

ELISA MARIA GOMES DA SILVA

**SORÇÃO E PERSISTÊNCIA DO 2,4-D EM HORIZONTES DE UM
ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Antonio Alberto da Silva

Coorientador: Leonardo D'antonino

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2020**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S586s
2020
Silva, Elisa Maria Gomes da, 1995-
Sorção e persistência do 2,4-D em horizontes de um
Argissolo Vermelho-Amarelo / Elisa Maria Gomes da Silva. –
Viçosa, MG, 2020.
59 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Antônio Alberto da Silva.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Herbicidas. 2. Solos - Movimento dos herbicidas.
3. Solos - Lixiviação. 4. Impacto ambiental. I. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Agronomia. Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 633.954

ELISA MARIA GOMES DA SILVA

**SORÇÃO E PERSISTÊNCIA DO 2,4-D EM HORIZONTES DE UM
ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO**

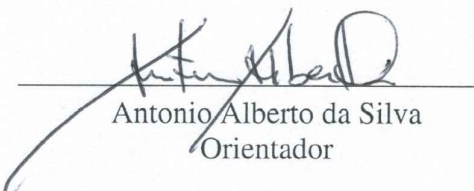
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 23 de outubro de 2020

Assentimento:



Elisa Maria Gomes da Silva
Autora



Antonio Alberto da Silva
Orientador

A vó Ziza (in memoriam),
exemplo de força e sabedoria.
Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal de Viçosa, principalmente ao programa de pós-graduação em Fitotecnia, pela oportunidade do mestrado. A todos os professores, técnicos e funcionários do departamento de Agronomia por contribuírem no meu desenvolvimento profissional. O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001) e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico CNPq.

Agradeço ao professor Antonio Alberto da Silva pela orientação, confiança e oportunidade oferecida ainda na graduação para fazer parte desse grupo de pesquisa. Ao meu coorientador Leonardo D'Antonino por todo suporte durante o desenvolvimento dessa pesquisa. Aos professores integrantes da banca avaliadora Gustavo Mendes, Daniel Valadão e Renata Lopes por todas as sugestões, para a melhora do trabalho.

Meu agradecimento a toda a equipe do Manejo Integrado de Plantas Daninhas, aos que já não estão presentes na UFV, mas cujos ensinamentos foram deixados e aos atuais integrantes por tornarem mais divertido toda a condução do experimento. Em especial aos estagiários Dilma e Paulo por aturarem meus conselhos, permitindo que eu retribuía o aprendizado que recebi quando iniciei neste laboratório. Ao meu namorado Adalin por todo incentivo, carinho e ajuda que juntamente com meus amigos Lucas e Larissa se tornaram minha equipe. As meninas da república pelos momentos compartilhados, em especial a Larissa que sempre foi meu apoio.

A Deus por me proporcionar mais essa conquista. Aos meus pais João Oscar e Maria José por toda oração e encorajamento. A minha sobrinha Filipa que me incentiva a ser seu exemplo, assim como meus irmãos Elza e Felipe são para mim. Aos meus cunhados Samuel e Lívia por toda torcida. A Livinha, tia Mirinha e tio Robledo por sempre serem meu amparo em Viçosa, a tia Célia por toda atenção nas idas a Miradouro. A toda a minha família, em especial a Vó Ziza (in memoriam) por seu exemplo de força e sabedoria meu agradecimento.

A todos que me incentivaram na conclusão dessa etapa meu eterno obrigada.

BIOGRAFIA

ELISA MARIA GOMES DA SILVA, filha de João Oscar da Silva e Maria José Gomes da Silva, nasceu em 18 de fevereiro de 1995, na cidade de Miradouro, Minas Gerais, Brasil.

Em 2012 concluiu o ensino médio e no ano posterior ingressou no curso de graduação em Agronomia na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. Em julho de 2018 obteve o diploma de Engenheira Agrônoma. No mesmo ano iniciou o curso de mestrado no programa de Pós-Graduação em Fitotecnia pela mesma instituição, submetendo-se a defesa de dissertação em 23 de outubro de 2020.

RESUMO

SILVA, Elisa Maria Gomes da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, outubro de 2020. **Sorção e persistência do 2,4-D em horizontes de um Argissolo Vermelho-Amarelo.** Orientador: Antonio Alberto da Silva. Coorientador: Leonardo D'Antonino

A recente liberação de cultivares de soja, algodão e milho resistentes ao 2,4-D no Brasil, auxiliará no manejo de plantas daninhas, resultando no aumento expressivo do uso desse herbicida em um curto espaço de tempo. Apesar do 2,4-D ser recomendado para aplicações em pós-emergência das plantas daninhas, parte de suas moléculas vão atingir o solo. Estas podem ficar retidas nos coloides do solo ou disponíveis na solução para serem absorvidas pelas plantas, degradadas ou lixiviadas a camadas mais profundas do perfil. A maioria dos resultados de pesquisa disponíveis na literatura as quais envolvem o comportamento do 2,4-D no solo foram obtidos utilizando amostras de solo coletadas nas camadas superficiais do perfil. Tendo em vista que o 2,4-D será aplicado em extensas áreas agrícolas em solos com diferentes atributos e que as características químicas e físicas dos solos são diferentes ao longo do perfil é importante conhecer a dinâmica do 2,4-D nessas condições. Essas informações auxiliarão nas recomendações seguras desse herbicida, visando redução dos riscos ambientais. Nesta pesquisa, utilizando de métodos biológicos e cromatográficos, foi estudada a dinâmica do 2,4-D no perfil de um Argissolo Vermelho-Amarelo. Para isso, foram coletadas amostras dos horizontes A B e C do solo. Amostras dos horizontes também foram misturadas {AB (1/4 A + 3/4 B) e ABC (1/3 de cada horizonte)}. A disponibilidade do 2,4-D na solução das diferentes amostras de solo foi avaliada por meio biológico utilizando *Cucumis sativus* como espécie indicadora e por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A meia-vida do 2,4-D foi determinada nos materiais de solo com o herbicida por meio da coleta aos de 0, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 24, 32 e 48 dias após aplicação. Constatou-se valores diferenciados da sorção e da meia-vida do 2,4-D em amostras dos diferentes horizontes. Conclui-se que a disponibilidade do 2,4-D na solução do solo e a sua persistência são maiores nos horizontes subsuperficiais do Argissolo Vermelho-Amarelo. Isto indica maior risco de contaminação ambiental quando aplicado em solos que têm baixa capacidade de retê-lo na camada superficial; pois nos horizontes mais profundos o 2,4-D é mais persistente e menos retido pelos coloides do solo.

Palavras-chave: Herbicida. Ácido 2,4 diclorofenoxiacético. Perfil do solo.

ABSTRACT

SILVA, Elisa Maria Gomes da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, October, 2020. **Sorption and persistence of 2,4-D in horizons on a Red Yellow Argisol.** Adviser: Antonio Alberto da Silva. Co-adviser: Leonardo D'Antonino

The recent release of 2,4-D-resistant soy, cotton and corn cultivars in Brazil will result in a significant increase in the use of this herbicide in a short period of time. Although 2,4-D is recommended for post-emergence weed applications, part of its molecules will reach the soil. These molecules can be retained in the soil colloids or be available in the solution to be absorbed by the plants, degraded or leached to deeper layers of the profile. The results from most of the researches results available in the literature which involve the behavior of 2,4-D in the soil were obtained using soil samples collected in the superficial layers of the profile. Considering that 2,4-D will be applied large agricultural areas in soils with different attributes and that the chemical and physical characteristics of the soils are different throughout the profile, it is important to know the dynamics of 2,4-D in these conditions. This information will assist in the safe recommendations of this herbicide, aiming to reduce environmental risks. In this research, the dynamics of 2,4-D in the profile of a Red-Yellow Argisol were studied using biological and chromatographic methods. For this reason, soil samples were collected in horizons A B and C. Samples from horizons were also mixed (AB (1/4 A + 3/4B) and ABC (1/3 of each horizon)). The availability of 2,4-D in the solution of the different soil samples was evaluated by biological means using *Cucumis sativus* as an indicator species and by high performance liquid chromatography (HPLC). Different values of sorption and half-life of 2,4-D were found in samples from different horizons. It is concluded that the availability of 2,4-D in the soil solution and its persistence are greater in the subsurface horizons of the Red-Yellow Argisol. Which indicates a greater risk of environmental contamination when applied to soils that have a low capacity to retain it in the surface layer; because in the deeper horizons, 2,4-D is more persistent and less retained by soil colloids.

Keywords: Herbicide. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid. Soil profile.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	9
REFERÊNCIAS	12

SORÇÃO DO 2,4-D EM HORIZONTES DE UM ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO

Resumo.....	14
Abstract	15
INTRODUÇÃO.....	16
MATERIAL E MÉTODOS.....	17
Coleta das amostras de solo	17
Sorção por ensaio biológico	18
Sorção e dessorção por cromatografia	20
RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
CONCLUSÕES	34

MEIA-VIDA DO 2,4-D EM HORIZONTES DE UM ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO

Resumo.....	38
Abstract.....	39
INTRODUÇÃO.....	40
MATERIAL E MÉTODOS.....	41
Coleta e preparo das amostras.....	41
Método de extração.....	43
Validação do método de extração	44
Determinação da meia-vida.....	44
Determinação do índice de GUS	45
RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
CONCLUSÕES	56
REFERÊNCIAS	57
CONSIDERAÇÕES FINAIS	59

INTRODUÇÃO GERAL

O alcance de maiores produtividades é a meta de muitos países que tem a agricultura como base econômica. Pouca importância normalmente é atribuída a preservação da biodiversidade e sustentabilidade do sistema de cultivo ao longo dos anos. Com isso, cada vez mais insumos são empregados, sobretudo os defensivos agrícolas. Dentre os pesticidas, os herbicidas utilizados no manejo de plantas daninhas correspondem a aproximadamente 50 % do volume de produtos fitossanitários aplicados no Brasil (Sindiveg, 2019).

