

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**EFICÁCIA E ECOTOXICIDADE DO DIQUAT EM MISTURA
COM FONTES DE COBRE PARA CONTROLE DE
Ceratophyllum demersum E ALGA UNICELULAR E
FILAMENTOSA**

Nathalia Garlich

Bióloga

2015

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**EFICÁCIA E ECOTOXICIDADE DO DIQUAT EM MISTURA
COM FONTES DE COBRE PARA CONTROLE DE
Ceratophyllum demersum E ALGA UNICELULAR E
FILAMENTOSA**

Nathalia Garlich

Orientador: Prof. Dr. Silvano Bianco

Co-Orientador: Prof. Dr. Robinson Antonio Pitelli

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Produção Vegetal).

2015

Garlich, Nathalia
O56f Eficácia e ecotoxicidade do diquat em mistura com fontes de cobre para controle de *Ceratophyllum demersum* e alga unicelular e filamentosa / Nathalia Garlich. -- Jaboticabal, 2015
x, 56 p.; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015
Orientador: Silvano Bianco
Banca examinadora: Dagoberto Martins, Silvia Patrícia Carraschi de Oliveira
Bibliografia

1. Algicidas. 2. Herbicida. 3. Macrófita submersa. 4. Ecotoxicologia
I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 632.954

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE JABOTICABAL

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: “EFICÁCIA E ECOTOXICIDADE DO DIQUAT EM MISTURA COM FONTES DE COBRE PARA CONTROLE DE *Ceratophyllum demersum* E ALGA UNICELULAR E FILAMENTOSA”

AUTORA: NATHALIA GARLICH

ORIENTADOR: Prof. Dr. SILVANO BIANCO

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. ROBINSON ANTONIO PITELLI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. ROBINSON ANTONIO PITELLI

Departamento de Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Prof. Dr. DAGOBERTO MARTINS

Departamento de Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Profa. Dra. SILVIA PATRICIA CARRASCHI DE OLIVEIRA

Instituto de Pesca de São Paulo / São Paulo/SP

Data da realização: 04 de setembro de 2015.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

NATHALIA GARLICH – Bióloga, filha de Carlos Eduardo Garlich e Rosana Schiller Beskow, nasceu em Pelotas, interior do Estado do Rio Grande do Sul, no dia 18 de junho de 1985. cursou os Ensinos Fundamental e Médio na cidade natal. Em 2007, iniciou o curso de Licenciatura em Ciências Biológicas na Universidade Católica de Pelotas (UCPEL) Pelotas/RS, foi bolsista na Embrapa Clima Temperado (CPACT) Pelotas/RS desenvolvendo projetos na área de controle biológico de plantas invasoras e métodos alternativos para o controle de doenças de plantas. Bolsista na Fundação de Apoio a Pesquisa e Desenvolvimento Edmundo Gastal (FAPEG) Pelotas/RS no projeto Xisto Agrícola. Bolsista CNPq-AT-NS Nível Superior, categoria apoio técnico a pesquisa – nível superior 1A no Laboratório de Bacteriologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) Pelotas/RS desenvolvendo projetos na área de controle biológico de doenças de plantas. Bolsista na Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais (FEPAF) Botucatu/SP no projeto CABI – Centre for Agricultural Bioscience International. Estagiou na Embrapa Recursos Genético e Biotecnologia (CENARGEM) Brasília/DF no Núcleo Temático de Controle Biológico desenvolvendo atividades com o fungo *Trichoderma* spp. Em março de 2013, iniciou o curso de Mestrado em Agronomia com ênfase na área de Produção Vegetal junto a Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP/ FCAV), Câmpus de Jaboticabal. Atualmente, integra o grupo de pesquisas do laboratório Núcleo de Estudos e Pesquisas Ambientais em Matologia (NEPEAM) pertencente ao departamento de Fitossanidade da FCAV. Em setembro de 2015, submeteu-se à banca examinadora para a obtenção do título de Mestre em Agronomia.

“Ninguém é tão ignorante que não tenha algo a ensinar e ninguém é tão sábio que não tenha algo a aprender.”

BLAISE PASCAL

“A grandeza não consiste em receber as honras, mas em merecê-las.”

ARISTÓTELES

A minha mãe *Rosana Schiller Beskow* pelo amor incondicional, incentivo e sabedoria;

A ela que me ensinou que trabalho, respeito, honestidade e dedicação são as melhores escolhas.

DEDICO

A minha irmã *Elizabeth Garlich*, pelo companheirismo;
pelas palavras de carinho nas horas de saudade;
pelo amor e incentivo incondicional.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Silvano Bianco, pela orientação e paciência;

Ao meu coorientador Prof. Dr. Robinson Antonio Pitelli, pela orientação, pela oportunidade em fazer parte da equipe NEPEAM; pelos ensinamentos; confiança em meu trabalho e estrutura concedida para a realização dos ensaios;

À minha orientadora de graduação e amiga Profa. Dr. Gláucia de Figueiredo Nachtigal, pela contribuição para minha formação acadêmica, pessoal, profissional e incentivo a fazer pós - graduação;

Aos membros da banca examinadora, pelas relevantes considerações ao meu trabalho;

À equipe NEPEAM – Núcleo de Estudos e Pesquisas Ambientais em Matologia: Wilson Cerveira Júnior, Ronaldo Ferreira, Igor Malaspina, Cynthia Ikefuti, Mayara Galatti e Alfredo Yamauchi, pela amizade, companheirismo e ajuda na realização dos meus ensaios. Em especial ao amigo Adilson Silva, pela efetiva participação no meu estudo e a Patrícia Carraschi, pelas considerações e ajuda na fase final do mestrado;

Ao meu pai Carlos Eduardo Garlich, pelo amor e incentivo ao estudo;

Ao meu irmão Jonas Eduardo Garlich, pelo amor e carinho;

A toda minha família: avós, tios, tias, madrinhas, padrinhos, primos e primas, pois a família é à base de tudo;

Ao Claudinei da Cruz pelos ensinamentos, inspiração, companheirismo, paciência, amor, dedicação e por me ajudar a tomar decisões importantes e relevantes ao meu trabalho;

A Daiane Lima, Márcia Silva e a Bruna Betemps, pelo incentivo, pela torcida e carinho;

A todos que contribuíram para esta conquista.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xiv
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1.1 Introdução e Justificativa.....	1
1.2 Macrófitas aquáticas	2
1.3 Algas unicelulares e filamentosas.....	3
1.4 Formas de controle de macrófitas e algas	4
1.5 Ecotoxicologia.....	8
1.6 Referências.....	10
CAPÍTULO 2 – DIQUAT EM ASSOCIAÇÃO COM FONTES DE COBRE PARA O CONTROLE DE ALGAS: EFICÁCIA E ECOTOXICOLOGIA	21
Resumo.....	21
2.1 Introdução	22
2.2 Objetivos	23
2.3 Material e Métodos	24
2.3.1 Eficácia para alga unicelular <i>Ankistrodesmus gracilis</i> e alga filamentosa <i>Pithophora kewesis</i>	24
2.3.2 Ensaio ecotoxicológico para <i>Hyphessobrycon eques</i> e <i>Pomacea canaliculata</i>	25
2.3.3 Ensaio ecotoxicológico para <i>Lemna minor</i> e <i>Azolla caroliniana</i>	26
2.4 Resultados e Discussão.....	27
2.4.1 Eficácia de controle para alga unicelular <i>Ankistrodesmus gracilis</i>	27
2.4.2 Eficácia de controle para alga filamentosa <i>Pithophora kewesis</i>	30
2.4.3 Ecotoxicidade para <i>H. eques</i> , <i>P. canaliculata</i> , <i>L. minor</i> e <i>A. caroliniana</i> ...	32
2.5 Conclusões	36
2.6 Referências.....	36
CAPÍTULO 3 – EFICÁCIA DE DIQUAT, HIDRÓXIDO DE COBRE, OXICLORETO DE COBRE E SUAS ASSOCIAÇÕES NO CONTROLE DA MACRÓFITA SUBMERSA <i>Ceratophyllum demersum</i>	42
Resumo.....	42
3.1 Introdução	43
3.2 Objetivo.....	44
3.3 Material e Métodos	45

3.4 Resultados e Discussão.....	46
3.5 Conclusões	53
3.6 Referências.....	54

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 03275/14 do trabalho de pesquisa intitulado “**Avaliação da eficácia e ecotoxicidade do diquat em mistura com fontes de cobre para controle de *Ceratophyllum demersum* e algas unicelulares e filamentosas**”, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Robinson Antonio Pitelli está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 11 de março de 2014.

Jaboticabal, 11 de março de 2014.


Prof.^a Dr.^a Paola Castro Moraes
Coordenadora - CEUA

EFICÁCIA E ECOTOXICIDADE DO DIQUAT EM MISTURA COM FONTES DE COBRE PARA CONTROLE DE *Ceratophyllum demersum* E ALGA UNICELULAR E FILAMENTOSA

RESUMO – O crescimento excessivo de macrófitas e algas nos ambientes aquáticos, decorrentes das atividades urbanas e industriais, prejudicam a utilização dos corpos hídricos e os usos múltiplos da água. A aplicação de um herbicida associado a um produto algicida pode apresentar melhor eficácia no controle de macrófitas e algas. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a eficácia do diquat, oxiclreto de cobre, hidróxido de cobre e as associações diquat + 0,1% oxiclreto de cobre e diquat + 0,1% hidróxido de cobre no controle da macrófita aquática submersa *Ceratophyllum demersum* L., da alga unicelular *Ankistrodesmus gracilis* e da alga filamentosa *Pithophora kewesis* e estimar a toxicidade aguda (CL50/CE50) para os organismos não alvos *Hyphessobrycon eques*, *Pomacea canaliculata*, *Lemna minor* e *Azolla caroliniana*. Para o controle de *C. demersum* as associações diquat + 0,1% de oxiclreto de cobre e diquat + 0,1% de hidróxido de cobre foram mais eficazes, para *A. gracilis* as fontes de cobre oxiclreto e hidróxido de cobre isoladas foram mais eficazes enquanto que, para *P. kewesis* os produtos químicos testados não foram eficazes. A macrófita aquática *L. minor* foi o bioindicador mais sensível aos produtos químicos testados e o peixe *H. eques* o menos sensível.

Palavras-chave: Algicidas, herbicida, macrófita submersa, ecotoxicologia

EFFICACY AND ECOTOXICITY FOR DIQUAT ASSOCIATED TO COPPER SOURCES FOR *Ceratophyllum demersum* AND ALGAE CONTROL

ABSTRACT – The excessive growth of weeds and algae in aquatic environments, arising from urban and industrial activities, hinder the multiple uses of water. The application of an herbicide associated with an algaecide product may be more effective in controlling weeds and algae. The objective of this research were to evaluate the effectiveness of diquat, copper oxychloride, copper hydroxide and the associations diquat + 0.1% copper oxychloride and diquat + 0.1% copper hydroxide in control of the submerged aquatic macrophyte *Ceratophyllum demersum*, unicellular algae *Ankistrodesmus gracilis* and the filamentous algae *Pithophora kewesis* and to estimate the acute toxicity (LC50/EC50) for non-target organisms *Hyphessobrycon eques*, *Pomacea canaliculata*, *Lemna minor* and *Azolla caroliniana*. For *C. demersum* control the associations diquat + 0.1% copper oxychloride and Diquat + 0.1% copper hydroxide were more effective. For *A. gracilis* control the copper oxychloride and copper hydroxide were more effective if applied individually and none of the tested chemicals were effective on *P. kewesis* control. The macrophyte *L. minor* was the most sensitive bioindicator to the tested chemicals and the fish *H. eques* was the least sensitive.

Keywords: Algaecide, herbicide, submerged macrophyte, ecotoxicology

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1.1 Introduções e Justificativa

A dissertação está estruturada com um breve referencial bibliográfico sobre a interferência de macrófitas e algas no ambiente aquático, formas de controle e a ecotoxicidade para organismos não-alvos (Capítulo 1). Esta primeira parte direciona a leitura para o Capítulo 2, que apresenta um artigo científico sobre a eficácia do diquat, oxiclreto de cobre, hidróxido de cobre e suas associações diquat + 0,1% de oxiclreto de cobre e diquat + 0,1% de hidróxido de cobre para o controle de algas unicelulares e filamentosas e a toxicidade aguda destes produtos para organismos não-alvos. O Capítulo 3 compreende um artigo científico sobre a eficácia do diquat, oxiclreto de cobre, hidróxido de cobre e suas associações diquat + 0,1% de oxiclreto de cobre e diquat + 0,1% de hidróxido de cobre para o controle da macrófita aquática submersa *Ceratophyllum demersum*.

O excesso de nutrientes lançados nos ambientes aquáticos acarreta no aumento da biomassa de macrófitas e algas prejudicando assim, os usos múltiplos da água. Este processo tem contribuído sistematicamente para a simplificação dos corpos hídricos e diminuição na qualidade de água disponível nas principais bacias hidrográficas brasileiras. Atualmente, a única forma regulamentada de remoção de macrófitas aquáticas é a mecânica, porém com a resolução de controle químico e outros processos regulamentados pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), faz-se necessário que seja desenvolvido estudos sobre o controle de macrófitas e algas, ecotoxicologia para organismos não alvos, risco e saúde ambiental, resíduos, efeitos secundários nos ambientes após o processo de controle.

Um dos principais questionamentos sobre a utilização de herbicida em ambientes aquáticos é o efeito da decomposição da matéria morta vegetal no interior do corpo hídrico, sendo esta a principal desvantagem da utilização de herbicidas nestes ambientes. Contudo, a aplicação de um herbicida e um produto algicida, em associação ou de forma sequencial, pode facilitar o controle de macrófitas e

minimizar os impactos ambientais do crescimento da biomassa de algas decorrente dos nutrientes gerados pela decomposição das macrófitas. Portanto, para a aplicação de produtos químicos nos ambientes aquáticos são necessários estudos ecotoxicológicos para avaliar o impacto da utilização e o potencial risco ambiental ocorrido durante e após o processo de intervenção.

1.2 Macrófitas aquáticas

As macrófitas são vegetais que habitam ambientes aquáticos e brejos, incluindo a macroalga do gênero *Chara* (Characeae – lodo), briófitas, pteridófitas e angiospermas, como a *Typha* (Thyphaceae – taboa). Estes vegetais evoluíram do ambiente terrestre para o aquático, mas mantiveram as características de vegetais terrestres com cutícula e estômatos em plantas aquáticas emersas (ESTEVEZ, 1998; PITELLI, 2006).

São importantes para os ecossistemas aquáticos, na colonização das comunidades perifíticas, dinâmica de nutrientes, principais produtores primários, fonte de carbono e energia na base de teias alimentares, servem de habitat e refúgio para organismos aquáticos, favorecem a biodiversidade e heterogeneidade espacial e temporal dos corpos hídricos (PITELLI, 1998; PITELLI et al., 2011).

Contudo, os resíduos lançados em rios, lagos e lagoas decorrentes das atividades urbanas e industriais por ações antrópicas acarretam no desenvolvimento excessivo de algumas populações de plantas em detrimento de outras, formando colonizações monoespecíficas ou pouco diversificadas. Nestas condições de fertilidade aquática são esperadas explosões populacionais de macrófitas e de comunidades límnicas, causando eutrofização e efeitos prejudiciais ao uso múltiplo da água (PITELLI et al., 2008; SILVA; MARQUES; LÓLIS 2012).

O problema das colonizações monoespecíficas tem crescido, principalmente, em reservatórios de hidrelétricas e em áreas de captação de água para abastecimento público (MÁS; BARELLA, 2008; POMPÊO, 2008). O reflexo destas infestações é o acúmulo de lixo (PITELLI, 1998), proliferação de insetos vetores de doenças (MARCONDES; TANAKA, 1997), diminuição da geração de energia e trabalho das usinas hidrelétricas (TANAKA, 1998; CARVALHO et al., 2005),

alteração nos padrões da qualidade água como oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, temperatura, pH, formação de gases tóxicos e metilação do mercúrio (PEDRALLI, 2003; GUIMARÃES, 2004; MIRANDA, 2007), aumento de perda de água por evapotranspiração (VICTOR; MARIMUTHUS; SIVARAMAKRISHNAN, 1991; ROSA et al., 2009), prejuízos na qualidade de produção de peixes e captura do pescado (ADEKOYA, 2002; EZERI, 2002), redução na durabilidade de represas rurais e capacidade de armazenamento (AMARAL, 2013), prejuízos ao transporte fluvial (VELINI, 2005) e redução da capacidade de canais de irrigação e drenagem (PITELLI, 1998).

As macrófitas que colonizam os corpos hídricos são de diferentes grupos ecológicos e a sucessão ocorre com o surgimento de espécies emergentes, submersas e flutuantes (TUNDISI, 1990; THOMAS, 2002). As macrófitas submersas são as que causam maiores problemas, dentre elas se destacam o *Ceratophyllum demersum*, *Hydrilla verticillata*, *Egeria najas* e *Egeria densa*. Estas plantas são de difícil controle, rápidas na invasão de novas áreas, reduzem o fluxo de água e interferem na dinâmica dos gases oxigênio e carbônico (GETTYS; HALLER; BELLAUD, 2009).

C. demersum é uma planta monocotiledônea, pertencente à família Ceratophyllaceae, nativa da América tropical, se propaga por sementes e por fragmentação do caule, é invasora em vários países e pode se desenvolver em águas com profundidade de 0,5 a 8,5 metros (GROSS; ERHARD; IVÁNYI, 2003).

Devido à elevada infestação de macrófitas aquáticas em corpos hídricos torna-se necessário o seu manejo. Dentre as práticas de manejo podem ser citados o manejo físico, mecânico, biológico e químico.

1.3 Algas unicelulares e filamentosas

As algas pertencem ao reino protista são unicelulares com algumas formas pluricelulares, autótrofos ou heterótrofos, eucariontes, apresentam pigmentos como clorofila, carotenos e xantofilas e possuem organelas denominadas plastos que permitem realizar fotossíntese, suas características são divididas em filós (VIDOTTI; ROLLEMBERG, 2004).

O filo Chlorophyta é composto pelas algas verdes que existem em abundância no ambiente aquático, podem ser unicelulares ou filamentosas, são importantes componentes do fitoplâncton, responsáveis pela produção de oxigênio a partir da fotossíntese, habitam águas doces ou salgadas, solos úmidos ou troncos, acumulam amido no interior celular e contém os pigmentos clorofilas a e b, carotenos e xantofilas, se assemelham as plantas superiores e possuem vida livre ou colonial, com flagelo temporário ou ausente (VIDOTTI; ROLLEMBERG, 2004).

