

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

DANDARA FIDÉLIS ESCOTO

**USO DA *PISTIA STRATIOTES* COMO FITORREMEIADORA DE
RECURSOS HÍDRICOS CONTAMINADOS POR CLOMAZONE**

URUGUAIANA

2017

DANDARA FIDÉLIS ESCOTO

**USO DA *PISTIA STRATIOTES* COMO FITORREMEIADORA DE
RECURSOS HÍDRICOS CONTAMINADOS POR CLOMAZONE**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação *Stricto sensu* em Bioquímica da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestra em Bioquímica.

Orientador: Prof. Dr. Elton Luís Gasparotto Denardin

Co-orientador: Prof. Dr. Rafael Roehrs

**URUGUAIANA
2017**

FICHA CATALOGRAFICA

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

E176u Escoto, Dandara Fidélis
USO DA PISTIA STRATIOTES COMO FITORREMEIADORA DE RECURSOS
HÍDRICOS CONTAMINADOS POR CLOMAZONE / Dandara Fidélis Escoto.
57 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Pampa,
MESTRADO EM BIOQUÍMICA, 2017.
"Orientação: Elton Luis Gasparotto Denardin".

1. Fitorremediação de herbicidas. 2. Clomazone. 3. Gamit.
4. Pistia Stratiotes. 5. Alface d'agua. I. Título.

DANDARA FIDÉLIS ESCOTO

**USO DA PISTIA STRATIOTES COMO FITORREMEIADORA DE
RECURSOS HÍDRICOS CONTAMINADOS POR CLOMAZONE**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação *Stricto sensu* em Bioquímica da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestra em Bioquímica.

Área de concentração: Química e Bioquímica de Produtos Biologicamente Ativos

Dissertação de mestrado defendida e aprovada no dia 20 de março de 2017.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Elton Luís Gasparotto Denardin
Orientador
(UNIPAMPA)



Profa. Dra. Verónica Césio
Membro da banca
(UDELAR)

Prof. Dr. Clésio Soldateli Paim
Membro da banca
(UNIPAMPA)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos grandes e eternos amores da minha vida: a minha avó Catarina e meu avô Canuto (in memoriam) luzes no meu caminho. A estes se mil vidas eu retornasse a esse mundo, por mil vezes agradeceria. Caráter, sabedoria e amor se ensina pelo exemplo e este sempre tive de vocês. Em nome dos FIDÉLIS este trabalho é para vocês!

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar devo agradecer às forças que me mantem em pé, minha grande mãe Oxum e meu pai Oxalá que junto a todos os guias espirituais me ajudaram nos momentos de desespero e iluminaram nos momentos de sabedoria.

Aos meus pais, Dalton e Nora, por serem tudo! Por serem a base sólida que me trouxe até aqui, por sempre incentivarem e guiarem pelo caminho certo. Por todo amor e compreensão das minhas ausências, todo agradecimento nunca será suficiente! AMO VOCÊS MAIS QUE TUDO E VOU SEMPRE BUSCAR ORGULHAR VOCÊS, TUDO QUE EU FAÇO NESTE VIDA É POR VOCÊS.

Ao meu grande Amor Rafael, por todas as vezes que acreditou em mim mais que eu mesma, por não ter me deixado desistir e nunca me deixar cair. Por todo carinho, amor e afeto que me dispensa, tu és um anjo na minha vida, sem ti pouca coisa faria sentido TE AMO MUITO! Obrigada por tudo, este título é nosso, mais uma conquista para a nossa vida juntos, te quero sempre ao meu lado nesta caminhada, obrigada por ser o alicerce do nosso lar e mais que tudo pelo ser humano que me ensina e me incentiva a ser melhor todos os dias!

A minha família vó, tia, tios, primos e irmãos por todo apoio e incentivo sempre, meu amor por vocês é incondicional!

Ao meu orientador Prof. Elton Denardin, por ter aberto as portas do seu laboratório para mim, pelos ensinamentos, pela paciência com meus atrasos e compreensão com as minhas ausências. Foste mais que um orientador, mudaste a concepção que eu tinha sobre a vida acadêmica, foste um verdadeiro amigo e mestre e se consegui chegar até aqui é graças a este ser humano ímpar que és!

Aos amigos, mas principalmente aqueles que já vem de longa caminhada Geovana, Matheus, Cacau, Tati, Ethi, Ritinha e Flávia (minhas tchangas e meu moreno) obrigada por todo colo, ombro, puxão de orelha e etílicos que vivenciamos nesses longos anos de amizade! Quero vocês sempre ao meu lado nesta caminhada. Amizade é um amor verdadeiro e sagrado que eu aprendo a viver todos os dias com vocês, desculpem as ausências e os “vácuos”, amo cada um do seu jeito!

As amigas fora da academia que mesmo sem entender meus sacrifícios sempre me dão apoio e amparo, minhas poderosas Jô, Joice e Di obrigada pelo carinho e amizade de sempre! Amo vocês!

Em especial a amiga Joice, que com seu jeito “doce” por muitas vezes me fez levantar a cabeça e seguir em frente. Obrigada por compartilhar minhas lágrimas, angustias, sorrisos e conquistas! Te amo!

Aos colegas do laboratório 423 dos grupos de pesquisa GIPPE e LEFQPN por acolherem e ensinarem tanto a “uma estranha” no ninho, obrigada por toda parceria, jantãs, aniversários e cafés de intervalo. Em especial ao Mateus sem o qual a realização deste trabalho não seria possível.

Aos professores do programa de pós-graduação em Bioquímica por todos os ensinamentos e vivências que partilhamos. Em especial a professora Daiana Ávila a qual dentro de sala de aula passou a me incentivar e servir como um espelho. Também ao professor Vanderlei Folmer que proporcionou que estivesse intimamente ligada a este PG desde sua concepção.

A Escola Municipal de Ensino Fundamental Moacyr Ramos Martins, sobretudo na pessoa da minha querida mestra e diretora Gladis Paiva pela

liberação e compreensão com as atividades de mestrado sempre que necessitei, são pessoas assim em nosso caminho que me fazem seguir em frente. Também um agradecimento especial aos colegas e amigos Priscila, Marcelo, Igor, Simone, Vanessa, Hugo, Éverton, Mitze, Karen, Kátia, Cláudia e Denise pelas oportunidades de aprendizado e todo incentivo e acolhimento dispensados comigo. “UBUNTU!”

A minha banca professora Verônica e professor Clésio por gentilmente aceitarem nosso convite e sobretudo sobre suas valiosas considerações.

Ao Programa de Pós-graduação em Bioquímica pela oportunidade.

A Universidade Federal do Pampa por ser a Universidade da minha vida, que mudou o meu caminho e a minha história!

Ao Partido dos Trabalhadores e ao Presidente Luiz Inácio Lula da Silva por mudar a realidade de milhões de jovens deste país que assim como eu tiveram pela primeira vez a chance de colocar seus nomes no protagonismo da história e da ciência no Brasil. Nenhuma luta e numa conquista do povo trabalhador serão em vão!

Aos companheiros dos Coletivos negros, Frente de lutas e as Manas dos Coletivos Feministas por me ensinarem que a construção é lenta e dolorosa, porém muito necessária! Obrigada por poder aprender com vocês!

Por fim, a todos e todas que de alguma maneira contribuíram com a minha caminhada até aqui meu muito obrigada!

EPÍGRAFE

“A única coisa que difere as mulheres de cor das outras é a oportunidade”

Viola Davis

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica
Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA-RS)

USO DA *PISTIA STRATIOTES* COMO FITORREMEIADORA DE RECURSOS HÍDRICOS CONTAMINADOS POR CLOMAZONE

AUTORA: Dandara Fidélis Escoto

ORIENTADOR: Elton Luís Gasparotto Denardin

Data e Local da Defesa: Uruguaiana, 13 de Março de 2017.

Com o crescimento da população mundial e o advento da industrialização cada vez mais aumenta a demanda pela produção abundante e rentável de alimentos pelo mundo todo. Existe então a necessidade de estratégias que minimizem a perda e as alterações nos produtos alimentares, sobretudo os que são cultivados por longos períodos de tempo como grãos e hortaliças. Neste viés surgem os pesticidas, comercializados desde o século XIX, cada vez mais especializados e modificados quimicamente para atingir uma maior eficiência na eliminação de pragas e um menor período de tempo. Quando os pesticidas são usados corretamente, eles minimizam acima de 40% as perdas de grãos, mas quando usados de maneira incorreta ou acima da dosagem recomendada, podem conduzir a impactos no ambiente e na saúde pública. Neste contexto, o Clomazone (2 - (2-clorobenzil) -4,4-dimetil-1,2-oxazolidin-3-ona), princípio ativo do herbicida comercial Gamit®, da família das Isoxazolidinona e pertencente a classe toxicológica III é de amplo espectro usado para o controle de gramíneas anuais e plantas daninhas de folha larga em algodão, ervilhas, abóbora, soja, batata-doce, tabaco, trigo e arroz. Porém, este herbicida possui uma série de características físico-químicas e comportamento distinto dependentemente do ambiente onde for inserido o que pode causar o aumento de sua permanência no ambiente e contaminação de organismos que não são os seus alvos de origem. Uma alternativa para reduzir o impacto ambiental causado pelos herbicidas é a fitorremediação. A fitorremediação consiste em uma técnica de remoção e/ou de poluentes dos ambientes utilizando plantas como agentes de remediação ambiental. Este estudo teve como objetivo avaliar a capacidade a espécie vegetal *Pistia stratiotes* em fitorremediar o herbicida clomazone em sua

forma comercial de recursos hídricos. O ensaio teve a duração de 24 dias e contou com duas concentrações o herbicida que foram determinadas a partir da multiplicação em cem vezes da dose recomendada para uso em lavouras, configurando uma exposição aguda ao herbicida. As análises da cinética de degradação do clomazone foram realizadas através de métodos analíticos por cromatográfica líquida de alta eficiência acoplada a detector com arranjo de diodos CLAE-DAD. Após os 24 dias de experimento foi possível identificar que a espécie vegetal foi capaz de reduzir em 90% a presença do herbicida clomazone na água e também que apesar da exposição água a *P. Stratiotes* não sofre alterações morfológicas em decorrência de sensibilidade ao composto. Dessa maneira, os resultados indicam que a *Pistia Stratiotes* é capaz de fitorremediar o herbicida clomazone de recursos hídricos.

Palavras-chave: fitorremediação, clomazone, *Pistia Saiotes*, GAMIT

ABSTRACT

Masters dissertation
Postgraduate Program in Biochemistry
Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA-RS)

USE OF *PISTIA STRATIOTES* AS A PHOTORMEDIATE FOR CLOMAZONE CONTAMINATED WATER RESOURCES

AUTHOR: Dandara Fidélis Escoto
ORIENTER: Elton Luís Gasparotto Denardin
Date and Place of Defense: Uruguaiiana, March 13th, 2017.

With the growth of world population and the advent of industrialization, the demand for abundant and profitable food production worldwide is increasing. There is then a need for strategies that minimize loss and changes in food products, especially those that are grown for long periods of time like grains and vegetables. In this bias arise the pesticides, marketed since the nineteenth century, increasingly specialized and chemically modified to achieve greater efficiency in pest elimination and a shorter period of time. When pesticides are used correctly, they minimize grain losses by over 40%, but when used improperly or above the recommended dosage, they can lead to environmental and public health impacts. In this context, Clomazone (2 - (2-chlorobenzyl) -4,4-dimethyl-1,2-oxazolidin-3-one), active principle of the commercial herbicide Gamit®, of the Isoxazolidinone family and belonging to toxicological class III is Of broad spectrum used for the control of annual grasses and broadleaf weeds in cotton, peas, squash, soybeans, sweet potatoes, tobacco, wheat and rice. However, this herbicide has a series of physico-chemical characteristics and distinct behavior depending on the environment where it is inserted which can cause the increase of its permanence in the environment and contamination of organisms that are not its origin targets. An alternative to reduce the environmental impact caused by herbicides is phytoremediation. Phytoremediation consists of a technique of removal and / or pollutants from environments using plants as environmental remediation agents. This study aimed to evaluate the ability of the *Pistia Stratiotes* plant species in phytoremediation of the herbicide clomazone in its commercial form of water resources. The assay lasted 24 days and counted on two herbicidal concentrations that were determined from the one hundred fold multiplication of

the dose recommended for use in crops, setting up an acute exposure to the herbicide. The clomazone degradation kinetics analyzes were performed by analytical methods by high performance liquid chromatography coupled to a detector with CLAE-DAD diode array. After 24 days of experiment, it was possible to identify that the plant species was able to reduce the presence of the herbicide clomazone in water by 90% and also that despite the water exposure to *P. stratiotes* does not undergo morphological changes due to sensitivity to the compound. Thus, the results indicate that *Pistia Stratiotes* is capable of phytoremediation of the herbicide clomazone of water resources.