Os herbicidas são utilizados com intuito de controlar plantas daninhas afim de reduzir a competição por água, luz e nutrientes entre as plantas daninhas e as culturas. O controle destas plantas permite que a planta de interesse expresse seu máximo potencial produtivo. Outro fator favorável a utilização dos herbicidas é a redução nos custos, maior rapidez e eficiência no controle dessas espécies, principalmente em grandes áreas onde o controle manual seria inviável (Gianesse, 2013).

Dos vários grupos de herbicidas existentes, os auxínicos foram os primeiros herbicidas orgânicos seletivos desenvolvidos e continuam sendo um dos grupos mais importantes no manejo de plantas daninhas (Sterling et al., 1997). Esses compostos atuam de forma semelhante ao hormônio vegetal natural auxina. Desta forma, são capazes de induzir as mesmas mudanças fisiológicas e bioquímicas causadas pelas auxinas naturais, mesmo em baixas concentrações (Mithila et al., 2011).

Nas plantas esses herbicidas influenciam na síntese de ácidos nucléicos e proteínas devido a interferência na enzima RNA polimerase. Após a aplicação observa-se intensa proliferação celular em tecidos, devido ao alongamento celular que pode estar relacionado a redução do potencial osmótico das células. Esse evento é provocado pelo acúmulo de proteínas e perda de rigidez da parede celular pelo incremento na síntese da enzima celulase. Consequentemente, as plantas que receberam estes produtos apresentam epinastia de folhas e caules. Isso causa o impedimento do movimento de fotoassimilados das folhas para o sistema radicular devido a interrupção do floema (Silva et al., 2007a).

Dos herbicidas auxínicos, o 2,4-D (ácido 2,4 diclorofenoxiacético) é um herbicida amplamente utilizado no manejo de plantas daninhas, devido à sua capacidade de controlar espécies de plantas eudicotiledôneas, seu uso se restringe, principalmente, a culturas gramíneas e monocotiledoneas. Em contrapartida, o aparecimento de plantas daninhas resistentes e as descobertas de genes em bactérias presentes no solo com a possível transferência desses para as plantas, permitindo o desenvolvimento de culturas resistentes ao 2,4-D, elevou o consumo

desse herbicida nos cultivos agrícolas (Queiroz & Vidal, 2014). No Brasil com a recente aprovação pela CTNbio, da liberação comercial de culturas resistentes ao 2,4-D acarretará um aumento considerável no uso deste herbicida em curto espaço de tempo, auxiliando no manejo de plantas daninhas em culturas antes suscetíveis (CTNBio, 2017 a, b).

Após a aplicação de um herbicida um dos prováveis destinos é o solo, seja por contato direto, escorrimento nas folhas ou quando a planta morre e é incorporada (Law, 2001). Quando em contato com o solo os herbicidas sofrem processos que envolvem a retenção, o transporte e a transformação de suas moléculas, que são influenciados pelas características químicas, biológicas e físicas do solo, além das propriedades químicas da molécula dos herbicidas.

A sorção de um pesticida no solo é um fenômeno físico-químico constituído por precipitação, adsorção e a absorção das moléculas na matéria orgânica e coloides do solo. Esse fenômeno complexo de retenção, tem influência direta ou indireta na magnitude de outros processos, que conferem a dinâmica de um herbicida no solo (Oliveira et al., 2011). Dentre os processos que a sorção influencia está o potencial de lixiviação dos herbicidas. Quanto menores os valores de sorção, maior é o risco do herbicida se deslocar ao longo do perfil, podendo sair da zona de controle das plantas daninhas ou até mesmo chegar a corpos de águas subterrâneos (Jones et al., 2011; Srinivasan & Sarmah, 2014).

Outro processo importante dos herbicidas no solo é a velocidade de degradação, que é determinado pela meia-vida do composto no solo. A meia-vida é definida como o tempo necessário para que ocorra dissipação de 50% da quantidade inicial de herbicida presente no solo. Esse tempo é influenciado principalmente pelas características do solo, ambiente, pelas práticas culturais adotadas e microbiota presente. Determinar a meia-vida auxilia na compreensão dos riscos ambientais, pois quanto mais tempo esse produto permanecer no ambiente maior o risco de lixiviar durante esse período e atingir corpos d'água (Silva et al., 2007b).

Há vários métodos de estudo para determinar as interações entre as moléculas dos herbicidas e as propriedades físicas e químicas do solo. Os estudos de sorção e persistência podem ser realizados pelo método biológico, com o uso de uma espécie indicadora, permitindo a identificação da presença do herbicida no ambiente. A determinação da meia-vida juntamente com o estudo de sorção, podem ser realizados por cromatografia Líquida de Alta eficiência (CLAE), sendo possível quantificar o herbicida presente.

A maioria dos estudos de comportamento de herbicidas no solo, utilizam como amostras as camadas da superfície, sem considerar que as moléculas dos herbicidas podem lixiviar no perfil do solo e atingir camadas mais profundas. Com isso, estudos que investiguem

o comportamento dos herbicidas ao longo do perfil do solo são necessários, tendo em vista que os horizontes do solo apresentam características químicas, físicas e biológicas distintas. Nesse sentido, a utilização de herbicidas sem conhecimento de suas propriedades e interação com o solo nos horizontes inferiores, pode resultar em contaminação dos recursos como solo e a água (Silva et al., 2007b). Desta forma, objetivou-se com este trabalho determinar a capacidade sorbiva e a meia-vida do 2,4-D nos horizontes e misturas de um Argissolo Vermelho-Amarelo, buscando melhor compreensão da dinâmica dessa molécula, visando recomendações seguras, do ponto de vista agrônomo e ambiental.

REFERÊNCIAS

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBio. Parecer Técnico nº: 5500/2017. Disponível em: <http://ctnbio.mctic.gov.br/documents/566529/2257309/Parecer+T%C3%A9cnico+n%C2%BA%205500+-+2017/5801314b-56a2-4883-84c8-0bec8bf0c8e6?version=1.0>. Acesso em 18 de agosto de 2020.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBio. Parecer Técnico nº: 6657/2019. Disponível em: <http://ctnbio.mctic.gov.br/documents/566529/2266001/Parecer+T%C3%A9cnico+n%C2%BA%206657/253d97fb-8326-415a-b898-059137f11902?version=1.0>. Acesso em 18 de agosto de 2020.

Gianessi LP. The increasing importance of herbicides in worldwide crop production. *Pest Management Science*. 2013; 69: 1099-105.

Jones DL, Edwards-Jones G, Murphy DV. Biochar mediated alterations in herbicide breakdown and leaching in soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 2011; 43 (4): 804-13.

Law, SE. Agricultural electrostatic spray application: a review of significant research and development during de 20th century. *J. of Electrostatics*. 2001; 51: 25-42.

Mithila J, Hall J, Johnson W, Kelley K, Riechers D. Evolution of Resistance to Auxinic Herbicides: Historical Perspectives, Mechanism of Resistance, and Implications for Broadleaf Weed Management in Agronomic Crops. *Weed Science*. 2011; 59 (4), 445-57.

Oliveira Jr RS, Constantin J, Inoue MH. Mecanismos de ação de herbicidas. In: Oliveira Jr RS, Brighenti AM. *Biologia de Manejo de Plantas Daninhas*. Curitiba: Editora Ominpax, 2011. Cap 11, 140- 92.

Queiroz ARS, Vidal RA. O desenvolvimento de culturas tolerantes ao herbicida diclorofenoxiacetato: revisão de literatura. *Planta daninha*. 2014; 32 (3): 649-54.

Roe, RM, Burton, JD, Kuhr, RJ. Herbicide Activity: Toxicology, Biochemistry and Molecular Biology. In: Sterling TM & Hall JC. Mechanism of action of Natural Auxins and the Auxinic Herbicides. 1º. ed. Amsterdam: IOS Press; 1997. 111- 141.

Silva AA, Ferreira FA, Ferreira, LR. Herbicidas: Classificação e Mecanismos de Ação. In: Silva AA, Silva JF. Tópicos em Manejo de Plantas Daninhas. Viçosa: Editora UFV, 2007. 83-148 (a).

Silva AA, Vivian R, Jr Rubem SO. Herbicidas: Comportamento no solo. In: Silva AA, Silva JF. Tópicos em Manejo de Plantas Daninhas. Viçosa: Editora UFV, 2007. 190-248 (b).

SINDIVEG. Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para a Defesa Vegetal. (2019). Disponível em: <https://sindiveg.org.br/mercado-total/> Acesso em 19 de agosto de 2020.

Srinivasan P, Sarmah AK. Assessing the sorption and leaching behaviour of three sulfonamides in pasture soils through batch and column studies. Science of The Total Environment. 2014; 493:535-43.