As algas unicelulares *Ankistrodesmus gracilis* pertencem ao filo Chlorophyta, ordem Chlorococcales, família Oocystaceae são unicelulares, imóveis e não produzem zoósporos, apresentam células alongadas e pontiagudas, são comuns em água e solo e podem originar *blooms* ou florescimento algal (BOLD; WYNNE, 1985).

As algas filamentosas *Pithophora* spp. são pertencentes ao filo Chlorophyta, classe Chlorophyceae e ordem Cladophorales (BERLOWITZ-TARRANT; TUKUMO; SHIVKUMAR, 1998) são algas nocivas de difícil controle caracterizadas por formar esporos escuros em forma de barril ao longo do filamento, seus filamentos são grossos irregulares e ramificados. Formam uma massa vegetal que parece como lã molhada, possuem bolhas de gás entre a massa vegetal formando esteiras na superfície da água (DURBOROW et al., 2008).

Entretanto, o aumento de nitrogênio e fósforo nos ambientes aquáticos acarretam no aumento excessivo da biomassa de algas, devida a eutrofização. O crescimento de algas provoca desequilíbrio ecológico na cadeia trófica e diminui o oxigênio dissolvido da água causando mortalidade dos organismos aeróbicos aquáticos. Além disso, causa degradação da qualidade da água, altera a potabilidade, encarece o tratamento, causa problemas no abastecimento público, impede o uso para recreação e criação de peixes e camarão (DI BERNARDO, 1995; ESTEVES, 1998; MOURA; FIRMINO, 2014; SOUZA et al., 2014).

1.4 Formas de controle de macrófitas e algas

Para minimizar os efeitos do crescimento de macrófitas e desenvolvimento de algas em ambientes aquáticos alguns procedimentos podem ser empregados, tais como: o controle físico, mecânico, biológico e químico. Para a escolha do método a

ser utilizado é necessário que se conheça as vantagens e desvantagens do seu uso para o ecossistema aquático (GIBBONS; GIBBONS; SYTSMA, 1994; POMPÊO, 2008).

O método físico é o mais simples consiste em fazer poda utilizando materiais para jardinagem, coleta manual das plantas, bloqueio de luminosidade com telas para reduzir o crescimento, alterar o nível de água para reduzir a área potencial de colonização das macrófitas. O método mecânico consiste na utilização de máquinas de grande porte para realizar o controle. Pode ser realizada a dragagem com bomba e mangueira, para sugar todas as partes das plantas incluindo as raízes, ou utilizar ceifadeiras que são máquinas que cortam e recolhem as macrófitas aquáticas (POMPÊO, 2008).

O método biológico implica na utilização de organismos vivos para controlar a densidade populacional de uma espécie alvo e não causar danos econômicos (TESSMANN, 2011). Podem ser utilizados como agentes de controle insetos, fungos, bactérias, peixes entre outros, e para serem empregados são utilizados três tipos de estratégias básicas: clássica, inundativa e a repositiva (PITELLI; NACHTIGAL; PITELLI, 2003).

A estratégia clássica é adequada para espécies de plantas exóticas, o agente de controle é importado do local de origem e é liberado controlando as plantas alvos abaixo do nível de dano econômico, ambiental e social com a sua perpetuação (PITELLI; NACHTIGAL; PITELLI, 2003; TESSMANN, 2011). A estratégia inundativa utiliza organismos de forma maciça a fim de promover dano, morte ou supressão das populações de plantas daninhas (CHARUDATTAM, 1991). A estratégia repositiva determina a densidade populacional do agente de controle para manter a baixa densidade populacional das plantas alvos (PITELLI; NACHTIGAL; PITELLI, 2003).

O controle químico consiste na utilização de produtos, basicamente herbicidas que intoxicam as plantas. Tem sido empregado em vários países, pois promove resultado rápido e eficiente (HENARES et al., 2011; MOURA; FRAUCO; MATALLO, 2009).

O uso de herbicidas e algicidas no ambiente aquático é amplamente utilizado em vários países, como por exemplo, nos EUA onde podem ser aplicados em corpos hídricos em áreas públicas e privadas (MOURA; FRANCO; MATALLO, 2009;

GETTYS; HALLER; BELLAUD, 2009; HERANES et al., 2011). Os herbicidas mais utilizados são 2,4D, diquat, complexos de cobre, endothal, fluridone e glyphosate (HALLER, 1998; MARTINS, 1998). Este método promove resultados rápidos, eficientes, mantém as plantas daninhas abaixo do nível de dano econômico, especificidade e possui melhor custo/benefício (CARDOSO; MARTINS; TERRA, 2003; HENARES et al., 2011).

No Brasil em maio de 2015 foi aprovada a Proposta de Resolução CONAMA que dispõe sobre o controle da utilização de produtos ou processos para recuperação de ambientes hídricos. Considerando o emprego de produtos ou de agentes de processos físicos, químicos ou biológicos em corpos hídricos superficiais para fins de recuperação do ecossistema ameaçado pela poluição ou pelo crescimento desordenado ou indesejável de organismos da flora ou fauna. A resolução permite o controle populacional de espécies que estejam causando impacto negativo ao meio ambiente, à saúde pública ou aos usos múltiplos da água e recuperação ou remediação de corpos hídricos superficiais (CONAMA, 2015).

Pesquisas que demonstram a eficácia/eficiência deste método foram realizadas com diversos herbicidas: diquat, imazapyr, imazamox, glyphosate, 2,4D, sulfentrazone, imazapic, metsulfuron-metil, sulfosate, carfentrazone (MARTINS, et al., 1999; MARTINS et al., 2002; NEVES et al., 2002; CARVALHO et al., 2005; MARTINS; VELINI; NEGRISOLI, 2005; HENARES et al., 2011; PITELLI et al., 2011; CAMPOS et. al., 2012; CRUZ et al., 2015a,b).

O diquat é um herbicida de contato, dissecante, desfoliante, não – seletivo pertencente ao grupo dos bipyridílicos, inibidor da fotossíntese I. Interfere na fotossíntese, na captação de energia solar. Na presença de luz forma poder redutor no cloroplasto mediante captação de elétron proveniente da redução da ferredoxina, o qual reduz o íon bipyridílio a radical bipyridílio. Este não fica instável e na presença de oxigênio e água, oxida-se voltando à forma anterior, liberando elétrons que em presença de oxigênio formam uma molécula de água oxigenada, que é uma substância altamente oxidante responsável pelas lesões causadas nas plantas sendo que, em pequenas quantidades no interior do cloroplasto são suficientes para destruí-lo. Esse processo só ocorre na presença de luz. Quando não existe a presença de luz não há produção de água oxigenada e o produto transloca na planta

e atingindo as partes mais internas das mesmas (RODRIGUES; ALMEIDA, 2005; PITELLI et al., 2011).

A meia vida do diquat no ambiente aquático é menor que 48 horas e é absorvido pelas plantas aquáticas e após a sua decomposição se liga a partículas coloidais do solo deixando a água livre de resíduos do herbicida (FAO/WHO, 1995).

Os sinais de efeito do diquat nas plantas são observados rapidamente, o que pode ser uma vantagem para aplicações em dias subseqüentes (NEVES; FOLONI; PITELLI, 2002), mas a ação rápida pode produzir grande quantidade de material em decomposição em pouco tempo, podendo induzir a um aumento da demanda biológica de oxigênio (PITELLI et al., 2011).

O diquat é um herbicida de grande potencial para ser utilizado no ambiente aquático visando o controle de macrófitas submersas e flutuantes. Algumas pesquisas já foram realizadas para controle de *C. demersum*, *Egeria najas*, *Egeria densa*, *Hydrilla verticillata*, *Eichhornia crassipes*, *Pistia stratiotes*, *Salvinia molesta*, *Salvinia auriculata*, *Pontamogetum spp.*, *Utricularia spp.*, *Cabomba caroliniana* (MAC DONALD; LANGELAND, 2001; MARTINS, 2002; NEVES; FOLONI; PITELLI, 2002; MARTINS; PITELLI, 2005; MARTINS, 2007; MARTINS, 2009; HENARES et al., 2011; PITELLI et al., 2011; SOUZA, 2011; MUDGE, 2013).

O cobre é amplamente utilizado como fungicida em sistemas agrícolas para controle de doenças em culturas. Em alguns países compostos de cobre são utilizados para controle de algas e plantas que crescem em canais de irrigação, lagoas, lagos e reservatórios de água (GETTYS; HALLER; BELLAUD, 2009).

O mecanismo de ação do íon cobre, nas algas e vegetais superiores está relacionado com a sua entrada nas membranas das células. Este elemento atua diretamente nos receptores das células fotossintéticas, interrompendo a transferência de elétrons no processo fotossintético e também na respiração celular (BOYD; MASSAUT, 1999).

Entre as fontes de cobre existentes, o sulfato de cobre é o produto mais utilizado para controle de algas no ambiente aquático, porém, sua eficácia pode ser afetada pela dureza e alcalinidade da água e as algas filamentosas são resistentes a este composto químico (DURBOROW et al., 2008; GETTYS; HALLER; BELLAUD, 2009).

Vários trabalhos na literatura indicam que a associação de um herbicida com uma fonte de cobre leva um melhor controle de plantas aquáticas quando comparado ao uso isolado do herbicida, além de possuir a vantagem de inibir o crescimento das algas decorrentes dos nutrientes disponíveis gerado pela decomposição das macrófitas aquáticas (MASSER, 2001; MARTINS et al., 2007; MARTINS et al., 2008; GETTYS; HALLER; BELLAUD, 2009; HENARES et al., 2011).

Porém, para o uso adequado de produtos químicos no ambiente aquático, são necessários estudos ecotoxicológicos para organismos não alvos, com o objetivo de assegurar a segurança da sua utilização.

1.5 Ecotoxicologia

A avaliação ecotoxicológica é importante para o controle, regulamentação e classificação das substâncias tóxicas quanto ao potencial do risco ambiental. A identificação do perigo e a avaliação da relação dose/resposta são etapas iniciais no processo de avaliação da toxicidade ou risco ambiental (USEPA, 2002).

Os estudos de toxicidade aguda são uma ferramenta fácil de ser empregada e geram resultados sobre os possíveis efeitos ecotoxicológicos dos produtos químicos em organismos não alvos no ambiente aquático. Para avaliação da toxicidade são utilizados organismos bioindicadores pertencentes dos diversos níveis da cadeia alimentar, os organismos teste são selecionados através de alguns critérios como sensibilidade, fácil manejo, representatividade de um grupo taxonômico ecológico, ampla disponibilidade para execução de teste, existência de informações sobre a biologia da espécie, cosmopolita, tamanho suficiente para amostragem de tecidos e preferencialmente ser uma espécie nativa (RAND; PETROCELLI, 1985; ARAUCO; CRUZ; MACHADO, 2005; BURGER et al., 2013; FLORÊNCIO et al., 2014).

Recomenda-se fazer ensaios com no mínimo três espécies que representem diferentes níveis da cadeia trófica, a fim de obter resultados mais precisos e detectar um efeito tóxico ou não tóxico específico, aumentando a probabilidade de obter uma resposta tóxica com organismos de diferentes sensibilidades (BAUN et al., 1999; IKEFUTI, 2012).

Os peixes são expostos de forma direta aos produtos químicos por isso são bioindicadores potenciais de toxicidade (HELFRICH et al., 1996). As espécies estabelecidas por norma (ABNT, 2011) são o *Brachydanio rerio* e o *Pimephales promelas*, porém são espécies exóticas. O *Hyphessobrycon eques* é um peixe neotropical e nativo e sua sensibilidade foi determinada em condições de bioensaio por CRUZ et al. (2008), é uma espécie que preenche todos os requisitos para bioindicação (FLORÊNCIO et al., 2014). Ensaio ecotoxicológicos foram realizados com os peixes *Hyphessobrycon eques*, *Phallocerus caudimaculatus*, *Brachydanio rerio*, *Piaractus mesopotamicus*, *Ctenopharyngodon idella*, *Leporinus macrocephalus*, *Oreochromis niloticus*, *Poecilia reticulata* (EL DENN; ROGERS, 1992; OLIVEIRA-FILHO; LOPES; PAUMGARTEEN, 1997; BOOK; MACHADO-NETO, 2005; HENARES et al., 2007; CRUZ et al., 2008; HENARES et al., 2008; SHIOGIRI et al., 2010; CARRASCHI et al., 2011; HENARES et al., 2011; FLORÊNCIO et al., 2014; SILVA et al., 2014; CARRASCHI et al., 2015; CRUZ et al., 2015).

O caramujo *Pomacea canaliculata* não está estabelecido como bioindicador em normas de ensaios ecotoxicológicos, mas é um consumidor primário e como está em contato direto com o sedimento está exposto aos produtos químicos principalmente aos que adsorvem no sedimento, que se revolvido pode ficar biodisponível novamente (DUFT et al., 2003; VENTURINI; CRUZ; PITELLI, 2008). Ensaio ecotoxicológicos foram realizados com os caramujos *Pomacea sp.*, *Pomacea canaliculata*, *Biomphalaria glabra*, *Biomphalaria tenagophila*, *Pomacea lineata* (MELO et al., 2000; OLIVEIRA-FILHO; PAUMGARTTEN, 2000; PIYATIRATITIVORAKUL; RUANGAREERAT; VAJARASATHIRA, 2006; VENTURINI; CRUZ; PITELLI, 2008; FLORÊNCIO et al., 2014; CARRASCHI et al., 2015; CRUZ et al., 2015).

A macrófita aquática *Lemna minor* é uma espécie representante dos vegetais superiores estabelecida como bioindicador pela norma OECD (2002), é uma angiosperma que se reproduz vegetativamente a partir das bordas das folhas mais velhas formando novas frondes (folhas) (SOUZA et al., 2011). Ensaio ecotoxicológicos foram realizados com *Lemna minor* (FAIRCHILD, 1997;

GORZERINO et al., 2009; COUTRIES et al., 2011; KIELAK et al., 2011; PROENÇA et al., 2012; FLORÊNCIO et al., 2014; CARRASCHI et al., 2015; CRUZ et al., 2015).

A macrófita aquática *Azolla caroliniana* é uma planta flutuante e não está estabelecida como bioindicador em normas de ensaios ecotoxicológicos, pode ser utilizada devido à facilidade de manejo, ciclo de vida curto, pequeno porte, pode ser cosmopolita e já foi utilizada na remoção do mercúrio e cromo em efluentes e na remoção da atrazina em ambientes aquáticos (BENNICELLI et al., 2004; GUIMARÃES et al., 2006; SILVA et al., 2012). Ensaio ecotoxicológicos foram realizados com *Azolla caroliniana*, *Azolla filiculoides* (COUTRIES et al., 2011; SILVA et al., 2012; CRUZ et al., 2015).

1.6 Referências

ABNT- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. 2009 NBR 12713. Ecotoxicologia Aquática -Toxicidade Aguda –Método de ensaio com *Daphnia* ssp (Crustacea, Cladocera). 3ª ed. São Paulo. 22p.

ADEKOYA, B. B. Chemical control of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) at Ere, Ogun State, Nigeria: Implications for aquatic and terrestrial biodiversity conservation. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON WATER HYACINTH, 2002, New Bussa. **Proceedings...**New Bussa: National Institute for Freshwater Fisheries Research, 2002. p. 86-98.

ARAUCO, L.R.; CRUZ C.; MACHADO, J.G. Efeito da presença de sedimento na toxicidade aguda do sulfato de cobre e do triclorfon para três espécies de *Daphnia*. **Pesticidas: Rev. Ecotoxicol. e Meio Ambiente**.v. 15, p. 55-64, 2005.

AMARAL, A. M. A. **Espécies para plataformas de evapotranspiração, capacidade de evapotranspiração e adaptação climática**. 2013. 58 f. Dissertação (Mestrado em Arquitetura Paisagista) – Universidade do Algarve, Faculdade de Ciência e Tecnologia, 2013.

BAUN, A.; KLOEFT, L.; BJERG, P.L.; NYHOLM, N. Toxicity testing of organic chemicals in groundwater polluted with landfill leached. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.18, n.9, p.2046-2053, 1999.

BENNICELLI, R.; STĘPNIEWSKA, Z.; BANACH, A.; SZAJNOCHA, K.; OSTROWSKI, J. The ability of *Azolla caroliniana* to remove heavy metals (Hg (II), Cr (III), Cr (VI)) from municipal waste water. **Chemosphere**, 55(1), 141-146, 2004.

BERLOWITZ – TAMANT, L.; TUKUMO, T.; SHIVKUMAR, S. **Algal plastics**. U. S. Patent n. 5,779,960, 14 Jul. 1998.

BOLD, H. C.; WYNNE, M. J. Introduction to the algae, structure e reproduction. **N. Jersey: Prentice Hall Inc.**, 1985. 586p.

BOYD, C. E.; MASSAUT, L. Risks associated with the use of chemicals in pond aquaculture. **Aquacultural Engineering**, v. 20, p. 113-132, 1999.

BOOCK, M. V.; MACHADO-NETO, J. G. Estudos sobre a toxicidade aguda do oxiclreto de cobre para o peixe *Poecilia reticulata*. **Boletim Instituto Pesca**, n. 31, v. 1, p. 29-35, 2005.

BURGER, J.; GOCHFELD, M.; POWERS, C.W.; CLARKE, J.H.; BROWN, K.; KOSSON, D.; NILES, L.; DEY, A.; JEITNER, C.; PITTFIELD, T. Determining Environmental Impacts for Sensitive Species: Using Iconic Species as Bioindicators for Management and Policy. **Journal of Environmental Protection**, v. 4, p. 87-95, 2013.

CAMPOS, C. F.; FERREIRA DE SOUZA, G. S.; MARTINS, D.; ROCHA PEREIRA, M. R.; BAGATTA, B.; VILLAS, M. Influência da chuva após aplicação de imazamox sobre o controle de plantas daninhas aquáticas. **Bioscience Journal**, p. 413-419, 2012.

CARDOSO, L. R.; MARTINS, D.; TERRA, M. A. Sensibilidade a herbicidas de acessos de aguapé coletados em reservatórios do Estado de São Paulo. **Planta Daninha**, v. 21, p. 61-67, 2003.

CARRASCHI, S. P.; CUBO, P.; SCHIAVETTI, B. L.; SHIOGIRI, N. S.; CRUZ, C.; PITELLI, R. A. Efeitos tóxicos de surfactantes fitossanitários para o peixe mato grosso (*Hyphessobrycon eques*). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 33, n. 2, p. 191-196, 2011. Disponível em doi: 10.4025/actascibiolsci. v33i2. 6252.

CARRASCHI, S. P.; FLORÊNCIO, T.; GARLICH, N.; SILVA, A. F.; MARQUES, A. M.; CRUZ, C.; PAIVA, M. J. T. R. Ecotoxicology of drugs used in fish disease treatment. **Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology**. V. 7, n. 3, p. 31-36, 2015.