Keywords: phytoremediation, clomazone, *Pistia Saiotes*, GAMIT

LISTA DE FIGURAS

REFERENCIAL TEÓRICO

- Figura 1** Área Semeada E Produção Da Safra 2013/14.. 21
- Figura 2** Fórmula Estrutural Do Clomazone..... 22
- Figura 3** Passos Da Fitorremediação De Acordo Com As Partes Da Planta.
Fonte:..... 25
- Figura 4** Reações Catalisadas Por Enzimas Responsáveis Pela
Desintoxicação De Xenobióticos Em Plantas.. 27
- Figura 5** Exemplar Da Espécie Vegetal Pistia Stratiotes..... 31
- Figura 6** Relação Entre A Sobrevivência Das Moscas Ao Longo Dos 10 Dias
De Ensaio De Acordo Com As Concentrações Dos Tratamentos E O Grupo
Controle. 44

ARTIGO CIENTÍFICO

- Figure 1.** Plants exposed to gamit® on day 0. 2a) plant of hct group on day 32.
2b) plant of white group on day 32..... 38
- Figure 2** result of clomazone in water low concentration control – lcc (37.86 mg/l),
low concentration treatment – lct (38.16 mg/l), high concentration control –
hcc (56.71 mg/l) and high concentration treatment – hct (56.33 mg/l)..... 39
- Figure 3.** Chromatograms of clomazone concentration on day 0 (a), in day 24
for control (b) and treatment with p. Stratiotes (c). Chromatograms were of
the high concentrations (56.71 mg / l for treatment and 56.33 for controls).
..... 40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Classificação Dos Pesticidas Utilizados No Brasil De Acordo Com Seu Organismo Alvo.....	19
Tabela 2 Estratégias De Fitorremediação.....	26
Tabela 3 Vantagens E Limitações Da Técnica De Fitorremediação.	29

LISTA DE ABREVIATURAS

ACN – Acetonitrila

ActEt- Acetato de Etila

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

C18 – Sílica modificada com hidrocarboneto linear C-18, octadecilsilano

DAD – Detecção por Arranjo de Diodos, do inglês, *Diode Array Detection*

EPA – Agência de Proteção Ambiental, do inglês *Environmental Protection Agency*

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*

Kg.ha⁻¹ – Quilograma por hectare

Kg/ha⁻¹ - Quilograma por hectare

K_{ow} - Coeficiente de partição octanol-água

K_{oc} – Coeficiente de partição de carbono orgânico, ou, coeficiente de partição solo/água ou coeficiente de adsorção

MeOH – Metanol

mg/Kg – Miligrama por Quilograma

pH – Potencial hidrogeniônico

pKa – Potencial de constante de ionização ácida

r² – Coeficiente de determinação

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1. O uso de pesticidas e o impacto ambiental	19
2.2. Problemática regional: A cultura de arroz irrigado e uso de pesticidas	20
2.3. Herbicida Clomazone	22
2.4. Remediação ambiental: Fitorremediação	23
2.5. Planta selecionada para o estudo: <i>Pistia stratiotes</i>	30
3. OBJETIVOS	32
3.1. Objetivo Geral.....	32
4. ARTIGO CIENTÍFICO	33
Use of <i>Pistia stratiotes</i> for phytoremediation of water resources contaminated by Clomazone	34
1. Introduction.....	35
2. Materials and Methods	36
2.1. Plant material.....	36
2.2. Obtaining the Clomazone Herbicide.....	36
2.3. Sensibility of <i>P. Stratiotes</i> to GAMIT® Herbicide Exposure.....	36
2.4. Experimental Form	36
2.5. Kinetics Analysis of Herbicide Degradation	37
2.6. Analytical method	37
2.7. Statistical Analysis.....	37
3. Results and discussion.....	37
3.1. Tolerance of <i>P. Stratiotes</i> to GAMIT®.....	37
3.2. Clomazone remediation capacity by plant	38
4. Conclusions	41
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	46
7. PERSPECTIVAS FUTURAS	47
8. REFERÊNCIAS	48
ANEXOS.....	53

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas têm-se uma demanda pelos avanços tecnológicos e aumento na produção de alimentos, sobretudo em grande escala devido ao crescimento da densidade demográfica no mundo todo, com isso existe a necessidade de maior produção em menor tempo. Dessa maneira, acreditava-se na abundância de solo e de outros recursos ambientais, entretanto a cada dia os recursos disponíveis mostram, em diferentes graus, que estamos sendo negligentes e descuidados com o seu uso (LIMA et al., 2011). Para atender esta demanda, surgiu a produção em grande escala de produtos químicos e o aumento na liberação de poluentes tóxicos por indústrias que tem contribuído para deterioração da qualidade do meio ambiente. Quando os pesticidas são usados corretamente, eles minimizam acima de 40% as perdas de grãos, mas quando usados de maneira incorreta ou acima da dosagem recomendada, podem conduzir a impactos no ambiente e na saúde pública (DEJONGHE et al., 2003). Atualmente, são produzidos novos pesticidas para aplicações específicas no campo visando, principalmente, a sua rápida decomposição. No Brasil, há no comércio mais de 300 princípios ativos e 1.200 formulações de defensivos agrícolas (TEIXEIRA; CANELA, 2007). Porém, muitas vezes estes pesticidas acabam contaminando outros ambientes, como os aquáticos, a partir da percolação ou da lixiviação nos lençóis freáticos, podendo tornar-se um problema de saúde pública.

Muitas culturas demandam de vasta utilização de agrotóxicos para a manutenção de sua alta produção e rendimento. A cultura de arroz irrigado está em 9º lugar dentre as culturas que mais utilizam pesticidas no Brasil (BARBOSA, 2004). No Rio Grande do Sul, e especialmente na Fronteira Oeste, a cultura predominante é o cultivo de arroz irrigado (SOSBAI, 2010).

Neste contexto, o Clomazone (2 - (2-clorobenzil) -4,4-dimetil-1,2-oxazolidin-3-ona), princípio ativo do herbicida comercial Gamit®, da família das Isoxazolidinona e pertencente a classe toxicológica II, de amplo espectro usado para o controle de gramíneas anuais e plantas daninhas de folha larga em algodão, ervilhas, abóbora, soja, batata-doce, tabaco, trigo e arroz. O Clomazone é o terceiro herbicida mais utilizado nas lavouras de arroz, soja e trigo na metade sul do Brasil. Ele pode ser aplicado no pré-plantio e pré-emergência dependendo do caso. Este herbicida é normalmente utilizado em culturas feitas com solo seco antes da inundação (EMBRAPA, 2011). Para o clomazone neste tipo de cultura não existe limite máximo de resíduos e também o intervalo de segurança não está especificado, porém sua dose recomendada está entre 0,8 e 1,4 L/ha (SOSBAI, 2010).

O herbicida clomazone atua como um inibidor da síntese de pigmentos fotossintéticos e outras substâncias importantes em plantas superiores (FERHATOGLU; BARRETT, 2006). Em estudos como os de Loux et al. (1989) e Mervosh et al. (2005) foi demonstrado que este herbicida pode ter sua

biodisponibilidade aumentada de noventa dias à quatro anos de acordo com as propriedades físico-químicas do solo onde é aplicado, tornando-se assim persistente e podendo contaminar organismos não alvo.

Uma alternativa para reverter situações de contaminação é a biorremediação, que consiste em um processo de descontaminação de ambientes através de organismos vivos, quando este processo é desenvolvido por plantas é denominado fitorremediação (ROSA, 2013).

A fitorremediação consiste na utilização de plantas com fins de degradação, estabilização ou remoção de poluentes, além disso, é uma forma de diminuir a contaminação ambiental uma vez que pode ser aplicada a uma variedade de contaminantes, como hidrocarbonetos de petróleo, solventes, metais, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e pesticidas de todas as classes (ALI; KHAN; SAJAD, 2013). Tendo em vista a ampla variedade de espécies vegetais que existem é importante conhecer os mecanismos pelos quais estas atuam com os diferentes compostos que não fazem parte de seu metabolismo, por exemplo, as plantas possuem um arranjo complexo de enzimas hábeis para eliminação de xenobióticos e transportadores vacuolares dirigidos por ATP (KARAVANGELI et al., 2005).

Porém, nem todas as espécies de vegetais podem ser utilizadas para a fitorremediação. Dessa maneira é necessário que a planta cumpra alguns requisitos como sistema radicular profundo e denso, alta taxa de crescimento e produção de biomassa, capacidade transpiratória elevada, fácil colheita quando necessária à remoção da planta da área contaminada entre outros (DE CINQUE MARIANO; OKUMURA, 2012).

A planta selecionada para este estudo foi a *Pistia stratiotes*. A *P. stratiotes*, também conhecida como alface d'água, é uma planta aquática, de flutuação livre encontrada em lagoas rasas e tem imensa gama ao longo dos trópicos. O caule é curto tendo folhas em forma de roseta. Possui numerosas raízes longas e finas. As folhas são em forma de cunha, esponjosas, em forma inflada variando de 5 a 10 cm de comprimento (MANJUNATH e KOUSAR, 2016). Esta espécie vegetal vem sendo amplamente utilizada para a remoção de resíduos de metais pesados, resíduos da indústria têxtil, medicamentos e produtos de higiene pessoal de recursos hídricos contaminados. (MANJUNATH e KOUSAR, 2016; LIN e LI, 2016). Com base no exposto o objetivo deste trabalho foi avaliar a resistência da espécie vegetal *P. Stratiotes* frente à altas concentrações do herbicida e sua capacidade de realizar a fitorremediação do herbicida Clomazone em sua formulação comercial GAMIT 360 CS de recursos hídricos contaminados.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. O uso de pesticidas e o impacto ambiental

Desde o início da demanda da produção de alimentos no mundo toda a agricultura busca maneiras de minimizar a perda dos materiais produzidos através do uso de compostos químicos capazes de controlar ou eliminar pragas que possam atingir as lavouras. Os pesticidas começaram a ser comercializados no final do século XIX, com a venda de alguns sais inorgânicos, desde então muitas foram as alternativas e tecnologias desenvolvidas para o aprimoramento da seletividade e ação dos pesticidas.

Os pesticidas que podem ser denominados defensivos agrícolas, agroquímicos ou agrotóxicos são moléculas orgânicas e inorgânicas capazes de repelir, controlar ou eliminar pragas. O termo “pesticidas” ainda tem sido amplamente difundido frente a outras nomenclaturas para estes compostos tendo em vista que para estes existem leis federais e estaduais que regulam boas práticas de utilização destes compostos. Os pesticidas são classificados com base nas pragas que atacam como descrito na tabela 1. Além das classes determinadas pelo organismo alvo de ação dos pesticidas, existe também a classificação toxicológica, que vai do nível I (altamente tóxico ao ser humano) ao IV (não tóxico ao ser humano). (ANVISA, 2013).