SORÇÃO DO 2,4-D EM HORIZONTES DE UM ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO

Resumo - O 2,4-D é indicado no controle em pós-emergência de plantas daninhas eudicotiledôneas. Apesar de ter como alvo as plantas, quando aplicado parte do herbicida vai atingir o solo. Em contato com o solo o 2,4-D pode ficar retido, ser lixiviado ou degradado. Esses processos são muito influenciados pela afinidade do herbicida pelos coloides do solo. Em razão disso, são de grande importância as interações entre os coloides do solo e a molécula do herbicida, para que se possa fazer recomendações seguras do herbicida do ponto de vista agrônomo e ambiental. Apesar dos vários estudos realizados, a maioria dos resultados são referentes as camadas superficiais e não ao comportamento do herbicida ao longo do perfil do solo. Identificar o comportamento nas camadas subsuperficiais permitiria avaliar o risco ambiental desse produto atingir águas subterrâneas. Neste trabalho, utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência e ensaios biológicos foi determinada a sorção do 2,4-D nos perfis de um Argissolo Vermelho-Amarelo. Esta variável foi avaliada em amostras coletadas nos horizontes A, B e C e, em amostras compostas por misturas dos horizontes AB (1/4 A + 3/4B) e ABC (1/3 de cada horizonte). Os valores da razão de sorção (RS) variaram de 3,88 a 15,74, indicando maior sorção no horizonte A seguido pelos demais horizontes e misturas AB, B, ABC e C. A Constante de Freundlich (Kf) determinada no ensaio cromatográfico variou de 0,16 a 3,08, sendo maior no horizonte A seguido pelos horizontes e misturas B, AB, ABC e C. Os fatores que mais influenciaram a sorção foram o teor de matéria orgânica e argila presentes no solo. Conclui-se que a capacidade sorçiva varia de acordo com os atributos do solo e que a sorção nas camadas subsuperficiais é menor.

Palavras-chave: Herbicida. Ácido 2,4-diclorofenoxiacético Razão de sorção. Impacto ambiental.

2,4-D SORPTION IN HORIZONS OF A RED YELLOW ARGISOL

Abstract - 2,4-D is indicated for post-emergence control of eudicotyledonous weeds. Despite targeting plants, when part of the herbicide is applied, it will reach the soil. In contact with the soil, 2,4-D can be retained, leached or degraded. These processes are greatly influenced by the herbicide's affinity for soil colloids. As a result, interactions between soil colloids and the herbicide molecule are of great importance, so that we can make safe recommendations of for the herbicide from an agronomic and environmental point of view. Despite the various studies that were carried out, most of the results refer to the superficial layers and not to the behavior of the herbicide along the soil profile. Identifying the behavior in the subsurface layers would allow assessing the environmental risk of this product reaching groundwater. In this work, the sorption of 2,4-D was determined in the profiles of a Red-Yellow Argisol using high performance liquid chromatography and biological assays. This variable was evaluated from samples collected in horizons A B and C and in samples composed of mixtures of horizons AB ($1/4 A + 3/4B$) and ABC ($1/3$ of each horizon). The values of the sorption ratio (RS) varied from 3.88 to 15.74, indicating greater sorption in horizon A followed by the other horizons and mixtures AB, B, ABC and from C. The Freundlich constant (Kf) determined in the chromatographic assay it varied from 0.16 to 3.08, being higher in horizon A followed by horizons and mixtures B, AB, ABC and C. The factors that most influenced sorption were the content of organic matter and clay present in the soil. It was concluded that the sorting capacity varies according to the soil attributes and that the sorption in the subsurface layers is lower.

Keywords: Herbicide. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid. Sorption ratio. Environmental impact.

INTRODUÇÃO

A utilização dos herbicidas no controle de plantas daninhas favoreceu manejo dessas espécies, sendo que a partir da introdução dessa tecnologia houve a necessidade de aprofundar os estudos sobre o comportamento desses compostos no ambiente com intuito de compreender sua dinâmica (Osgerby, 1973; Hance, 1976; Koskinen & Harper, 1990). Alguns estudos avaliam o comportamento dos herbicidas no solo, por ser um dos principais destinos da maioria das moléculas herbicidas (Law, 2001), e esses resultados contribuem para recomendações seguras do ponto de vista da eficiência agrônômica e ambiental dos herbicidas.

A capacidade sortiva de um herbicida é um parâmetro capaz de auxiliar na determinação de eficiência de controle e também do potencial de risco de contaminação. Para determinar a sorção, podem ser realizados estudos por meio de ensaios biológicos, com uso de espécies indicadoras, permitindo determinar a presença da molécula ativa do herbicida ou por métodos cromatográficos capazes de quantificar o composto em análise (Amarante et al., 2003).

Uma diversidade muito grande de herbicidas está disponível hoje no mercado agrícola, dentre eles o 2,4-D, o qual é um dos herbicidas mais antigos utilizados no controle de espécies eudicotiledôneas em culturas gramíneas. Com aparecimento de plantas daninhas resistentes a herbicidas e a introdução de culturas transgênicas tolerantes ao 2,4-D, espera-se um aumento do volume aplicado desse produto. Diversos estudos relacionam o comportamento do 2,4-D no solo com suas propriedades e características. Estudos realizados em cinco diferentes solos indicaram que a sorção do 2,4-D é baixa e se intensifica com o aumento do teor de carbono orgânico no solo. Contudo, a extensão da sorção do 2,4-D por unidade de carbono orgânico variou entre os solos devido a diferenças no pH, teor de argila e/ou composição da matéria orgânica (Picton & Farenhorst, 2004).

Resultados semelhantes foram encontrados quando a sorção do 2,4-D foi determinada a partir de amostras de diversos solos brasileiros. Observou-se uma tendência de aumento dos valores de coeficiente de sorção em solos com maiores teores de carbono orgânico, no entanto, a sorção foi menor com o aumento do pH do solo (Spadotto et al. 2003).

A maioria dos estudos que relatam a dinâmica do 2,4-D no solo usam amostras de solo das camadas superficiais. A partir disso, não é possível compreender como o herbicida se comporta ao longo do perfil, considerando que os horizontes possuem propriedades químicas e físicas distintas (Johnson & Thomas, 1998). Deste modo, determinar a capacidade sortiva dos herbicidas apenas na primeira camada do solo subestima a sorção e também o potencial de

lixiviação das moléculas dos herbicidas. Nesse sentido, o estudo tem por objetivo conhecer a sorção e dessorção do 2,4-D ao longo do perfil de um Argissolo Vermelho-Amarelo, por meio de ensaios biológicos e por cromatografia de alta eficiência.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta das amostras de solo

O solo utilizado na condução dos experimentos foi coletado no município de Viçosa-MG, Brasil, classificado como um Argissolo Vermelho-Amarelo (Figura 1). Foram coletadas amostras nos horizontes A (Hor A), B (Hor B) e C (Hor C), sendo que a distinção entre os horizontes foi realizada por meio da observação das características que separam os mesmos ao longo do perfil do solo.

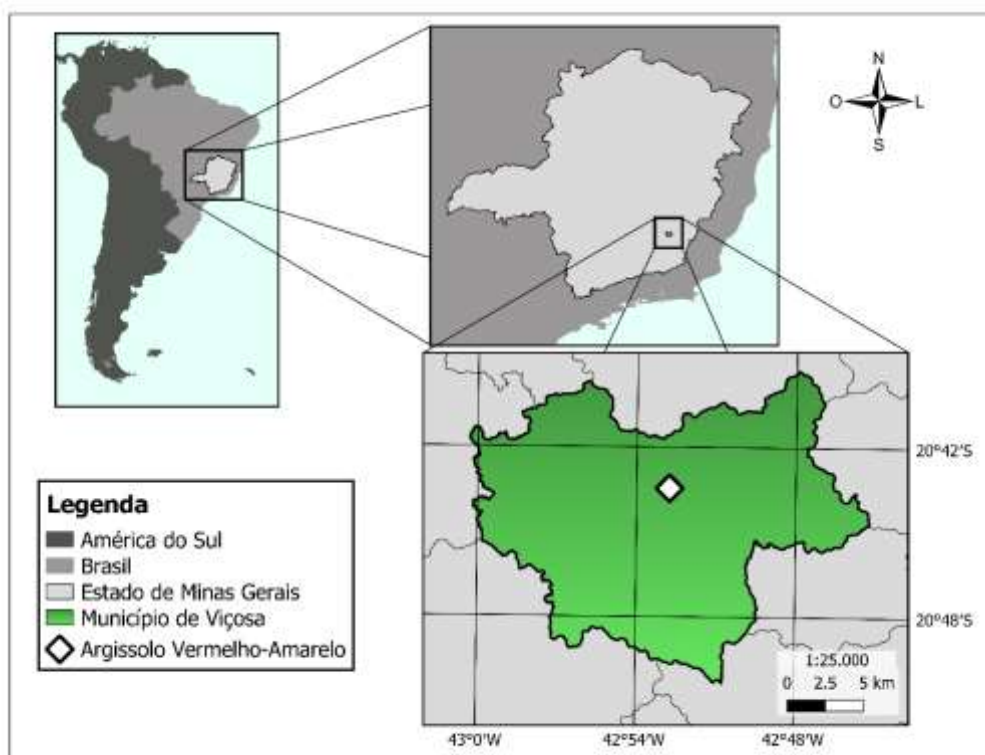


Figura 1. Localização do Argissolo Vermelho-amarelo (LVA) coletados no Município de Viçosa-MG.

As amostras de solo coletadas foram secas à sombra e peneiradas em malha de 4 mm com a finalidade de homogeneização das mesmas. Após essa etapa foi feita a mistura do solo coletado, nas combinações: 1/3 do horizonte A com 2/3 do horizonte B consistiu na mistura AB (Hor AB); a combinação de 1/3 de todos os perfis do solo consistiram na mistura ABC (Hor ABC).

Sorção por ensaio biológico

Para determinação da sorção do herbicida 2,4-D foram utilizados como substrato, areia lavada, os horizontes e as misturas (Tabela 1). Como material inerte para elaboração da curva-padrão de sorção foi utilizada areia lavada. Para que os resíduos orgânicos presentes na areia não interferissem nas análises foi feita, a incubação 36 horas em uma solução na proporção de 600 mL de ácido clorídrico para 10 L de água, em baldes de polietileno, mantendo-se uma camada de 10 cm acima do volume de areia. Após o tempo decorrido foi realizada a lavagem com água corrente para eliminação do ácido.