CARVALHO, F. T. D.; VELINI, E. D.; NEGRISOLI, E.; ROSSI, C. V. S. Eficácia do carfentrazone-ethyl no controle de plantas aquáticas latifoliadas em caixas-d'água. **Planta Daninha**, v. 23, n. 2, p. 305-310, 2005.

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente. Proposta de Resolução que dispõe sobre o controle da utilização de produtos ou processos para recuperação de ambientes hídricos e dá outras providências. **Departamento de Apoio ao Conselho Nacional do Meio Ambiente – Dconama**, 2015.

COUTRIS, C.; MERLINA, G.; SILVESTRE, J.; PINELLI, E.; ELGER, A. Can we predict community-wide effects of herbicides from toxicity tests on macrophyte species?. **Aquatic Toxicology**, v. 101, n. 1, p. 49-56, 2011.

CHARUDATTAN, R. The mycoherbicide approach with plant pathogens. In: TEEBEST (Ed.). **Microbial control of weeds**. New York: Chapman and Hall, 1991. 24-57 p.

CRUZ, C.; CUBO, P.; GOMES, G.; VENTURINI, F. P.; GUILHERME, P. E.; PITELLI, R. A. Sensibilidade de peixes neotropicais ao dicromato de potássio. **J. Braz. Soc. Ecotoxicol**, v. 3, n. 1, p. 53-55, 2008.

CRUZ, C.; SILVA, A. F.; LUNA, L. V.; YAMAUCHI, A. K. F.; GARLICH, N.; PITELLI, R. A. (2015). Glyphosate Effectiveness in the Control of Macrophytes Under a Greenhouse Condition. **Planta Daninha**, v. 33, n. 2, p. 241-247, 2015.

CRUZ, C.; SILVA, A. F.; SHIOGIRI, N.; GARLICH, N.; PITELLI, R. A. Imazapyr herbicide efficacy on floating macrophyte control and ecotoxicology for non-target organisms. **Planta Daninha**, v. 33, n. 1, p. 103-108, 2015.

DI BERNARDO, L. Algas e suas Influências na Qualidade das Águas e nas Tecnologias de Tratamento. Rio de Janeiro: **ABES**, 1995, 122P.

DUFT, M.; SCHULTE-OEHLMANN, U.; TILLMANN, M.; MARKERT, B.; OEHLMANN, J. Toxicity of triphenyltin and tributyltin to the freshwater mudsnail *Potamopyrgus antipodarum* in a new sediment biotest. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 22, n. 1, p. 145–152, 2003.

DURBOROW, R. M.; TUCKER, C. S.; GOMELSKY, B. I.; ONDERS, R. J.; MIMS, S. D. **Aquatic weed control in ponds**. Kentucky State University Land Grant Program, 2008.

EL-DEEN, M. A. S.; ROGERS, W. A. Acute toxicity and some hematological changes in grass carp exposed to diquat. **Journal of aquatic animal health**. V. 4, n. 4, p. 277-280, 1992.

ESTEVEZ, F. A. Fundamentos de Limnologia. 2 ed. Rio de Janeiro: **Interciência/FINEP**, 1998. 602p.

EZERI, G. N. O. Effect of Herbicidal Control of Water Hyacinth on Fish Health at the Ere Channel, Ogun State, Nigeria. **Journal of Applied Sciences & Environmental Management**, Port Harcourt, v. 6, p. 49-52, 2002. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.4314/jasem.v6i1.17195>>.

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.

FAO/WHO. Pesticide residues in food — 1994. Evaluations — 1994. Part I Residues, Vol. 1. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (FAO Plant Production and Protection Paper 131/1), 1995.

FLORÊNCIO, T.; CARRASCHI, S. P.; CRUZ, C.; SILVA, A. F.; MARQUES, A. M., PITELLI, R. A. Bioindicadores neotropicais de ecotoxicidade e risco ambiental de fármacos de interesse para aquicultura. **Bol. Inst. Pesca**, v. 40, n. 4, p. 569-576, 2014.

GETTYS, L. A.; HALLER, W. T.; BELLAUD, M. **Biology and control of aquatic plant: A best management practices handbook**. Aquatic Ecosystem Restoration Foundation, Marietta GA, 2009, 210 pp.

GIBBONS, M.V.; GIBBONS, H.L.; SYTSMA, M.D. Acitizens manual for developing integrated aquatic vegetation management plans, **Washington Department of Ecology**, Water Quality Financial Assistance Program, 1994.

GUIMARÃES, G. L. **Impactos do controle de macrófitas aquáticas com o herbicida 2,4 D em mesocosmos**. 2004. 153 p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

GUIMARÃES, F. P. **Potencial de macrófitas para remoção de arsênio e atrazina em solução aquosa**. 2006. 87f. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade Federal de Viçosa, 2006.

GORZERINO, C.; QUEMENEUR, A.; HILLENWECK, A.; BARADAT, M.; DELOUS, G.; OLLITRAULT, M.; AZAM, D.; CAQUET, T.; LAGADIC, L. Effects of diquat and fomesafen applied alone and in combination with a nonylphenol polyethoxylate adjuvant on *Lemna minor* in aquatic indoor microcosms. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 72, n. 3, p. 802-810, 2009.

GROSS, E. M.; ERHARD, D.; IVÁNYI, E. Allelopathic activity of *Ceratophyllum demersum* L. and *Najas marina* ssp. *Intermedia* (Wolfgang) Casper. **Hydrobiologia**, v. 506-509, p. 583-589, 2003. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1023/B:HYDR.0000008539.32622.91>>.

HALLER, W. T. Options for mechanical and chemical aquatic weed control. In: WORKSHOP CONTROLE DE PLANTAS AQUÁTICAS, 1998, Brasília. Resumos...Brasília: **Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais renováveis**, 1998. p. 46-53.

HELFRICH, L.A.; WEIGMANN, D.L.; HIPKINS, P.; STINSON, E.R. Pesticides and aquatic animals: a guide to reducing impacts on aquatic systems. **Virginia Cooperative Extension. Virginia State University**. Virginia, 1996, 24p.

HENARES, M. N. P.; CRUZ, C.; GOMES, G. R.; PITELLI, R. A.; MACHADO, M. R. F. Toxicidade aguda e efeitos histopatológicos do Diquate na brânquia e no fígado do piauçu (*Leporinus macrocephalus*). **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, 17, 2007.

HENARES, M. N. P.; CRUZ, C.; GOMES, G. R.; PITELLI, R. A.; MACHADO, M. R. F. Toxicidade aguda e efeitos histopatológicos do herbicida diquat na brânquia e no fígado da tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 30, n. 1, p. 77-82, 2008.

HENARES, M. N. P.; REZENDE, F. R. L.; GOMES, G. R.; CRUZ, C.; PITELLI, R. A. Eficácia do diquat no controle de *Hydrilla verticillata*, *Egeria densa* e *Egeria najas* e toxicidade para o Guaru (*Phallocerus caudimaculatus*), em condições de laboratório. **Planta Daninha**, v. 29, n. 2, p. 279-285, 2011.

IKEFUTI, C. V. **Hematologia e ecotoxicidade do teflubenzuron no controle de Trichodina sp. em peixes**. 2012. 88f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura da UNESP – Campus de Jaboticabal, 2012.

KIELAK, E.; SEMPRUCH, C.; MIODUSZEWSKA, H.; KLOCEK, J.; LESZCZYŃSKI, B. Phytotoxicity of Roundup Ultra 360 SL in aquatic ecosystems: Biochemical evaluation with duckweed (*Lemna minor* L.) as a model plant. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 99, n. 3, p. 237-243, 2011.

MACDONALD, E. G.; LANGELAND, A.K. Aquatic weed management alternatives for tropical areas. In: CONGRESSO DE LA ASOCIACION LATINOAMERICANA DE MALEZAS, 15. **Resumos Maracaibo** p. 44-47, 2001.

MASSER, M. P.; MURPHY, T. R.; SHELTON, J. L. Aquatic weed management: herbicides. **Southern Regional Aquaculture Center**, 2001.

MARCONDES, D. A. S.; TANAKA, R. H. Plantas aquáticas nos reservatórios das usinas hidrelétricas da CESP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 21. Workshop de Plantas Aquáticas Caxambu: **Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas**, p. 2-4, 1997.

MARTINS, A. T.; PITELLI, R. A. Efeitos do manejo de *Eichhornia crassipes* sobre a qualidade da água em condições de mesocosmos. **Planta Daninha**, v. 23, n. 2, p. 233-242, 2005.

MARTINS, A. T. **Diquat no manejo de aguapé *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms e seu impacto sobre fatores limnológicos**. 2009. 110 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.

MARTINS, D. Controle químico de plantas daninhas aquáticas. In: WORKSHOP - CONTROLE DE PLANTAS AQUÁTICAS, 1998, Brasília. **Resumos...** Brasília: IBAMA 1998. p. 30-31.

MARTINS, D.; VELINI, E. D.; CAVENAGHI, A. L., MENDONÇA, C. G. D. Controle químico de plantas daninhas aquáticas em condições controladas-caixas d'água. *Planta Daninha*, v. 17, n. 2, p. 289-296, 1999.

MARTINS, D.; VELINI, E. D.; NEGRISOLI, E.; TOFOLI, G. R. Controle químico de *Pistia stratiotes*, *Eichornia crassipes*, e *Salvinia molesta* em caixas D'água. **Planta Daninha**, v. 20, p. 83-97, 2002.

MARTINS, D.; VELINI, E. D.; NEGRISOLI, E. Controle de *Egeria densa* e *Egeria najas* em caixa d'água utilizando o herbicida diquat. **Planta Daninha**, v. 23, n. 2, p. 381-385, 2005.

MARTINS, D.; TRIGUEIRO, L. R. C.; DOMINGOS, V. D.; TERRA, M. A.; COSTA, N. V. Sensitivity of different accesses of *Egeria najas* and *Egeria densa* to the herbicides diquat and fluridone. **Planta Daninha**, v. 25, n. 2, p. 351-358, 2007.

MARTINS, D.; COSTA, N. V.; DOMINGOS, V. D.; RODRIGUES, A. C. P.; CARVALHO, F. T. D. Efeito do período de exposição a concentrações de diquat no controle de plantas de *Egeria densa*, *Egeria najas* e *Ceratophyllum demersum*. **Planta daninha**, v.26, n.4, p.865-874, 2008.

MÁS, B. A.; BARELLA, W. Ocorrência de macrófitas na estação de tratamento do serviço autônomo de água e esgoto (SAAE), Sorocaba-SP. **REB**. v. 1, n. 4, p. 1-16, 2008.

MELO, L. E. L.; COLER, R. A.; WATANABE, T.; BATALLA, J. F. Developing the gastropod *Pomacea lineata* (Spix, 1827) as a toxicity test organism. **Hydrobiologia**, v. 429, n. 1-3, p. 73-78, 2000.

MIRANDA, M. R.; COELHO-SOUZA, S. A.; GUIMARÃES, J. R. D.; CORREIRA, R. R. S.; OLIVEIRA, D. Mercúrio em sistemas aquáticos: fatores que afetam a metilação. **Oecologia Brasiliensis**, Rio de Janeiro, v. 11, p. 240-251, 2007.

MOURA, D. D.; FERMINO, F. S. Aspectos da qualidade da água para abastecimento público na represa Paulo de Paiva Castro sistema cantareira São Paulo-SP. **Revista Metropolitana de Sustentabilidade**, v. 4, n. 2, p. 96-109, 2014.

MOURA, M. A. M.; FRANCO, D. A. S.; MATALLO, M. B. Manejo integrado de macrófitas aquáticas. **Biológico**, v. 71, n. 1, p. 77-82, 2009.

MUDGE, C. R. Impact of aquatic herbicide combinations on nontarget submersed plants. **J. Aquat. Plant Manage**, 51, 39-44, 2013.

NEVES, T.; FOLONI, L. L.; PITELLI, R. A. Controle químico do aguapé (*Eichhornia crassipes*). **Planta Daninha**, v. 20, p. 89-97, 2002.

OECD. ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. 2002 Guidelines for the Testing of Chemicals, *Lemna* sp. Growth inhibition test Paris. 22p.

OLIVEIRA-FILHO, E. C.; LOPES, R. M.; PAUMGARTEEN, F. J. R. Avaliação da toxicidade aguda do oxicloreto de cobre para o peixe *Brachidanyo rerio*. **Revista Brasileira Toxicologia**, v. 10, n. 2, p. 82, 1997.

OLIVEIRA-FILHO, E. C.; PAUMGARTTEN, F. J. Toxicity of Euphorbia milii latex and niclosamide to snails and nontarget aquatic species. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 46, n. 3, p. 342-350, 2000.

PEDRALLI, G. Macrófitas aquáticas como bioindicadoras da qualidade da água: alternativas para usos múltiplos de reservatórios. In: THOMAZ, S. M.; BINI, L. M. (Ed.). **Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas**: alternativas para o uso múltiplo da água. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2003. 171-188 pp.

PITELLI, R. A. **Macrófitas Aquáticas do Brasil, na condição de problema**. In: Workshop Controle de Plantas Aquáticas, 1998, Brasília. Resumos... Brasília: IBAMA, p.19, 1998.

PITELLI, R. A.; NACHTIGAL, G. F.; PITELLI, R. L. C. M. Controle biológico de plantas daninhas. In Manzanillo: **Congresso Latinoamericano de Malezas**, v. 16, p. 518-524, 2003.

PITELLI, R. L. C. M. **Abordagem multivariadas do estudo da dinâmica de comunidades de macrófitas aquáticas**. 2006. 60 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp – Campus de Botucatu, 2006.

PITELLI, R. L. C. M.; TOFFANELI, C. M.; VIEIA, E. A.; PITELLI, R. A.; VELINI, E. D. Dinâmica da comunidade de macrófitas aquáticas no reservatório de Santana, RJ. **Planta Daninha**, v. 26, n. 3, p. 473-480, 2008.

PITELLI, R. A.; BISIGATTO, A. T.; KAWAGUCHI, I.; PITELLI, R. L. C. M. Doses e horários de aplicação do diquat no controle de *Eichhornia crassipes*. **Planta Daninha**, v. 29, n. 2, p. 269-277, 2011. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582011000200004>>.

PIYATIRATITIVORAKUL, P.; RUANGAREERAT, S.; VAJARASATHIRA, B. Comparative toxicity of heavy metal compounds to the juvenile golden apple snail, *Pomacea sp.* **Language**, v. 379, p. 384, 2006.

POMPEO, M. Monitoramento e manejo de plantas aquáticas. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 3, 2008.

PROENÇA, M. A.; OLIVEIRA, L. L. D. D.; ROCHA, O. Efeito tóxico do cobre sobre o crescimento da macrófita aquática *Lemna minor*. **Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v. 8, n. 12, 2012.

RAND, G.M.; PETROCELLI, S.R. Fundamentals of aquatic toxicology: Methods and Applications. **Washington, HemispherePublishing**, 666p, 1985.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. Guia de herbicidas. 5.ed. Londrina: **Grafmarke**, 2005. 591 p

ROSA, C. S.; ANTUNES, R. D.; PITELLI, R. A.; PITELLI, R. L. C. M. Avaliação comparativa das perdas de água por evapotranspiração em mesocosmos colonizados por diferentes macrófitas aquáticas. **Planta Daninha**, v. 27, n. 3, p. 441-445, 2009.

SILVA, A. F.; CRUZ, C.; NETO, A.; PITELLI, R. A. Ecotoxicidade de herbicidas para a macrófita aquática (*Azolla caroliniana*). **Planta Daninha**, v. 30, n. 3, p. 541-546, 2012.

SILVA, D. S.; MARQUES, E. E.; LÓLIS, S. F. Macrófitas aquáticas: “vilãs ou mocinhas”? **Revista Interface (Porto Nacional)**, n. 4, 2012.

SILVA, A. F.; CRUZ, C.; REZENDE, F. R. L.; YAMAUCHI, A. K. F.; PITELLI, R. A. Copper sulfate acute ecotoxicity and environmental risk for tropical fish. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v.36, n. 4, p. 377-381, 2014.

SOUZA, G.S.F.; CAMPOS, C.F.; PEREIRA, M.R.R.; MARTINS, D. Influência da chuva na eficiência de diquat no controle de *Salvinia auriculata*, *Pistia stratiotes* e *Eichhornia crassipes*. **Planta Daninha**, v. 29, n. 4, p. 923-928, 2011.

SOUZA, J. S.; PEDROSA, P.; GATTS, P. V.; AMARAL GRAVINA, G. Aplicação das concentrações e proporções de nutrientes no diagnóstico da eutrofização. **Vértices**, v.16, n.1, p.203-222, 2014.

SHIOGIRI, N. S.; CARRASCHI, S. P.; CUBO, P.; SCHIAVETTI, B. L.; CRUZ, C.; PITELLI, R. A. Ecotoxicity of glyphosate and aterbane® br surfactant on guaru (*Phalloceros caudimaculatus*). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 32, n. 3, p. 285-289, 2010.

TANAKA, R. H. Prejuízos provocados pelas plantas aquáticas. In: WORKSHOP CONTROLE DE PLANTAS AQUÁTICAS, 1998, Brasília. **Resumos...** Brasília, DF: IBAMA, 1998. p. 36-38.

TESSMANN, D. J. **Controle biológico**: Aplicações na área de ciência das plantas daninhas. Cap. 4, p.80-94. In: OLLIVEIRA, Jr. et al. (Eds), *Biologia e Manejo de Plantas Daninhas* (2011).

THOMAZ, S. M. Fatores ecológicos associados à colonização e ao desenvolvimento de macrófitas aquáticas e desafios de manejo. **Planta Daninha**, v. 20, p. 21-33, 2002.

TUNDISI, J. G. Reservatórios como sistemas complexos: teoria, aplicações e perspectivas para usos múltiplos. In: HENRY, R. (Ed.). **Ecologia de reservatórios**: estrutura, funções e aspectos sociais. Botucatu: Fundbio; São Paulo: Fapesp, 1990. p.19-38.

USEPA, United States Environmental Protection Agency. **The acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms**. 5^a ed. October, 2002. 275p.

VELINI, E.D. **Desenvolvimento de técnicas e equipamentos para o monitoramento e controle de plantas aquáticas**. 2005. 238 f. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

VENTURINI, F. P.; CRUZ, C.; PITELLI, R. A. Toxicidade aguda do sulfato de cobre e do extrato aquoso de folhas secas de nim para o caramujo (*Pomacea canaliculata*). **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, v. 30, n. 2, p. 179-183, 2008.

VICTOR T.J., MARIMUTHUS, T.; SIVARAMAKRISHNAN, K. G. Aquatic macrophytes and the associated mosquitoes in and around Madurai City (Tamil Nadu). **Indian Journal of Malariology**, Nova Delhi, v. 28, p. 151-5, 1991.