Tabela 1 Classificação dos pesticidas utilizados no Brasil de acordo com seu organismo alvo

Tipo de pesticida	Organismo alvo
Acaricidas.	Controle De Ácaros
Bactericidas	Controle De Bactérias
Fungicidas	Controle De Fungos
Herbicidas	Controle De Ervas Daninhas.
Inseticidas	Controle De Insetos
Nematicidas	Controle De Nematoides (Vermes).
Rodenticidas	Controle De Ratos E Outros Roedores.
Moluscicidas	Controle De Moluscos

No início, os pesticidas eram estáticos, possuíam baixa solubilidade e tinham um alto poder de adesão a moléculas presentes no solo. Com o desenvolvimento tecnológicos eles se tornaram cada vez mais específicos para uma determinada praga ou grupo de organismos nocivos. Apesar dessa seletividade ter aumentado, junto à isso as moléculas acabaram ficando cada vez mais solúveis em água e voláteis o que favorece a contaminação cruzada

de organismos e ambientes que não são primordialmente alvo destes agentes, conseqüentemente aumentando a probabilidade destes afetarem a saúde humana podendo gerar um problema de saúde pública. (VEIGA, 2006)

O uso de pesticidas pode gerar um impacto ambiental dependendo também da sua ecotoxicidade para organismos terrestres e aquáticos. Além disso, depende diretamente das concentrações nos diferentes compartimentos ambientais (solo, água, planta e atmosfera) que, por sua vez, depende do modo e das condições de aplicação, das propriedades físico-químicas, dose usada, das condições ambientais e do comportamento e destino do da molécula em determinado ambiente (ROCHA et al., 2004; SPADOTTO, 2004). Quanto maior a demanda da produção de determinada cultura, maior a necessidade da formulação de pesticidas intrínsecos aos seus organismos alvos o que acaba resultando no uso combinado de vários compostos diferentes. Por isso, cada vez mais busca-se alternativas para minimizar o impacto ambiental causado pela ampla difusão destes compostos nos ambientes.

2.2. Problemática regional: A cultura de arroz irrigado e uso de pesticidas

O arroz é um dos alimentos mais importantes para a nutrição humana, sendo a base alimentar de mais de três bilhões de pessoas. É o segundo cereal mais cultivado no mundo, ocupando área aproximada de 158 milhões de hectares. A produção de cerca de 746,7 milhões de toneladas de grãos em casca corresponde a 29% do total de grãos usados na alimentação humana (SOSBAI, 2014).

O Brasil, com uma produção anual, base casca, entre 11 e 13 milhões de toneladas de arroz nas últimas safras, participa com 79,3% da produção do Mercosul (SOSBAI8, 2014). O Rio Grande do Sul se destaca neste cenário por representar 61% da produção total brasileira. O arroz é produzido em 131 municípios localizados na metade sul do Estado, onde 232 mil pessoas vivem direta ou indiretamente da exploração dessa cultura (SOSBAI, 2010).



Figura 1 Área semeada e produção da safra 2013/14. Fonte: SOSBAI, 2014.

Na figura 1 percebe-se que a região com maior extensão territorial e produção de arroz é a região da Fronteira Oeste com 333.680 ha cultivados. Nesta região destaca-se o município de Uruguaiana, maior produtor nacional da cultura de arroz irrigado (MANURETO, *et. al.* 2010).

O clima da região do Pampa Gaúcho é caracterizado como amena, entretanto, passa por longos períodos de estiagem, o que inviabiliza qualquer tipo de cultura que não passe por período de irrigação (MANURETO, *et. al.* 2010). O cultivo de arroz irrigado é realizado preferencialmente em solos com relevo plano, geralmente mal drenados, chamados solos de várzeas, em razão da facilidade de manejo da irrigação por inundação para a cultura.

O manejo da água da lavoura de arroz está relacionado ao sistema de cultivo utilizado. O Rio Grande do Sul caracteriza-se pelo cultivo de grandes áreas de arroz, onde predomina o sistema de cultivo com taipas em nível. A irrigação, na grande maioria das lavouras, é pouco planejada, embora se tenha o domínio da água. A inundação ocorre a partir de patamares mais altos, sendo a água conduzida por gravidade, mantendo-se uma lâmina de água por meio de taipas construídas com diferença de nível de 5 a 10 cm (SOSBAI, 2014).

O estado do Rio Grande do Sul (RS) é responsável pela utilização de cerca de 20% dos pesticidas consumidos no país (PRIMEL, *et. al.*, 2005). A

cultura do arroz irrigado está entre as nove culturas que mais utilizam pesticidas no mundo (BARBOSA, 2004). Existem cerca de 27 ingredientes ativos e mais de 40 formulações indicados para utilização neste tipo de cultura.

Neste contexto, os recursos hídricos são os mais afetados devido ao cultivo de arroz irrigado exigir um suprimento de água, o que conduz o desenvolvimento dessa atividade próximo a rios e lagos. O comprometimento destes recursos naturais gera graves prejuízos à saúde humana, principalmente quando estes são utilizados como fonte para abastecimento público. Esta situação exige controle e estudos que possibilitem o monitoramento de pesticidas no meio ambiente e estratégias que possibilitem minimizar o impacto ambiental causado por eles (CABRERA, *et. al.*, 2008).

2.3. Herbicida Clomazone

O herbicida Clomazone é um pesticida seletivo comercializado com o nome de Gamit, utilizado em larga escala da produção de arroz irrigado na região do Rio Grande do Sul, e em culturas de cana de açúcar devido a sua eficiência no combate a ervas daninha sobre tudo gramíneas (LIPPI, *et.al.*, 2014).

O nome químico da substância clomazone de acordo com a IUPAC é 2 - (2-clorobenzil)-4,4-dimetil-1,2-oxazolidin-3-ona. Sua fórmula molecular é $C_{12}H_{14}ClNO_2$, sua fórmula estrutural é descrita na figura 2 e sua massa molecular é igual a 239,7 g/mol (ANVISA, 2013).

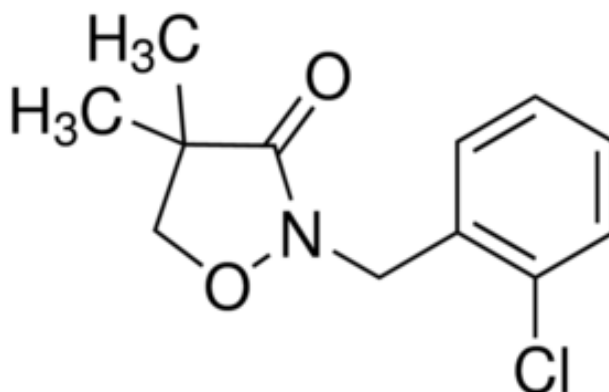


Figura 2 Fórmula estrutural do Clomazone. Fonte ANVISA, 2013.

O clomazone faz parte do grupo químico das Isoxazolidinonas, com classe toxicológica III, apresenta risco baixo a saúde humana. O ponto de ebulição do clomazone é de 282°C. É muito pouco volátil, com uma pressão de

vapor de $9,4 \times 10^{-5}$ h Pa e facilmente solúvel em água, com 1102 mg/L. A solubilidade não muda com o pH, uma vez que a molécula não se dissocia (LIPPI, *et.al.*, 2014). Seu uso agrícola é recomendado em pré-emergência das plantas infestantes nas culturas de algodão, arroz, batata, cana-de-açúcar, eucalipto, fumo, mandioca, melão, milho, pimentão e soja. O herbicida clomazone atua como um inibidor da síntese de pigmentos fotossintéticos (cadeia lateral da clorofila), carotenoides, carreadores de elétrons e outras substâncias importantes em plantas superiores (FERHATOGLU; BARRETT, 2006).

O clomazone é resistente a reações de fotólise, ou seja, o herbicida é estável à degradação pela radiação UV. Porém, apresenta alta solubilidade em água e uma constante de Henry de $4,14 \times 10^{-8}$ atm·m³/mol, o clomazone não deve se volatilizar facilmente, permanecendo na coluna d'água e favorecendo com que seja lixiviado e atinja águas superficiais (EFSA, 2013) O herbicida clomazone é moderadamente persistente no solo, com meia-vida variando de 5 a 29 dias e média de 19 dias, em função do tipo de solo (Kirksey et al., 1996). Sua degradação é mais lenta em solos com condições anaeróbicas, como, por exemplo, solo inundado podendo chegar até a 55 dias de permanência na lâmina de água. A degradação biológica também é favorecida pelas condições ambientais como umidade, temperatura, pH e matéria orgânica. Em condições anaeróbicas ele se degrada lentamente em (N-[(2-clorofenil) metil]-3-hidroxi-2, 2-dimetil-propanamida) e em (N-[(2-chlorobenzyl)]-2-methyl propanamide, entre outros produtos (EFSA, 2007).

Apesar de ser considerado de baixo risco a saúde humana, o ingrediente ativo apresentou concentrações letais 50% (CL50) entre 19-34 mg/L para peixes de água doce, 5,2 mg/L para invertebrados de água doce, 40,6 mg/L para peixes marinhos e entre 0,567-5,3 mg/L para invertebrados marinhos (EPA, 2007). Evidenciando a toxicidade ambiental que pode ser causada pela distribuição do composto no meio ambiente.

2.4. Remediação ambiental: Fitorremediação

Ao longo dos anos vêm sendo desenvolvidas novas tecnologias para minimizar o impacto ambiental do uso de pesticidas. Dentre as técnicas

convencionais usadas para remediação destaca-se desenterrar o solo contaminado, removê-lo para locais onde possa ser concentrado e armazenado. O principal problema desses métodos consiste no risco que a remoção desse solo pode provocar na escavação, além da necessidade de encontrar uma nova área para armazená-lo e do transporte de material tóxico. Algumas tecnologias têm sido utilizadas, entre elas está a incineração em altas temperaturas e vários tipos de decomposição química (decloração catalisada, oxidação por UV) que podem ser extremamente efetivos na redução dos resíduos ambientais, porém apresentam uma série de problemas como o alto custo para pequenas aplicações e dificuldades em incineração e contaminação cruzada (DE CINQUE MARIANO; OKUMURA, 2012).

Em contrapartida existem as técnicas de remediação ambiental por organismos vivos, a biorremediação. Esta se caracteriza como uma técnica que se utiliza de microrganismos e plantas (PIRES et al., 2003ab) para remover agentes contaminantes do solo e da água. Dentro dela se encontra a técnica de fitorremediação que consiste na utilização de plantas, com associação de microrganismos e enzimas presentes na matriz.

A capacidade de fitorremediação não depende unicamente da estrutura e capacidade da planta, mas também das características químico-físicas do composto e sua concentração no ambiente. Ao passo que o xenobiótico é incorporado pela planta ele pode passar por mecanismos diferentes em cada parte da planta como ilustrado na figura 3.

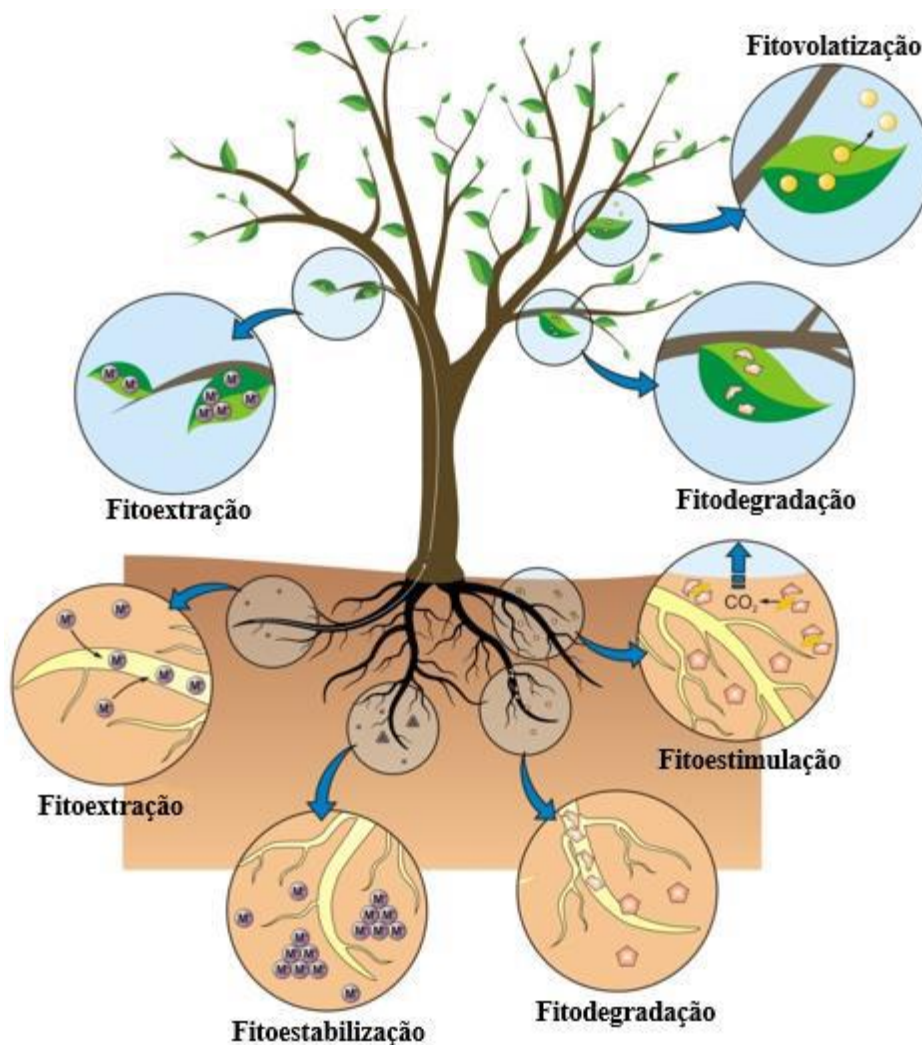


Figura 3 Passos da fitorremediação de acordo com as partes da planta. **FONTE:** Medeiros, 2015.

