



UNIVERSIDADE  
E D U A R D O  
M O N D L A N E

ESCOLA SUPERIOR DE NEGÓCIOS E EMPREENDEDORISMO DE  
CHIBUTO

**Impactos Ecotoxicológico do Fungicida Agrícola Oxicloreto de Cobre no  
Crescimento da Macrófita *Lemna minor***

Luís Sérgio Langa

Chibuto, setembro 2024

Luís Sérgio Langa

**Impactos Ecotoxicológico do Fungicida Agrícola Oxicloreto de Cobre no  
Crescimento da Macrófita *Lemna minor***

Monografia submetida em cumprimento parcial dos requisitos para a  
obtenção do Grau de Licenciatura em Agricultura Comercial na Escola  
Superior de Negócios e Empreendedorismo de Chibuto-ESNEC.

Supervisor: Mestre Cláudio António Matusse

Coo-supervisor: Doutor. Márcio Daniel Siteo

Chibuto, setembro de 2024

## DECLARAÇÃO

Declaro por minha honra que este trabalho de fim do curso é resultado da minha investigação pessoal, que todas as fontes estão devidamente referenciadas, e que nunca foi apresentado para a obtenção de qualquer grau nesta Universidade, Escola ou em qualquer outra instituição.

Assinatura

---

Luís Sérgio Langa

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Luis Sergio Langa

**Impactos Ecotoxicológico do Fungicida Agrícola Oxicloreto de Cobre no  
Crescimento da Macrófita *Lemna minor***

Monografia submetida como requisito para a obtenção do Grau  
de Licenciatura em Agricultura Comercial na Escola Superior de  
Negócios e Empreendedorismo de Chibuto – ESNEC.

Chibuto, \_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

Grau e nome do presidente

\_\_\_\_\_

Rúbrica

\_\_\_\_\_

Grau e nome do Supervisor

\_\_\_\_\_

Rúbrica

\_\_\_\_\_

Grau e nome do Oponente

\_\_\_\_\_

Rúbrica

\_\_\_\_\_

## **Dedicatória**

Dedico este trabalho de Monografia a minha família

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus por ter me concedido a vida e a protecção até esse momento para que pudesse vivenciar mais essa etapa importante da minha vida.

Aos meus pais Sérgio Luís Langa e Violeta Alberto Mondlane por cuidarem de mim, por me ensinarem a ser humilde, honesto e obediente.

Em especial a querida minha mãe por tudo que tem feito por mim e por ser uma fonte de inspiração no âmbito social da minha vida, aos meus irmãos Patrocínia, Samuel, Felícia, e Reginaldo pela força e acompanhamento desde o início da minha formação. E a minha filha Valdenice Luís por toda força que tem me dado. A minha querida avó, Patrocínia Mandlate meu eterno agradecimento por cuidar incansavelmente de mim.

Ao meu Primo Alexandre, pelo apoio prestado desde o início da minha carreira estudantil, aos meus colegas Arsênio Mucavel, Açucena Mabunda, Pércia Macuácuca e Manuel Nhantumbo, meu eterno agradecimento.

Ao Mestre Cláudio Matusse e ao Doutor Márcio Siteo por toda atenção e dedicação por eles prestados durante realização deste trabalho. Por serem meus grandes exemplos de competência profissional, de dedicação e fonte de inspiração e para prosseguir na minha carreira acadêmica. Meu eterno agradecimentos por tudo.

A todos os Docentes do curso de Agricultura Comercial pelos ensinamentos acadêmicos, profissional e social.

Ao meu grande amigo, colega Louves Manhique por toda companhia durante realização do curso, meu eterno agradeço. Aos meus amigos Gil Cambula, Lucas Murrombe, Eric Muhorro, Adélia Bila, Anitercio Wate, Nelson Fulane, Gentilênio Tambo, Antônio Boca, Ferreira Justino, Georgina David e Marta Penissela pela linda amizade que iniciou em chibuto, e perpetuará pela vida toda

A todos meus colegas de curso de agricultura comercial por todo acompanhamento durante a jornada acadêmica.

## RESUMO

Este estudo teve como objectivo avaliar os impactos ecotoxicológicos do fungicida agrícola Oxicloreto de Cobre no crescimento da macrófita *Lemna minor*. Foi realizado um experimento em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com seis tratamentos, incluindo cinco concentrações do fungicida e um controle, conduzindo dois ensaios distintos. As variáveis analisadas foram o número de plantas, o número de frondes, o peso fresco e o peso seco. Os dados foram submetidos à análise de variância e, em seguida, à comparação de médias (teste de Tukey) utilizando o software R. Os resultados revelaram efeitos significativos tanto no primeiro quanto no segundo ensaio, embora no primeiro ensaio não tenha sido observado um efeito significativo na variável número de frondes. Concluiu-se que a concentração mínima capaz de causar efeitos toxicológicos é de 2 g L<sup>-1</sup> e que o fungicida oxicloreto de cobre tem um efeito inibidor sobre o crescimento da *Lemna minor*.

**Palavras-chave:** *toxicidade aquática, proteção de plantas, impactos ecológicos.*

## ABSTRACT

This study aimed to evaluate the ecotoxicological impacts of the agricultural fungicide Copper Oxychloride on the growth of the macrophyte *Lemna minor*. A completely randomized design (CRD) experiment was carried out with six treatments, including five concentrations of the fungicide and a control, conducting two separate trials. The variables analyzed were the number of plants, the number of fronds, the fresh weight and the dry weight. The data were subjected to analysis of variance and then to the comparison of means (Tukey's test) using the R software. The results revealed significant effects in both the first and second trials, although in the first trial no significant effect was observed on the variable number of fronds. It was concluded that the minimum concentration capable of causing toxicological effects is  $2 \text{ g L}^{-1}$  and that the fungicide copper oxychloride has an inhibitory effect on the growth of *Lemna minor*.