VIDOTTI, E. C.; ROLLEMBERG, M. D. E. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 139-145, 2004.

CAPÍTULO 2 – Diquat e sua associação com fontes de cobre para o controle de algas: eficácia e ecotoxicologia

RESUMO – O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia do oxiclreto de cobre, hidróxido de cobre e diquat isolados e as associações do herbicida com 0,1% de oxiclreto de cobre e 0,1% hidróxido de cobre no controle da alga unicelular *Ankistrodesmus gracilis* e da alga filamentosa *Pithophora kewesis* e, determinar a toxicidade aguda destes produtos para *Hyphessobrycon eques*, *Pomacea canaliculata*, *Lemna minor* e *Azolla caroliniana*. A eficácia foi estimada pelo método de leitura da clorofila *a* e feofitina *a* e transformados em % de inibição de crescimento. Para os ensaios foram utilizadas as concentrações 0,2; 0,4; 0,8; 1,2 mg L⁻¹ do diquat e sua associação com 0,1% de oxiclreto ou de hidróxido de cobre e as concentrações de 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 1,0 e 1,5 mg L⁻¹ em aplicações isoladas de oxiclreto e hidróxido de cobre com um controle. A toxicidade aguda foi estimada pela concentração letal 50% (CL50/CE50) em 48 horas de exposição. As fontes de cobre foram eficazes para *A. gracilis* a partir de 0,1 mg L⁻¹ com >95% de eficácia, o diquat e a sua associação com hidróxido de cobre foram eficazes a partir de 0,4 mg L⁻¹ com 95 e 88% de eficácia, respectivamente; a associação de diquat com oxiclreto de cobre foi eficaz em 0,2 mg L⁻¹ com 93% de eficácia. Para *P. kewesis* não houve eficácia de controle de nenhum dos produtos químicos testados. O organismo não alvo mais sensível aos produtos químicos foi *L. minor* e o menos sensível foi *H. eques*.

Palavras-chave: Algicida, herbicida, ecotoxicidade, eutrofização.

2.1 Introdução

As atividades antrópicas causam aumento de nitrogênio e fósforo nos ambientes aquáticos, conduzindo a eutrofização e ao aumento da biomassa dos produtores primários (SOUZA et al., 2014). O crescimento de algas provoca desequilíbrio ecológico na cadeia trófica e diminui o oxigênio dissolvido da água causando mortalidade dos organismos aeróbicos aquáticos. Além disso, causa degradação da qualidade da água, altera a potabilidade, encarece o tratamento, causa problemas no abastecimento público e impede o uso para recreação (MOURA; FIRMINO, 2014).

Para o controle de macrófitas, (Henares et al., 2011) e algas (Oliveira Filho; Lopes e Paumgarteen, 2004), a utilização de produtos químicos é uma alternativa viável em função da praticidade, velocidade de resultados, eficácia e baixa toxicidade para os organismos não alvos. Alguns herbicidas podem apresentar efeito secundário sobre as algas, porém ainda não se tem uma base experimental que demonstre esta hipótese. Peterson et al. (1997) demonstraram eficácia da hexazinona e diquat na redução do crescimento de algas unicelulares e cianobactérias, Sáenz et al. (1997) do paraquat na inibição de *Scenedesmus acutus*, *Selenastrum capricornutum* e *Chlorella vulgaris* e Geoffroy et al. (2002) do diuron e oxyfluorfen na redução de *Scenedesmus obliquus*.

Diferentes fontes de cobre associado a um herbicida pode ser uma alternativa para o controle de algas nos ambientes aquáticos. O cobre é eficiente no controle de algas, pois inibe a divisão celular e a fotossíntese em *Chlorella pyrenoidosa*, *Scenedesmus obliquus* (MA; LIANG, 2001), *Pseudokirchneriella subcapitata* (SCHAMPHELAERE et al., 2005) e *Chlorella* sp. (XIA; TIAN, 2009). Segundo Einicker-lamas et al. (2002) o cobre causa alteração nas mitocôndrias, desorganização e mudanças na composição de proteínas e lipídios do cloroplasto de *Euglena gracilis*.

Para Rodrigues et al. (2003) e Oliveira Filho, Lopes e Paumgarteen, (2004) o sulfato de cobre, oxiclreto e óxido de cobre são tóxicos para *Raphidocelis subcapitata*. O sulfato de cobre ou peróxido de hidrogênio é utilizado com sucesso

para o controle de algas e cianobactérias em águas destinadas ao abastecimento público (SANT'ANNA; AZEVEDO, 2000; VAZ, 2011).

O aumento da incidência de luz e as altas concentrações de cobre prejudicam as rotas metabólicas causando efeitos deletérios em níveis estruturais, bioquímicos e fisiológicos nas algas e, em conseqüência, afeta a fixação de nitrogênio, provoca desarranjos na membrana plasmática, reduz absorção de elementos minerais, afeta a mobilidade celular e causa instabilidade em organelas (ZHANG; TAN; LI, 2014; HOOK, 2014; KUMAR et al., 2014).

O emprego da tecnologia da aplicação de um herbicida e um produto algicida pode facilitar o controle de macrófitas e algas, pois dificulta a utilização dos nutrientes gerados pela decomposição e minimiza os impactos ambientais do crescimento das algas. A mistura de diquat com fontes de cobre é mais eficiente no controle de macrófitas e algas do que o uso individual do herbicida (MASSER; MURPHY; SHELTON, 2001 e MARTINS et al., 2007).

No entanto a utilização de produtos químicos nos ambientes aquáticos é questionável do ponto de vista de segurança e saúde ambiental. Assim, estudos ecotoxicológicos para organismos não alvos são fundamentais na tomada de decisão sobre a intervenção química nestes sistemas (COSTA et al., 2008).

Na avaliação ecotoxicológica organismos de diversos níveis da cadeia alimentar são utilizados de acordo com características tais como sensibilidade, fácil manejo, ciclo reprodutivo, distribuição, facilidade de operação e tamanho. Dentre os bioindicadores que podem ser utilizados estão os peixes (SILVA et al., 2014), o caramujo (FLORÊNCIO et al., 2014) e as macrófitas aquáticas (KIELAK et al., 2011; SILVA et al., 2012).

2.2 Objetivos

O presente capítulo tem o objetivo avaliar a eficácia do oxiclreto de cobre, hidróxido de cobre e diquat isolados e a associação do herbicida com 0,1% de oxiclreto de cobre e 0,1% hidróxido de cobre no controle da alga unicelular *Ankistrodesmus gracilis* e alga filamentosa *Pithophora kewesis* e estimar a

toxicidade aguda, concentração letal e efetiva 50% (CL50/CE50) para os bioindicadores *Hyphessobrycon eques*, *Pomacea canaliculata*, *Lemna minor* e *Azolla caroliniana*.

2.3 Material e Métodos

Neste estudo foi utilizado o herbicida diquat (200 g L⁻¹) e as fontes de cobre: oxiclreto de cobre (OxCu) (588 g L⁻¹) e hidróxido de cobre (HxCu) (690 g Kg⁻¹). Para avaliação de eficácia no controle de algas foi utilizada a concentração de clorofila a (Ca) e estimada a degradação da clorofila por meio da leitura de feofitina a (Fa) e os resultados obtidos foram submetidos à equação de clorofila a e feofitina a conforme norma da CETESB (1990) e transformados em % de inibição de crescimento para Ca e % de degradação para Fa.

Os dados de eficácia e degradação foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 99% de probabilidade. Para os ensaios ecotoxicológicos a toxicidade aguda (CL50/CE50) foi estimada pelo software Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON; RUSSO; THURSTON, 1977) e classificado de acordo com as classes ecotoxicológicas de (ZUCKER; JOHNSON, 1985).

2.3.1 Eficácia para alga unicelular *Ankistrodesmus gracilis* e alga filamentosa *Pithophora kewesis*

Para a realização dos estudos, foram coletadas amostras de algas (unicelulares e filamentosas) dos mesocosmos (tanques de 400 litros), transferidas para erlenmeyer de 2,0 litros e cultivadas em meio de cultivo a base de fertilizante químico NPK (20:5:20) associado com extrato de macrófita (*Eichhornia crassipes*) (SIPAÚBA-TAVARES; IBARRA; FIORESI, 2009). O material foi mantido em estufa de demanda biológica de oxigênio (BOD), a 25,0 ± 1,0 °C, com fotoperíodo de 12 horas de luz, e aeração artificial promovida por soprador de ar.

As amostras de algas unicelulares (50 mL da cultura) foram transferidas para tubos de ensaios com capacidade para 100 mL e mantidas por 24 horas em sala climatizada, a temperatura de $25,0 \pm 1,0$ °C, fotoperíodo de 12 horas a 1000 lux. Para a alga filamentosa, a quantidade de 1,0 g foi pesada em balança de precisão e adicionado 50 mL de água em tubos de ensaio e mantidas por 24h em aclimação, nas mesmas condições a alga unicelular.

Após período de aclimação foi realizada a aplicação do diquat nas doses de 0,2; 0,4; 0,8; 1,2 mg L⁻¹ isolados e em associação com oxicloreto e hidróxido de cobre (0,1%) e dos compostos oxicloreto e hidróxido de cobre nas concentrações 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 1,0 e 1,5 mg L⁻¹ e uma testemunha sem aplicação de herbicida ou composto de cobre. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado com cinco repetições com período de exposição de 15 dias.

Ao final do período experimental, três parcelas experimentais de cada concentração foram coletadas e filtradas em bomba à vácuo em sistema kitassato, posteriormente foi adicionado 10 mL de acetona 90% e armazenados em freezer a -4,0 °C por 24 horas para extração dos pigmentos. A seguir, as amostras foram submetidas à centrifugação por 20 minutos e o sobrenadante foi transferido para cubetas espectrofotométricas de 2,5 cm de caminho ótico e a leitura foi realizada em espectrofotômetro (Odyssey Hach Company DR/ 2500). Um branco de acetona 90% foi utilizado como padrão do caminho ótico e os comprimentos de onda mensurados para Clorofila *a* foram 750 e 664 nm e para Feofitina *a*, 750 e 665 nm. Após a leitura da Ca foi adicionado à amostra 0,1 mL de ácido clorídrico 0,1M para leitura da Fa (CETESB, 1990).

2.3.2 Ensaio ecotoxicológico para *Hyphessobrycon eques* e *Pomacea canaliculata*

Foram utilizados peixes com peso médio de $0,74 \pm 0,19$ g e caramujos com $1,37 \pm 0,21$ g, os quais foram aclimatados por sete dias em sala de bioensaio em condições controladas (ABNT, 2011).

Inicialmente, foi avaliada a sensibilidade dos bioindicadores com o cloreto de potássio (KCl) como substância referência, em que a CL50; 48h para o peixe foi de

1,68 g L⁻¹ com limite superior (LS) de 2,14 g L⁻¹ e limite inferior (LI) de 1,32 g L⁻¹ e para o caramujo a CE50; 48h foi de 2,85 g L⁻¹ com LS de 3,82 g L⁻¹ e LI de 2,13 g L⁻¹.

Após estudos preliminares, foram realizados ensaios definitivos para o peixe *H. eques* utilizando-se as seguintes concentrações de Diquat: 61,27; 79,66; 103,00 e 134,63 mg L⁻¹, OxCu: 3,60; 11,80; 14,80 e 18,40 mg L⁻¹, HxCu: 1,10; 3,60; 11,80; 14,75; 18,43; 23,00 e 28,80 mg L⁻¹, D+0,1%OxCu: 3,40; 6,80; 13,60 e 27,20 mg L⁻¹ e D+0,1%HxCu: 6,00; 10,50; 18,40; 32,20; e 56,30 mg L⁻¹ e um controle, com três réplicas e três peixes por réplica.

Para o caramujo *P. canaliculata* foram utilizadas as concentrações de Diquat: 1,06; 3,43; 11,16; 36,26; 117,84 mg L⁻¹, OxCu: 0,11; 0,34; 1,11; 3,62 e 11,86 mg L⁻¹, HxCu: 0,01; 0,03; 0,11; 0,34; 1,11; 3,62 e 11,80 mg L⁻¹, D+0,1%OxCu: 0,11; 0,34; 1,11; 3,62 e 11,80 mg L⁻¹ e D+0,1%HxCu: 0,03; 0,11; 0,34; 1,11; 3,62 e 11,80 mg L⁻¹ e um controle, com três réplicas e cinco animais por réplica.

Os experimentos foram conduzidos em sistema estático com duração de 48 horas. As avaliações da mortalidade de peixes, imobilidade de caramujo e as variáveis de qualidade da água (temperatura, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica e pH) foram avaliadas 0, 24 e 48 horas após exposição.

2.3.3 Ensaios ecotoxicológicos para *Lemna minor* e *Azolla caroliniana*

As macrófitas *L. minor* e *A. caroliniana* foram aclimatadas em sala de bioensaio, à 25,0 ± 2,0°C e iluminação constante de 1000 lux por três dias. Após aclimação foram selecionadas quatro plantas de *L. minor* com três frondes (total de 12 frondes) e cinco plantas de *A. caroliniana*. As plantas foram distribuídas em recipientes de vidro com capacidade para 100 mL contendo 50 mL do meio de cultivo (Hoagland's) e aclimatadas por mais 24 horas. Após este período, foi adicionado 50 mL de Hoagland's contendo as diluições dos produtos químicos.

A sensibilidade das plantas foi avaliada utilizando como substância referência o cloreto de sódio (NaCl). Assim, a CL50;7d para *L. minor* foi de 0,65 g L⁻¹ com LS de 0,69 g L⁻¹ e LI de 0,62 g L⁻¹ e para *A. caroliniana* a CL50;7d foi de 2,14 g L⁻¹, LS de 2,31 g L⁻¹ e LI de 1,97 g L⁻¹.

Nos ensaios definitivos, para *L. minor* foram utilizadas as concentrações de Diquat: 0,001; 0,0050; 0,01; 0,05; de HxCu: 0,001; 0,01; 0,05 e 0,1 mg L⁻¹; de OxCu: 0,001; 0,005; 0,01; 0,05; 0,1 e 1,0 mg L⁻¹ e de D+0,1%OxCu e D+0,1%HxCu: 0,001; 0,0025; 0,0050; 0,0075 e 0,01 mg L⁻¹.

Para *A. caroliniana* foram utilizadas as concentrações de diquat: 0,005; 0,01; 0,022; 0,05; 0,11 e 0,25 mg L⁻¹, de OxCu: 0,10; 0,32; 1,06; 3,43; 11,15; 36,26 e 118,00 mg L⁻¹, de HxCu: 0,10; 1,00; 3,50; 11,20; 36,50 e 118,00 mg L⁻¹, de D+0,1%HxCu: 0,01; 0,05; 0,1; 0,5 e 1,0 mg L⁻¹ e de D+0,1%OxCu: 0,005; 0,01; 0,16; 0,24 e 0,38 mg L⁻¹ ambas com controle e três réplicas por concentração.

A avaliação da mortalidade das plantas foi realizada no terceiro, quinto e sétimo dia após a exposição. Para *L. minor* foi avaliada de acordo com as alterações na taxa de crescimento, necrose e clorose das frondes (OECD, 2002). Para *A. caroliniana* foi utilizada escala de notas (E a A) de acordo com SILVA et al., (2012).

2.4 Resultados e Discussão

2.4.1 Eficácia de controle para alga unicelular *Ankistrodesmus gracilis*

O oxicleto de cobre reduziu significativamente a clorofila (Ca) em todas as concentrações. A maior média de redução ocorreu com 1,0 mg L⁻¹, com valor de 0,09 µg L⁻¹, em comparação a 2,90 µg L⁻¹ no controle, equivalente a 97% de eficácia em relação a Feofitina a (Fa) foi observado maior degradação na concentração de 0,1 mg L⁻¹, com valor de 0,63 µg L⁻¹, em comparação a 3,44 µg L⁻¹ no controle, equivalente a 18% (Figura 1).

O hidróxido de cobre reduziu significativamente a Ca em todas as concentrações. A maior média de redução ocorreu em 0,3 mg L⁻¹, com valor de 0,14 µg L⁻¹, em comparação a 2,90 µg L⁻¹ no controle, equivalente a 96% de eficácia. Para a Fa ocorreu maior degradação na concentração de 1,5 mg L⁻¹, com 1,12 µg L⁻¹ em comparação a 3,44 µg L⁻¹ no controle, equivalente a 32% (Figura 1).

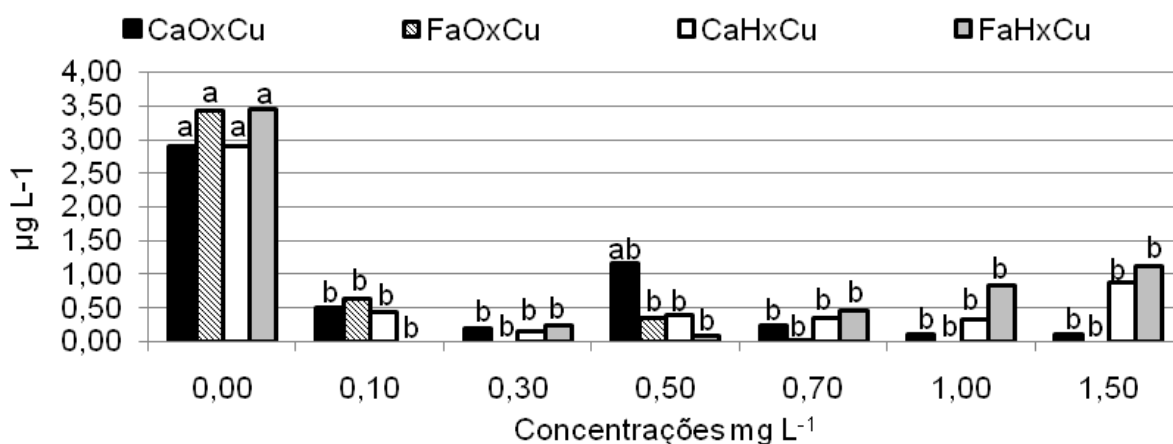


Figura 1. Valores médios de Clorofila *a* (Ca) e Feofitina *a* (Fa) da alga unicelular *Ankistrodesmus gracilis* após 15 dias de exposição ao oxicleto de cobre (OxCu) e hidróxido de cobre (HxCu). Médias com a mesma letra não diferem significativamente (Tukey, $p < 0,01$).