A fitoestabilização e a fitoestimulação acontecem na região da raiz das plantas. Enquanto a fitovolatilização ocorre na parte aérea da espécie vegetal. Já a fitoextração e a fitodegradação podem ocorrer em ambos dependendo da forma o xenobiótico. A maneira como estas estratégias de fitorremediação estão realizadas pelas plantas estão descritas na tabela 2.

Tabela 2 Estratégias de Fitorremediação.

<i>Modo de Fitorremediação</i>	<i>Mecanismo de ação/ Meio tratado</i>
<i>Fitoextração</i>	Acumulação direta de contaminantes nas mudas de plantas com subsequente remoção. Acontece no solo.
<i>Rizofiltração</i>	Absorção e adsorção dos poluentes nas raízes das plantas. Ocorre em águas de superfície.
<i>Fitoestabilização</i>	Exsudatos radiculares causam a precipitação de metais e a biomassa torna-se menos biodisponível. Águas de superfície, solo e rejeitos de minas são os locais que favorecem a fitoestabilização.
<i>Fitovolatilização</i>	Plantas volatilizam alguns íons metálicos e compostos orgânicos voláteis. Solo e água de superfície.
<i>Fitodegradação</i>	Degradação microbiana ou enzimática na região da rizosfera ou na região aérea. O meio geralmente é água e solo.
<i>Fitotransformação</i>	Absorção e degradação pela planta de contaminantes orgânicos. Água.
<i>Remoção dos contaminantes do ar</i>	Absorção de diversos contaminantes pelas folhas. Ar.
<i>Fitofiltração</i>	Utiliza o sistema radicular ou outros órgãos submersos, em meio aquoso, para absorver, concentrar e/ou precipitar os compostos. Acontece em meio aquoso.

Adaptado de Medeiros (2015) e Yang, et al (2005).

Um processo de fitorremediação pode agregar um ou mais de um passo citado acima. Neste sentido destaca-se a fitodegradação, processo onde as plantas podem degradar poluentes orgânicos diretamente por suas próprias atividades enzimáticas. Esse tipo de processo é ideal para poluentes orgânicos que são móveis nas plantas (como herbicidas, trinitrotolueno e tricloroetileno), e envolve a ação de complexos enzimáticos nas plantas, como glutatona e citocromo P-450 monooxigenases (LAMEGO e VIDAL, 2007).

As plantas possuem um arranjo complexo de enzimas que são capazes de detoxificar xenobióticos, incluindo esterases, citocromo P-450 dependente de

oxigenases (enzimas de metabolismo de fase I), glutathione S-transferases (GSTs) glucosil transferases (GTs) e malonil transferases (enzimas de metabolismo de fase II) e transportadores vacuolares dirigidos por ATP (enzimas de fase III) (KARAVANGELI *et al.*, 2005).

As GSTs, por exemplo, catalisam o ataque nucleofílico do átomo de enxofre da glutathione a grupos nucleofílicos de uma variedade de substratos hidrofóbicos como herbicidas, inseticidas e carcinógenos, ganhando especial atenção no que diz respeito à detoxificação de herbicidas com o alaclor por exemplo (ARMSTRONG, 1998; DIXON *et al.*, 2002; DIXON *et al.*, 1998; EDWARDS *et al.*, 2000; KARAVANGELI *et al.*, 2005). Os principais processos de detoxificação pelos complexos enzimáticos das plantas estão descritos na figura 4.

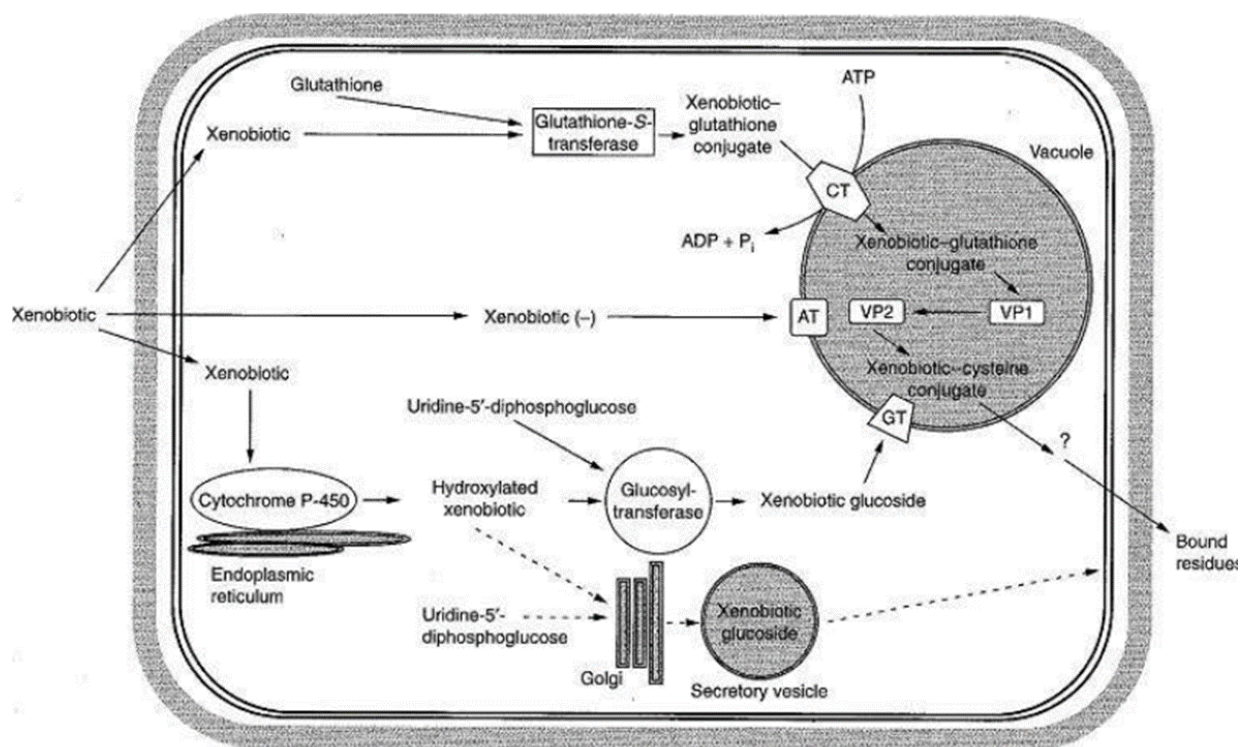


Figura 4 Reações catalisadas por enzimas responsáveis pela desintoxicação de xenobióticos em plantas. FONTE: COLEMAN *et al* (1997).

A fitorremediação tem por base a fisiologia vegetal, a bioquímica do solo e a química dos contaminantes, promovendo a reabilitação da estrutura e da ecologia do solo (Merkl *et al.*, 2006), aumentando a quantidade de C orgânico, a porosidade e a infiltração da água no solo e reduzindo a erosão. As plantas também mantêm a estrutura do solo, garantindo trocas gasosas e o

desenvolvimento dos microrganismos, inclusive os biorremediadores. O Brasil apresenta grande potencial de uso tanto para biorremediação quanto para fitorremediação na recuperação de áreas contaminadas, devido à grande biodiversidade e ao clima, que favorecem os processos biológicos no tratamento da poluição. Paradoxalmente, a experiência acumulada até o presente origina-se principalmente de países de clima temperado. Essa situação dificulta o amplo entendimento acerca da eficácia e do potencial de aplicação dessas técnicas por parte das empresas de remediação e de agências ambientais no Brasil.

A aplicação das técnicas de fitorremediação apresentam vantagens e limitações como elucidado na tabela 3.

Tabela 3 Vantagens e limitações da técnica de Fitorremediação.

VANTAGENS	LIMITAÇÕES
1. Menor custo em relação às outras técnicas de remediação, principalmente em relação às ex situ;	1. Dificuldade na seleção de plantas para fitorremediação, como nos casos de descontaminação de solos com resíduos de herbicidas de amplo espectro de ação;
2. O emprego de plantas pode ser implantado com mínimo distúrbio ambiental, evitando escavações e tráfego pesado de maquinário e é mais favorável esteticamente do que qualquer outra técnica de remediação;	2. Pode ser requerido mais de um ciclo de cultivo, quando o tempo necessário seja muito extenso para uma despoluição satisfatória;
3. Dependendo do composto e a forma que a planta o metaboliza, a mesma não precisa ser removida da área contaminada. Esse é o caso dos contaminantes que podem ser degradados a compostos não tóxicos internamente nas plantas ou no ambiente rizosférico, podendo ser até mesmo mineralizados a compostos primários;	3. O contaminante deve estar dentro da zona de alcance do sistema radicular das plantas fitorremediadoras;
4. Geralmente há uma melhora nas propriedades biológicas, físicas e químicas do solo;	4. Clima e condições do solo podem restringir o crescimento de plantas, o que pode prejudicar descontaminação;
5. Promove a fixação de nitrogênio atmosférico, principalmente, quando se é utilizado leguminosas como espécies remediadoras;	5. Necessidade de retirada das plantas da área contaminada, quando o composto tóxico é apenas fitoacumulado ou fitodegradado a um composto ainda ou mais tóxico que o inicial;
6. Auxilia no controle do processo erosivo, eólico e hídrico. Diminuem o carreamento de contaminantes com a água e com o solo e, evita a contaminação dos cursos hídricos;	6. A presença do contaminante ou de algum metabólito tóxico nas plantas pode levar a contaminação da cadeia alimentar;
7. Promove a redução da lixiviação de contaminantes no solo, reduzindo a contaminação do lençol freático;	7. Dificuldade de controle (destino) posterior da planta fitorremediadora.

Fonte: Adaptado de Procópio et.al. (2009).

Dessa maneira um dos passos decisivos para a determinação do uso da fitorremediação para a descontaminação de ambientes é a escolha da planta. Entretanto, nem todas as espécies vegetais podem ser utilizadas para a aplicação da fitorremediação. Mariano e Okumura (2012) definem algumas características que as plantas devem possuir para ser avaliadas como fitorremediadoras: capacidade de absorção, concentração e/ou metabolização e tolerância ao contaminante, retenção do contaminante nas raízes (no caso da fitoestabilização como oposto à transferência para a parte aérea, evitando sua manipulação e disposição), sistema radicular profundo e denso, alta taxa de crescimento e produção de biomassa, capacidade transpiratória elevada, especialmente em árvores e plantas perenes, fácil colheita, quando necessária à remoção da planta da área contaminada, elevada taxa de exsudação radicular, resistência a pragas e doenças, fácil aquisição ou multiplicação de propágulos, fácil controle ou erradicação, capacidade de desenvolver-se bem em ambientes diversos.

A fitorremediação com macrófitas aquáticas é uma boa alternativa para a recuperação dos ambientes aquáticos. Essas plantas apresentam boa capacidade de absorção de contaminantes e têm uma rápida multiplicação, favorecendo a fitorremediação numa maior parte do meio (PINTO, *et.al.* 2015). Para que sejam obtidos resultados positivos, é necessário conhecer o tipo de poluente que está afetando o local e desse modo fazer a escolha da planta mais adequada para ser utilizada.

2.5. Planta selecionada para o estudo: *Pistia stratiotes*

A *P. stratiotes* é uma planta aquática, de flutuação livre encontrada em lagoas rasas e tem imensa gama ao longo dos trópicos. O caule é curto tendo folhas em forma de roseta. Possui numerosas raízes longas e finas. As folhas são em forma de cunha, esponjosas, em forma inflada variando de 5 a 10 cm de comprimento (MANJUNATH e KOUSAR, 2016).