**Keywords:** aquatic toxicity, plant protection, ecological impacts

## Lista de abreviaturas

PF- Produto fitofarmacêutico

L.minor – Lemna minor

NF- Número de frondes

NP- Número de plantas

PS – Peso seco

PF- Peso fresco

ANOVA- Análise de Variância

ESNEC- Escola Superior de Negócios e Empreendedorismo Chibuto

DIC – Delineamento inteiramente casualizado

TRAT- Tratamento

Rep- Réplica

CTR- Controle

H0 -Hipótese Nula

H1- Hipótese Alternativa

QPP – Quantidade padrão do pesticida

QPA – Quantidade padrão de água

UEM – Universidade Eduardo Mondlane

$\text{g L}^{-1}$  – Grama por litro

CL50- Concentração letal média

CE50 – Concentração efectiva média

<b>Lista de tabelas .....</b>	<b>Pag</b>
Tabela 1Concentrações do fungicida por cada tratamento .....	8
Tabela 2: Concentrações do fungicida por cada tratamento .....	9
Tabela 3: Comparação de medias dos tratamentos do primeiro ensaio. ....	11
Tabela 4: comparação de medias dos tratamentos no segundo ensaio. ....	12

## ÍNDICE

Conteúdo.....	pag
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.3. Objectivos.....	3
Objectivo geral .....	3
1.4. Justificativa.....	3
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1. Ecotoxicologia.....	5
2.1.1. Testes ecotoxicológicos.....	5
2.1.2. Classificação dos testes toxicológicos .....	5
2.1.3. Teste de toxicidade aguda.....	5
2.1.4 Teste de toxicidade crônica .....	6
2.1.5. Oxicloreto de Cobre .....	6
2.1.6. <i>Lemna minor</i> .....	6
3. MATERIAL E METODOS .....	8
3.1. Descrição do local onde foi conduzindo o ensaio .....	8
3.2. Colecta da espécie <i>Lemna minor</i> .....	8
3.3. Delineamento, instalação e condução experimental .....	8
3.4. Preparo da calda .....	9
3.5. Variáveis do estudo .....	10
3.6. Análise de dados.....	10

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	11
4.1. Número de planta .....	11
4.2. Número de frondes .....	12
4.3. Peso fresco.....	13
4.4. Peso seco .....	13
5. CONCLUSÃO .....	15
6. SUGESTÕES .....	16
7. REFERÊNCIAS.....	17
8. Apêndices.....	19

## 1. INTRODUÇÃO

Os produtos fitofarmacêuticos são substâncias utilizados para o controle de pragas e doenças agrícolas, a utilização destes tem-se tornado essencial para o aumento da cadeia produtiva agrícola e a redução dos danos econômicos consequente da infestação de pragas. Estes produtos para além de garantir a protecção das culturas agrícolas podem constituir um risco a saúde humana e ao meio ambiente. O uso frequente e de forma inadequada constitui um risco para o ecossistema aquático e terrestre, alimentos, apresentando impactos negativos aos organismos presentes no meio ambiente (PINHEIRO, 2001; SPADOTTO, 2004)

Verificando-se os efeitos das substâncias sobre os organismos aquáticos assim como terrestres, actualmente são feitos estudos de monitoramento dos produtos tóxicos, com o objectivo de caracterizar a gestão de riscos ambientais decorrente da utilização dos mesmos, através dos ensaios ecotoxicológicos (SPADOTTO,2004). Ecotoxicologia é a ciência que se dedica ao estudo dos impactos adversos de substâncias químicas e orgânicas no ecossistema aquática e terrestre, estes estudos são capazes de responder de forma premeditativa a toxicidade das substâncias contaminantes, indicando os potenciais ecotoxicológicos e mecanismos de acção perante os organismos vivos, através da obtenção das curvas de concentração resposta, da identificação da ecotoxicidade e organismos contaminados (ALMEIDA, 2018).

O estudo dos impactos prejudiciais dos pesticidas e outras substancias tóxicas no ambiente vem acompanhado por toxicologia, com o objectivo de estudar a contaminação em relação as doses aplicadas, por isso a ecotoxicologia é uma ferramenta de monitoramento ambiental que auxilia a descoberta de acção dos produtos tóxicos em organismos presentes no ambiente, para tal são feitos testes ou ensaios de toxicidade aguda e crónicos, cujos testes fornecem informações sobre a letalidade relativa de uma substância química, sendo delineado para determinar a concentração (SOUZA, 2021; ARAUJO, 2022).

Para a realização destes testes ecotoxicológicos é fundamental a existência de organismos bioindicadores de diferentes níveis tróficos. Os organismos a serem utilizados nos ensaios devem ser de vasta disponibilidade, fácil maneo, fácil de reprodução, curto período de reprodução e de tamanho que permite efectuar leitura dos resultados (BORGES, 2012). A macrófita *Lemna minor* é uma espécie representativa de corpos de água lânticos, com rápido crescimento e é utilizada no monitoramento dos metais em recursos hídricos, e de outros tipos de poluentes. Possui características favoráveis para seu uso em testes ecotoxicológicos por ser pequeno tamanho, estrutura simples e rápido crescimento e propagação vegetativa (PROENÇA et al., 2012).

### 1.1. Problema da pesquisa

O uso intensivo e a aplicação inadequada dos produtos fitofarmacêuticos na agricultura para o combate de pragas e doenças aumentam os níveis de contaminação ambiental, estes produtos quando são aplicados em diversas práticas atingem o ambiente aquático, poluindo o mesmo e contaminando os habitats aquáticos. A contaminação do ecossistema aquático por produtos fitofarmacêuticos é ocasionada por escoamento, lixiviação, decomposição química das embalagens, práticas inadequadas como a aplicação de altas doses, aplicações próximas ao ambiente aquático. Esta contaminação pode resultar grandes impactos nos organismos que estão inseridos no mesmo ecossistema. Esses impactos podem ser agudos (aqueles que os impactos são observados a curto prazo) e crónicos (aqueles que são observados a longo prazo) (ABE, 2012).

Os fungicidas agrícolas para os vegetais como a *Lemna minor* têm os seguintes impactos: alterações no DNA, lesões no DNA, pois estes por serem tóxicos são nocivas as células do DNA, impactos citotóxicos que causam danos ao nível da célula, morte da célula, alteração na permeabilidade da membrana e a inibição da actividade enzimática na planta (SANTOS, 2020).

Oxicloreto de cobre é um fungicida de contacto pertencente ao grupo químico do cobre, actua inibindo o crescimento de fungos por meio da alteração na membrana celular de seus esporos, desnaturando suas proteínas. Sua acção é principalmente preventiva. No entanto o uso de altas concentrações desse produto em campos agrícolas resulta em contaminação de organismos aquáticos não-alvo, inibindo seu crescimento, causando danos as células, alterações fisiológicas e morte. Diante deste problema, a presente pesquisa procura responder a seguinte questão: ***Qual é impacto ecotoxicológico do fungicida agrícola Oxicloreto de Cobre no crescimento macrófita Lemna minor?***

### 1.2.Hipóteses

**H0:** O fungicida agrícola oxicloreto de cobre não afecta o crescimento da macrófita *Lemna minor* e a sua aplicação na protecção das culturas agrícolas não constitui risco ambiental.