As concentrações a partir de 0,1 mg L⁻¹ de oxicleto e hidróxido de cobre foram eficazes para *A. gracilis* similar ao sulfato de cobre (IC₅₀;96h = 0,15 mg L⁻¹) para *Raphidocelis subcapitata* (RODRIGUES et al., 2003) e para *R. subcapitata* (IC₅₀;96h = 0,14 mg L⁻¹ (OLIVEIRA-FILHO; LOPES; PAUMGARTEEN, 2004). Entretanto são concentrações maiores que as de oxicleto de cobre e o óxido de cobre causaram inibição de crescimento de 50% para *R. subcapitata* IC₅₀;96h de 0,073 mg L⁻¹ e 0,071 mg L⁻¹, respectivamente (OLIVEIRA-FILHO; LOPES; PAUMGARTEEN, 2004). Para Wong e Chang (1991) as concentrações de cobre 0,50 e 0,75 mg L⁻¹ são 100% eficazes no controle de *Chlorella pyrenoidosa* por meio de leituras de clorofila *a*.

O cobre em baixas concentrações é um micronutriente essencial nos processos metabólicos de algas, desempenhando funções vitais no transporte de elétrons em vários sistemas enzimáticos, podendo ser citados (oxidase, amina oxidase e citocromo *c*) (KUMAR et al., 2014). Entretanto, quando em excesso pode se tornar inibidor da fotossíntese, pois o aparato fotossintético é sensível a altas concentrações deste íon, diminui a taxa de transferência de elétrons, interfere no pigmento, biossíntese de lipídios e conseqüentemente na estrutura do cloroplasto, influenciando assim a eficiência fotossintética (BARÓN; ARELLANO; GORGÉ, 1995; POGSON et al., 1998).

O herbicida diquat, causou redução significativa da Ca em 0,4, 0,8 e 1,2 mg L⁻¹. A maior redução ocorreu em 0,8 mg L⁻¹, com valor de 0,13 µg L⁻¹, em comparação a 3,57 µg L⁻¹ no controle, equivalente a 95% de eficácia. Para a Fa ocorreu maior degradação na concentração de 0,2 mg L⁻¹, com 4,59 µg L⁻¹ em comparação a 4,45 µg L⁻¹ no controle, um aumento de 3% em relação ao controle (Figura 2).

A associação D+0,1%OxCu causou redução significativa da Ca em todas as concentrações testadas. A maior redução ocorreu em 1,2 mg L⁻¹, com 0,26 µg L⁻¹, em comparação a 3,57 µg L⁻¹ no controle, equivalente a 93% de eficácia. Para a Fa ocorreu maior degradação na concentração de 0,2 mg L⁻¹, com 2,59 µg L⁻¹ em comparação a 4,45 µg L⁻¹ no controle, equivalente a 58% (Figura 2).

A associação D+0,1%HxCu causou redução significativa para a Ca com 0,4, 0,8 e 1,2 mg L⁻¹. A maior redução ocorreu em 0,8 mg L⁻¹ com 0,32 µg L⁻¹ em comparação a 3,57 µg L⁻¹ no controle, equivalente a 92% de eficácia. Em relação à Fa ocorreu maior degradação na concentração de 0,2 mg L⁻¹, com 4,28 µg L⁻¹ em comparação a 4,45 µg L⁻¹ no controle, equivalente a 96% (Figura 2).

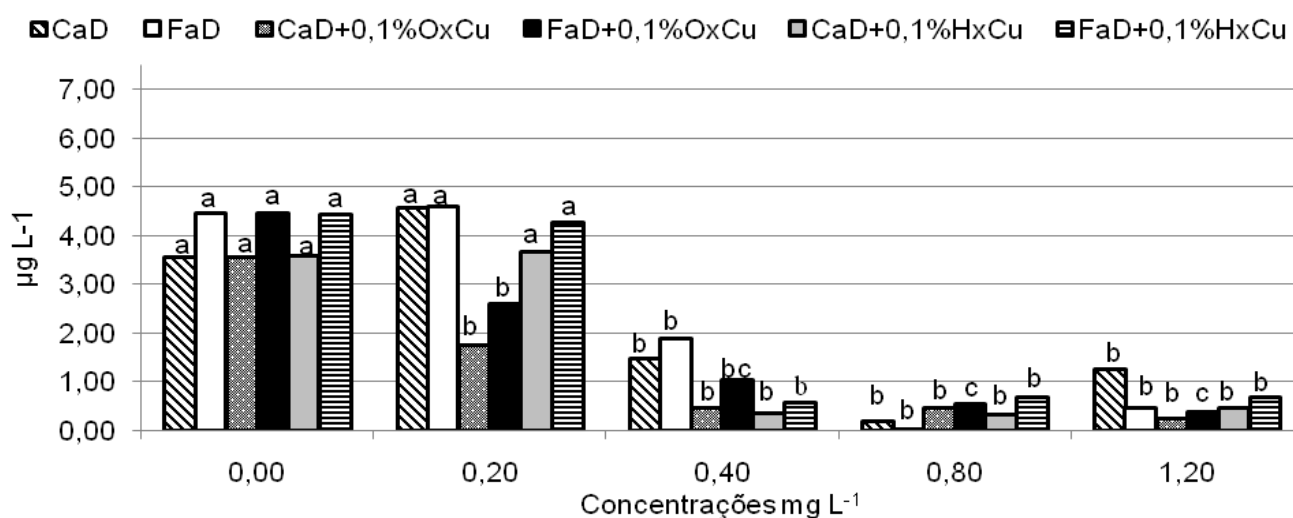


Figura 2. Valores médios de Clorofila a (Ca) e Feofitina a (Fa) da alga unicelular *Ankistrodesmus gracilis* após 15 dias de exposição ao Diquat (D), Diquat e sua associação com oxicloreto de cobre (D+0,1%OxCu) e com hidróxido de cobre (D+0,1%HxCu). Médias com a mesma letra não diferem significativamente (Tukey, P < 0,01).

O diquat foi mais eficaz na concentração de 0,8 mg L⁻¹ para *A. gracilis* e as associações D+0,1%OxCu e D+0,1%HxCu a partir de 0,4 mg L⁻¹. O diquat controla *A. gracilis* em concentração maior que a encontrada como tóxica para alga *Selenastrum capricornutum* (CE50;96h de 0,08 mg L⁻¹) (FAIRCHILD et al., 1997) e em concentração maior do que o paraquat para alga *Chlorella vulgaris* (CE50 de 0,0002 mg L⁻¹) e para *R. subcapitata* (CE50 de 0,018 mg L⁻¹) (MA et al., 2002; 2006). O paraquat também causou inibição de crescimento em 96h a partir das concentrações de 0,05 mg L⁻¹ em *C. vulgaris*, *S. quadricauda* e *S. acutus* (SAÉNZ et al., 1997).

O diquat é recomendado para controle de macrófitas submersas e flutuantes em lagos, lagoas e canais de irrigação na América do Norte, Europa, Austrália e Japão em concentração igual ou inferior a 1,0 mg L⁻¹, por apresentar degradação fotoquímica. A meia vida do diquat no ambiente aquático é menor que 48 horas e é absorvido pelas plantas aquáticas e após a sua decomposição se liga a partículas coloidais do solo deixando a água livre de resíduos do herbicida (FAO/WHO, 1995). Assim além do comportamento herbicida, este pode também ser considerado um agente algicida, pois com base nas concentrações testadas, está dentro da margem de registro e podem-se obter resultados significativos de redução de macrófitas e algas devido a sua ação na peroxidação de lipídios.

2.4.2 Eficácia de controle para alga filamentosa *Pithophora kewesis*

O OxCu e o HxCu não causaram redução significativa no controle de *P. kewesis*. Para o OxCu a maior redução da Ca ocorreu em 0,7 mg L⁻¹, com valor de 39,06 µg L⁻¹, em comparação a 49,69 µg L⁻¹ no controle, equivalente a 22%. Em relação a Fa ocorreu maior degradação em 0,1 mg L⁻¹, com 94,59 µg L⁻¹, em comparação a 78,30 µg L⁻¹ no controle, um aumento de 20% em relação ao controle (Figura 3).

O HxCu causou maior redução da Ca em 1,0 mg L⁻¹, com 38,53 µg L⁻¹, em comparação a 49,69 µg L⁻¹ no controle, equivalente a 23%. Em relação a Fa ocorreu

maior degradação na concentração de 0,5 mg L⁻¹, com 76,36 µg L⁻¹, em comparação a 78,30 µg L⁻¹ no controle, equivalente a 97% (Figura 3).

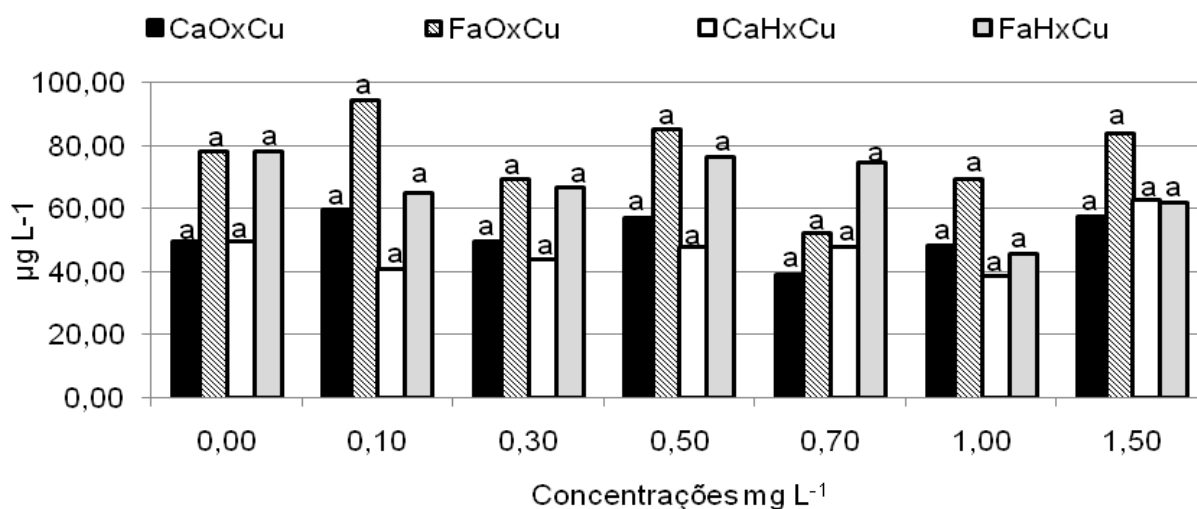


Figura 3. Valores médios de Clorofila *a*(Ca) e Feofitinaa (Fa) da alga unicelular *Pithophora kewesis* após 15 dias de exposição ao Oxidocloreto de cobre (OxCu) e Hidróxido de cobre (HxCu). Médias com a mesma letra não diferem estatisticamente (Tukey, P < 0,01).

O estudo com diquat e as associações D+0,1%OxCu e D+0,1%HxCu não causaram redução significativa no controle de *Pithophora kewesis*. O diquat causou maior redução da Ca em 0,4 mg L⁻¹, com 46,99 µg L⁻¹, em comparação a 49,69 µg L⁻¹ no controle, equivalente a 6%. Em relação a Fa ocorreu maior degradação na concentração de 0,2 mg L⁻¹, com 88,26 µg L⁻¹, em comparação a 78,30 µg L⁻¹ no controle, um aumento de 12% em relação ao controle (Figura 4).

O D+0,1%OxCu não causou redução da Ca. Em relação à Fa a maior degradação foi em 1,2 mg L⁻¹, com 86,41 µg L⁻¹, em comparação a 78,30 µg L⁻¹ no controle, um aumento de 10% em relação ao controle (Figura 4).

A maior redução da Ca no ensaio com D+0,1%HxCu ocorreu em 0,8 mg L⁻¹, com 46,88 µg L⁻¹, em comparação a 49,69 µg L⁻¹ no controle, equivalente a 6%. Em relação à Fa a maior degradação foi em 0,8 mg L⁻¹, com 76,46 µg L⁻¹, em comparação a 78,30 µg L⁻¹ no controle, equivalente a 97% (Figura4).

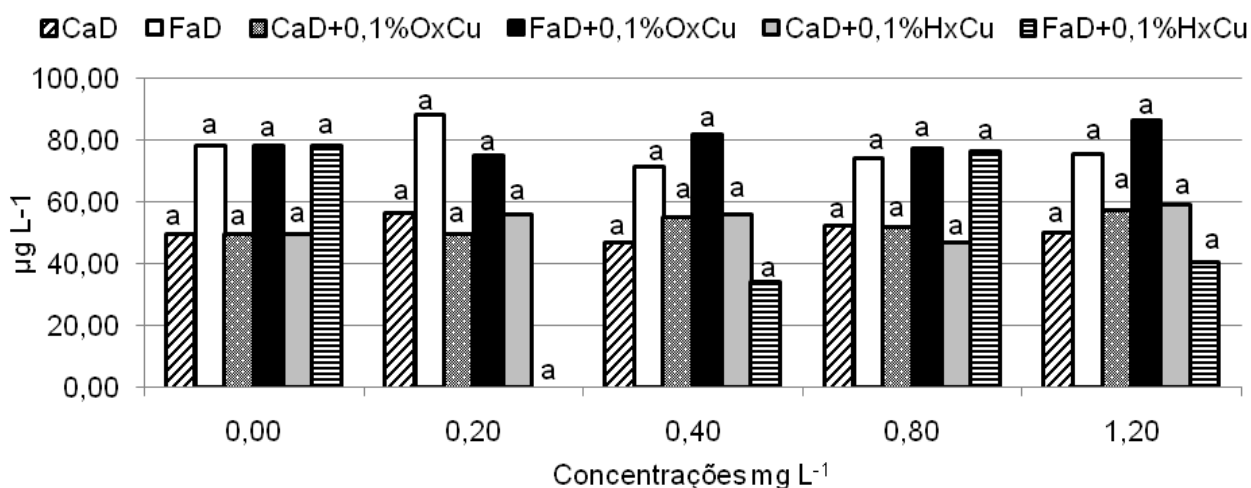


Figura 4. Valores médios de Clorofila *a* (Ca) e Feofitina *a* (Fa) da alga filamentosa *Pithophora kewesis* após 15 dias de exposição ao Diquat (D), Diquat e sua associação com Oxidocloreto de cobre (D+0,1%OxCu) e com Hidróxido de cobre (D+0,1%HxCu). Médias com a mesma letra não diferem estatisticamente (Tukey, $P < 0,01$).

A não eficácia de derivados de cobre para *Pithophora kewesis* é descrita por Masser, Murphy e Shelton (2001) em relação ao sulfato de cobre e por Durborow et al. (2008) que descreve que esta alga é resistente a algicida a base de cobre. Este último autor afirma ainda que o diquat é eficaz no controle de algas filamentosas, diferindo do ocorrido neste trabalho.

2.4.3 Ecotoxicidade para *H. eques*, *P. canaliculata*, *L. minor* e *A. caroliniana*

O diquat foi mais tóxico para *L. minor* com CL₅₀;7d de 0,01 mg L⁻¹ (0,0 - 0,01 mg L⁻¹) e menos tóxico para o peixe *H. eques* com CL₅₀;48h de 103,61 mg L⁻¹ (119,66 - 89,71 mg L⁻¹), sendo que a sensibilidade dos organismos bioindicadores ao diquat foi *L. minor* > *A. caroliniana* > *P. canaliculata* > *H. eques* (Tabela 1).

Tabela 1. Toxicidade aguda (mg L^{-1}) dos produtos químicos para organismos não alvo.

Bioindicadores	L.I.	CL/CE50	L.S.	Zucker (1985)
Diquat				
<i>H. eques</i>	89,71	103,61	119,66	PNT
<i>P. canaliculata</i>	2,50	4,71	8,88	MT
<i>L. minor</i>	0,00	0,01	0,01	ET
<i>A. caroliniana</i>	0,02	0,02	0,03	ET
Oxicloreto de cobre (OxCu)				
<i>H. eques</i>	3,15	5,14	8,38	MT
<i>P. canaliculata</i>	0,91	1,35	2,01	MT
<i>L. minor</i>	0,01	0,01	0,02	ET
<i>A. caroliniana</i>	0,02	0,02	0,03	ET
Hidróxido de cobre (HxCu)				
<i>H. eques</i>	6,65	11,36	19,40	PT
<i>P. canaliculata</i>	0,25	0,44	0,77	AT
<i>L. minor</i>	-	< 0,01	-	ET
<i>A. caroliniana</i>	-	> 100	-	PNT
Diquat+0,1% Oxicloreto de cobre (D+0,1%OxCu)				
<i>H. eques</i>	4,09	4,85	5,75	MT
<i>P. canaliculata</i>	0,63	1,07	1,82	MT
<i>L. minor</i>	-	< 0,01	-	ET
<i>A. caroliniana</i>	0,03	0,04	0,04	ET
Diquat+0,1% Hidróxido de cobre (D+0,1%HxCu)				
<i>H. eques</i>	13,91	18,97	25,87	PT
<i>P. canaliculata</i>	0,20	0,33	0,54	AT
<i>L. minor</i>	-	< 0,01	-	ET
<i>A. caroliniana</i>	0,02	0,03	0,06	ET

LI: limite inferior; LS: limite superior; CL: concentração letal; CE: concentração efetiva; PNT: praticamente não-tóxico; MT: moderadamente tóxico; ET: extremamente tóxico; PT: pouco tóxico; AT: altamente tóxico.

A toxicidade aguda do diquat para *L. minor* foi similar a encontrada por Fairchild et al. (1997) em que a CE50;96h foi de $0,018 \text{ mg L}^{-1}$ e a do paraquat de $0,051 \text{ mg L}^{-1}$. A pequena diferença entre as concentrações permite observar que este grupo de herbicidas é tóxico para a macrófita aquática.

O diquat foi mais tóxico para *A. caroliniana* do que outros herbicidas como o 2,4-D com CL50;7d de $708,35 \text{ mg L}^{-1}$, o clomazone, $129,63 \text{ mg L}^{-1}$, o oxyfluorfen, $80,50 \text{ mg L}^{-1}$, o glifosato na formulação Trop®, $38,91 \text{ mg L}^{-1}$ e o glifosato na formulação Scout®, $23,66 \text{ mg L}^{-1}$ (SILVA et al., 2012).

Porém o diquat foi menos tóxico para *P. canaliculata* do que o paraquat, herbicida do mesmo grupo químico, para o caramujo *Pomacea lineata*, com CL50;96h de 0,35 mg L⁻¹ (MELO et al., 2000).

O diquat foi menos tóxico para *H. eques* do que para *Ctenopharyngodon idella*, CL50;96h de 53,0 mg L⁻¹ (EL DENN; ROGERS, 1992); para *Leporinus macrocephalus*, 34,76 mg L⁻¹ (HENARES et al., 2007); *Oreochromis niloticus*, 37,28 mg L⁻¹ (HENARES et al., 2008) e *P. caudimaculatus* CL50;96h de 7,17 mg L⁻¹ (HENARES et al., 2011) e similar ao glifosato Rodeo que é praticamente não tóxico para *P. caudimaculatus* (CL50;96h > 975 mg L⁻¹) (SHIOGIRI et al., 2010).