Sua reprodução se dá de duas formas: Através da reprodução sexuada e reprodução clonal através do rompimento das conexões entre rametes, sendo essa última a mais comum (CARDOSO et al., 2005). Essa espécie tem sido amplamente utilizada, principalmente pela sua resistência e em estudos recentes

mostrou-se eficaz na remoção de cobre, manganês, ferro, nitratos e fosfatos de efluentes de indústria têxtil (MANJUNATH e KOUSAR, 2016) e remoção de fármacos e produtos para cuidados pessoais.



Figura 5 Exemplar da espécie vegetal *Pistia stratiotes*.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Determinar o potencial fitorremediador da macrófita aquática *Pistia stratiotes* frente a água contaminada com a formulação comercial do composto Clomazone.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a sensibilidade da planta alface d'água frente a diferentes concentrações do herbicida comercial GAMIT®
- Avaliar a cinética de degradação do clomazone com a presença das plantas de *Pistia stratiotes*
- Determinar a presença de resíduos do herbicida na água durante o ensaio de fitorremediação.

4. ARTIGO CIENTÍFICO

Os resultados que fazem parte desta dissertação estão apresentados sob a forma de artigo científico. As seções *Materiais e Métodos*, *Resultados e Discussão* e *Referências Bibliográficas* encontram-se no próprio manuscrito. O manuscrito está apresentado da mesma forma que será submetido à Revista **Chemosphere**.

Use of *Pistia stratiotes* for phytoremediation of water resources contaminated by Clomazone

Dandara Fidélis Escoto^{ab}, Mateus Cristofary Gayer^b, Geovana da Cruz Pereira^b, Rafael Roehrs^b, Elton L.G. Denardin^{*a}

* Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiana BR 472 - Km 592, Uruguaiana, 97508-000, RS, Brazil. Phone: 55-55-3413-4321/ FAX: 55-55-3413-4321. E-mail: eltondenardin@unipampa.edu.br

^aLaboratório de Estudos Físico-Químicos e de Produtos Naturais (LEFQPN), Campus Uruguaiana, Universidade Federal do Pampa, CEP 97500-970, Uruguaiana, RS, Brazil.

^bGrupo de Pesquisas em Prática de Ensino (GIPPE), Campus Uruguaiana, Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, 97508-000, RS, Brasil.

Abstract

The *Pistia stratiotes* L. Plant is used as the phytoremediation potential of the compound clomazone in water, a post-emergent herbicide marketed in GAMIT® form. Five groups were evaluated, with four samples each, Low Concentration Control - LCC (37.86 mg / L), Low Concentration Treatment - LCT (38.16 mg / L), High Concentration Control - HCC (56.71 mg / L) and High Concentration Treatment - HCT (56.33 mg / L) and a plant control group. Plant resistance parameters at determined concentrations and the ability to remove the herbicide from water by HPLC for 24 days are evaluated. The results demonstrate that *P. Stratiotes* presents high resistance to clomazone exposure and is able to eliminate up to 90% of the herbicide residues during the experiment period. The study evidences that *Pistia stratiotes* can be used as a phytoremediation agent of the herbicide clomazone in water resources.

Keywords Phytoremediation; Clomazone; *Pistia stratiotes*

1. Introduction

Pesticides are chemical or biological agents that aim to combat, destroy, prevent, repel or mitigate any pest. For each type of plague, there is a class of pesticide and the same are applied in agriculture and other environments. However, their presence in the ecosystem can lead to residual effect causing contamination in water, soil and other living organisms.(DE CINQUE MARIANO, Daiane; OKUMURA, 2012).

When pesticides are used correctly, they minimize grain losses by over 40%, but when used improperly or above the recommended dosage, they can lead to environmental and public health impacts (DEJONGHE et al., 2003). Currently, new pesticides are produced for specific applications in the field, mainly aiming at their rapid decomposition. In Brazil, there are more than 300 active principles and 1,200 formulations of agricultural pesticides (TEIXEIRA; CANELA, 2007). However, these pesticides often contaminate other environments, such as aquatic environments, from percolation or leaching into groundwater, and may become a public health problem.

In this context, Clomazone (2 - (2-chlorobenzyl) -4,4-dimethyl-1,2-oxazolidin-3-one), active principle of the commercial herbicide GAMIT®, of the Isoxazolidinone family and belonging to toxicological class II is of broad spectrum used for the control of annual grasses and broadleaf weeds in cotton, peas, squash, soybeans, sweet potatoes, tobacco, wheat and rice. Clomazone is the third most used herbicide in rice, soybean and wheat crops in the southern half of Brazil. It can be applied in pre-planting and pre-emergence depending on the case. This herbicide is usually used in crops made with dry soil prior to flooding (EMBRAPA, 2011). For clomazone in this type of crop there is no maximum residue limit and also the safety interval is not specified, but its recommended dose is between 0.8 and 1.4 L / ha (SOSBAI, 2010).

The herbicide clomazone acts as an inhibitor of the synthesis of photosynthetic pigments and other important substances in higher plants (FERHATOGLU; BARRETT, 2006). The boiling point of clomazone is 282 ° C. It is very low volatile, with a vapor pressure of 9.4×10^{-5} hPa and easily soluble in water, with 1102 mg / L (LIPPI et al., 2014). In studies such as those by Loux *et al.* (1989) and Mervosh *et al.* (2005) demonstrated that this herbicide can have its bioavailability increased from 5 to 117 days according to the physicochemical properties of the soil where it is applied, thus becoming persistent and may contaminate non-target organisms.

Over the years, new technologies have been developed to minimize the environmental impact of pesticide use. An alternative to revert contamination situations is bioremediation, which consists of a process of decontamination of environments through living organisms, when this process is developed by plants is called phytoremediation (ROSA, 2013).

Phytoremediation is the use of plants for the purpose of degradation, stabilization or removal of pollutants, and is a way to reduce environmental contamination since it can be applied to a variety of contaminants such as petroleum hydrocarbons, solvents, metals, Polycyclic aromatic hydrocarbons and pesticides of all classes (ALI; KHAN; SAJAD, 2013).

In this study we present an alternative for the phytoremediation of the herbicide clomazone the species *Pistia stratiotes* L. belonging to the Araceae family of free flotation and easily found in shallow lagoons and swamp areas, mainly in alkaline conditions. It has a short stem and numerous roots, thin and long, reaching from 10 to 20 cm. This species was chosen for this study because of its easy distribution in tropical environments, its resistance to severe climatic changes, fast reproduction and simple manipulation. In addition, it has already been described in the literature as a phytoremediation of heavy metals such as cadmium, zinc, manganese and iron as well as waste from the textile industry and organic derivatives of cosmetics. (KHAN et al., 2014, LIN and LI, 2016, Manjunath and KOUSAR, 2016).

2. Materials and Methods

2.1. Plant material

The *P. Stratiotes* seedlings were obtained in the region of the Felizardo stream at the Universidade Federal do Pampa, BR 472 - Km 592 - Uruguaiana - RS - 29°49'48.1"S 57°06'07.1"W - Brazil. The storage took place in a greenhouse where they were exposed to natural light and variable ambient temperature (15-30 ° C) to keep all plants in a situation closer to the real one. They were separated in individual gardening pots and cultivated for 14 days, before the experimental process with only water to prevent possible contamination with other agents and favor the growth of the roots. No fertilizer or additive was used since the adaptation of the seedlings until the end of the experimental phase.

2.2. Obtaining the Clomazone Herbicide

The clomazone compound was obtained from its commercial formulation GAMIT® 360 CS from FMC Agvil with a concentration of 360 g / L from which the dilutions were obtained for the sensitivity and phytoremediation experiments.

2.3. Sensibility of *P. Stratiotes* to GAMIT® Herbicide Exposure

First, we selected 12 specimens of plants that stayed for 7 days in gardening jars with only water. After this period, eight plants were submitted to two concentrations of GAMIT® previously selected for the study while another four remained only in water. The plants were observed for 32 days, where changes were observed in the coloration and structure of leaves and roots.

2.4. Experimental Form

The samples were obtained from the tap and deposited in pots (1.5 L). That were filled with 1.3L of water where there was the addition of the GAMIT® herbicide in four groups (Low Concentration Control - LCC, High Concentration Control - HCC, Low Concentration Treatment - LCT and High Concentration Treatment - HCT) and a white group for the control of the plant without the addition of the herbicide.

2.5. Kinetics Analysis of Herbicide Degradation

Clomazone analysis was performed after 100 mL of fortified with the pesticide every 8 days for 24 days from day zero to analyze the degradation kinetics in this matrix during the experiment. The extraction method was an adaptation of Primel et al. (2010) with some brief modifications: 100 mL of GAMIT® fortified water were collected, filtered (0.22 µm PTFE syringe filter), acidified to pH 3 and concentrated in Solid phase cartridge (Strata-C18 -Phenomenex, 55µm pore size in 500mg and 6mL). At this stage, 3 mL of a 70:30 mixture of ethyl acetate: methanol at pH3, 3 mL of ultrapure water and 3 mL of ultrapure water pH3 were used for the packaging of the cartridge, after the percolation of 100 mL of acidified sample at pH 3. The cartridge was washed with 3 mL PH of ultrapure water and 10 minutes of vacuum. To elute the compound 70:30 ethyl acetate: methanol was used at pH3 and dried again with 10 minutes of vacuum. The sample was diluted 100-fold in high performance liquid chromatography (HPLC) grade methanol. The results were analyzed by high performance liquid chromatography with diode array detector (HPLC-DAD).

2.6. Analytical method

High Performance Liquid Chromatography (HPLC-DAD) was run with a Young Lin (YL 9100) model, equipped with a quaternary pump, automatic sampler and diode array detector. The analytical column separation was C18 (Sinergy Fusion RP, 250 mm long and 4.6 mm) (Phenomenex®). The analytical method used was that already described by Roehrs et al. (2012), where the mobile phase used was: acetonitrile / methanol / ultrapure water (30:24:46 v / v), this solution was acidified to pH 3. The flow was 0.8 mL / min in a system isocratic where Clomazone was separated at 19 minutes, 20 µl of sample was injected and the wavelength for detection was 210 nm. The solvents used in the chromatographic analysis were HPLC grade. Chromatography peaks were confirmed by comparison of the retention time with the reference standards and by UV-visible DAD spectra.

2.7. Statistical Analysis

The presentation of the data was from averages. The one-way analysis of variance (ANOVA), with multiple comparisons. Values of $P < 0.05$ were considered significant using GraphPad Software, San Diego, CA.

3. Results and discussion

3.1. Tolerance of *P. Stratiotes* to GAMIT®

For a pesticide class to be safely used it is estimated to be within a concentration range of environmentally tolerable concentrations for the herbicide clomazone to 0.2 mg / L and 0.7 mg / L. This study sought to increase up to 100 times as concentrations to simulate a situation of acute exposure to the compound. The final concentrations obtained were 37.86 mg/L (LCC), 56.33 mg/L (HCC), 38.16 mg/L (LCT) and 56.71 mg / L (HCT). During the 32 days of the sensitivity test it was not possible to detect visible changes in the leaves and roots. Also, the plants showed no difference in root growth, where the same proportion remained for both controls and treatments. Only in the highest concentration

treatment (56.71 mg / L) was it observed that the leaves with the passage of day 24 were slightly spaced between them in the rosette of the plant.

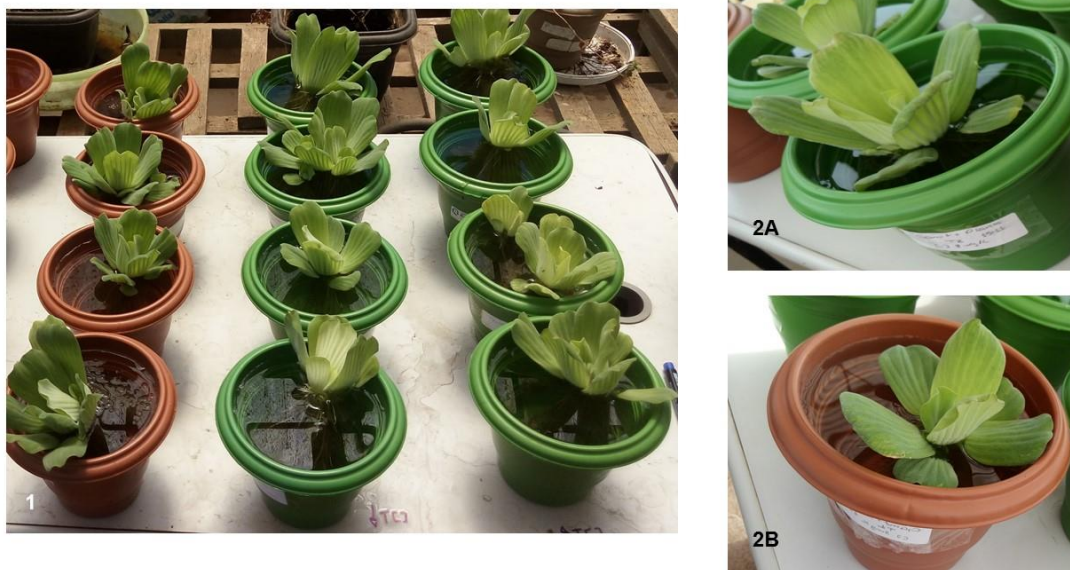


Figure 1) Plants exposed to GAMIT® on day 0. 2A) Plant of HCT group on day 32. 2B) Plant of White group on day 32.