**H1:** O fungicida agrícola Oxicloreto de Cobre afecta o crescimento da macrófita *Lemna minor* e a sua aplicação na protecção das culturas agrícolas constitui um risco ambiental.

### 1.3. Objectivos

#### Objectivo geral

- Avaliar o impacto ecotoxicológico do fungicida agrícola oxiclureto cobre no crescimento da macrófita *Lemna minor*.

#### Objectivos específicos

- Descrever o efeito do fungicida Oxiclureto de cobre na espécie *Lemna minor*;
- Identificar a concentração mínima que causa efeito toxicológica na espécie *Lemna minor* após a exposição ao fungicida;
- Descrever o processo de actuação do fungicida agrícola oxiclureto de cobre na espécie *Lemna minor*.

### 1.4. Justificativa

A *Lemna minor* é uma macrófita que se encontra distribuída em todo mundo, excepto no ártico e antártico, ela é um ser autotrófico com a reprodução assexuada, fácil de colecta pois pode ser coletada em todas condições ambientais, fácil de cultivo, multiplicação com o tempo de duplicação de dois dias ou menos, possui o crescimento exponencial e maior adaptação em climas diversificadas, tolerante a estresse de adaptação (GODOY, 2014).

Esta espécie também conhecida como lentilha de água doce, possui uma grande importância devido a inúmeras aplicações e práticas como a utilização da biomassa (folhas) na indústria para produção de etanol e ração para alimentação animal porque apresenta altos teores de proteínas essenciais aos animais (ALMEIDA, 2018).

No ecossistema aquático desempenha um papel fundamental, pois, é tida como fonte de carbono para biosfera, remove metais pesados prejudiciais aos organismos aquáticos e actua na ciclagem de nutrientes benéficos aos outros organismos. Na agricultura é utilizado como biofertilizante em substituição de fertilizantes inorgânicos, e na área científica é frequentemente utilizado nos ensaios ecotoxicológicos e de fisiologia vegetal por ser um bioindicador sensível aos produtos fitofarmacêuticos e outros contaminantes emergentes, é também estudado em tratamento de efluentes sobretudo de água residuais e no estudo de melhoria de qualidade de água (Souza, 2021). Assim se justifica a escolha desse bioindicador para avaliar os impactos ecotoxicológicos do fungicida agrícola oxiclureto de Cobre (ALMEIDA, 2018).

Das sondagens exploratórias feitas nas casas agrárias, nas associações dos produtores do Regadio do Baixo Limpopo, antes de início desta pesquisa, foi possível compreender que o oxiclreto de Cobre é um dos produtos usados no processo de produção, o que favoreceu a escolha deste produto para pesquisa. Durante a aplicação dos pesticidas em geral, há uma certa quantidade que se deposita no solo contaminando a biota do solo, e também pode ser arrastada pela água da chuva ou de rega até aos canais e contamina os organismos aquáticos, esta é a grande razão desta pesquisa.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Ecotoxicologia**

A ecotoxicologia é definida como a ciência que estuda os impactos das substâncias naturais ou sintéticas sobre os organismos vivos, populações e comunidades terrestres ou aquáticas que integram a biosfera incluindo também a interação das substâncias com o meio nos quais os organismos habitam (ABE, 2012).

A ecotoxicologia aquática é o ramo que estuda os efeitos tóxicos de substâncias orgânicos e químicos sobre organismos aquáticos e sua interação com ecossistema. Onde os dados obtidos nos ensaios são bases para o estabelecimento de quantidades limites seguros dos produtos fito farmacêuticos no ecossistema e para avaliação de risco ambiental (ABE, 2012).

#### **2.1.1. Testes ecotoxicológicos**

Os testes ecotoxicológicos fornecem dados importantes para apurar técnicas que reduzem riscos potenciais de substâncias tóxicas, avaliam os efeitos sinérgicos, antagônicos e aditivos de todos os componentes químicos, físicos e biológicos que podem afectar adversamente as funções biológicas dos organismos aquáticos (ALMEIDA, 2018).

#### **2.1.2. Classificação dos testes toxicológicos**

A escolha de tipo de ensaio toxicológicos depende dos objectivos a ser estudados ou avaliados, recursos disponíveis, requisitos do organismo teste, das características do produto fitofarmacêutico e requisitos impostos pelas organizações responsáveis pela protecção ambiental como Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), Association of Analytical Communities (AOAC) e International Organization for Standardization (ISO). Os testes ecotoxicológicos são classificados em teste toxicidade aguda e teste de toxicidade crônica (ALMEIDA, 2018).

#### **2.1.3. Teste de toxicidade aguda**

O teste de toxicidade aguda consiste na exposição de organismo-teste em várias concentrações por um curto período de tempo em relação ao ciclo de vida do organismo-teste, este tem objectivo principal determinar concentração ou dose de uma substância ou composto capaz de produzir a morte, nesses testes são comumente observados outras respostas não letais como a inibição de crescimento e imobilização dependendo do organismo teste e são realizados no curto período de 24 a 96 horas,

podendo ser mais extenso dependendo do ciclo de vida do organismo a ser testado (ALMEIDA, 2018).

#### **2.1.4 Teste de toxicidade crônica**

Os testes de toxicidade crônica consistem na exposição do organismo-teste a várias concentrações da solução-teste por um período de ensaio, por norma superior a 96 horas que pode compreender a parte ou a totalidade do ciclo de vida do organismo-teste. Estes testes permitem avaliar os possíveis efeitos de toxicidade sobre os organismos-teste quando expostos por um intervalo de tempo prolongado, as concentrações tóxicas que permitem a sobrevivência dos organismos, mas afectam as suas funções fisiológicas e biológicas, como a reprodução, crescimento, maturação, entre outras. Os testes de toxicidade crônicos dependem directamente dos resultados dos testes de toxicidade aguda, pois as concentrações-teste não letais são calculadas a partir da CL50 (concentração letal média), como a CE50 (concentração efectiva média). No ecossistema aquático, os efeitos de toxicidade crônicas são mais frequentes, isto devido à diluição pontual de xenobiótico, compostos que não fazem parte da composição bioquímica de um organismo, no meio aquático; aos fenómenos antagónicos e sinérgicos e à associação dos poluentes orgânicos aos sedimentos (ALMEIDA,2018).