O oxicloreto de cobre foi mais tóxico para *L. minor* com CL50;7d de 0,01 mg L⁻¹ (0,02 - 0,01 mg L⁻¹) e menos tóxico para *H. eques* com CL50;48h de 5,14 mg L⁻¹ (8,38 - 3,15 mg L⁻¹). A ordem de sensibilidade dos organismos ao OxCu foi *L. minor* > *A. caroliniana* > *P. canaliculata* > *H. eques* (Tabela 1).

O hidróxido de cobre foi mais tóxico para *L. minor* com CL50;7d < 0,01 mg L⁻¹ e menos tóxico para *A. caroliniana* com CL50;7d >100 mg L⁻¹. A ordem de sensibilidade do HxCu foi *L. minor* > *P. canaliculata* > *H. eques* > *A. caroliniana* (Tabela 1).

As fontes de cobre neste estudo foram mais tóxicas para *L. minor* do que o encontrado por Proença; Oliveira e Rocha (2012) em que o cobre isolado causou letalidade em concentração acima de 10 mg L⁻¹.

O HxCu foi mais tóxico para *P. canaliculata* do que o OxCu. Segundo Piyatiratitivorakul, Ruangareerat e Vajarasathira (2006) o oxicloreto de cobre foi menos tóxico que o óxido de cobre para a mesma espécie de caramujo com CL50;48h 0,47 mg L⁻¹.

O oxicloreto de cobre apresentou toxicidade similar para o caramujo *Biomphalaria glabrata* (CL50;48h 1,43 mg L⁻¹) (OLIVEIRA-FILHO; LOPES; PAUMGARTEEN, 2004), porém foi menos tóxico que o sulfato de cobre para a mesma espécie, CL50;96h de 0,07 mg L⁻¹ (VENTURINI; CRUZ; PITELLI, 2008).

O OxCu foi mais tóxico para *H. eques* do que para a tilápia vermelha (*Oreochromis* sp.) com CL50;96h 129,21 mg L⁻¹ (BOOCK E MACHADO-NETO, 2000), mas foi menos tóxico para *Danio rerio* com CL50;96h 0,2 mg L⁻¹ (OLIVEIRA-

FILHO; LOPES; PAUMGARTEEN, 1997), e *Poceilia reticulata* (CL50;96h 0,1 mg L⁻¹) (BOOCK; MACHADO-NETO, 2005).

O OxCu e o HxCu foram menos tóxicos do que o sulfato de cobre para *Labeo Rohita* (CL50;96h 3,15 mg L⁻¹) (LATIF et al., 2013); *P. caudimaculatus* (0,05 mg L⁻¹), *B. rerio* (0,13 mg L⁻¹) e *H. eques* (CL50;96h 0,16 mg L⁻¹) (SILVA et al., 2014).

A associação D+0,1%OxCu foi mais tóxica para *L. minor* com CL50;7d < 0,01 mg L⁻¹ e menos tóxicas para *H. eques* com CL50 4,85 mg L⁻¹ (5,75 - 4,09 mg L⁻¹). A sensibilidade da associação foi *L. minor* > *A. caroliniana* > *P. canaliculata* > *H. eques* (Tabela 1).

O D+0,1%HxCu foi mais tóxico para *L. minor* com CL50;7d < 0,01 mg L⁻¹ e menos tóxico para *H. eques* com CL50;48h de 18,97 mg L⁻¹ (25,87 - 13,91 mg L⁻¹). A sensibilidade dos bioindicadores ao D+0,1%HxCu foi *L. minor* > *A. caroliniana* > *P. canaliculata* > *H. eques* (Tabela 1).

As associações D+0,1%OxCu e D+0,1%HxCu foram extremamente tóxicas para as macrófitas, similar à mistura de 50% atrazina e 35% isoproturon para *L. minor* e *Azolla filiculoides* com EC50;21d de 0,07 e 0,03 mg L⁻¹ (COUTRIS et al., 2011).

As associações D+0,1%OxCu e D+0,1%HxCu foram de moderado a pouco tóxico para *H. eques* diferindo da associação de glifosato + 0,5 e 1,0% do surfactante condensado de alcoofenóis com óxido de eteno e sulfonados orgânicos que foi praticamente não tóxico com CL50;96h > 975 mg L⁻¹ para o peixe *P. caudimaculatus* (SHIOGIRI et al., 2010).

Os produtos químicos estudados não alteram a temperatura, oxigênio e pH da água, porém alteram a condutividade elétrica. O diquat causou aumento no estudo com *H. eques*, que variou de 371,80 μS cm⁻¹ no controle para 564,47 μS cm⁻¹ na concentração 134,63 mg L⁻¹; D+0,1%OxCu aumentou de 361,40 μS cm⁻¹ para 415,15 μS cm⁻¹ no ensaio com *H. eques* e D+0,1%HxCu aumentou de 292,50 μS cm⁻¹ para 382,18 μS cm⁻¹ no ensaio com *H. eques*. O aumento da condutividade elétrica nos ensaios de toxicidade aguda é devido à dissociação dos produtos químicos na água causando maior disponibilidade de íons dissolvidos e pode interferir na assimilação de oxigênio, homeostase e na regulação osmótica dos peixes (IKEFUTI et al., 2015).

2.5 Conclusões

As fontes de cobre oxiclreto e hidróxido foram eficazes para o controle da alga unicelular *Ankistrodesmus gracilis* a partir da concentração de 0,1 mg L⁻¹. A eficácia do diquat somente ocorreu em associação com fontes de cobre para *Ankistrodesmus gracilis*. O diquat e as fontes de cobre não foram eficazes no controle de *Phithophora kewesis*. A macrófita flutuante *Lemna minor* foi o organismo mais sensível. E de acordo com sua sensibilidade os produtos testados são classificados como extremamente tóxicos para os organismos não-alvos.

2.6 Referências

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 15088**: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda - Método de ensaio com peixes. 19p, 2011.

BARÓN, M.; ARELLANO, J. B.; GORGÉ, J. L. Copper and photosystem II: a controversial relationship. **Physiologia Plantarum**, v. 94, n. 1, p. 174-180, 1995.

BOOCK, M. V.; MACHADO NETO, J. G. 2000. Estudos toxicológicos do oxiclreto de cobre para tilápia vermelha (*Oreochromis* sp.). **Arq. Inst. Biol.**, v.67, n.2, p. 215-221, 2000.

BOOCK, M. V.; MACHADO-NETO, J. G. Estudos sobre a toxicidade aguda do oxiclreto de cobre para o peixe *Poecilia reticulata*. **Boletim Instituto Pesca**, n. 31, v. 1, p. 29-35, 2005.

CETESB Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. 1990. **Norma técnica CETESB L5.306**. Determinação de pigmentos fotossintetizantes- clorofila-A, B e C e feofitina-A: método de ensaio. 22p.

COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M.; ESPINDOLA, E. L. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

COUTRIS, C.; MERLINA, G.; SILVESTRE, J.; PINELLI, E., ELGER, A. Can we predict community-wide effects of herbicides from toxicity tests on macrophyte species?. **Aquatic Toxicology**, v. 101, n. 1, p. 49-56, 2011.

DURBOROW, R. M., TUCKER, C. S., GOMELSKY, B. I., ONDERS, R. J., MIMS, S. D. Aquatic weed control in ponds. **Kentucky State University Land Grant Program**, 2008.

EINICKER-LAMAS, M.; ANTUNES M., G.; BENAVIDES FERNANDES, T.; SILVA, F.L.S.; GUERRA, F.; MIRANDA, K.; ATTIAS, M.; OLIVEIRA, M. M. *Euglena gracilis* as a model for study of Cu²⁺ and Zn²⁺ toxicity and accumulation in eukaryotic cells. **Environ. Pollut**, v. 120, p. 779–786, 2002.

EL-DEEN, M. A. S.; ROGERS, W. A. Acute toxicity and some hematological changes in grass carp exposed to diquat. **Journal of aquatic animal health**. V. 4, n. 4, p. 277-280, 1992.

FAO/WHO. 1995. Pesticide residues in food — 1994. Evaluations — 1994. Part I Residues, Vol. 1. Rome, **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (FAO Plant Production and Protection Paper 131/1).

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.

FLORÊNCIO, T.; CARRASCHI, S. P.; CRUZ, C.; SILVA, A. F.; MARQUES, A. M., PITELLI, R. A. Bioindicadores neotropicais de ecotoxicidade e risco ambiental de fármacos de interesse para aquicultura. **Bol. Inst. Pesca**, v. 40, n. 4, p. 569-576, 2014.

GEOFFROY, L; TEISSEIRE, H.; COUDERCHET, M.; VERNET, G. Effect of oxyfluorfen and diuron alone and in mixture on antioxidative enzymes of *Scenedesmus obliquus*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 72, p. 178–185, 2002.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, V. Trimmed spearman-karber method for estimating medical lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environmental Science Technologic**, v. 7, p. 714-719, 1977.

HENARES, M. N. P.; CRUZ, C.; GOMES, G. R.; PITELLI, R. A.; MACHADO, M. R. F. Toxicidade aguda e efeitos histopatológicos do Diquate na brânquia e no fígado do piauçu (*Leporinus macrocephalus*). **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, 17, 2007.

HENARES, M. N. P.; CRUZ, C.; GOMES, G. R.; PITELLI, R. A.; MACHADO, M. R. F. Toxicidade aguda e efeitos histopatológicos do herbicida diquat na brânquia e no fígado da tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 30, n. 1, p. 77-82, 2008.

HENARES, M. N. P.; REZENDE, F. R. L.; GOMES, G. R.; CRUZ, C.; PITELLI, R. A. Eficácia do diquat no controle de *Hydrilla verticillata*, *Egeria densa* e *Egerianajase* toxicidade para o Guaru (*Phallocerus caudimaculatus*), em condições de laboratório. **Planta Daninha**, v. 29, n. 2, p. 279-285, 2011.

HOOK, S. E.; OSBORN, H. L.; GISSI, F.; MONCUQUET, P.; TWINE, N. A.; WILKINS, M. R.; ADAMS, M.S. RNA-Seq analysis o the toxicant-induced transcriptom e of the marine diatom, *Ceratoneis closterium*. **Mar. Genomics**, 2014.

IKEFUTI, C. V.; CARRASCHI, S. P.; BARBUIO, R.; CRUZ, C.; PÁDUA, S. B.; ONAKA, E. M.; RANZANI-PAIVA, M. J. T. Teflubenzuron as a tool for control of trichodinids in freshwater fish: Acute toxicity and in vivo efficacy. **Experimental Parasitology**, v. 154, p. 108-112, 2015.

KIELAK, E.; SEMPRUCH, C.; MIODUSZEWSKA, H.; KLOCEK, J.; LESZCZYŃSKI, B. Phytotoxicity of Roundup Ultra 360 SL in aquatic ecosystems: Biochemical evaluation with duckweed (*Lemna minor* L.) as a model plant. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 99, n. 3, p. 237-243, 2011.

KUMAR, K. S.; DAHMS, H. U.; LEE, J. S.; KIM, H. C.; LEE, W. C.; SHIN, K. H. Algal photosynthetic responses to toxic metals and herbicides assessed by chlorophyll a fluorescence. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 104, p. 51-71, 2014.

MA, J.; LIANG, W. Acute toxicity of 12 herbicides to the green algae *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus*. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 67, p. 347-351, 2001.

MA, J.; XU, L.; WANG, S.; ZHENG, R.; JIN, S.; HUANG, S.; HUANG, Y. Toxicity of 40 herbicides to the green alga *Chlorella vulgaris*. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 51, n. 2, p. 128-132, 2002.

MA, J.; WANG, S.; WANG, P.; MA, L.; CHEN, X.; XU, R. Toxicity assessment of 40 herbicides to the green alga *Raphidocelis subcapitata*. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 63, n. 3, p. 456-462, 2006.

MARTINS, D.; TRIGUEIRO, L. R. C.; DOMINGOS, V. D.; TERRA, M. A.; COSTA, N. V. Sensitivity of different accesses of *Egeria najas* and *Egeria densa* to the herbicides diquat and fluridone. **Planta Daninha**, v. 25, n. 2, p. 351-358, 2007.

MASSER, M. P.; MURPHY, T. R.; SHELTON, J. L. Aquatic weed management: herbicides. **Southern Regional Aquaculture Center**, 2001.

MELO, L. E. L.; COLER, R. A.; WATANABE, T.; BATALLA, J. F. Developing the gastropod *Pomacea lineata* (Spix, 1827) as a toxicity test organism. **Hydrobiologia**, v. 429, n. 1-3, p. 73-78, 2000.

MOURA, D. D.; FERMINO, F. S. Aspectos da qualidade da água para abastecimento público na represa Paulo de Paiva Castro sistema cantareira São Paulo-SP. **Revista Metropolitana de Sustentabilidade**, v. 4, n. 2, p. 96-109, 2014.

OECD - Organization for economic co-operation and development. **Guidelines for the Testing of Chemicals**, *Lemna* sp. Growth inhibition test, p.22, 2002.

OLIVEIRA-FILHO, E. C.; LOPES, R. M.; PAUMGARTEEN, F. J. R. Avaliação da toxicidade aguda do oxiclreto de cobre para o peixe *Brachidanyo rerio*. **Revista Brasileira Toxicologia**, v. 10, n. 2, p. 82, 1997.

OLIVEIRA-FILHO, E. C.; LOPES, R. M.; PAUMGARTTEN, F. J. R. Comparative study on the susceptibility of freshwater species to copper-based pesticides. **Chemosphere**, v. 56, n. 4, p. 369-374, 2004.

PETERSON, H. G.; BOUTIN, C.; FREEMARK, K. E.; MARTIN, P. A. Toxicity of hexazinone and diquat to green algae, diatoms, cyanobacteria and duckweed. **Aquatic Toxicology**, v. 39, n. 2, p. 111-134, 1997.

PIYATIRATITIVORAKUL, P.; RUANGAREERAT, S.; VAJARASATHIRA, B. Comparative toxicity of heavy metal compounds to the juvenile golden apple snail, *Pomacea* sp. **Language**, v. 379, p. 384, 2006.

POGSON, B. J.; NIYOGI, K. K. B.J.; ORKMAN, O.; DELLAPENNA, D. Altered xanthophyll composition adversely affect chlorophyll accumulation and non-photochemical quenching in Arabidopsis mutant. **Proc. Nat. Acad. Sci.**, v. 95, p. 13324 – 13329, 1998.

PROENÇA, M. A.; OLIVEIRA, L. L. D. D.; ROCHA, O. Efeito tóxico do cobre sobre o crescimento da macrófita aquática *Lemna minor*. **Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v. 8, n. 12, 2012.

RODRIGUES, L. H. R.; ARENZON, A.; RAYA-RODRIGUEZ, M. T.; FONTOURA, N. F. Avaliação da sensibilidade de *Raphidocelis subcapitata* (Chlorococcales, Chlorophyta) ao sulfato de cobre e sulfato de zinco através de ensaios de toxicidade crônica. **Biociências (On-line)**, v. 11, n. 2, 2003.

SÁENZ, M. E.; ALBERDI, J. L.; DI MARZIO, W. D.; ACCORINTI, J.; TORTORELLI, M. C. Paraquat toxicity to different green algae. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 58, n. 6, p. 922-928, 1997.

SANT'ANNA C. L.; AZEVEDO M. T. P. Uma ameaça à qualidade da água. Espalhadas pelo Brasil. **Pesquisa Fapesp**, v. 53, 28-30, 2000.

SILVA, A. F.; CRUZ, C.; NETO, A.; PITELLI, R. A. Ecotoxicity of herbicides for the aquatic macrophyte (*Azolla caroliniana*). **Planta Daninha**, v. 30, n. 3, p. 541-546, 2012.

SILVA, A. F.; CRUZ, C.; DE REZENDE, F. R. L.; YAMAUCHI, A. K. F.; PITELLI, R. A. Copper sulfate acute ecotoxicity and environmental risk for tropical fish. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 36, n. 4, p. 377-381, 2014.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; IBARRA, L. C. C.; FIORESI, T. B. Cultivo de *Ankistrodesmus gracilis* (Reisch) KORSIKOV (Chlorophyta) em laboratório utilizando meio CHU12 e de macrófita com NPK. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 35, p. 111-118, 2009.

SHIOGIRI, N. S.; CARRASCHI, S. P.; CUBO, P.; SCHIAVETTI, B. L.; CRUZ, C.; PITELLI, R. A. Ecotoxicity of glyphosate and aterbane® br surfactant on guaru (*Phalloceros caudimaculatus*). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 32, n. 3, p. 285-289, 2010.

SOUZA, J. S.; PEDROSA, P.; GATTS, P. V.; DE AMARAL GRAVINA, G. Aplicação das concentrações e proporções de nutrientes no diagnóstico da eutrofização. **Vértices**, v. 16, n. 1, p. 203-222, 2014.

SCHAMPHELAERE, K. C.; STAUBER, J. L.; WILDE, K. L.; SCOTT, J. M.; BROWN, P.; FRANKLIN, N.; CREIGHTON, N. M.; JANSSEN, C. Toward a Biotic Ligand Model for Freshwater Green Algae: Surface-bound and internal copper are better predictors of toxicity than free Cu^{2+} -ion activity when pH is varied. **Environ. Sci. Technol.**, v. 39, p. 2067-2072, 2005.

VAZ, C. L. O. Efeitos do cobre no sargo (*Diplodus sargus*, Linnaeus 1758): **Implicações quer a nível fisiológico, quer de crescimento**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Zootécnica) – Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 119 p, 2011.

VENTURINI, F. P.; CRUZ, C.; PITELLI, R. A. Toxicidade aguda do sulfato de cobre e do extrato aquoso de folhas secas de nim para o caramujo (*Pomacea canaliculata*). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 30, n. 2, p. 179-184, 2008.

WONG, P. K.; CHANG, L. Effects of copper, chromium and nickel on growth, photosynthesis and chlorophyll a synthesis of *Chlorella pyrenoidosa* 251. **Environmental Pollution**, v. 72, n. 2, p. 127-139, 1991.

XIA J.; TIAN, Q. Early stage toxicity of excess copper to photosystem II of *Chlorella pyrenoidosa*—OJIP chlorophyll a fluorescence analysis. **J. Environmental Sciences.**, v. 21, p. 1569–1574, 2009.

ZHANG, W.; TAN, N. G. J.; LI, S. F. Y. NMR-based metabolomics and LC-MS/MS quantification reveal metal-specific tolerance and redox homeostasis in *Chlorella vulgaris*. **Mol. BioSyst.**, v. 10, p. 149–160, 2014.