The concentrations recommended in Brazil for the use of the herbicide GAMIT® vary from 0.4 mg / L to 0.7 mg / L. In the sensitivity test it was possible to identify that *P. Stratiotes* is resistant to concentrations 100 times higher than recommended for an action of the herbicide. In this way, allowing this plant to be used concomitantly to the plan of another culture in order to minimize the environmental impact. In the study by Das & Goswami (2014) where *P. Stratiotes* is used for the phytoremediation of heavy metal cadmium in 21 days the plant contains a variety of leaves of leaves, such as leaf necrosis and necrosis, with a concentration of 15 mg / L. We can infer that *P. Stratiotes* is more resistant to contamination by organic foods, since its life time and leaf quality is maintained even in the presence of high concentrations of GAMIT®, which has the active principle or clomazone that is of the family of Isoxazolidinone.

3.2. Clomazone remediation capacity by plant

For the quantification of the clomazone compound an analytical calibration curve was constructed where the linear equation $y = 239.98x + 44.256$ and $r^2 = 0,9999$ with a linear range of 1 to 10 mg / L. The data were obtained by comparing the area of the peaks of the known standard with those of the samples obtained. The results obtained in the phytoremediation test are shown in figure 2.

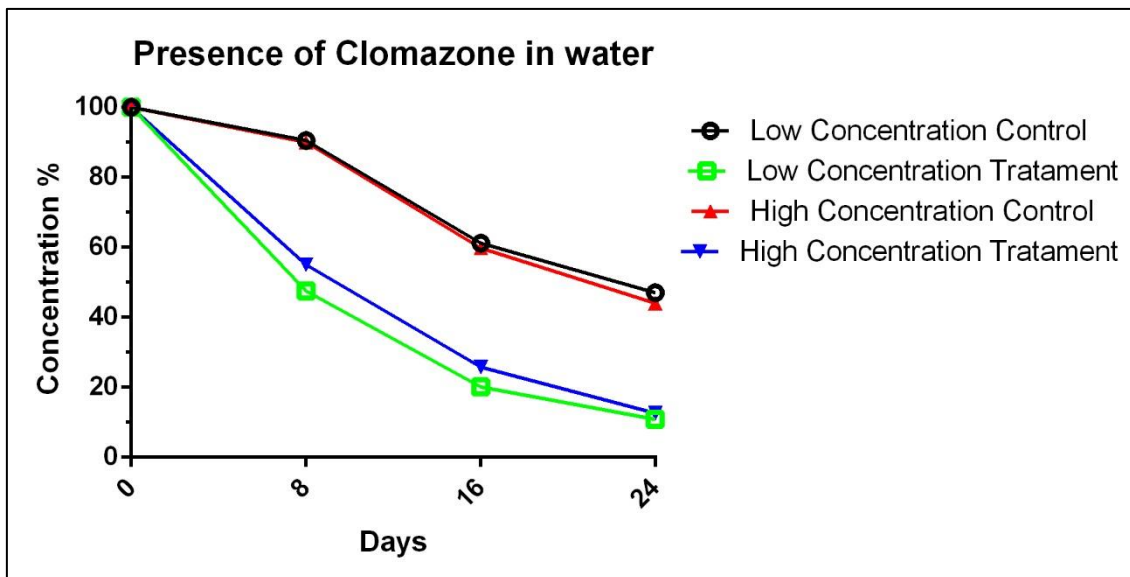


Figure 2 Result of clomazone in water Low Concentration Control – LCC (37.86 mg/L), Low Concentration Treatment – LCT (38.16 mg/L), High Concentration Control – HCC (56.71 mg/L) and High Concentration Treatment – HCT (56.33 mg/L).

The results showed a significant decrease for both clomazone concentrations in water, where on the sixteenth day of treatment both treatment with a high concentration (56.71 mg / L) and a low concentration (38.16 mg / L)) Already had a reduction below 25% and at the end of the test already showed a decrease below 10% of herbicide residues in the water. Another interesting point is the reduction behavior of clomazone residues between the two treatment groups, demonstrating a similar behavior for both concentrations, that is, even in high concentrations the kinetics of degradation of the herbicide by *P. Stratiotes* continues linear.

The slower degradation of the herbicide without the presence of the plant was also observed in the control group. At day 8, the groups with *P. Stratiotes* already presented a difference of 50% of the presence of the herbicide when compared to the control groups. During the 24 days of the experiment, the concentration of the groups that were not exposed to the plant varied slightly more than 40%, which can be attributed to the environmental and physicochemical factors of the clomazone molecule. The concentrations used in the study are on average 100x higher than those recommended for cultures where clomazone is applied and we obtained more than 90% removal of the compound, demonstrating in this way that *P. Stratiotes* in contaminated environments is capable To minimize the environmental impact caused by the herbicide. In the NOLDIN *et.al.* (2001) study, that compared two formulations of GAMIT® (EC = Emulsifier Concentrate and CS = Soluble Concentrate) found that after about four weeks it is still possible to detect about 3% clomazone residues of an initial concentration of 5 mg / L on the lamina of Water in an irrigated rice crop. Already the study of Zanella, *et. Al.*, (2006) evaluated the degradation of clomazone in distilled water and ultraviolet light (UV) induced photodegradation and compared it with degradation under sunlight in a sample collected on the water slide and under real conditions the concentration remains around 0.1 µg / L for at least 20 days after application of the herbicide. In the study of Rosa (2013) where the hydroponic cultivation of lettuce (*Lactuca sativa L.*) in fourteen days of greatest reduction was 42% of an initial concentration of 50µg / L. In the study of

(ROEHRS & ROEHRS, 2012) using an *Enterobacter cloacae* bacterium for the bioremediation of six different herbicides, among them clomazone, the results were satisfactory only with the propanil herbicide alone. In the mixture that did not suffer significant reduction.

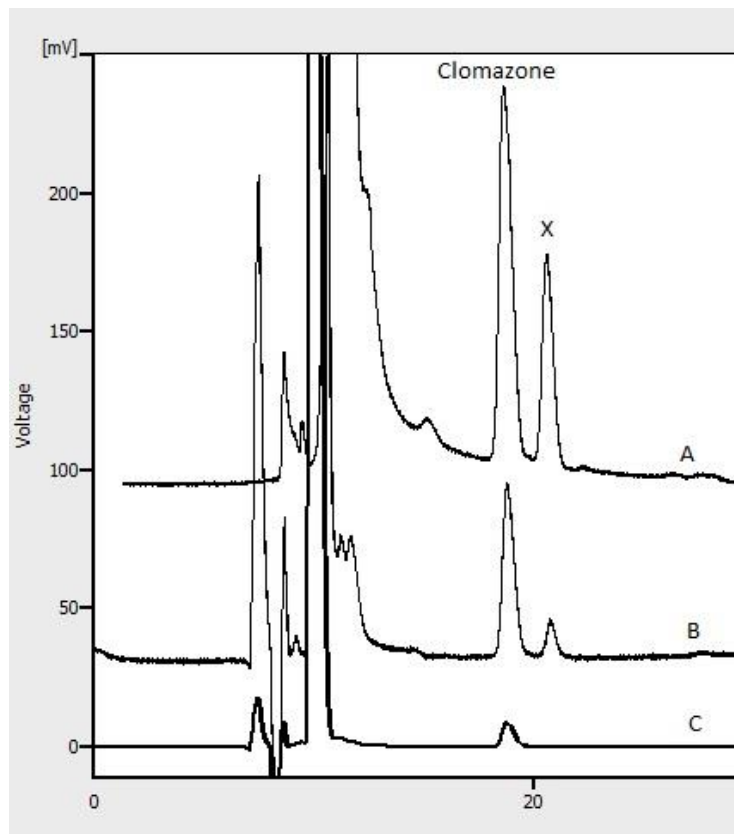


Figure 3. Chromatograms of Clomazone concentration on day 0 (A), in day 24 for control (B) and treatment with *P. Stratiotes* (C). Chromatograms were of the high concentrations (56.71 mg / L for treatment and 56.33 for Controls).

Figure 3 shows the chromatographic analysis of the compound, where it is possible to identify the degradation of the herbicide from day 0 to day 24. It is also noticed that besides the herbicide GAMIT®, another peak appears that denominated of compound X which also shows a significant decrease at day 24 in the control and becoming undetectable by this chromatographic method in the treatment also on day 24. This compound X is believed to be a clomazone degradation product. Studies such as Abramovick *et al.* (2013) and Zanella *et al.* (2006) suggest some possible clomazone photocatalysis products such as 2-Chlorobenzaldehyde, 3-Hydroxy-2-chlorobenzaldehyde, Benzonitrile-2-chloro among other compounds formed and degraded over time as well as clomazone. Degradation can occur depending on the presence and intensity of sunlight in natural exposure environments. In Figure 3 it is possible to identify the decrease of compound X in the presence of *P. Stratiotes* more rapidly than in control, thus demonstrating that the plant can also be effective in eliminating clomazone products.

Pistia stratiotes is a plant species that has been described over time as a potential phytoremediation of water resources, especially in contaminated environments such as sewers or streams by heavy metals. As previously described, *P. Stratiotes* presented good

results against phytoremediation of the heavy metal cadmium, presenting a high tolerance of up to 15 mg / L, but the plant presents rapid deterioration of its leaves and roots in high concentrations. (DAS & GOSWAMI, 2014) For pharmaceutical residues and personal care products such as carbamazepine, ibuprofen, sulfadiazine, sulfamethoxazole, sulfamethazone and triclosan, *P. Stratiotes* showed resistance and efficiency in the removal of residues of these compounds compared to other aquatic species *Eichhornia crassipe* (LIN & LI, 2016). It can be inferred that *P.Stratiotes* performs well against phytoremediation of organic compounds, as in the case of herbicides.

4. Conclusions

Pistia stratiotes is a plant that exhibits a satisfactory behavior against exposure and remediation of the herbicide Clomazone in its commercial formulation GAMIT® 360 CS. The plant was able to resist without undergoing foliar alterations at concentrations 100 times higher than those recommended for the use of GAMIT® in the crops. As for the phytoremediation test, *P. Stratiotes* presented a 90% decrease in clomazone residues in water, evidencing that the plant can be used for the removal of this herbicide in water resources.

Additional studies should be performed to determine the route of metabolism of *P. Stratiotes* that contributes to the action on clomazone, as well as the identification and quantification of the compound in the roots and leaves of the plant.

5. References

- ALI, Hazrat; KHAN, Ezzat; SAJAD, Muhammad Anwar. Phytoremediation of heavy metals— Concepts and applications. **Chemosphere**, [s.l.], v. 91, n. 7, p.869-881, maio 2013. Elsevier BV.
- DAS, Suchismita; GOSWAMI, Sunayana; TALUKDAR, Anupam Das. A study on cadmium phytoremediation potential of water lettuce, *Pistia stratiotes* L. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 92, n. 2, p. 169-174, 2014.
- DE CINQUE MARIANO, Daiane; OKUMURA, Ricardo Shigueru. Aspectos Agronômicos, Uso pelo Homem e Mecanismos da Fitorremediação: uma revisão. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 5, n. 2 Especial, 2012.
- DEJONGHE, Winnie et al. Synergistic degradation of linuron by a bacterial consortium and isolation of a single linuron-degrading *Variovorax* strain. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 3, p. 1532-1541, 2003.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA PECUÁRIA. **COT 167201**: Dissipação do herbicida Clomazone na cultura de arroz irrigado. 2 ed. Dourados: Embrapa, 2011.
- FERHATOGLU, Yurdagul; BARRETT, Michael. Studies of clomazone mode of action. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 85, n. 1, p. 7-14, 2006.
- LIN, Yi-Li; LI, Bing-Kun. Removal of pharmaceuticals and personal care products by *Eichhornia crassipe* and *Pistia stratiotes*. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 58, p. 318-323, 2016.
- LIPPI, Ana Maria Ferreti et al. Características físico-químicas e toxicológicas do Clomazona. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 7, n. 1, 2015.