Tabela 1. Análise química e física da areia e do Argissolo Vermelho-Amarelo das amostras dos horizontes A (Hor A), B (Hor B), C (Hor C) e das misturas dos horizontes A e B (Hor AB) e dos horizontes A, B e C (Hor ABC)

Solos	pH	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	T	V	m	MO
	H ₂ O	cmol/dm ³		-----	Cmol _c dm ³	-----			-----	%	-----
Areia	3,82	1,9	2	0,09	0,04	0	0,2	0,14	41,2	0	0,13
Hor A	5,93	45,6	51	8,79	1,93	0	2,8	10,85	79,5	0	6,01
Hor B	5,92	1,9	10	0,92	0,38	0	1,6	1,33	45,4	0	0,64
Hor C	5,1	2,4	16	0,34	0,31	0	0,5	0,69	58	0	0,13
Hor AB	5,35	5,6	20	2,34	0,69	0	2	3,08	60,6	0	1,54
Hor ABC	5,46	10,2	24	3,3	0,89	0	1,8	4,25	70,2	0	1,92
	A. grossa	A. fina	Silte	Argila	Classe textural						
Areia	93	1	1	4	Areia						
Hor A	6	7	23	66	Muito argilosa						
Hor B	0	3	36	60	Muito argilosa						
Hor C	30	44	23	30	F.Argilo-Arenosa						
Hor AB	25	4	35	58	Argila						
Hor ABC	29	7	18	46	Argila						

As unidades experimentais foram constituídas por vasos com capacidade de 0,25 dm³, preenchidos com os respectivos substratos com massa uniformizada em cada recipiente. A aplicação foi realizada nos substratos mantendo-se a umidade em 40 % da capacidade de campo para aplicação do herbicida. A capacidade de campo foi determinada por método gravimétrico, e adicionado água na quantidade necessária para atingir 40% da capacidade de campo de acordo com cada horizonte, por meio do simulador de chuva.

Após a semeadura da planta indicadora (*Cucumis sativus*), foi aplicado em pré-emergência doses crescentes do herbicida 2,4-D (Tabela 2), pré-definidas em ensaios preliminares para cada um dos horizontes em estudo e a areia. Essa etapa foi realizada com um pulverizador costal pressurizado a CO₂, munido de dois bicos TTI 11002, espaçados em 0,5 metro, mantidos a pressão de 25 lb pol⁻², resultando em um volume de calda de 150 L ha⁻¹. Após a emergência realizou-se o desbaste mantendo três plantas por vasos visando as análises posteriores.

Tabela 2. Doses do 2,4-D^{1/} (g ha⁻¹) aplicado na Areia e no horizonte A (Hor A), horizonte B (Hor B), horizonte C (Hor C), mistura horizonte A e B (Hor AB), mistura horizonte A, B e C (Hor ABC) do Argissolo Vermelho-Amarelo.

Areia	Hor A	Hor B	Hor C	Hor AB	Hor ABC
Dose (g ha ⁻¹)					
0	0	0	0	0	0
7	50	30	15	30	30
15	100	50	30	50	50
30	200	100	50	100	100
50	400	200	100	200	200
100	800	400	200	400	400
200	1200	800	400	800	800
400	2400	1200	800	1200	1200
800	4800	2400	1200	2400	2400
1200	9600	4800	2400	4800	4800
2400	14400	9600	4800	9600	9600

^{1/} Produto comercial Aminol 860 - 670 g L⁻¹ de 2,4-D

Aos 7 e 14 dias após a emergência das plantas (DAE), foi realizada a avaliação visual de intoxicação, atribuindo notas de 0 a 100, sendo 0 ausência de toxicidade e 100 morte das plantas. Aos 14 DAE foram coletadas parte aérea e raiz, sendo acondicionadas em sacos de papel e levadas a estufa de circulação forçada de ar (70 ± 2 °C), até atingir massa constante, determinando-se a matéria seca das plantas.

Os resultados obtidos nas avaliações foram comparados a testemunha por meio da análise estatística aplicando-se o modelo log logístico não-linear (Seefeldt et al. 1995):

$$Y = C + \frac{D - C}{1 + \left(\frac{X}{C_{50}}\right)^b}$$

Onde C representa o valor inferior da curva, sendo a resposta das plantas que receberam herbicidas, D o limite superior da curva, referindo-se a resposta da testemunha, C_{50} a dose que corresponde a 50% de resposta. O b descreve a declividade da curva em torno do C_{50} , e X e Y, as variáveis independentes e dependente da equação, respectivamente.

A razão de sorção (RS) dos herbicidas no solo foi calculada com os valores obtidos da C_{50} tanto do solo como da areia. Quanto maiores os valores da RS, maior capacidade de sorção do herbicida estudado no solo e, provavelmente, menor potencial de lixiviação do composto no perfil desse substrato.

$$RS = \frac{C_{50} \text{ solo} - C_{50} \text{ areia}}{C_{50} \text{ areia}}$$

Sorção e dessorção por cromatografia

A quantificação do 2,4-D foi realizada através do sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), modelo Shimadzu LC 20AT. O equipamento era composto por um detector de arranjo de fotodiodos (Shimadzu SPD- M20A), coluna C18 de aço inox (Shimadzu VPODS Shim-pack 250 mm x 4,6 mm d. i., 5 μ m de tamanho de partícula). As condições cromatográficas empregadas para análise foram a fase móvel composta por acetonitrila e água (acidificada por 0,1 % de ácido acético) na proporção de 70:30 (v:v), volume de injeção de 20 μ L, fluxo de 1 mL min⁻¹ e comprimento de onda de 230 nm. A quantificação foi realizada por meio dos parâmetros da curva analítica e a identificação pelo tempo de retenção, utilizando-se um padrão analítico do 2,4-D.

Visando análise da sorção por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) determinou-se o tempo de equilíbrio de acordo com as recomendações de OECD (2000). Para determinação do tempo de equilíbrio foram adicionados em tubos de polipropileno de 50 mL, 2 g de solo referentes a cada horizonte ou mistura juntamente com solução de 10 mg L⁻¹ do herbicida 2,4-D em CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹, preparado a partir da solução estoque. Posteriormente os tubos foram inseridos em um agitador vertical por diferentes tempos (0,25; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0; 12; 16; 20 e 24 horas) em temperatura ambiente 27 \pm 2 °C.

Decorrido os diferentes tempos as amostras foram centrifugadas a 3500 rpm por 7 minutos. Parte do sobrenadante foi filtrado em filtro Milipore com membrana PTFE de 0,45 μm e transferido a vials de 1,5 mL para análise em CLAE. O tempo adotado para as posteriores análises foi aquele a partir do qual a concentração da solução analisada permaneceu constante.

A sorção do 2,4-D nas amostras de solo foi avaliada utilizando soluções de trabalho nas concentrações de 0,5; 1,0; 2,5; 5,0 e 10,0 mg L^{-1} preparadas a partir de uma solução estoque em CaCl_2 0,01 mol L^{-1} . Foram adicionados 10 mL dessas soluções em tubos falcon contendo 2g das amostras de solo. Em seguida os tubos foram agitados verticalmente de acordo com o tempo de equilíbrio pré-determinado. Após a agitação as amostras foram centrifugadas a 3500 rpm por 7 min. Parte do sobrenadante obtido neste processo foi filtrado em membrana PTFE 0,45 μm e transferidos para vials e analisados por CLAE.

O estudo da dessorção foi realizado retirando o maior volume possível do sobrenadante de todos os tubos contendo os solos após o ensaio de sorção e adicionando a mesma quantidade retirada de solução de CaCl_2 0,01 mol L^{-1} isenta de herbicida. Posteriormente foram submetidos à agitação vertical pelo mesmo tempo no qual foram feitos os ensaios de sorção e centrifugados. O sobrenadante obtido foi filtrado em membrana PTFE 0,45 μm para análise por CLAE.

O cálculo da concentração de herbicida sorvido ao solo (C_s) em mg kg^{-1} , foi determinado por diferença entre a quantidade de solução padrão, adicionada inicialmente ao solo (C_p) em mg L^{-1} , e a quantidade encontrada na solução de equilíbrio (C_e) em mg L^{-1} . No cálculo da constante de dessorção de Freundlich (K_{fd}) foi utilizada a quantidade que permaneceu sorvida no solo (C_{sd}) em mg L^{-1} , pela diferença entre a quantidade já sorvida e a quantidade encontrada na solução de equilíbrio (C_{ed}) em mg L^{-1} . A partir dos valores de C_e e de C_s de sorção e dessorção, utilizou-se a equação de Freundlich ($[C_s] = K_f [C_e]^{1/n}$) na determinação das constantes de sorção (K_f) e de dessorção (K_{fd}).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As variáveis analisadas no ensaio biológico foram as notas de intoxicação de planta aos 7 e 14 DAE, além da matéria seca da parte aérea, raiz e total. Com o aumento da dose do 2,4-D ocorreu aumento na intoxicação das plantas de pepino. Desta forma, foram identificados os sintomas de distorções de crescimento, curvatura do caule e em maiores doses redução da matéria seca, senescência e morte das plantas (Figura 2) (Pazmiño et al. 2012). Esses sintomas são característicos da ação de herbicidas auxínicos, devido a indução na biossíntese de etileno.

Assim, ocorre um incremento desse componente que causa crescimento epinástico e inchaço dos tecidos além de influenciar em outras reações, causando fechamento estomático e redução da fotossíntese (Grossmann, 2003).