#### **2.1.5. Oxiclóreto de Cobre**

Oxiclóreto de cobre é um fungicida inorgânico, amplamente utilizado na agricultura para controlar as doenças fúngicas e bacterianas em culturas diversificadas como hortícolas, café, citrinos e plantas ornamentais. Ele age formando uma barreira protectora na superfície da planta, impedindo assim a infecção e germinação de esporos dos fungos. Quanto ao modo de acção é um fungicida de contacto, mecanismo acção inibe os processos enzimáticos e de germinação de esporos e bactérias, causando a morte do patógeno, pode ser aplicado por via pulverização foliar. Este fungicida constitui uma vasta eficácia a diversas doenças e devido ao seu modo é de baixo risco para a resistência do patógeno (Apêndice 13). (SYGENTA, 2022)

#### **2.1.6. *Lemna minor***

A macrófita *Lemna minor* é uma planta aquática da família lemnáceas do grupo das angiospérmicas aquáticas vasculares, ela amplamente distribuída em ecossistemas aquáticas, em águas paradas e em ligeiro movimento, é encontrada em todas intensidades de luz, e as temperaturas de 20 a 30° são favoráveis para o crescimento e reprodução desta (DE ARAUJO, 2021). Esta

macrófita apresenta uma estrutura muito diminuta com cerca de 2 a 4 mm de diâmetro, folhas ovais e uma raiz, esta planta agrega duas ou mais frondes em uma colônia, com crescimento extremamente rápido, com o tempo de duplicação de 1,3 a 2,8 dias. A reprodução da macrófita é vegetativa sendo que a produção das novas frondes (folhas) ocorre a partir da extremidade de uma folha próxima ao ponto de crescimento da raiz (apêndice 14) (GODOY, 2014).

Esta espécie é uma das plantas vasculares bastante utilizadas em ensaios ecotoxicológicos devido ao seu pequeno tamanho, rápido crescimento e sua estrutura simples, o seu tamanho diminuto da planta que é de fácil cultivo em condições facilita a experimentação em condições cujo espaço é limitado, porém permite observações macroscópicas, ainda a sua utilização é consideravelmente menor do que o uso de algas para tal finalidade (MARTINS, 2013).

As macrófitas são importantes no funcionamento do ecossistema aquático doce, pois estas fornecem habitat, abrigo, alimento e diversos para animais, além de ser importante na remoção de contaminantes de efluentes com fins de fito remediação e ciclagem de nutrientes, actuam no controle da erosão, as mesmas desempenham um papel fundamental na protecção de outros organismos aquáticos da intensidade da luz, temperatura, e oxigênio dissolvido na coluna de água de ambientes (MEDEIROS, 2008; ALMEIDA 2018).

### 3. MATERIAL E METODOS

#### 3.1. Descrição do local onde foi conduzindo o ensaio

O experimento foi realizado no distrito de Chibuto, concretamente no laboratório de solos da Escola Superior de Negócios e Empreendedorismo de Chibuto (ESNEC), no período de 26 de outubro a 14 de novembro.

#### 3.2. Colecta da espécie *Lemna minor*

A colecta da espécie foi feita na nascente de água doce localizada no distrito de Chongoene, onde foram colectadas plantas que não apresentavam lesões e estresse de contaminação, com 3 ou mais frondes (folhas), com auxílio de peneira fina de 1mm de diâmetro nos furos, após a colecta, foram mantidas em condições adequadas (luz e temperatura de 24° C), posteriormente levadas ao laboratório para a realização do experimento.

#### 3.3. Delineamento, instalação e condução experimental

Foram realizados dois ensaios, cada ensaio teve a duração de 7 dias. O primeiro teve início no dia 26 de outubro de 2023 e terminou no dia 2 de novembro de 2023, onde as concentrações de fungicida foram definidas com base nas quantidades descritas no rótulo (Tabela 1). O segundo ensaio teve início no dia 7 de novembro de 2023 e o seu termino no dia 14 de novembro 2023. Neste segundo ensaio, o tratamento 5 do primeiro ensaio (5g L<sup>-1</sup>) passou a ser o primeiro tratamento, enquanto os restantes tiveram um aumento de 100g(quantidade geralmente acrescentada por produtores, usando a tampa do recipiente) nas concentrações do fungicida de tratamento para tratamento com objectivo de apurar a concentração que causa a morte (Tabela 2).

**Tabela 1:Concentrações do fungicida por cada tratamento no ensaio-1**

Tratamentos Réplicas	CTR	TRAT1	TRAT2	TRAT3	TRAT 4	TRAT5
Rép 1	0	2g L <sup>-1</sup>	2.5g L <sup>-1</sup>	3g L <sup>-1</sup>	4g L <sup>-1</sup>	5g L <sup>-1</sup>
Rép 2	0	2g L <sup>-1</sup>	2.5g L <sup>-1</sup>	3g L <sup>-1</sup>	4g L <sup>-1</sup>	5g L <sup>-1</sup>
Répl 3	0	2g L <sup>-1</sup>	2.5g L <sup>-1</sup>	3g L <sup>-1</sup>	4g L <sup>-1</sup>	5g L <sup>-1</sup>
Répl 4	0	2g L <sup>-1</sup>	2.5g L <sup>-1</sup>	3g L <sup>-1</sup>	4g L <sup>-1</sup>	5g L <sup>-1</sup>

CTR- controle, TRAT- tratamento e Rep – réplica.

**Tabela 2: Concentrações do fungicida por cada tratamento no ensaio-2**

Tratamentos Réplicas	CTR	TRAT1	TRAT2	TRAT3	TRAT 4	TRTA5
Rép 1	0	5g L <sup>-1</sup>	6g L <sup>-1</sup>	7g L <sup>-1</sup>	8g L <sup>-1</sup>	9g L <sup>-1</sup>
Rép 2	0	5g L <sup>-1</sup>	6g L <sup>-1</sup>	7g L <sup>-1</sup>	8g L <sup>-1</sup>	9g L <sup>-1</sup>
Rép 3	0	5g L <sup>-1</sup>	6g L <sup>-1</sup>	7g L <sup>-1</sup>	8g L <sup>-1</sup>	9g L <sup>-1</sup>
Rép 4	0	5g L <sup>-1</sup>	6g L <sup>-1</sup>	7g L <sup>-1</sup>	8g L <sup>-1</sup>	9g L <sup>-1</sup>

CTR- controle, TRAT- tratamento e Rep – réplica

O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente causalizado (DIC), constituído por 6 tratamentos incluindo o controle, com 4 repetições, totalizando 24 unidades experimentais (Apêndice1). Para a instalação do ensaio foram obedecidos os princípios básicos da experimentação nomeadamente a casualização, controle local, e repetição. As unidades experimentais foram constituídas por tigelas circulares, transparentes, com 600 ml de volume, onde colocadas 400 ml de água em cada unidade e 9 plantas que apresentava 3 folhas (Apêndice 9).