LOUX, Mark M.; LIEBL, Rex A.; SLIFE, Fred W. Availability and persistence of imazaquin, imazethapyr, and clomazone in soil. **Weed Science**, p. 259-267, 1989.

MANJUNATH, S.; KOUSAR, H. Phytoremediation of textile industry effluent using *Pistia stratiotes*. **International Journal of Environmental Sciences**, v. 5, n.2, p. 75-81, 2016.

MERVOSH, Todd L.; SIMS, Gerald K.; STOLLER, Edward W. Clomazone fate in soil as affected by microbial activity, temperature, and soil moisture. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, n. 2, p. 537-543, 1995.

NOLDIN, J. A. et al. Persistência do herbicida clomazone no solo e na água quando aplicado na cultura do arroz irrigado, sistema pré-germinado. **Planta Daninha**, v. 19, n. 3, p. 401-408, 2001.

PRIMEL, E.G.; ZANELLA, R.; KURZ, M.H.S.; et. al. Poluição das águas por herbicidas utilizados no cultivo do arroz irrigado na região central do estado do Rio Grande do Sul, Brasil: predição teórica e monitoramento. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 605-609, jul./ago. 2010.

ROEHRS, Rafael et al. Biodegradation of Herbicide Propanil and Its Subproduct 3,4-Dichloroaniline in Water. **Clean Soil Air Water**, [s.l.], v. 40, n. 9, p.958-964, set. 2012. Wiley-Blackwell.

ROEHRS, Rafael et al. Liquid Chromatography-Diode-Array Detection Multiresidue determination of Rice Herbicide in drinking and paddy-field water. **J AOAC International**, 92, 1190-1195, 2009.

ROSA, Anderson da Silva. **Fitorremediação de Pesticidas Utilizados em Lavouras de Arroz Através do Cultivo Hidropônico de Alface (*Lactuca sativa L.*)**. 2013. 80 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Bioquímica, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, 2013.

SOSBAI. Arroz Irrigado: **Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil**: Porto Alegre - RS, 2010.

TEIXEIRA, Silvio César Godinho; CANELA, Maria Cristina. Degradação Do Pesticida Padron® Por Processos Fotoquímicos Utilizando Luz Artificial E Solar. **Química Nova**, Campos dos Goytacazes, v. 30, n. 8, p.1830-1834, out. 2007.

ZANELLA, Renato et al. Study of the degradation of the herbicide clomazone in distilled and in irrigated rice field waters using HPLC-DAD and GC-MS. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 5, p. 987-995, 2006.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os principais resultados obtidos neste trabalho foram descritos e discutidos no manuscrito apresentado e submetido a uma revista científica especializada na área.

Neste estudo o principal objetivo foi analisar a capacidade da alface d'água (*Pistia stratiotes*) de realizar a fitorremediação do herbicida clomazone. Concomitantemente a avaliação da cinética de degradação do herbicida foi avaliada a sensibilidade das plantas em exposição a concentrações elevadas de clomazone. Ainda que as mudas de *P. Stratiotes* não tenham apresentado modificações foliares e nem em sua rizosfera durante os 24 dias de ensaio o herbicida clomazone já vem sendo descrito como tóxico para outros organismos. O ingrediente ativo clomazone apresentou concentrações letais 50% (CL50) entre 19-34 mg/L para peixes de água doce, 5,2 mg/L para invertebrados de água doce, 40,6 mg/L para peixes marinhos e entre 0,567-5,3 mg/L para invertebrados marinhos (EPA, 2007).

Durante o desenvolvimento deste trabalho utilizamos um bioensaio com a mosca da fruta (*Drosophila Meganogaster*), modelo que está bem descrito na literatura (ALMEIDA & REYES, 1999; ALMEIDA *et al.*, 2001) para determinação da toxicidade de compostos orgânicos e também como para parâmetro para de determinar resíduos de pesticidas (HIRATA, *et.al.*, 2002).

Para a determinação da CL50 do clomazone em modelo de *Drosophila meganogaster* foram utilizadas as concentrações de 1mM, 5mM e 10mM (valores calculados com base em protocolos de exposição aguda). As moscas foram expostas 3 dias após as pupas terem atingindo a fase adulta as concentrações em meio nutritivo (contendo ágar, leite em pó, fungicida Nepagin 8% e GAMIT® em solução aquosa nas concentrações determinadas) durante 10 dias juntamente com um grupo controle, que não sofreu exposição ao clomazone. Em cada frasco de 25 mL foram depositadas 20 moscas. A contagem das moscas sobreviventes era realizada diariamente.

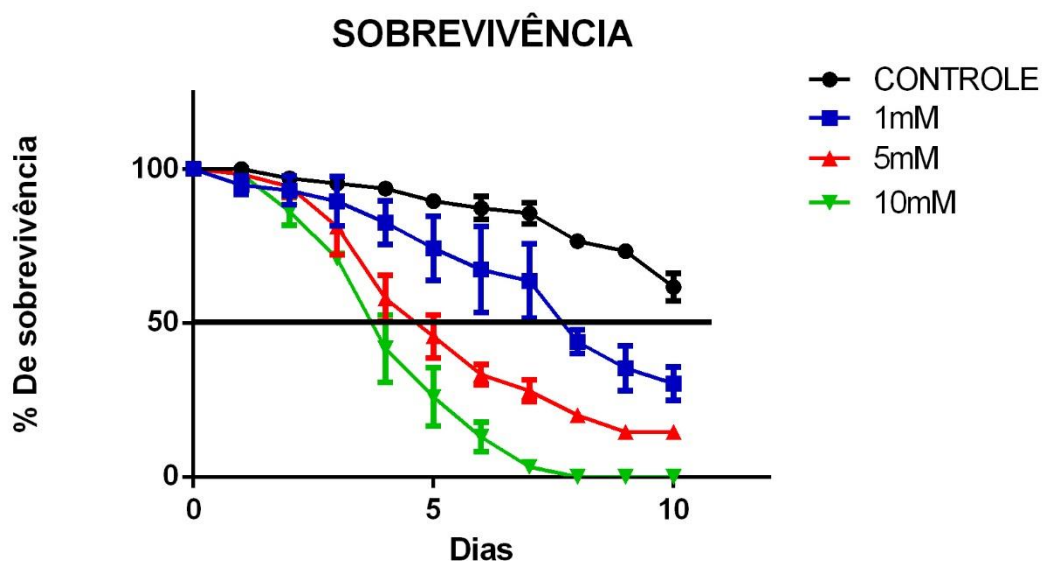


Figura 6 Relação entre a sobrevivência das moscas ao longo dos 10 dias de ensaio de acordo com as concentrações dos tratamentos e o grupo controle.

A figura 6 representa a sobrevivência das moscas ao longo dos 10 dias de experimento. Podemos perceber que todas as concentrações de GAMIT® em que os animais foram expostos causaram uma sobrevivência abaixo dos 40% desde o oitavo dia de ensaio. Na concentração mais alta (10mM) desde o sétimo dia de ensaio não obteve-se nenhuma mosca sobrevivente. Em contrapartida o grupo controle finalizou o ensaio com 60% das moscas vivas, o que esclarece a alta toxicidade da exposição aguda de clomazone a estes animais invertebrados. Pode-se evidenciar também que a CL50 deste herbicida para a *D. meganogaster* está abaixo da concentração de 1mM, a mais baixa utilizada neste estudo prévio.

Estes dados corroboram para a discussão de que mesmo que o clomazone seja considerado de baixa toxicidade para os seres humanos e moderadamente tóxico para o meio ambiente (ANVISA, 2007) este composto é capaz de agredir severamente organismos não alvo. Sobretudo pelas suas características físico-químicas que o configura como um composto altamente solúvel em água podendo contaminar solos utilizados para outros tipos de cultura e águas superficiais através de sua lixiviação.

Por isso, estratégias que auxiliem na redução do impacto ambiental causado por este herbicida tornam-se tão relevantes. Neste estudo foi possível reduzir em 90% a presença do clomazone na água com uma concentração inicial

de 38,18 mg/L- como demonstrado na figura 2 do manuscrito - ou seja, uma concentração residual de 3,79 mg/L em 24 dias. Ainda que o tempo de auto degradação do clomazone em solo não seja considerado longo (Kirksey et al., 1996) frente a outros herbicidas a utilização da *P. Stratiotes* apresenta-se como um excelente recurso para a minimização do impacto ambiental causado pelo composto. Tendo em vista que a aceleração da cinética de degradação do herbicida diminui o tempo em que ele pode interagir com o solo impedindo sua propagação em extensão no ambiente e por período de tempo, e também a possibilidade de lixiviação do mesmo para ambientes onde poderá interagir com organismos que não são seu alvo.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A macrófita aquática *Pistia stratiotes* foi capaz de fitorremediar de 80 a 90% do herbicida clomazone em sua formulação comercial de recursos de água com concentrações em média cem vezes maiores do que as recomendadas para sua utilização na lavoura. Demonstrando dessa maneira que pode ser uma alternativa para recuperar recursos hídricos contaminados com este herbicida e bem como ser associada a culturas onde o herbicida é aplicado, como por exemplo a cultura de arroz irrigado. Outro ponto que reforça a indicação do uso da *P. Stratiotes* é sua alta resistência a situações de exposição aguda ao herbicida sem apresentar alterações em sua morfologia.

Contudo, mais estudos devem ser desenvolvidos no sentido de estabelecer a alface d'água como modelo para a fitorremediação de outros herbicidas da mesma classe química ou com outras formulações.

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

Considerando os resultados obtidos neste estudo surgem como propostas para trabalhos posteriores:

- Avaliar por um período de tempo mais longo a cinética de degradação do clomazone (entre 30 e 60 dias);
- Identificar a presença do herbicida nas diferentes partes da planta;
- Verificar se existe alteração na atividade antioxidante da planta, bem como em seu metabolismo secundário;
- Determinar a via metabólica responsável pela detoxificação do clomazone;
- Analisar a capacidade da *Pistia stratiotes* de fitorremediar misturas de pesticidas contendo clomazone;
- Ampliar ensaio de toxicidade referentes ao herbicida e suas formulações comerciais.

8. REFERÊNCIAS

ALI, Hazrat; KHAN, Ezzat; SAJAD, Muhammad Anwar. Phytoremediation of heavy metals—Concepts and applications. **Chemosphere**, [s.l.], v. 91, n. 7, p.869-881, maio 2013. Elsevier BV.

ALMEIDA, G.R. & REYES, F.G.R. *Drosophila melanogaster* Meigen: 1. Sensibilidade ao endosulfan e biomonitoramento de seus resíduos em couve-manteiga. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.58, n.2, p.15-24, 1999.

ALMEIDA, G.R.; REYES, F.G.R.; RATH, S. *Drosophila melanogaster* Meigen: 3. Sensibilidade ao carbofuran e biomonitoramento de seus resíduos em repolho. **Quím. Nova**, v.24, n.6, p.768-772, 2001.

ALMEIDA, Priscilla P.; MEZZOMO, Natália; FERREIRA, Sandra R. S.. Extraction of *Mentha spicata* L. Volatile Compounds: Evaluation of Process Parameters and Extract Composition. **Food Bioprocess Technol**, [s.l.], v. 5, n. 2, p.548-559, 21 abr. 2010.

ANVISA. **ANVISA - Monografias de Agrotóxicos**. 2013 2

_____. **ANVISA - Monografias de Agrotóxicos**. 2015.

ARMSTRONG, R. N. Mechanistic imperatives for the evolution of glutathione transferases. **Curr Opin Chem Biol**. v.2, p.618-623, 1998.

BARBOSA, Luiz Claudio de Almeida. Os pesticidas, o homem e o meio ambiente. Viçosa: **Fvu**, 2004.