Por outro lado, ocorre uma estimulação contínua do metabolismo das plantas principalmente da enzima RNA polimerase aumentando a síntese de ácidos nucleicos e proteínas. Com esse acúmulo no interior das células ocorre redução do seu potencial osmótico permitindo a entrada de água em seu interior. Ocorre afrouxamento das paredes celulares devido a estimulação na produção da enzima celulase ocasionando perda de rigidez das células, causando retorcimento da planta (Silva et al., 2007a).



Figura 2. Sintomas de intoxicação de plantas de pepino (*Cucumis sativus*), aos 14 dias após emergência, cultivadas em areia, horizontes A (Hor A), B (Hor B) e C (Hor C), e em misturas de amostras dos horizontes A e B (Hor AB) e A, B e C (Hor ABC) de um Argissolo Vermelho-Amarelo, submetido a doses crescentes de 2,4-D em pré-emergência.

Todas as variáveis avaliadas apresentaram alta similaridade, sendo os índices maiores que 87% (Figura 3). Por esta razão foi utilizada a variável nota de intoxicação aos 14 DAE que melhor se enquadrou ao modelo log-logístico não linear proposto por Seefeldt et al (1995) (Figura 4).

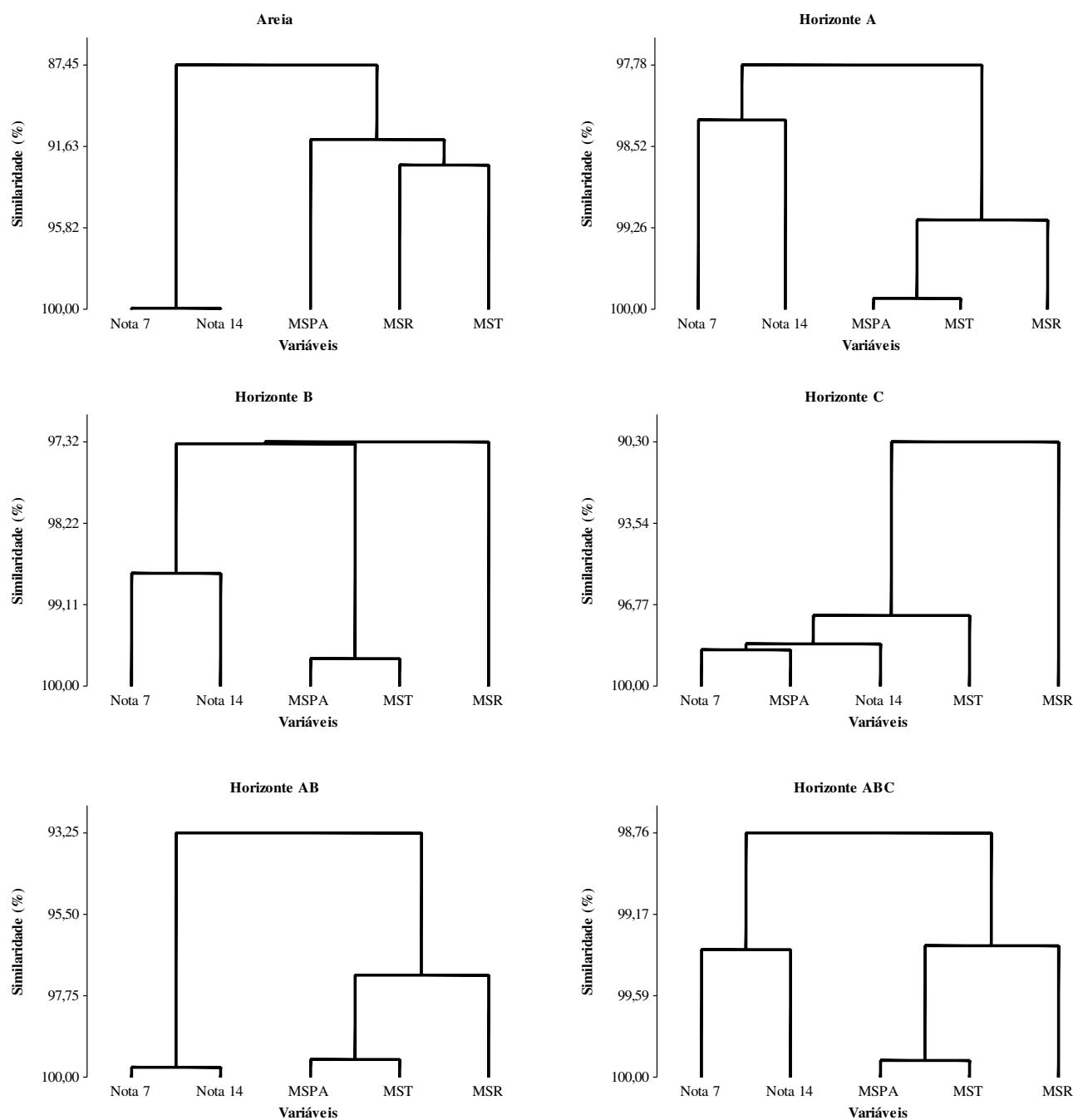


Figura 3. Similaridade entre a intoxicação do pepino aos 7 (Nota 7) e 14 (Nota 14) dias, matéria seca da parte área (MSPA), total (MST) e de raiz (MSR) em cada horizonte e mistura estudado de um Argissolo Vermelho-Amarelo, estabelecidas de acordo com as correlações entre as variáveis: Areia lavada, horizonte A (Hor A), horizonte B (Hor B), horizonte C (Hor C), mistura horizonte A e B (Hor AB), mistura horizonte A, B e C (Hor ABC)

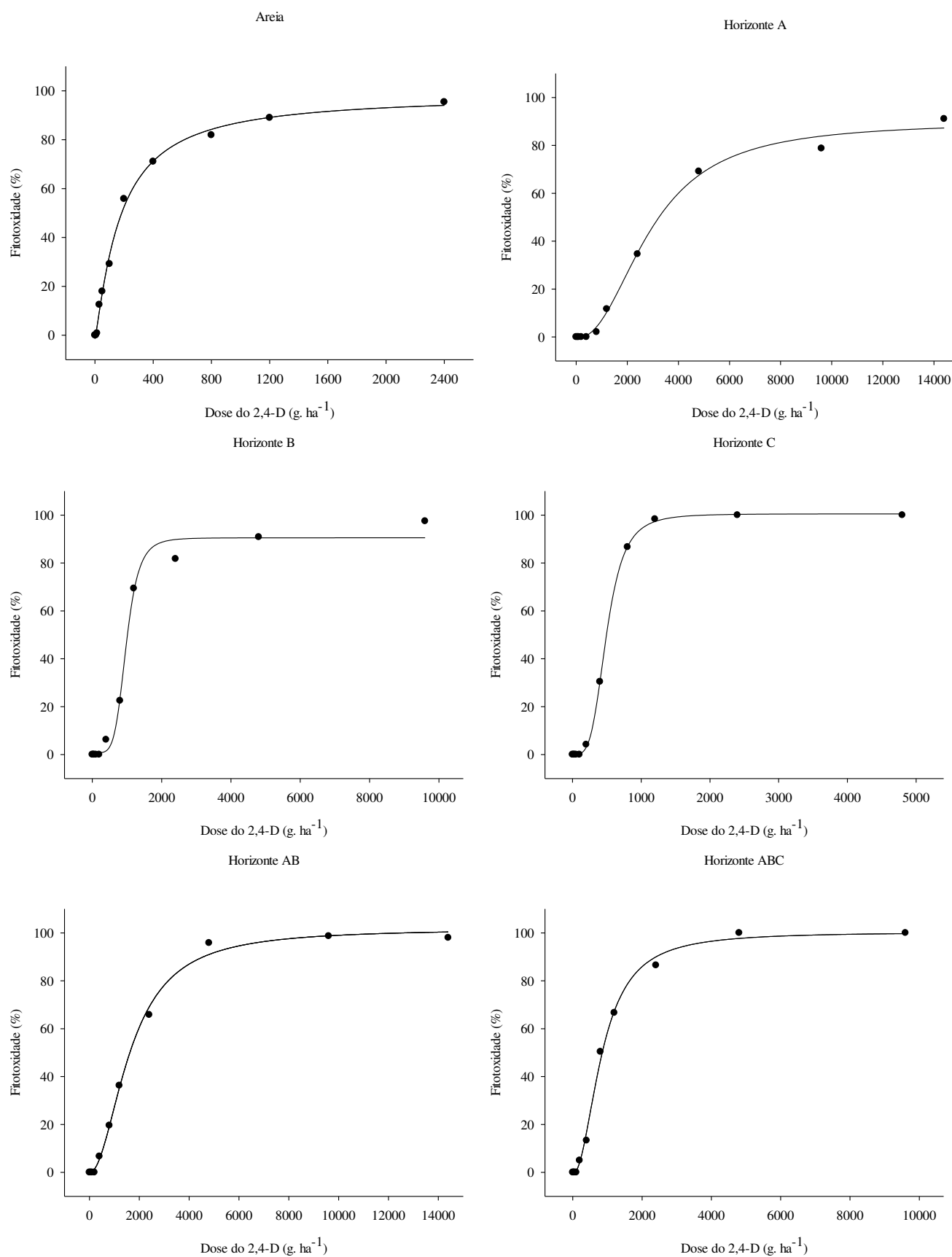


Figura 4. Notas de intoxicação de plantas de pepino (*Cucumis sativus*), aos 14 dias após emergência, cultivadas em areia, horizontes A (Hor A), B (Hor B) e C (Hor C), e em misturas de amostras dos horizontes A e B (Hor AB) e A, B e C (Hor ABC) de um Argissolo Vermelho-Amarelo, submetido a doses crescentes de 2,4-D em pré-emergência.