ZUCKER, E.; JOHNSON, S.L. Hazard Evaluation Division - Standard Evaluation Procedure Acute toxicity test for freshwater fish. **USEPA Publication**, v. 540, n. 9, p. 85-006, 1985.

CAPÍTULO 3 – Diquat e sua associação com fontes de cobre para o controle da macrófita submersa *Ceratophyllum demersum*

RESUMO – Os objetivos deste estudo foram avaliar a eficácia do diquat, hidróxido de cobre, oxicloreto de cobre e suas associações diquat + 0,1% de oxicloreto de cobre e diquat + 0,1% de hidróxido de cobre para o controle do *Ceratophyllum demersum* em condições de laboratório. Para tanto, foram utilizadas as concentrações 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 1,0 e 1,5 mg L⁻¹ do oxicloreto e hidróxido de cobre e 0,2; 0,4; 0,8 e 1,2 mg L⁻¹ do diquat e suas associações com 0,1% de oxicloreto de cobre e 0,1% de hidróxido de cobre e um controle. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com dez repetições ao longo de 45 dias de avaliação. Para avaliação foi utilizada uma escala de notas de controle 0-100% e avaliado o peso (g) e o comprimento (cm) dos ponteiros ao final do período experimental. O diquat apresentou 100% de eficácia em 30 DAA, as associações em 21 DAA e as fontes de cobre promoveram a rebrota do *C. demersum*. O diquat e suas associações foram mais eficazes no controle de *C. demersum*. A utilização de herbicida em associação com uma fonte de cobre é mais eficiente para o controle de macrófitas submersas, pois potencializa o efeito do herbicida no controle das plantas.

Palavras-chave: algicida, eficácia, herbicida, associação.

3.1 Introdução

As macrófitas desempenham papel fundamental na dinâmica de ecossistemas aquáticos, pois são os principais produtores primários e também base da cadeia alimentar de herbivoria e detritivoria. Porém, devido às ações antrópicas os corpos hídricos tornam-se eutrofizados, o que promove o aumento de algumas espécies em detrimento de outras, formando colonizações de plantas monoespecíficas ou pouco diversificadas, que impactam negativamente os corpos hídricos (SILVA; MARQUES; LÓLIS, 2012).

Dentre as plantas que colonizam os corpos hídricos a macrófita submersa *Ceratophyllum demersum* se destaca pela rápida invasão de novas áreas, por reduzir o fluxo de água, causa desequilíbrio na oxigenação do ambiente aquático podendo ocorrer diminuição da riqueza de espécies e mortalidade de peixes (GETTYS; HALLER; BELLAUD, 2009). Esta planta é nativa da América tropical pertencente à família Ceratophyllaceae e é invasora em vários ambientes, devido à formação de densas colonizações, sua reprodução é por sementes e fragmentação do caule e se desenvolve em profundidade de 0,5 a 8,5 m (GROSS; ERHARD; IVANYI, 2003).

Vários procedimentos podem ser utilizados para o controle de macrófitas submersas, por exemplo, o físico que consiste na poda ou coleta manual, mecânico com máquinas de grande porte, o biológico com inimigos naturais e o químico que utiliza produtos com ação herbicida para controle das plantas daninhas (POMPÊO et al., 2008; SILVA et al., 2014).

O controle químico é uma alternativa viável em função da praticidade, velocidade de controle, eficácia e elevado custo/benefício (HENARES et al., 2011). E estudos sobre a eficácia com diquat foram realizados em *Hydrilla verticillata*, *Egeria densa* e *Egeria najas* (HENARES et al., 2011) e *Ceratophyllum demersum* (MUDGE, 2013); com o fluridone para *H. verticillata* (HOFSTRA; CLAYTON, 2001); e sulfato de cobre associado ao diquat para *H. verticillata* (BLACKBUR; WELDON, 1970).

O diquat é um herbicida de contato, não seletivo, inibidor da fotossíntese I, pertencente ao grupo dos bipirilídios, possui baixa taxa de bioconcentração e

apresenta segurança ambiental para organismos aquáticos especialmente peixes (HENARES et al., 2008), sua meia vida é menor que 48 horas deixando a água livre de resíduos, pois se liga a partículas coloidais do solo (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011).

Além da utilização de herbicidas, pode-se utilizar fontes de cobre que provocam alterações nas mitocôndrias, desorganização e mudanças na composição de proteínas e lipídios, inibição da divisão celular e compromete a fotossíntese (KUMAR et al., 2014).

O cobre isolado ou em associação com herbicida é descrito como eficaz para o controle de macrófitas (BLACKBUR; WELDON, 1970; GANGSTAD, 1978; GETTYS; HALLER; BELLAUD, 2009), além da atuação como algicida (MARTINS et al., 2008; HENARES et al., 2011) que pode inibir a proliferação de algas após a decomposição das macrófitas.

Atualmente, há vários questionamentos sobre a utilização de herbicidas no ambiente aquático, especialmente, sobre a eficácia de controle, segurança ambiental e os efeitos da degradação e decomposição das macrófitas após a sua morte, como a liberação de nutrientes no ambiente, principalmente o fósforo e nitrogênio (MOHR et al., 2007), contribuindo de forma decisiva para eutrofização e aumento da demanda biológica de oxigênio (SOUZA et al., 2014).

A utilização de herbicidas que apresentam efeito secundário como algicida ou a aplicação de produto algicida em conjunto com herbicida é uma alternativa, pois resulta na maior eficácia em relação ao uso individual dificultando o aumento da população das algas pelo aproveitamento dos nutrientes devido à liberação pela decomposição das plantas (DURBOROW et al., 2008; GETTYS; HALLER; BELLAUD, 2009).

3.2 Objetivos

O presente capítulo teve por objetivo avaliar a eficácia do diquat, hidróxido de cobre, oxiclreto de cobre e suas associações diquat + 0,1% de oxiclreto de cobre

e diquat + 0,1% de hidróxido de cobre para o controle do *Cerathophyllum demersum* em condições de laboratório.

3.3 Material e Métodos

Para a realização dos ensaios de eficácia foram utilizadas plantas de *C. demersum* do setor de cultivo do laboratório plantados em recipientes com capacidade de 500 L com substrato de latossolo vermelho, matéria orgânica e areia (1:1:1 vv^{-1}).

Após a ocupação de 90%, foram coletados ponteiros de *C. demersum* com bom estado nutricional (sem clorose/necrose foliar e caulinar) e obtido o peso fresco (g) em balança de precisão (Marte® modelo AS 2000C). Para a remoção do excesso de água os ponteiros foram pressionados levemente contra papel-filtro.

A seguir, foi realizado transplante de três ponteiros com 13 cm de comprimento em frascos plásticos transparentes com capacidade para 1,3 L de água. Os frascos plásticos foram mantidos por 24 horas para aclimatação em sala de bioensaio com temperatura de $25,0 \pm 2,0$ °C, com fotoperíodo de 12hs a 1000 lux, logo após foi realizada a aplicação dos produtos químicos. Foi utilizado o herbicida diquat (200 g L^{-1}), hidróxido de cobre (690 kg L^{-1}) e oxicloreto de cobre (588 g L^{-1}) isolados e as associações diquat + 0,1% de hidróxido de cobre e diquat + 0,1% oxicloreto de cobre.

As concentrações testadas foram: 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 1,0 e 1,5 mg L^{-1} do oxicloreto e hidróxido de cobre e 0,2; 0,4; 0,8 e 1,2 mg L^{-1} do diquat e suas associações com 0,1% de oxicloreto de cobre e 0,1% de hidróxido de cobre e um controle (testemunha – sem adição dos produtos testes), com dez repetições em um delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC).

A eficácia de controle foi avaliada por atribuição de notas segundo sinais visuais de fitotoxicidade, inibição de crescimento e rebrota das plantas (Tabela 1), segundo a escala proposta pela Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas (1995) em que 0 (zero) corresponde a nenhuma injúria demonstrada pela planta e 100 (cem) à morte das plantas. As avaliações foram realizadas aos 7, 14,

21, 30 e 45 dias após a aplicação (DAA). Ao final do período experimental os ponteiros foram avaliados quanto ao comprimento (cm), biomassa fresca (g) e taxa de crescimento e biomassa (%).

A porcentagem de crescimento (cm) e a biomassa (g) das plantas foi avaliado de acordo com a fórmula de Sun-Shepard's adaptada de PÜNTENER (1981), e o efeito de controle dos produtos químicos pela equação proposta por (HENDERSON; TILTON, 1955).

Tabela 1 - Sinais de fitotoxicidade propostos para avaliação de controle de macrófitas submersas.

Sinais de fitotoxicidade	Porcentagem de efeito
Clorose do ápice	0 – 40%
Perda do pigmento de clorofila	Baixo Controle
Perda do ápice da planta	
Clorose do caule e total	41 – 70%
Necrose ápice, caule e total	Moderado Controle
Perda das folhas	71 – 100%
Perda de estrutura da planta	Controle Satisfatório
Morte da planta	

3.4 Resultados e Discussões

O diquat apresentou baixo controle nas concentrações 0,2; 0,4; e 0,8 mg L⁻¹ em 7, 14 e 21 DAA, respectivamente. Em 1,2 mg L⁻¹ apresentou controle moderado em 14 e 21 DAA. Em 30 e 45 DAA ocorreu controle satisfatório do *C. demersum*, com a morte das plantas em todas as concentrações testadas (Figura 1), diferindo do diquat com exposição de 30 mim a 0,15 mg L⁻¹ para obtenção de 100% de controle do *C. demersum* em 14 dias e para *Egeria najas* (0,15 mg L⁻¹) e *Egeria*

densa (0,075 mg L⁻¹) com controle em 7 dias e 21 dias, respectivamente (MARTINS et al., 2008).

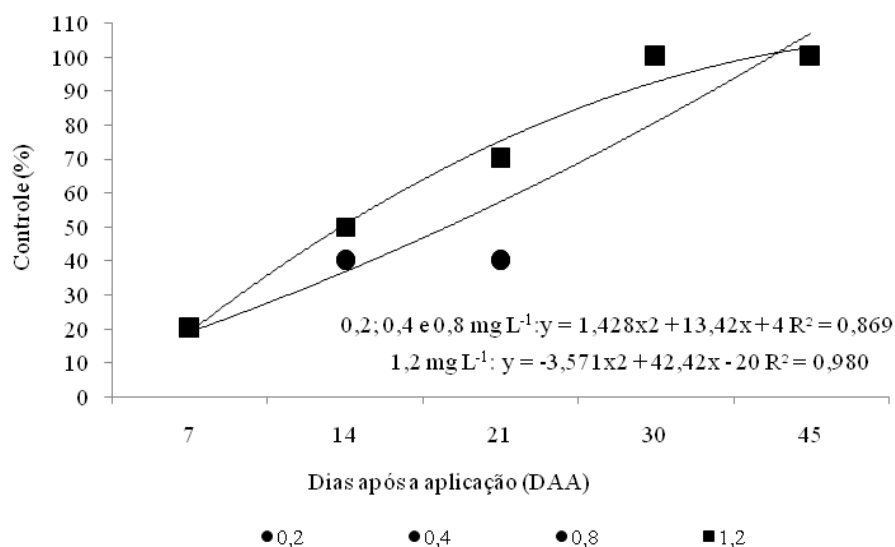


Figura 1. Porcentagem de eficácia do controle de *Ceratophyllum demersum* com aplicação de diquat, ao longo da fase experimental.

O diquat promoveu 100% de mortalidade de *C. demersum* nas concentrações testadas, interferindo na atividade fotossintética. O radical bipyridílio na presença de água e oxigênio oxida-se, liberando elétrons que na presença de oxigênio forma uma molécula de peróxido de hidrogênio, sendo esta oxidante, o suficiente para destruir o cloroplasto (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011).

O hidróxido de cobre apresentou baixo controle para *C. demersum* em 0,1 e 0,3 mg L⁻¹, respectivamente. Em 0,5 mg L⁻¹ o controle foi baixo em 7 e 14 DAA com rebrota das plantas a partir de 21 DAA. Em 0,7; 1,0; e 1,5 mg L⁻¹ o controle foi moderado em 7 DAA e em 21 DAA o controle foi satisfatório. Em 21; 30; e 45 DAA a concentração de 0,7 mg L⁻¹ apresentou rebrota das plantas. Em 1,0 e 1,5 mg L⁻¹ ocorreu controle satisfatório (21 DAA). Em 30 e 45 DAA o controle foi satisfatório, mas ocorreu rebrota das plantas (Figura 2).

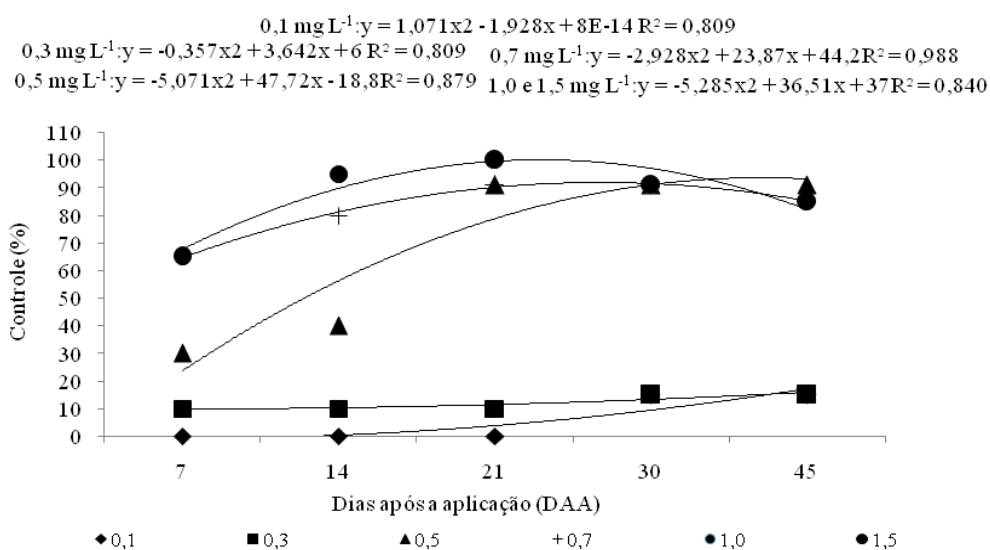


Figura 2. Porcentagem de eficácia do controle de *Ceratophyllum demersum* com aplicação do hidróxido de cobre, ao longo da fase experimental.

O oxiclreto de cobre apresentou baixo controle em 0,1; 0,3; e 0,5 mg L⁻¹ até 45 DAA, respectivamente. Em 0,7 mg L⁻¹ o controle foi moderado em 45 DAA. Em 1,0 mg L⁻¹ o controle foi baixo em 7 e 14 DAA e em 45 DAA o controle foi satisfatório. Em 1,5 mg L⁻¹ o controle foi baixo em 7 e 14 DAA, em 21 DAA o controle foi satisfatório, em 30 DAA o controle foi satisfatório e em 45 DAA o controle foi satisfatório, mas ocorreu rebrota das plantas (Figura 3).

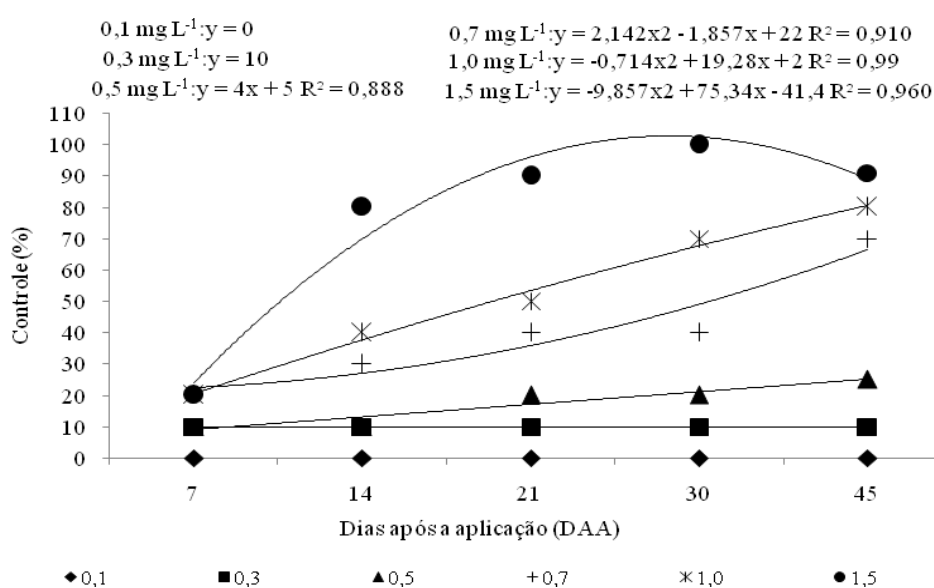


Figura 3. Porcentagem de eficácia do controle de *Ceratophyllum demersum* com aplicação do oxiclreto de cobre, ao longo da fase experimental

O hidróxido e oxiclreto de cobre não foram eficazes para o *C. demersum* em concentrações até $1,5 \text{ mg L}^{-1}$, porém Blackbur e Weldon, (1970) descreveram que o sulfato de cobre em $20,0 \text{ mg L}^{-1}$ foi 100% eficaz para o controle de *H. verticillata* em 30 DAA. O fluridone, em $0,010$; $0,020$; $0,050$; e $0,0150 \text{ mg L}^{-1}$, também não foi eficaz no controle da *H. verticillata* em 150 dias, com apenas redução na biomassa da planta e sinais de ponteiros necróticos e cloróticos (HOFSTRA; CLAYTON, 2001), similar ao hidróxido e oxiclreto de cobre para *C. demersum*. Estes resultados diferem de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de endothall que apresentou 95% de controle para *H. verticillata* em exposição de 24 horas (PENNINGTON; SKOGERBOE; GETSINGER, 2001).

A associação do diquat + 0,1% de oxiclreto de cobre, em $0,2$; $0,4$ e $0,8 \text{ mg L}^{-1}$ apresentou baixo controle. Em $1,2 \text{ mg L}^{-1}$ ocorreu controle moderado em 7 DAA. Aos 14 DAA em $0,2$ e $0,4 \text{ mg L}^{-1}$ ocorreu controle moderado. Em $0,8$ e $1,2 \text{ mg L}^{-1}$ o controle foi satisfatório. A partir de 21 DAA ocorreu controle satisfatório, com a morte das plantas em todas as concentrações (Figura 4).