BRASIL. ANVISA: Resolução RE 899. 2003.

_____. **ANVISA - RDC N. 274**, de 22 de setembro de 2005.

CABRAL, Cássia Michelle. Fitorremediação por espécies arbóreas do herbicida clomazone: efeitos na morfologia, anatomia e rizosfera. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Mestrado em Ciências Agrárias, 2012.

CABRERA, Liziara da Costa; COSTA, Fabiane Pinho; PRIMEL, Ednei Gilberto. Estimativa de risco de contaminação das águas por pesticidas na região sul do estado do RS. **Química Nova**, São Paulo. 2008.

CARDOSO, L.R.; MARTINS, D.; MORI, E. S.; TERRA, M. A. Variabilidade genética entre populações de *Pistia stratiotes*. **Planta daninha**, Viçosa, MG, v.23, n. 2, p. 181-185, June 2005. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S01008358200500020003&lng=en&nrm=iso>. Access on 17 June 2016.

COLEMAN, J. O. D.; FROVA, C.; SCHRÖDER, P.; TISSUT, M. Exploiting plant detoxification systems in plants. **Curr Opin Plant Biol**. v.1, p.258-266, 1998.

DE CINQUE MARIANO, Daiane; OKUMURA, Ricardo Shigueru. Aspectos Agronômicos, Uso pelo Homem e Mecanismos da Fitorremediação: uma revisão. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 5, n. 2 Especial, 2012.

DEJONGHE, Winnie et al. Synergistic degradation of linuron by a bacterial consortium and isolation of a single linuron-degrading *Variovorax* strain. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 3, p. 1532-1541, 2003.

DIXON, D. P.; CUMMINS, I.; COLE, D. J.; EDWARDS, R. Glutathione-mediated metabolism for the phytoremediation of persistent herbicides. **Env. Sci. Poll. Res.** v.9, p.18-28, 2002.

DIXON, D.; LAPTHORN, A.; EDWARDS, R. Plant glutathione transferases. **Genome Biol.** p.3004.1-3004.10, 2002.

EDWARDS, R.; DIXON, D. P.; WALNOT, V. Plant glutathione S-transferases: enzymes with multiple functions in sickness and in health. **Trends Plant Sci.** v.5, p.193-198, 2000.

EFSA. European Food Safety Authority. 2005. Disponível em: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2345.pdf> < Acessado em 25 de março de 2013 >

EFSA. European Food Safety Authority. 2007. Disponível em: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/109r.pdf> < Acessado em 25 de março de 2013 >

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA PECUÁRIA. **COT 167201**: Dissipação do herbicida Clomazone na cultura de arroz irrigado. 2 ed. Dourados: Embrapa, 2011.

EPA. Environmental Protection Agency. 2007. Disponível em: http://www.epa.gov/oppsrrd1/registration_review/clomazone/clomazone_summary.pdf < Acessado em 08 de abril de 2013 >

FERHATOGLU, Yurdagul; BARRETT, Michael. Studies of clomazone mode of action. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 85, n. 1, p. 7-14, 2006.

HIRATA, R.; DIAS, S. S.; ROSA, A. R. Detecção de inseticidas por bioensaio com *Drosophila melanogaster*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 3, p. 97-102, 2002.

KARAVANGELI, M.; LABROU, N. E.; CLONIS, Y. D.; TSAFTARIS, A. Development of transgenic tobacco plants overexpressing maize glutathione S-transferase I for chloroacetanilide herbicides phytoremediation. **Biomolecular Engineering**. v.22, p.121-128, 2005.

KARAVANGELI, Margarita et al. Development of transgenic tobacco plants overexpressing maize glutathione S-transferase I for chloroacetanilide herbicides phytoremediation. **Biomolecular Engineering**, [s.l.], v. 22, n. 4, p.121-128, out. 2005. Elsevier BV.

KIRKSEY, K.B.; HAYES, R.M.; KRUGER, W.A.; MULLINS, C. A.; MUELLER, T.C. Clomazone dissipation in two Tennessee soils. **Weed Sci.**, v.44, p.959-963, 1996.

LAMEGO, F.P.; VIDAL, R.A. Fitorremediação: plantas como agentes de despoluição. Pesticidas: **Ecotoxicol. e Meio Ambiente**. Vol. 17, p. 9-18, 2007.

LIMA, Danúzia Ferreira; DE OLIVEIRA, Olívia Maria Cordeiro; CRUZ, Manoel Jerônimo Moreira. Utilização dos fungos na biorremediação de substratos contaminados por petróleo: estado da arte. **Cadernos de Geociências**, v. 8, n. 2, p. 113-121, 2011.

LIN, Yi-Li; LI, Bing-Kun. Removal of pharmaceuticals and personal care products by *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes*. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 58, p. 318-323, 2016.

LIPPI, Ana Maria Ferreti et al. Características físico-químicas e toxicológicas do Clomazona. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 7, n. 1, 2015.

LOUX, Mark M.; LIEBL, Rex A.; SLIFE, Fred W. Availability and persistence of imazaquin, imazethapyr, and clomazone in soil. **Weed Science**, p. 259-267, 1989.

MANJUNATH, S.; KOUSAR, H. Phytoremediation of textile industry effluent using *Pistia stratiotes*. **International Journal of Environmental Sciences**, v. 5, n.2, p. 75-81, 2016.

MANJUNATH, S.; KOUSAR, H. Phytoremediation of textile industry effluent using *Pistia stratiotes*. **International Journal of Environmental Sciences**, v. 5, n.2, p. 75-81, 2016.

MEDEIROS, Thales Augusto de Miranda. Efeito fitotóxico e potencial remediador de três espécies vegetais contaminadas com benzeno. 2015.

MERVOSH, Todd L.; SIMS, Gerald K.; STOLLER, Edward W. Clomazone fate in soil as affected by microbial activity, temperature, and soil moisture. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, n. 2, p. 537-543, 1995.

MUNARETO, Janete Denardi et al. Propriedades físicas do solo e produtividade de arroz irrigado por inundação no sistema plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 12, p. 1499-1506, 2011.

NIELL, Silvina et al. Development of methods for multiresidue analysis of rice post-emergence herbicides in loam soil and their possible applications to soils of different composition. **Journal of AOAC International**, v. 93, n. 2, p. 425-431, 2010.

ODJEGBA, V. J.; FASIDI, I. O. Accumulation of trace elements by *Pistia stratiotes*: implications for phytoremediation. **Ecotoxicology**, v. 13, n. 7, p. 637-646, 2004.

PINTO, Layane Érica da Silva. Determinação da Potencialidade de Utilização da *Pistia stratiotes* como Agente Fitorremediador de Ambientes Naturais. **Revista Química: ciência, tecnologia e sociedade**, v. 4, n. 1, 2016.

PIRES, F. R. et al. Phytoremediation of herbicide-polluted soils. **Planta Daninha**, v. 21, n. 2, p. 335-341, 2003.

PRIMEL, E.G.; ZANELLA, R.; KURZ, M.H.S.; et. al. Poluição das águas por herbicidas utilizados no cultivo do arroz irrigado na região central do estado do Rio Grande do Sul, Brasil: predição teórica e monitoramento. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 605-609, jul./ago. 2005.

PROCÓPIO S. O.; PIRES, F. R.; SANTOS, J. B.; SILVA, A. A. **Fitorremediação de solos com resíduos de herbicidas**. Aracaju: EMBRAPA Tabuleiros Costeiros. p. 32, 2009

ROCHA, J. C.; ROSA, A. H.; CARDOSO, A. A. **Introdução a química ambiental**.: Bookman. Porto Alegre, 2004.

ROEHRS, Rafael et al. Biodegradation of Herbicide Propanil and Its Subproduct 3,4-Dichloroaniline in Water. **Clean Soil Air Water**, [s.l.], v. 40, n. 9, p.958-964, set. 2012. Wiley-Blackwell.

ROEHRS, Rafael et al. Liquid Chromatography-Diode-Array Detection Multiresidue determination of Rice Herbicide in drinking and paddy-field water. **J AOAC International**, 92, 1190-1195, 2009.

ROSA, Anderson da Silva. **Fitorremediação de Pesticidas Utilizados em Lavouras de Arroz Através do Cultivo Hidropônico de Alface (*Lactuca sativa L.*)**. 2013. 80 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Bioquímica, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, 2013.

SOSBAI. Arroz Irrigado: **Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil**: Porto Alegre - RS, 2010.

SOSBAI. **Arroz Irrigado: Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil**: Porto Alegre - RS, 2010.

SOSBAI. **Arroz Irrigado: Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil**: Porto Alegre - RS, 2014.

SPADOTTO, E. A. **Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: Princípios e recomendações**. Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: Princípios e recomendações. E. M. Ambiente. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente: 29 p. 2004.

TEIXEIRA, Silvio César Godinho; CANELA, Maria Cristina. Degradação Do Pesticida Padron® Por Processos Fotoquímicos Utilizando Luz Artificial E Solar. **Química Nova**, Campos dos Goytacazes, v. 30, n. 8, p.1830-1834, out. 2007.

VEIGA, M. M., ET AL. Análise da contaminação dos sistemas hídricos por agrotóxicos numa pequena comunidade rural do sudeste do Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v.22, p.2391-2399, 2006.

ANEXOS

Anexo A

Normas de formatação da revista que o artigo será submetido, revista **Chemosphere**.

Your Paper Your Way

We now differentiate between the requirements for new and revised submissions. You may choose to submit your manuscript as a single Word or PDF file to be used in the refereeing process. Only when your paper is at the revision stage, will you be requested to put your paper in to a 'correct format' for acceptance and provide the items required for the publication of your article. **To find out more, please visit the Preparation section below.**

Submission of Papers

All manuscripts should be submitted electronically through Elsevier Editorial System (EES) which can be accessed at <http://ees.elsevier.com/chem>.

During submission papers should be marked for the attention of a subject Editor or the relevant section, if possible. Failure to provide this information will significantly delay processing of the manuscript.

Types of article

Chemosphere accepts Research Papers, Review Papers, Short Communications, Letters to the Editor, Replies and Discussion Papers. Please note that papers with a routine nature and lacking originality, novelty and uniqueness will not be accepted for publication.

EW SUBMISSION

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts your files to a single PDF file, which is used in the peer-review process.

As part of the Your Paper Your Way service, you may choose to submit your manuscript as a single file to be used in the refereeing process. This can be a PDF file or a Word document, in any format or lay-out that can be used by referees to evaluate your manuscript. It should contain high enough quality figures for refereeing. If you prefer to do so, you may still provide all or some of the source files at the initial submission. Please note that individual figure files larger than 10 MB must be uploaded separately. If you use the Your Paper Your Way service, please make sure that you also provide your highlights and the six suggested referees in this document.

References

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct.

Formatting requirements

There are no strict formatting requirements but all manuscripts must contain the essential elements needed to convey your manuscript, for example **Abstract, Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Conclusions, Artwork and Tables with Captions.**

If your article includes any Videos and/or other Supplementary material, this should be included in your initial submission for peer review purposes.

Divide the article into clearly defined sections.

Please ensure your paper has consecutive line numbering - this is an essential peer review requirement.

Figures and tables embedded in text

Please ensure the figures and the tables included in the single file are placed next to the relevant text in the manuscript, rather than at the bottom or the top of the file. The corresponding caption should be placed directly below the figure or table.

REVISED SUBMISSIONS

Use of word processing software

Regardless of the file format of the original submission, at revision you must provide us with an editable file of the entire article. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). See also the section on Electronic artwork. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor. **For revised submissions: always include one copy of the new text with changes clearly indicated (in red or bold or track change) and one version with all changes accepted, and a letter with your response to the comments of the reviewers.**

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do

not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Theory/calculation

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential	title	page	information
------------------	--------------	-------------	--------------------

- ***Title.*** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- ***Author names and affiliations.*** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- ***Corresponding author.*** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that phone numbers (with country and area code) are provided in addition**

to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author. .

• ***Present/permanent address.*** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. **The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone.** For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself (and then later again when used in the text, see Abbreviations).

Graphical

abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view [Example Graphical Abstracts](#) on our information site. Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements: [Illustration Service](#).

Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). You can view [example Highlights](#) on our information site.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Disponível em <https://www.elsevier.com/journals/chemosphere/0045-6535/guide-for-authors> <acesso em 01/03/17>