A dose responsável por causar 50% de intoxicação, denominada C_{50} , foi maior no Hor A, sendo necessários 2909,64 g ha⁻¹ de 2,4-D. Esse valor equivale a quase três vezes o valor obtido em B de 977,51 g ha⁻¹. O menor valor de C_{50} , desconsiderando a areia, foi obtido no horizonte Hor C de 496,04 g ha⁻¹. Já a mistura Hor AB obteve a segunda maior C_{50} , 1644,31 g ha⁻¹, mesmo sendo constituída de somente um quarto do horizonte A. Já a mistura Hor ABC, obteve uma C_{50} de 848,05 g ha⁻¹, entre os valores obtidos nos horizontes A e B (Tabela 3).

Tabela 3. Dose do 2,4-D responsáveis por 50% de sintomas de intoxicação da planta indicadora (C_{50}) e relação de sorção (RS) nos horizontes avaliados

Substrato	Equação	C_{50} (g ha ⁻¹)	RS
Areia	$Y = -1,46 + \frac{98,33 - (-1,4591)}{1 + \left(\frac{X}{173,82}\right)^{1,82}}$	173,82	-
Hor A	$Y = -0,49 + \frac{89,72 - (-0,49)}{1 + \left(\frac{X}{2909,64}\right)^{2,24}}$	2909,64	15,74
Hor B	$Y = 0,81 + \frac{977,51 - 0,81}{1 + \left(\frac{X}{977,51}\right)^{5,37}}$	977,51	4,62
Hor C	$Y = 0,14 + \frac{100,53 - 0,14}{1 + \left(\frac{X}{496,04}\right)^{3,86}}$	496,04	1,85
Hor AB	$Y = -0,15 + \frac{101,71 - (-0,15)}{1 + \left(\frac{X}{1644,31}\right)^{2,00}}$	1644,31	8,46
Hor ABC	$Y = -0,57 + \frac{100,36 - (-0,57)}{1 + \left(\frac{X}{848,03}\right)^{2,08}}$	848,05	3,88

A RS é utilizada para indicar o quanto um herbicida é sorvido, sendo que quanto maior o seu valor maior a capacidade do herbicida ficar retido no solo. A ordem crescente da relação de sorção do 2,4-D nos horizontes estudados foi: Hor A, Hor AB, Hor B, Hor ABC, Hor C.

Isto demonstra a grande influência do horizonte A na redução da disponibilidade do herbicida para planta, sendo necessária doses maiores do 2,4-D para causar injúrias. Já o Hor C e a mistura Hor ABC necessitam de menores doses do herbicida para causarem sintomas nas plantas de pepino, indicando a baixa capacidade de sorção do 2,4-D no horizonte C, além de sua influência na mistura Hor ABC.

Determinar a C_{50} e a RS razão de sorção permitem compreender melhor como é a retenção de um herbicida no solo. Sabe-se que a sorção é um dos processos mais importantes

para prever a movimentação dos herbicidas no solo, sua taxa de degradação e a eficiência no controle de plantas daninhas (Silva et al., 2007b).

Método se tornou seletivo por não haver extrato interferente no tempo de retenção do herbicida como é possível observar comparando os cromatogramas da matriz do solo de cada amostra com e sem a presença do herbicida.

O método utilizado apresentou boa linearidade na faixa de 0,5 a 10 mg L⁻¹ de acordo com a curva analítica. Os limites de detecção e quantificação foram de 0,07 e 0,20 mg L⁻¹, respectivamente (Figuras 5 e 6).

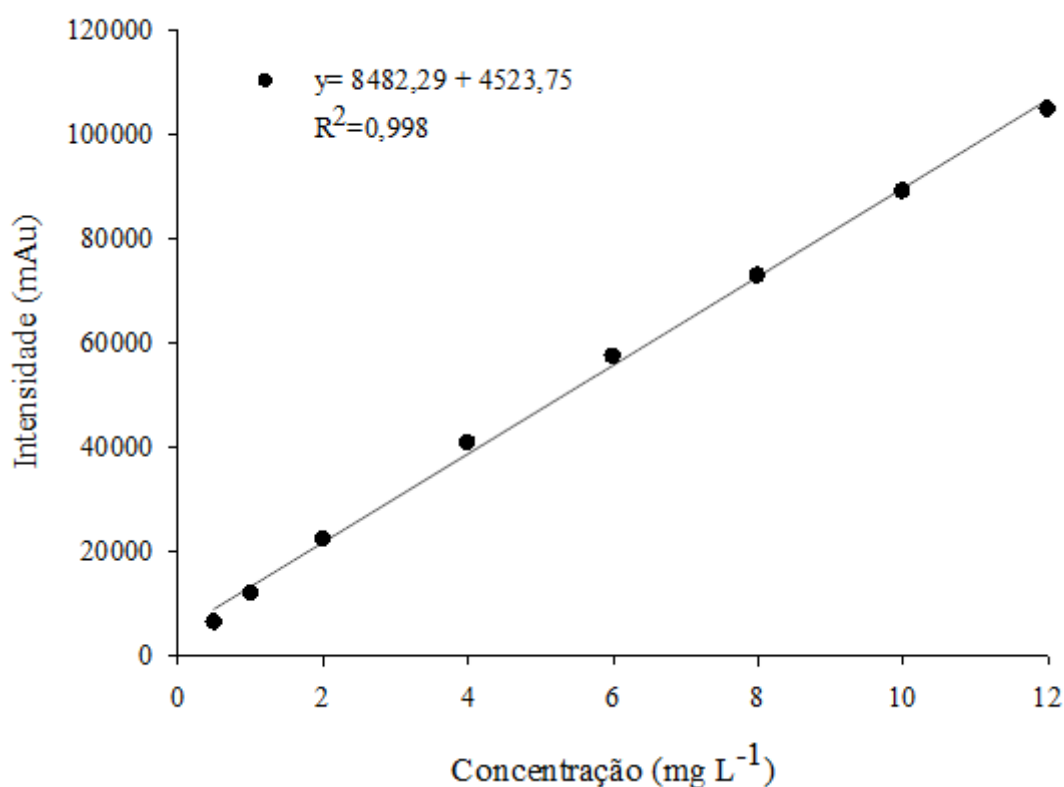


Figura 5. Curva analítica do 2,4-D em CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹, obtida na cromatografia líquida de alta eficiência.

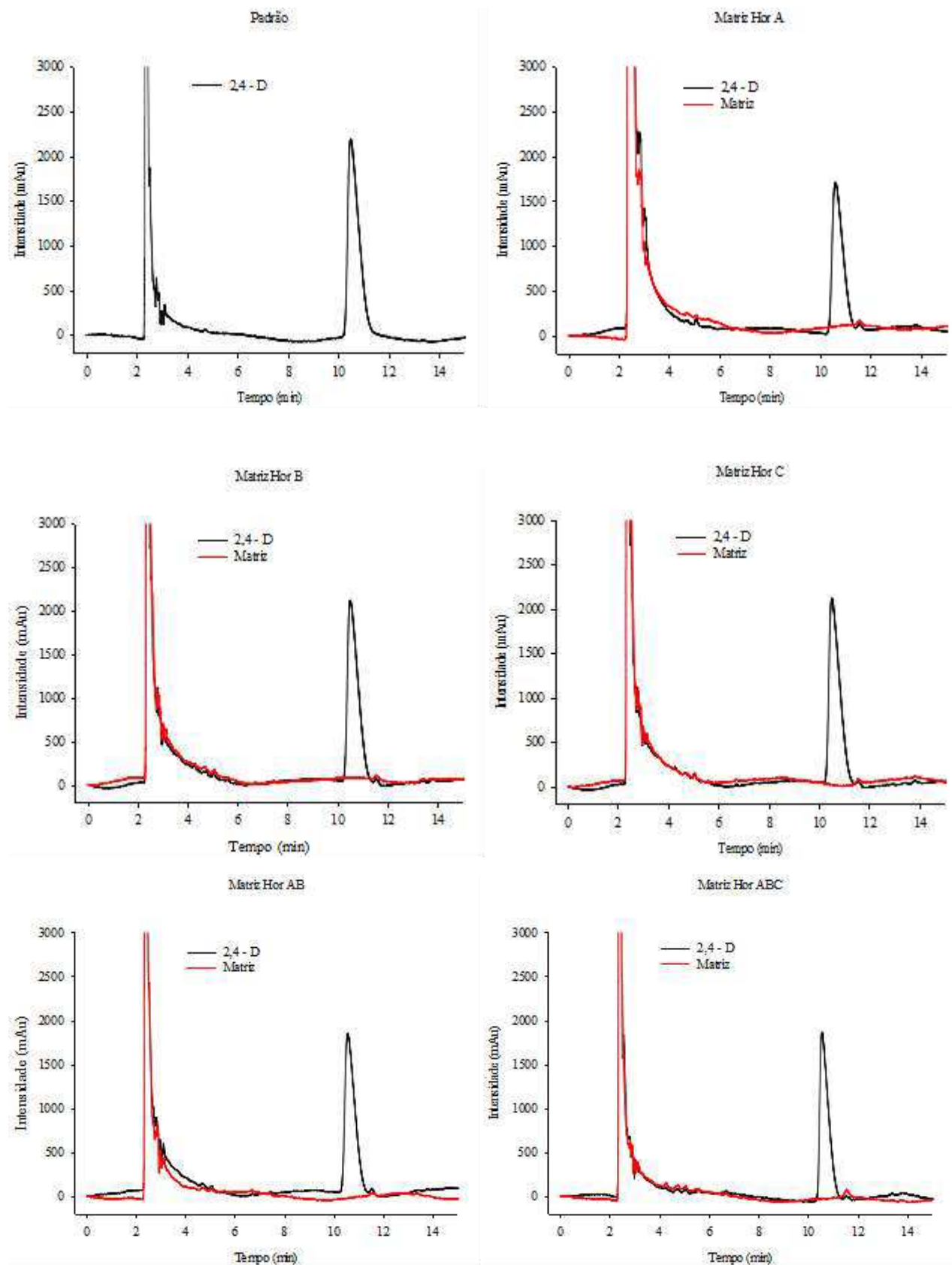


Figura 6. Cromatogramas dos horizontes A (Hor A), B (Hor B) e C (Hor C) e as misturas A e B (Hor AB) e A, B e C (Hor ABC) de um Argissolo Vermelho-Amarelo em solução de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ com e sem a presença de 2,4-D na concentração de 10 mg L^{-1} com tempo de retenção de 10 min .