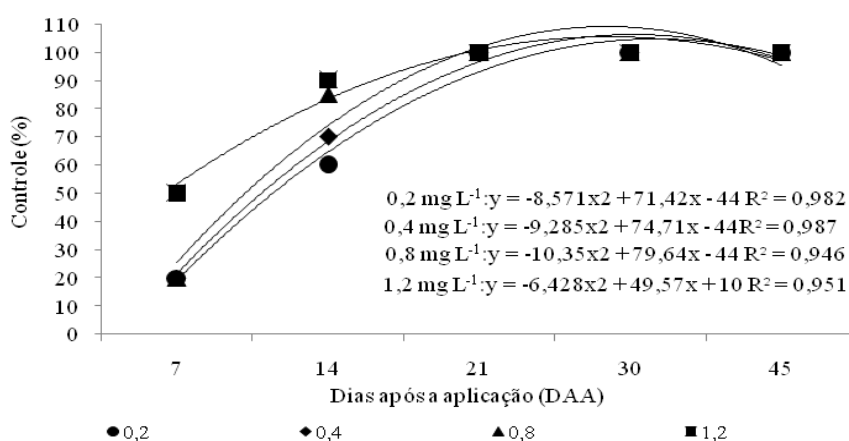


Figura 4. Porcentagem de eficácia do controle de *Ceratophyllum demersum* com aplicação de diquat + 0,1% de oxiclreto de cobre, ao longo do período experimental.

O diquat + 0,1% de hidróxido de cobre apresentou baixo controle em 0,2 e 0,4 mg L⁻¹. Em 0,8 mg L⁻¹ o controle foi moderado e em 1,2 mg L⁻¹ foi satisfatório aos 7 DAA. Aos 14 DAA o controle foi moderado em 0,2 e 0,4 mg L⁻¹ e suficiente em 0,8 e 1,2 mg L⁻¹. A partir de 21 DAA o controle foi satisfatório com a morte das plantas em todas as concentrações (Figura 5).

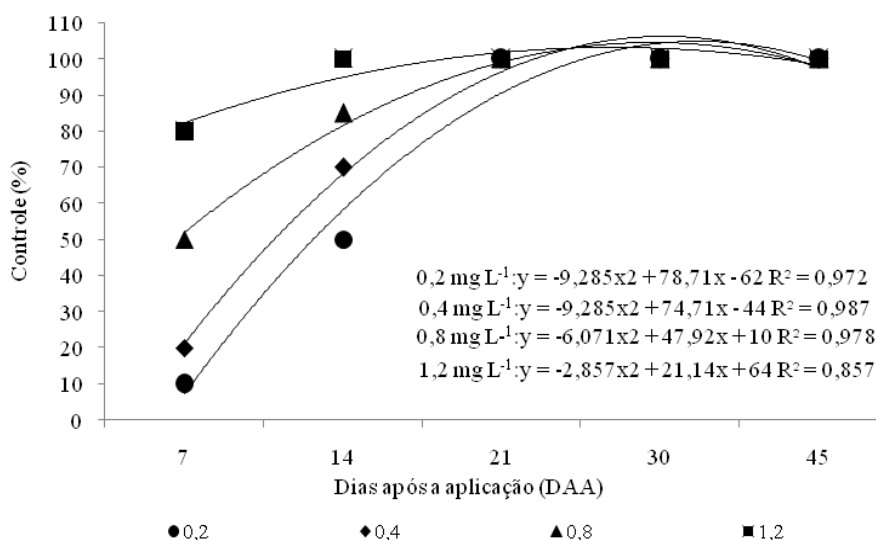


Figura 5. Porcentagem de eficácia do controle de *C. demersum* com aplicação do diquat + 0,1% de hidróxido de cobre, ao longo da fase experimental.

A associação do herbicida e as fontes de cobre causaram potencialização do efeito do controle de *C. demersum*, pois ocorreu maior velocidade de controle com a utilização das associações (21 DAA), do que para o diquat isolado (30DAA), porém a associação de endothall + cobre e endothall + diquat (1,0 + 0,5 mg L⁻¹) com exposição de 24 h controlou 85 a 100% da *H. verticillata*, apenas em 45 dias (PENNINGTON; SKOGERBOE; GETSINGER, 2001) e o diquat (0,1 mg L⁻¹), o diquat + flumioxazim (0,1+0,05 mg L⁻¹) e o diquat + penoxulam (0,1+0,005 mg L⁻¹) promoveram 75% de redução da matéria seca de *C. demersum* após 8 horas de exposição, em 60 dias, independente da associação dos herbicidas ou do diquat isolado (MUDGE, 2013). Em sistema estático, o diquat + cobre (0,375 + 1,0 mg L⁻¹) em exposição de 24 a 144 horas, causou redução da atividade fotossintética entre 50 e 60% para *Myriophyllum spicatum*, *H. verticillata*, *Cabomba caroliniana* (BULTEMEIER et al., 2009).

Para Gangstad (1978) a associação de diquat + sulfato de cobre inorgânico pentahidratado ($1,0 + 0,86 \text{ mg L}^{-1}$) foi 93% em 82 DAA. A associação do herbicida com cobre foi mais eficiente no controle de macrófitas submersas e possui a vantagem de inibir o crescimento de algas (DURBOROW et al., 2008).

De acordo com Sutton et al. (1972), a associação do diquat com fontes de cobre é mais eficaz devido a melhor absorção do diquat pela planta, com o aumento da permeabilidade proporcionada pelo cobre, similar ao obtido com *C. demersum*.

A redução na biomassa e no comprimento dos ponteiros no final do período experimental foi de 100% para o diquat e sua associação com 0,1% hidróxido de cobre e 0,1% de oxicloreto de cobre em todas as concentrações testadas (Figura 6), pois ocorreu controle total da planta teste.

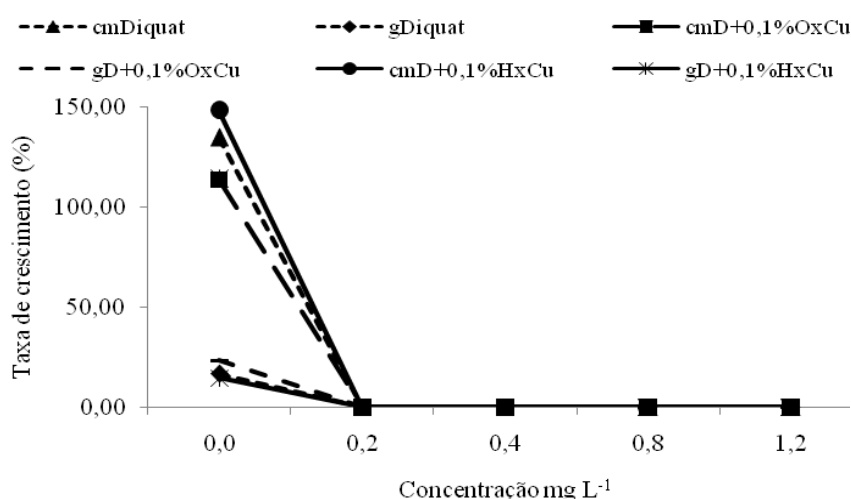


Figura 6. Porcentagem de crescimento do comprimento e biomassa dos ponteiros do *Ceratophyllum demersum* exposto ao Diquat, Diquat + 0,1% de oxicloreto de cobre e Diquat + 0,1% de hidróxido de cobre aos 45 DAA.

O hidróxido de cobre reduziu a biomassa e o comprimento dos ponteiros em todas as concentrações testadas, sendo que, a maior média de redução do comprimento dos ponteiros foi na concentração de $0,7 \text{ mg L}^{-1}$ com valor de 7,46% em relação ao controle e a maior média de redução da biomassa foi em $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ com valor de -91,28% em relação ao controle (Figura 7). O oxicloreto de cobre apresentou somente redução na biomassa do *C. demersum* na concentração de $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ com valor de -52,72% em relação ao controle (Figura 7).

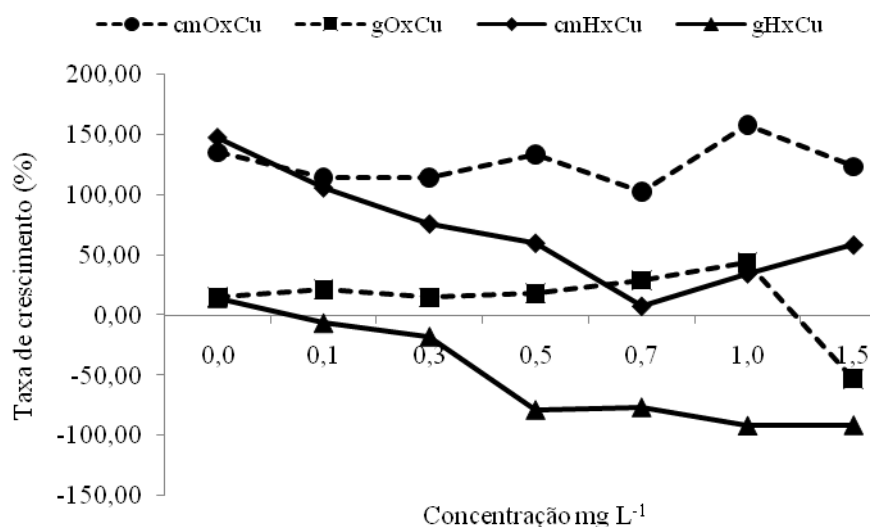


Figura 7. Porcentagem de crescimento do comprimento e biomassa dos ponteiros do *Ceratophyllum demersum* exposto ao hidróxido de cobre e oxiclreto de cobre aos 45 DAA.

Em ensaio realizado por Mudge e Haller (2010) o flumioxazim reduziu 50% da matéria seca de *E. najas* com 3,285 mg L⁻¹, para *H. verticillata* 0,077 mg L⁻¹ e para *C. demersum* 0,034 mg L⁻¹ em águas com o pH neutro, durante 30 dias. Para Poovey e Getsinger (2002) as variáveis físico-químicas da água podem interferir na eficácia de controle das macrófitas submersas pelos herbicidas.

A equação de Henderson e Tilton (1955) que determina a porcentagem de eficácia dos produtos químicos em relação ao crescimento da planta no controle e nos tratamentos por um determinado período de tempo. O diquat e as fontes cobre foram 100% eficazes na redução do comprimento e biomassa dos ponteiros de *C. demersum*. O hidróxido de cobre apresentou de 70,21 a 97,23% de eficácia para a biomassa fresca e de 4,69 a 84,06% de eficácia no comprimento e o oxiclreto de cobre foi eficaz somente na concentração de 1,5 mg L⁻¹ com 63,58% para biomassa fresca e para o comprimento a eficácia foi apenas de 0,33 a 13,73% (Figura 8).

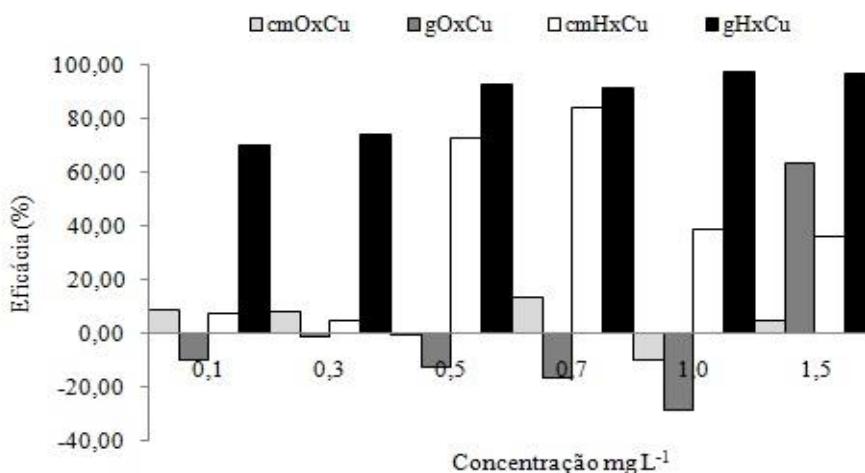


Figura 8. Porcentagem de eficácia de hidróxido de cobre e oxiclóreto de cobre de acordo com Henderson e Tilton (1955), no controle de *Ceratophyllum demersum*.

Para Henares et al. (2011) o diquat causou redução de 71,20 a 78,6% da biomassa de *H. verticillata*, de 42,7 a 52% para a *E. densa* e de 18,7 a 34,7% e para a *E. najas*. A redução do comprimento foi de 89,5 a 93,5% para *H. verticillata*, de 28,8 a 69,6% para *E. densa* e de 28 a 37% para *E. najas*. Tanaka et al. (2002), classificou a injúria leve ou moderada de *E. densa* exposta a 0,1 mg L⁻¹ e de *E. najas* a 0,1 e 1,0 mg L⁻¹ de diquat, diferindo do controle obtido para o *C. demersum*, pois a partir 0,2 mg L⁻¹ o controle foi total.

3.5 Conclusões

O herbicida diquat associado a 0,1% oxiclóreto de cobre ou hidróxido de cobre foram mais eficazes para o controle do *C. demersum*, pois ocorreu maior velocidade de controle ou potencialização do efeito do herbicida no controle das plantas, o que pode interferir na dinâmica ambiental e velocidade de disponibilização de nutrientes para algas ou ainda apresentar efeito algicida e controlar as algas presentes no ambiente.

3.6 Referências

BLACKBURN, R. D.; WELDON, L. W. Control of *Hydrilla verticillata*. **Hyacinth Control J.**, v.8, n.1, p.4-9, 1970.

BULTEMEIER, B. W.; NETHERLAND, M. D.; FERRELL, J. A.; HALLER, W. T. Differential herbicide response among three phenotypes of *Cabomba caroliniana*. **Invasive Plant Science and Management**, v.2, p.352-359, 2009.

DURBOROW, R. M.; TUCKER, C. S.; GOMELSKY, B. I.; ONDERS, R. J.; MIMS, S. D. **Aquatic weed control in ponds**. Kentucky State University Land Grant Program, 2008.

GANGSTAD, E.O. Chemical control Hydrilla. **J. Aquatic. Plant. Manag.**, v.16, n.1, p.38-40, 1978.

GETTYS, L. A.; HALLER, W. T.; BELLAUD, M. **Biology and control of aquatic plant: A best management practices handbook**. Aquatic Ecosystem Restoration Foundation, Marietta GA, 2009, 210 pp.

GROSS, E. M.; ERHARD, D.; IVÁNYI, E. Allelopathic activity of *Ceratophyllum demersum* L. and *Najas marina* ssp. *intermedia* (Wolfgang) Casper. **Hydrobiologia**, v. 506, n. 1-3, p. 583-589, 2003.

HENARES, M. N. P.; CRUZ, C.; GOMES, G. R.; PITELLI, R. A.; MACHADO, M. R. F. Toxicidade aguda e efeitos histopatológicos do herbicida diquat na brânquia e no fígado da tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 30, n. 1, p. 77-82, 2008.

HENARES, M. N. P.; REZENDE, F. R. L.; GOMES, G. R., CRUZ, C.; PITELLI, R. A. Eficácia do diquat no controle de *Hydrilla verticillata*, *Egeria densa* e *Egeria najas* e toxicidade para o Guaru (*Phallocerus caudimaculatus*), em condições de laboratório. **Planta Daninha**, v. 29, n. 2, p. 279-285, 2011.

HENDERSON, C.F.; TILTON, E.W. Tests with acaricides against the brow wheat mite. **Journal of Economic Entomology**, v.48, p.157-161, 1955.

HOFSTRA, D.E.; CLAYTON, J.S. Control of dioecious New Zealand Hydrilla using fluridone in mesocosms. **Journal of Aquatic Plant Management**, v.39, p.125-128, 2001.

KUMAR, K. S.; DAHMS, H. U.; LEE, J. S.; KIM, H. C.; LEE, W. C.; SHIN, K. H. Algal photosynthetic responses to toxic metals and herbicides assessed by chlorophyll a fluorescence. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 104, p. 51-71, 2014.

MARTINS, D.; COSTA, N. V.; DOMINGOS, V. D.; RODRIGUES, A. C. P.; CARVALHO, F. T. D. Efeito do período de exposição a concentrações de diquat no controle de plantas de *Egeria densa*, *Egeria najas* e *Ceratophyllum demersum*. **Planta daninha**, v.26, n.4, p.865-874, 2008.

MOHR, S.; BERGHAHN, R.; FEIBICKE, M.; MEINECKE, S.; OTTENSTRÖER, T.; SCHMIEDLING, I.; SCHMIEDICHE, R.; SCHMIDT, R. Effects of the herbicide metazachlor on macrophytes and ecosystem function in freshwater pond and atream mesocosms. **Aquatic Toxicol.**, v.82, p.73-84, 2007.

MUDGE, C. R.; HALLER, W. T. Effect of pH on submersed aquatic plant response to flumioxazin. **Plant Physiol.**, v.97, p.280-287, 2010.

MUDGE, C.R. Impact of aquatic herbicide combinations on nontarget submersed plants. **J. Aquat. Plant Manage**, v.51, p.39-44, 2013.

PENNINGTON, T. G.; SKOGERBOE, J. G.; GETSINGER, K. D. Herbicide/copper combinations for improved control of *Hydrilla verticillata*. **Journal of Aquatic Plant Management**, 39, 56-58, 2001.

POMPEO, M. Monitoramento e manejo de plantas aquáticas. **Oecologia Brasiliensis**, v.12, n.3, 2008.

POOVEY, A.G.; GETSINGER, K.D. Impact of inorganic turbidity on diquat efficacy against *Egeria densa*. **J. Aquat. Plant Manage.**, v. 40, p.6-10, 2002.

PÜNTENER W. Manual for Field trials in plant protection second edition. Agricultural Division, Ciba-Geigy Limited, 1981.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 5.ed. Londrina: 2011. 592 p.

SBCPD, **Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas**. Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas. Londrina, 1995, 42p.

SILVA, D. S.; MARQUES, E. E.; LÓLIS, S. F. Macrófitas aquáticas:“vilãs ou mocinhas”?. **Revista Interface** (Porto Nacional), n. 04, 2012.

SILVA, A. F.; CRUZ, C.; REZENDE, F. R. L.; YAMAUCHI, A. K. F.; PITELLI, R. A. Copper sulfate acute ecotoxicity and environmental risk for tropical fish. **ActaScientiarum.Biological Sciences**, v.36, n. 4, p. 377-381, 2014.

SOUZA, J. S.; PEDROSA, P.; GATTS, P. V.; AMARAL GRAVINA, G. Aplicação das concentrações e proporções de nutrientes no diagnóstico da eutrofização. **Vértices**, v.16, n.1, p.203-222, 2014.

SUTTON, D. L.; HALLER, W. T.; STEWARD, K. K.; BLACKBURN, R. D. Effect of copper on uptake of diquat—¹⁴C by hydrilla. **Weed Sci.** v.20, n.6, p.581-583, 1972.

TANAKA, R. H.; VELINI, E. D.; MARTINS, D.; BRONHARA, A. A.; SILVA, M. A. S.; CAVENAGHI, A. L.; TOMAZELA, M. S. Avaliação de herbicidas para o controle de egéria em laboratório, caixa d’água e represa sem fluxo de água. **Planta Daninha**, v.20, p.73-81, 2002.