### 3.4. Preparo da calda

Para apurar a quantidade do fungicida a ser aplicadas em cada tratamento foram efectuados os cálculos de calibração de acordo com a seguinte equação:

$$Calda = \frac{Q_{pp} \cdot QA}{Q_{pA}}$$

#### Onde:

Calda – quantidade do fungicida dissolvida em água (L<sup>-1</sup> ) ;

Opp. – quantidade padrão do pesticida;(g)

QA quantidade de água a ser aplicada nas unidades experimentais; (ml)

QPA – quantidade padrão de água (ml).

O ensaio obedeceu à norma de protocolo OECD (2006), onde foram colocadas 9 colônias semelhantes entre si da espécie *Lemna minor*, com no mínimo 3 frondes em cada colónia, coberto

por um papel aderente com furos pequenos em sua superfície de modo a permitir a trocas gasosas entre o meio e as colônias, os tratamentos foram colocados de forma aleatória a temperatura ambiente do laboratório, com luz (florescente) constante num período 7 dias.

No sétimo dia realizou-se contabilização das plantas e número de frondes presentes em cada unidade experimental, a medição de peso fresco das colônias e por fim foram recolhidas as plantas, embrulhadas no papel alumínio e colocada na estufa de secagem com 60 graus celsius de temperatura do meio durante 24 horas para posteriormente fazer-se a determinação do peso seco de frondes de cada unidade experimental.

### **3.5. Variáveis do estudo**

Após 7 dias do ensaio foram avaliadas as seguintes variáveis: a reprodução da *Lemna minor* onde foi feita a contabilização das plantas existentes em cada unidade experimental, número de frondes que ocorreu a contabilização das frondes geradas durante o ensaio em cada unidade experimental, e o peso das colônias deu-se com a determinação do peso fresco e seco após exposição.

### **3.6. Análise de dados**

As análises estatísticas das variáveis estudadas foram realizadas com recurso ao software R com base no pacote ExpDes. Pt, onde os dados foram submetidos a análise de variância – ANOVA. Detectada significância foi realizada a comparação de médias dos tratamentos através do teste de *Tukey* ( $p=0,05$ ).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No primeiro ensaio, os resultados de ANOVA demonstram que houve diferença entre os tratamentos em relação as variáveis: número de plantas (NP), peso fresco (PF) e peso seco (PS), porém não houve diferença significativa em relação a variável número de frondes (NF). No segundo ensaio houve diferença significativa entre os tratamentos em relação a variável número de plantas (NP), número de frondes (NF) e peso fresco (PF).

### 4.1. Número de planta

No primeiro ensaio o efeito de toxicidade foi significativo ( $p < 0,05$ ) sobre a variável NP. O teste *Tukey* revela que todos os tratamentos apresentaram diferenças estatisticamente significativas quando comparados com controlo, o que significa que o fungicida é tóxico para espécies não alvos em doses geralmente usadas para a protecção de plantas agrícolas, assim a aplicação do oxiclreto de cobre constitui risco para espécies de água doce conforme o bioindicador da qualidade. Esses resultados demonstram que a exposição da espécie *Lemna minor* ao fungicida oxiclreto de cobre causa efeito inibidor no crescimento da espécie e consequentemente na multiplicação da mesma (Tabela 3).

**Tabela 3: comparação de médias dos tratamentos do primeiro ensaio.**

Tratamentos	NP	PF	PS
0	11,50 a	0,40 a	0,046 a
200	6,50b	0,30b	0,043b
250	5,50b	0,26c	0,042c
300	5,00b	0,24d	0,042c
400	4,25b	0,22e	0,042c
500	2,00b	0,18f	0,035d

Tratamentos, NP- número de plantas, PF- peso fresco e PS- peso seco.

Quando a mesma espécie é submetida às concentrações altas, o ensaio demonstra que houve efeito significativo de toxicidade de fungicida oxiclreto de cobre, em relação a variável NP. Feito o teste de *Tukey* (Tabela 4) constatou-se que as médias dos tratamentos têm uma diferença significativa com o controlo, porém os tratamentos constituídos por concentrações de 5, 6, 7, 8 e 9 g L<sup>-1</sup> não apresentaram diferenças significativas entre si. Esses resultados do segundo ensaio vão de acordo com os encontrados no primeiro ensaio. Timossi et al., (2013) constatou resultados semelhantes quando utilizou *Lemna minor* e peixe guaru como bioindicadores na ecotoxicologia. Zandrea et al.,

(2023) também obtiveram resultados semelhantes quando avaliaram efeito do Manganês na morfologia da *Lemna minor*. Para Zago (2021), a presença de contaminantes emergentes nos corpos hídricos representa um grande problema para a reprodução e desenvolvimento dos organismos, afectando a produtividade primária dos ecossistemas aquáticos.

#### 4.2. Número de frondes

No ensaio preliminar, onde a espécie *Lemna minor* foi submetida a concentrações de fungicida que são aplicadas nas culturas, os resultados de ANOVA (Apêndice 3) demonstram que não houve efeito significativo dos tratamentos, em relação a variável número de frondes. Mesmo não havendo diferença significativa, observou-se que o tratamento 5 apresentou a menor média em relação aos demais tratamentos.

Estes resultados colaboram com os obtidos pela autora Souza (2008), nos testes de toxicidade aguda onde o insecticida DFB não foi tóxico para a macrófita *L. minor*. Esse resultado, como esperado, possivelmente ocorreu devido ao mecanismo de ação tóxica do insecticida, que inibe o crescimento em organismos que apresentam componentes quitinosos nos tecidos corporais. Como a planta não apresenta esse componente de quitina, o produto provavelmente não interferiu de forma relevante na fisiologia do vegetal.

Por outro lado, no segundo ensaio com as concentrações agravadas, a análise de variância revelou um efeito significativo entre os tratamentos, observa-se que apenas o tratamento controlo apresentou diferenças significativas em relação aos demais tratamentos (Apêndice 4). Porém, verifica-se que tanto no controlo e quanto no tratameto1 houve reprodução na variável, no tratamento 3 o número de frondes permaneceu constante, e nos demais houve redução ou morte das folhas, e observa-se que à medida que as concentrações do fungicida aumentam, a tendência da variável é de reduzir (Tabela 4).