O tempo de equilíbrio entre a concentração do analito na solução do solo e a concentração sorvida ocorreu a partir de 2 horas, no entanto para sorção foi adotado um tempo de segurança de 4 horas (Figura 7 e Tabela 5).

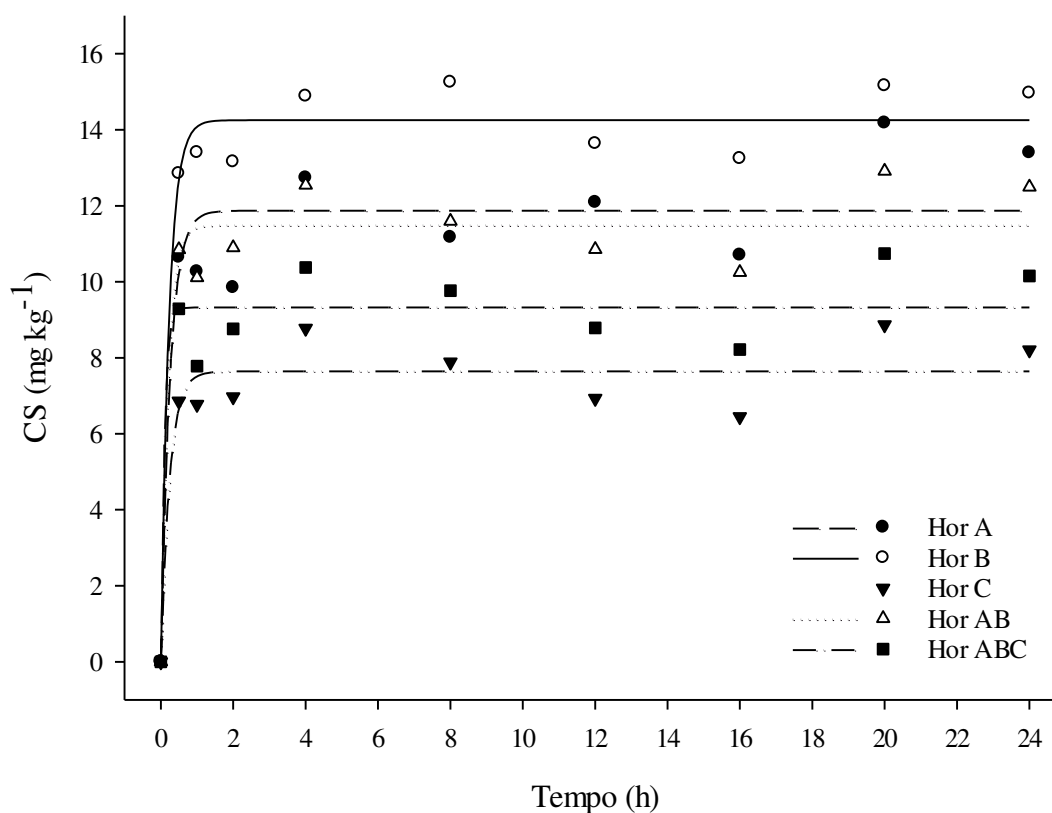


Figura 5. Curva de cinética da sorção do 2,4-D nos horizontes A (Hor A), B (Hor B) e C (Hor C) e nas misturas a e B (Hor AB) e A, B e C (Hor ABC) de um Argissolo Vermelho-Amarelo.

Tabela 4. Equações das curvas de cinética da sorção do 2,4-D nos horizontes A (Hor A), B (Hor B) e C (Hor C) e nas misturas a e B (Hor AB) e A, B e C (Hor ABC) de um Argissolo Vermelho-Amarelo.

Horizontes	Equação	R ²
Hor A	$\hat{Y} = 14,2518 * (1 - \exp^{-4,4220 * x})$	0,97
Hor B	$\hat{Y} = 11,8733 * (1 - \exp^{-3,9632 * x})$	0,88
Hor C	$\hat{Y} = 7,6457 * (1 - \exp^{-4,0962 * x})$	0,88
Hor AB	$\hat{Y} = 11,4853 * (1 - \exp^{-5,2525 * x})$	0,93
Hor ABC	$\hat{Y} = 9,3272 * (1 - \exp^{-10,1585 * x})$	0,91

As isotermas de Freundlich ajustou-se adequadamente para descrever a sorção do 2,4-D nos substratos, como indicado pelos coeficientes de determinação, onde R^2 variou de 0,76 a 0,96 (Figura 8 e Tabela 6).

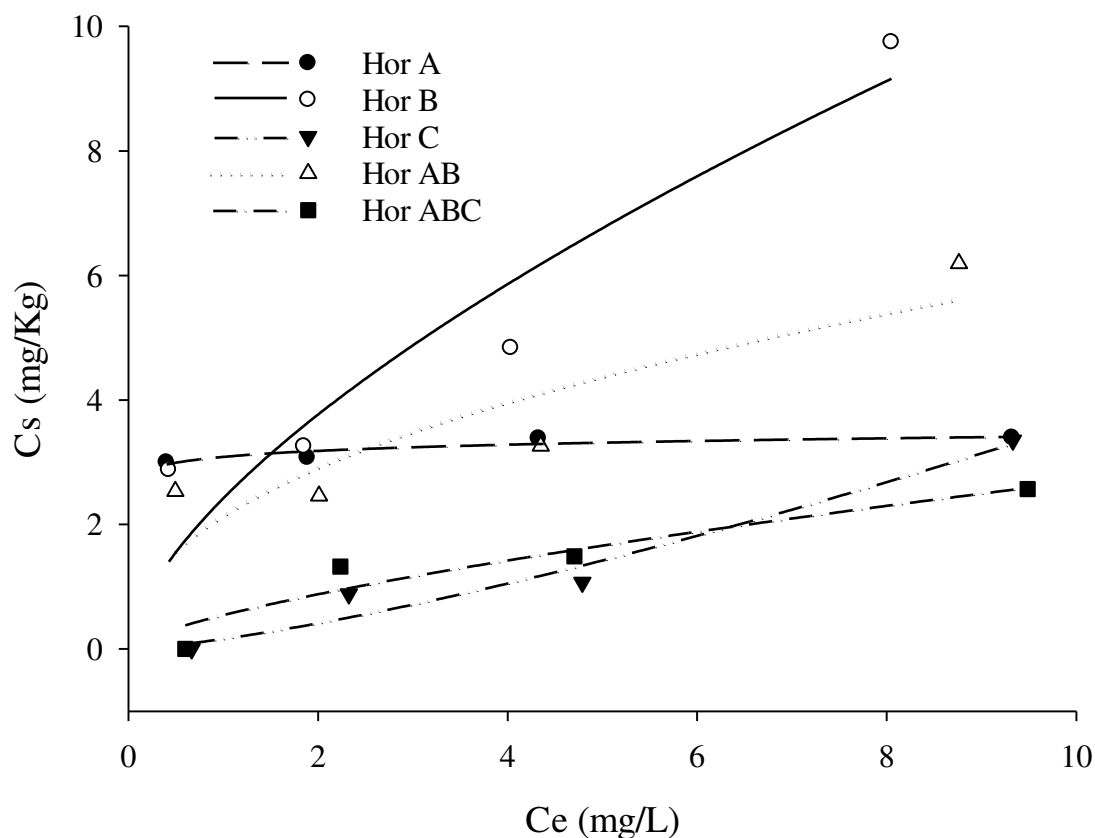


Figura 6. Isotermas de sorção do 2,4-D nos horizontes A (Hor A), B (Hor B) e C (Hor C) e as misturas A e B (Hor AB) e A, B e C (Hor ABC) de um Argissolo Vermelho-Amarelo. Cs (Concentração sorvido no solo), Ce (Concentração em equilíbrio).

Tabela 5. Parâmetros da equação de Freundlich e Estimativas do coeficiente de sorção (Kf) do herbicida dicamba nos horizontes A, B e C e nas misturas A e B e A, B e C de um Argissolo Vermelho-Amarelo.

Solo	Equação	Kf	$1 n^{-1}$	R^2
Hor A	$C_s = 3,08 * C_e^{0,4}$	3,08	0,4	0,84
Hor B	$C_s = 2,42 * C_e^{0,64}$	2,42	0,64	0,88
Hor C	$C_s = 0,16 * C_e^{1,3}$	0,16	1,3	0,96
Hor AB	$C_s = 2,13 * C_e^{0,45}$	2,13	0,45	0,76
Hor ABC	$C_s = 0,54 * C_e^{0,69}$	0,54	0,69	0,91

A sorção de herbicidas no solo normalmente não ocorre de forma linear com o aumento da dose devido a capacidade limitada de serem formadas ligações com o material coloidal, além da variação do coeficiente de sorção pela temperatura e umidade do solo. O modelo mais utilizado é de Freundlich que considera a afinidade inicial alta entre o herbicida e os componentes sortivos do solo, mas à medida que se aumenta a dose essa afinidade diminui devido a redução dos sítios disponíveis (Silva et al., 2007b).

