chloroplasts, and factors determining the signalling by hydrogen peroxide. **Functional Plant Biology**, v. 45, p. 102-110, 2018.

LACERDA, E. M. C.; SANTANA, W. L. A. M.; FILHO, M. S. C.; SANTOS, N. C. P.; MOREIRA, I. T. A. Processos enzimáticos na biorremediação e fitorremediação de petróleo em sedimentos de manguezal: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, e526101119944, 2021.

PIVETA, L. B.; PINTO, J. J. O.; AVILA, L. A.; NOLDIN, J. A.; SANTOS, L. O. Selectivity of imazapic p imazapyr herbicides on irrigated rice as affected by seed treatment with dietholate and clomazone applied in preemergence. **Planta Daninha**. 36:e018149361, 2018.

PPDB: **Pesticide Properties Database, Hertfordshire, 2018**. Available in: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/168.htm>. (Access in September, 2024).

SANTOS, N. M. C.; MONTEIRO, P. G.; FERREIRA, E. A.; ALENCAR, B. T. B.; CABRAL, C. M.; SANTOS, J. B. Use of *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes* for environmental services: Decontamination of aquatic environments with atrazine residues. **Aquatic Botany**, 176. 103470, 2022.

SHARMA, J. K.; KUMAR, N.; SINGH, N. P.; SANTAL, A. R. Phytoremediation technologies and their mechanism for removal of heavy metal from contaminated soil: An approach for a sustainable environment. **Frontiers in Plant Science**. 14:1076876, 2023.

SHARMA, R.; SAINI, H.; PAUL, D. R.; CHAUDHARY, S.; NEHRA, S. P. Removal of organic dyes from wastewater using *Eichhornia crassipes*: a potential phytoremediation option. **Environmental Science and Pollution Research**. 28:7116–7122, 2021.