**Tabela 4: comparação de médias dos tratamentos no segundo ensaio.**

Tratamentos	NP	NF	PF
0	10,50 a	33,25 a	0,57 a
500	3,25b	9,50b	0,09b
600	3,00b	8,50b	0,08b
700	2,50b	7,75b	0,03b
800	2,50b	7,25b	0,02b
900	2,00b	4,25b	0,02b

Tratamentos, NP- Número de plantas, NF- número de frondes, PF- peso fresco

Os resultados obtidos no segundo ensaio desse estudo colaboram com os obtidos pelos autores (SAMSON, 2014; XAVIER et al., 2013), que constataram que as concentrações de fungicida mancozeb testadas inibiram igualmente e significativamente no número de frondes ( $F= 637,69$ ; df. 17, 6; p.). As diferenças significativas em relação ao controle foram registadas a partir da concentração mais baixa testada. Contudo, a percentagem de inibição de crescimento não chegou a atingir cerca dos 60%, na concentração mais alta testada. Abe (2012), também constatou resultados semelhantes avaliando Ecotoxicologia e risco ambiental dos insecticidas utilizados no controlo da larva de *Aedes aegypti* para *Daphnia magna*, *Lemna minor* e peixe.

### 4.3. Peso fresco

Em relação ao PF no primeiro ensaio, a análise de variância demonstra que houve o efeito significativo dos tratamentos, o teste *Tukey* (Tabela 3), no teste *Tukey* verifica-se que os tratamentos apresentam uma diferença significativa em relação ao controle, por sua vez os tratamentos são diferentes entre si e tendo o tratamento 200 (TRAT-200) apresentado maior média em relação aos outros, e pode se constatar que a medida em que vai se aumentando as concentrações de fungicida a média do peso fresco tende-se a baixar (apêndice 4).

No segundo ensaio, verificou-se diferenças significativas entre os tratamentos. De acordo com o teste *Tukey* (tabela 4), o tratamento controle, apresentou maior média em relação aos demais tratamentos, facto este demonstra o que a exposição da espécie *Lemna minor* a altas concentrações do fungicida oxiclóreto de cobre causa um efeito letal. Resultados semelhantes foram encontrados por Pereira et.al., (2021) quando estudou o efeito da nanoprata no crescimento e teor de clorofila da macrófita *Lemna minor*.

### 4.4. Peso seco

No primeiro ensaio, de acordo com o teste *Tukey* (Tabela 3) os tratamentos apresentaram uma diferença significativa em relação ao controle, por sua vez os tratamentos apresentaram diferenças significativas entre eles, tendo o tratamento de  $2\text{ g L}^{-1}$  apresentado maior peso seco em relação aos demais tratamentos, os tratamentos com as concentrações  $2.5\text{ g L}^{-1}$ ,  $3\text{ g L}^{-1}$  e  $4\text{ g L}^{-1}$  não apresentaram diferenças estatísticas entre eles, vindo a apresentar diferença com o tratamento com a concentração de  $5\text{ g L}^{-1}$ , sendo esse o que apresentou menor peso seco da espécie *Lemna minor*. Com este resultado notou-se que o efeito do fungicida oxiclóreto de cobre influencia na redução do peso

da espécie, pois á medida em que se aumenta as concentrações de fungicida observa-se que o peso seco tende a baixar.

Os resultados obtidos no estudo vão de acordo com os resultados obtidos no estudo feito pela autora Souza (2008), onde a macrófita *L. minor* foi empregue para avaliar o potencial tóxico de produtos químicos usados na agricultura, onde o herbicida propanil utilizado em produção de arroz, foi testado durante 24 dias de exposição. Verificou-se que o crescimento da *Lemna minor* foi significativamente reduzido e que o herbicida prejudica o estabelecimento das plantas no ambiente aquático.

No segundo ensaio os dados do peso seco não foram identificados porque as amostras retiradas da estufa de secagem eram ínfimas para a determinação do mesmo e, efetuou-se a junção de todos os pesos e obteve-se o peso total de 0,06g (Apêndice12).

## 5. CONCLUSÃO

No que concerne ao impacto ecotoxicológico do fungicida agrícola oxiclóreto de cobre no crescimento da macrófita *Lemna minor* conclui-se que: as concentrações previstas no rótulo do fungicida oxiclóreto de cobre para prevenção/controlo de doenças fúngicas causam efeitos negativos a *Lemna minor*, e esta espécie por ser um bioindicador aquático revela que o produto constitui risco ambiental por ter um efeito colateral ao grupo não alvo. A concentração mínima que causa efeitos toxicológicos durante o processo de aplicação do fungicida foi de 2 g L<sup>-1</sup>; O processo de actuação do fungicida oxiclóreto de cobre foi caracterizado pelo stress e inibição do crescimento da macrófita *Lemna minor* que culminou com efeito sub-letal e letal.

## 6. SUGESTÕES

Sugere-se:

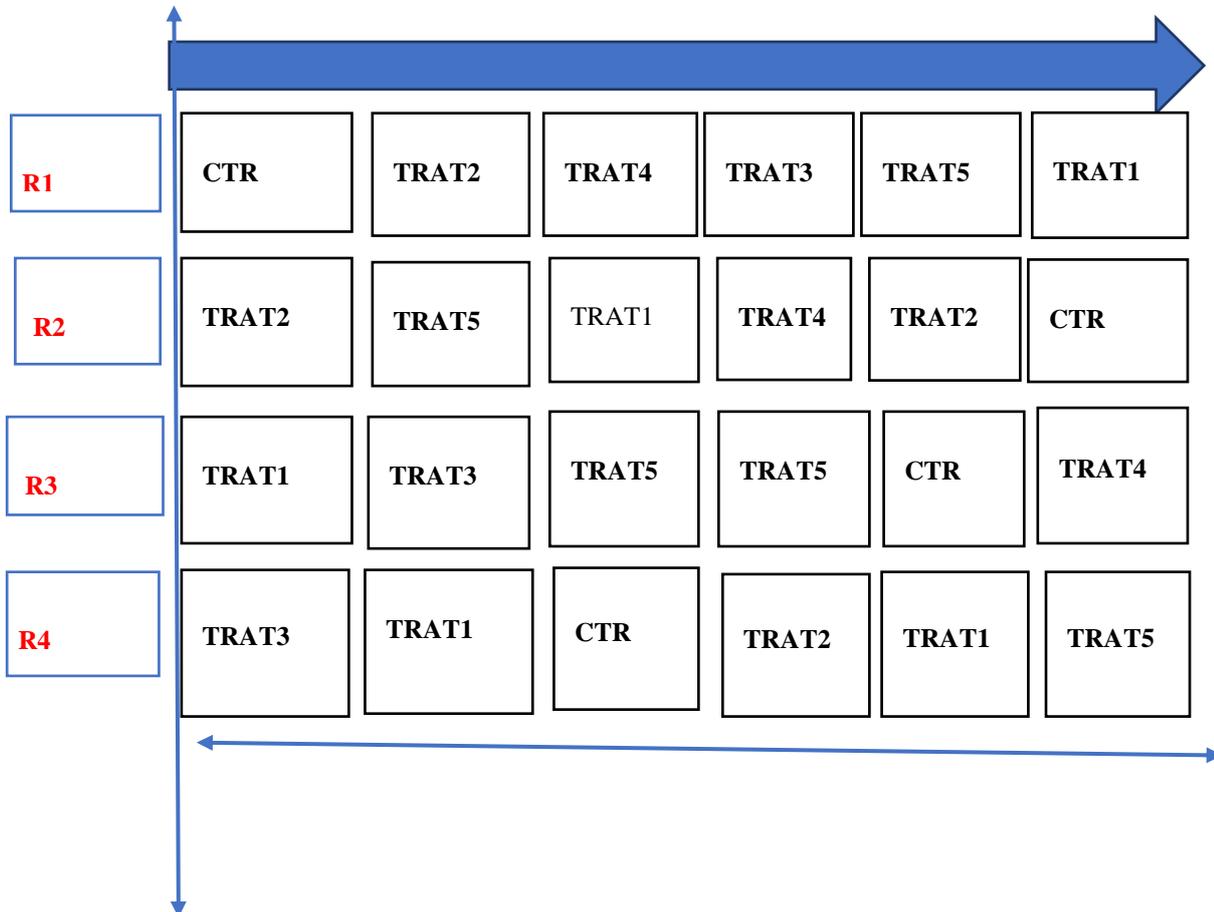
- ✓ A realização de pesquisas da mesma natureza, com outros bioindicadores e com outros produtos fitofarmacêuticos. Como forma de se buscar entender os impactos no ambiente, estratégias de mitigação e redução dos efeitos tóxicos dos produtos fitofarmacêuticos.
- ✓ Os produtores devem ler atentamente as informações descritas no rótulo sobre os riscos ambientais e o nível de toxicidade do produto, assim como devem aplicar as quantidades recomendadas.

## 7. REFERÊNCIAS

- Abe, F. R. (2012). Avaliação Ecotoxicológica e Risco Ambiental dos Inseticidas Utilizados no Controle da Larva de *Aedes aegypti* para *Daphnia magna*, *Lemna minor* e peixes.
- Almeida, A. C. R. D. (2018). *Avaliação do potencial de Lemna Minor L. como bioindicador de toxicidade em águas residuais* (Doctoral dissertation).
- Américo-Pinheiro, J. H. P., & Mercado, L. S. (2021). Agrotóxicos, recursos hídricos e organismos bioindicadores.
- Araújo, J. S. (2022). Contaminante emergente: investigação da atenuação no crescimento da macrófita aquática (*Ricciocarpus natans*) exposta ao surfactante.
- Borges, C. (2012). Avaliação da toxicidade do efluente do lavador de gases de olaria, utilizando os bioindicadores: *Lactuca sativa*, *Allium cepa* L. *Artemia* sp. E *Eisenia foetida*.
- de Araujo, S., & Borges, A. R. (2024). Fitorremediação de efluentes industriais utilizando *Lemna minor*.
- GODOY, A. A. (2014). Avaliação ecotoxicológica dos fármacos cloridrato de propranolol e losartana potássica, em ação individual e combinada, na macrófita *lemna minor* L.(1753).
- Medeiros, L. D. S. (2008). Toxicidade aguda e risco ambiental do inseticida teflubenzuron para *Daphnia magna*, *Lemna minor* e *Poecilia reticulata*.
- Proença, M. A., de Oliveira, L. L. D., & Rocha, O. (2012). Efeito tóxico do cobre sobre o crescimento da macrófita aquática *Lemna minor*. *Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista*, 8(12).
- Samussone, M. (2014). Pesticida Mancozeb®: Determinação de Limites de Risco para Ecossistemas de Água Doce.
- Souza, G. C. A. D. (2021). Padronização do teste de toxicidade com lentilhas d'água (*Lemna minor*) em solução hidropônica e sua aplicação na avaliação de um córrego urbano.

- SPADOTTO, C. A., GOMES, M. A. F., LUCHINI, L. C., & De Andréa, M. M. (2004).  
Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações.
- sygenta. (s.d.). RIDOMIL GOLD MZ.
- XAVIER, B. D. S., MENDES, M., VALLIM, J., de CASTRO, V. L. S. S., & JONSSON, C. (2023).  
Fitotoxicidade do herbicida atrazina encapsulada em nanopartículas de zeína e o risco  
ecotoxicológico para a biota aquática. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE  
INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 17., 2023, Campinas. Anais [...]. Campinas: Embrapa Territorial,  
2023. CIIC 2023. Resumo 23403.
- ZAGO, C. F. S. (2021). Ação de um fungicida cúprico no crescimento de uma macrófita aquática  
flutuante.
- Zanandrea, I., Coutinho, B.A., Farias, S. E.P., Silva, S. K & Ferreira, C. C. S.(2023) Efeito do  
Manganês na Morfologias da *lemna Minor* L. (Araceae).

# 8. Apêndices

**Apêndice1:** Layout do ensaio

**TRAT1-** tratamento 1, **TRAT2-** tratamento2, **TRAT3-** tratamento 3, **TRAT4-** tratamento 4, **TRAT5-** tratamento 5, **CTR-** controle, **R-** réplica.

**Apendice2:** Análise de variância do **NP** e teste Tukey do primeiro ensaio.

dic(tra,resultad, quali = TRUE, mcomp = "tukey", nl = FALSE, hvar = "bartlett", sigT = 0.05,sigF = 0.05, un  
fold = NULL )

-----  
Quadro da análise de variância  
-----

	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	5	154.88	30.9750	8.7459	0.00023826
Resíduo	18	63.75	3.5417		
Total	23	218.62			

-----  
CV = 30.73 %  
-----

## Teste de normalidade dos resíduos (Shapiro-Wilk )

Valor-p: 0.2505429

De acordo com o teste de Shapiro-Wilk a 5% de significância, os resíduos podem ser considerados normais.  
-----

## Teste de homogeneidade de variância

valor-p: 0.7545115

De acordo com o teste de bartlett a 5% de significância, as variâncias podem ser consideradas homogêneas.  
-----Teste de Tukey  
-----

## Grupos Tratamentos Medias

a	6	11.5
b	2	6.5
b	1	5.5
b	4	5
b	3	4.25
b	5	4

-----

**Apêndice 3:** análise de variância de **NF** e teste de Tukey do primeiro ensaio.

```
> dic(trata,respos, quali = TRUE, mcomp = "tukey", nl = FALSE, hvar = "bartlett", sigT = 0.05, sigF = 0.05, unfold = NULL)
```

-----  
 Quadro da análise de variancia  
 -----

	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	5	404.71	80.942	1.4294	0.2613
Residuo	18	1019.25	56.625		
Total	23	1423.96			

-----

CV = 22 %  
 -----

Teste de normalidade dos residuos ( Shapiro-Wilk )

Valor-p: 0.01300657

ATENCAO: a 5% de significancia, os residuos nao podem ser considerados normais!  
 -----

Teste de homogeneidade de variancia

valor-p: 0.08240745

De acordo com o teste de bartlett a 5% de significancia, as variancias podem ser consideradas homogeneas.  
 -----

De acordo com o teste F, as medias nao podem ser consideradas diferentes.  
 -----

Niveis Medias

1	1	26.25
2	2	37.25
3	3	34.00
4	4	35.50
5	5	33.00
6	6	39.25

-----

**Apêndice 4:** análise de variância do **PF** e teste Tukey do primeiro ensaio.

dic(tr,res, quali = TRUE, mcomp = "tukey", nl = FALSE, hvar = "bartlett",sigT = 0.05, sigF = 0.05, unfol  
d = NULL

-----  
Quadro da analise de variancia

-----  

	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	5	0.11733	0.023467	6.5682e+30	1.1011e-271
Residuo	18	0.00000	0.000000		
Total	23	0.11733			

-----  
CV = 0 %

-----  
Teste de normalidade dos residuos ( Shapiro-Wilk )

Valor-p: 1.041963e-06

ATENCAO: a 5% de significancia, os residuos nao podem ser considerados normais!

-----  
Teste de homogeneidade de variancia

valor-p: 0.3764229

De acordo com o teste de bartlett a 5% de significancia, as variancias podem ser consideradas homogeneas.

-----  
Teste de Tukey

-----  
Grupos Tratamentos Medias

a	6	0.4
b	1	0.3
c	2	0.26
d	3	0.24
e	4	0.22
f	5	0.18

-----

**Apêndice 5:** Análise de variância do **PS** e Teste Tukey do primeiro ensaio.

```
dic(tratame,answ,quali = TRUE, mcomp = "tukey",nl = FALSE, hvar = "bartlett", sigT = 0.05, sigF = 0.05,
unfold = NULL )
```

-----  
Quadro da análise de variancia  
-----

	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	5	0.00026133	5.2267e-05	7.1105e+29	5.3917e-263
Residuo	18	0.00000000	0.0000e+00		
Total	23	0.00026133			

-----  
CV = 0 %  
-----

Teste de normalidade dos resíduos ( Shapiro-Wilk )

Valor-p: 5.486461e-08

ATENCAO: a 5% de significância, os resíduos não podem ser considerados normais!  
-----

-----  
Teste de homogeneidade de variância

valor-p: 0.004063832

ATENCAO: a 5% de significância, as variâncias não podem ser consideradas homogêneas!  
-----

Teste de Tukey  
-----

Grupos Tratamentos Medias

a	6	0.046
b	3	0.043
c	1	0.042
c	2	0.042
c	4	0.042
d	5	0.035

-----

**Apêndice 6:** Análise de variância do **NP** e teste Tukey do segundo ensaio.

```
dic(tratment,resol, quali = TRUE, mcomp = "tukey", nl = FALSE, hvar = "bartlett",sigT = 0.05, sigF = 0.05, unfold = NULL)
```

-----  
 Quadro da análise de variancia  
 -----

	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	5	209.21	41.842	13.509	1.4557e-05
Residuo	18	55.75	3.097		
Total	23	264.96			

-----  
 CV = 44.46 %  
 -----

Teste de normalidade dos residuos ( Shapiro-Wilk )

Valor-p: 0.171254

De acordo com o teste de Shapiro-Wilk a 5% de significancia, os residuos podem ser considerados normais.

-----  
 -----

Teste de homogeneidade de variância

valor-p: 0.1253223

De acordo com o teste de bartlett a 5% de significancia, as variancias podem ser consideradas homogeneas.

-----  
 -----

Teste de Tukey

-----  
 -----

Grupos Tratamentos Medias

a	6	10.5
b	2	3.25
b	3	3
b	1	2.5
b	5	2.5
b	4	2

-----  
 -----

**Apêndice 7:** Análise de variância do **NF** e teste Tukey do segundo ensaio.

dic(tram,answers, quali = TRUE, mcomp = "tukey", nl = FALSE, hvar = "bartlett", sigT = 0.05, sigF = 0.05, unfold = NULL )

-----  
 Quadro da analise de variancia  
 -----

GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	5 2281.5	456.30	23.67	2.4852e-07
Residuo	18 347.0	19.28		
Total	23 2628.5			

-----  
 CV = 37.37 %  
 -----

Teste de normalidade dos residuos ( Shapiro-Wilk )

Valor-p: 0.009087658

ATENCAO: a 5% de significancia, os residuos nao podem ser considerados normais!  
 -----

Teste de homogeneidade de variancia

valor-p: 0.1719369

De acordo com o teste de bartlett a 5% de significancia, as variancias podem ser consideradas homogeneas.  
 -----

Teste de Tukey  
 -----

Grupos Tratamentos Medias

a	6	33.25
b	2	9.5
b	3	8.5
b	1	7.75
b	5	7.25
b	4	4.25

-----

**Apêndice 8:** Análise de variância do **PF** e teste Tukey segundo ensaio.

dic (ttrata,respostass,quali = TRUE, mcomp = "tukey", nl = FALSE, hvar = "bartlett", sigT = 0.05, sigF = 0.05, unfold = NULL)

-----  
Quadro da análise de variância

	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	5	0.92998	0.185997	14.594	8.5457e-06
Residuo	18	0.22940	0.012744		
Total	23	1.15938			

-----  
CV = 81.12 %-----  
Teste de normalidade dos resíduos ( Shapiro-Wilk )

Valor-p: 0.0001777224

ATENCAO: a 5% de significância, os resíduos não podem ser considerados normais!

-----  
Teste de homogeneidade de variância

Valor-p: 0.007841338

ATENCAO: a 5% de significância, as variâncias não podem ser consideradas homogêneas!

-----  
Teste de Tukey-----  
Grupos Tratamentos Medias

a	6	0.575
b	1	0.09
b	2	0.0875
b	4	0.0325
b	3	0.0275
b	5	0.0225

---



**Apendice 9:** Unidades experimentais



**Apendice 10 :** A calda



**Apendice 11:** fungicida oxicloreto de cobre



**Apendice 12:** peso seco da especie



**Apendice 13:** ensaio



**Apendice14:** macrofita *Lemna Minor*