O Coeficiente de adsorção de Freundlich (Kf) se ajustou em todos os horizontes estudados variando de 0,16 a 3,08, sendo a maior sorção no Hor A seguido pelos demais Hor B, Hor AB, Hor ABC e Hor C. Esses valores indicam uma baixa capacidade sortiva do herbicida 2,4-D nas amostras de solo estudadas (Silva et al., 2014).

Ao estudar a sorção do 2,4-D em seis solos com diferentes atributos Hiller (2008), identificou valores de Kf variando de 0,16 a 3,03. O menor valor foi identificado em um solo com alto teor de areia (85,5%) e baixa matéria orgânica (0,48%). O valor 0,16 foi o mesmo determinado no horizonte C estudado neste trabalho, onde o teor de areia era 74% e a matéria orgânica 0,13%.

A análise de correlação de Pearson mostrou uma correlação positiva e significativa a 5 % de significância entre a RS determinada no ensaio biológico e os teores de MO (0,93) e CTC (0,91) do solo (Tabela 4). Pode-se observar também uma correlação positiva (0,75) entre a RS e o teor de argila no solo, no entanto não foi estatisticamente significativo. No coeficiente de sorção determinado por cromatografia, observou-se uma correlação positiva entre o teor de argila do solo e o Kf (0,95) e negativa (-0,90) quando associada ao teor de areia no solo. Pode-se observar também uma correlação positiva do Kf (0,63) com a matéria orgânica, no entanto, ela não foi significativa.

Tabela 6. Análise de correlação de Pearson entre o Kf e a RS com os atributos químicos e físicos do solo

	Kf	RS	Areia	Silte	Argila	MO	pH	CTC
RS	0,81 (0,09)*	1,00	-	-	-	-	-	-
Areia	-0,90 (0,03)	-0,55 (0,34)	1,00	-	-	-	-	-
Silte	0,50 (0,39)	0,00 (0,99)	-0,76 (0,13)	1,00	-	-	-	-
Argila	0,95 (0,01)	0,75 (0,14)	-0,92 (0,02)	0,46 (0,44)	1,00	-	-	-
MO	0,63 (0,26)	0,93 (0,02)	-0,29 (0,63)	-0,34 (0,58)	0,60 (0,28)	1,00	-	-
pH	0,82 (0,09)	0,59 (0,29)	-0,70 (0,19)	0,22 (0,72)	0,83 (0,08)	0,58 (0,31)	1,00	-
CTC	0,58 (0,30)	0,91* (0,03)	-0,24 (0,68)	0,38 (0,52)	0,57 (0,31)	0,99 (0,001)	0,55 (0,30)	1,00

* p-valor

Essa grande influência da matéria orgânica está relacionada a uma porção da mesma denominada substâncias húmicas. Esta porção é caracterizada por agregados de substâncias orgânicas diversas, unidos entre si por ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas fracas, formando um arranjo supramolecular (Baldotto et al., 2014). Na solução do solo o 2,4-D, quando na forma aniônica, se estabiliza com grupos funcionais hidroxila e carboxila presentes nos ácidos húmicos, parte constituinte das substâncias húmicas (Dorado et al, 2003, Life & Vienna, 2007).

A argila devido a capacidade de troca catiônicas e pela alta superfície específica tem grande influência nos processos de sorção, diferente da areia que tem ausência de cargas. Isso explica a alta relação entre o Kf estimado e a argila, além da baixa relação entre o Kf e a areia. Boivin et al. (2005), estudando dois solos argilosos e um solo arenoso, chegou à conclusão que a sorção era maior nos solos argilosos e menor no solo arenoso que possuía baixos teores de matéria orgânica e argila, com uma porcentagem de 66% de areia. A argila possui grande influência pela presença de óxidos de ferro capazes de sorver herbicidas ácidos fracos (Clausen & Fabricius, 2001; Werner et al., 2013). Outra interação passível de ocorrência são as pontes de sal de Ca entre o 2,4-D e as argilas carregadas negativamente, ou, a matéria orgânica com cargas negativas (Life & Vienna, 2007, Spark & Swift, 2002).

Apesar dos resultados do ensaio biológico e cromatográfico diferirem na principal propriedade do solo responsável pela capacidade sorviva, é importante compreender que a

capacidade sortiva não depende somente de um componente do solo. A sorção do 2,4-D pela matéria orgânica não depende somente da quantidade total de carbono orgânico, mas também do conteúdo dessa matéria orgânica (Spark & Swift, 2002). A contribuição dos constituintes da argila na retenção de herbicidas pode ser dominante em baixas concentrações de matéria orgânica do solo (Villaverde et al., 2008). Isto pode ser visto no estudo por cromatografia no horizonte B onde a quantidade de matéria orgânica é baixa, todavia o valor obtido da sorção foi próximo ao valor encontrado no horizonte A, o qual apresentava alto teores de matéria orgânica.

Não foi possível determinar a dessorção pela metodologia proposta. O tempo de 24 horas pode não ter sido suficiente para drenar toda a solução usada na sorção. Além disso, associado a baixa capacidade do 2,4-D ser sorvido ao solo as leituras no cromatógrafo, no processo de dessorção, indicavam concentrações do herbicida acima da quantidade sorvida. Tal fato resultou em valores negativos de sorção do 2,4-D. Nesse sentido é necessária a adaptação de uma metodologia mais eficiente para determinação da dessorção de herbicidas com baixas capacidades sortivas.

CONCLUSÕES

O método biológico e o método cromatográfico, foram eficientes para estimar e quantificar a disponibilidade do 2,4-D na solução do solo.

A capacidade sortiva do 2,4-D é diferente entre os horizontes do perfil do Argissolo Vermelho-Amarelo, sendo influenciada pelos teores de argila e matéria orgânica.

A disponibilidade do 2,4-D na solução do solo é maior nos horizontes subsuperficiais do Argissolo Vermelho-Amarelo. Isto indica maior risco de contaminação ambiental quando aplicado em solos que têm baixa capacidade de retê-lo na camada superficial.

REFERÊNCIAS

- Amarante Jr. OP, Santos TCR, Brito NM, Ribeiro ML. Breve revisão de métodos de determinação de resíduos do herbicida ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D). *Química Nova*. 2003; 26(3): 223-29.
- Baldotto MA, Estrela L, Baldotto B. Ácidos húmicos Humic acids. *Revista Ceres*. 2014; 61: 856–81.
- Boivin A, Amellal S, Schiavon M, van Genuchten MTh. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) sorption and degradation dynamics in three agricultural soils. *Environmental Pollution*. 2005; 138(1): 92-9
- Clausen L e Fabricius I. Atrazine, Isoproturon, Mecoprop, 2,4-D, and Bentazone Adsorption onto Iron Oxides. *J. Environ. Qual*. 2001; 30: 858-869.
- Dorado J, Tinoco P, Almendros G. Soil Parameters Related with the Sorption of 2,4-D and Atrazine. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 2003; 34 (7): 1119-33.
- Grossmann, K. (2003). Mediation of Herbicide Effects by Hormone Interactions. *Journal of Plant Growth Regulation*. 2003; 22(1):109-22.
- Hance RJ. Herbicide usage and soil properties. *Plant Soil*. 1976; 45: 291-93.
- Hiller E, Krascenits Z, Cerňanský S. Sorption of Acetochlor, Atrazine, 2,4- D, Chlorotoluron, MCPA, and Trifluralin in Six Soils From Slovakia. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2008; 80: 412–16.
- Johnson RM, Thomas Sims J. Sorption of atrazine and dicamba in Delaware coastal plain soils: a comparison of soil thin layer and batch equilibrium results. *Pestic*. 1998; 54: 91-98.
- Koskinen WC, Harper SS. The retention process: mechanisms. In: Cheng HH. (Ed.) *Pesticides in the soil environment: processes, impacts, and modeling*. Soil Science Society of America, p. 51-77, 1990.
- Law SE. Agricultural electrostatic spray application: a review of significant research and development during de 20th century. *J. Electrostat*, 2001; 51: 25-42.
- Life A, Vienna S. Interaction of the 2,4-dichlorophenoxyacetic acid herbicide with soil organic matter moieties: a theoretical study. *European Journal of Soil Science*. 2007; 58: 889-99.

Osgerby JM. Processes Affecting Herbicide Action in Soil. *Pesticide Science*. 1973; 4 (2): 247-58.

Pazimoño DM, Romero-Puertas MC, Sandalio LM. Insights into the toxicity mechanism of and cell response to the herbicide 2,4-D in plants. *Plant Signaling & Behavior*. 2012; 7(3): 1-3.

Peruchi LM, Fostier AH, Rath S. Sorption of norfloxacin in soils: Analytical method, kinetics and Freundlich isotherms. *Chemosphere*. 2015; 17: 119-310.

Picton P, Farenhorst A. Factors Influencing 2,4-D Sorption and Mineralization in Soil Fatores que Influenciam a Sorção e Mineralização de 2,4-D no Solo. *J. of Environmental Science and Health*. 2004; 39 (3): 367-79.

Prado AGS, Vieira EM, Rezende MODO. Monitoring of the Harmful Concentrations of 2, 4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) in Soils with and without Organic Matter. 2001; 12(4): 485-88.

Queiroz ARS, Vidal RA. O desenvolvimento de culturas tolerantes ao herbicida diclorofenoxiacetato: revisão de literatura. *Planta daninha*. 2014; 32 (3): 649-54.

Seefeldt SS, Jensen SE, Fuerst EP. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationship. *Weed Technology*. 1995, 9 (1): 218-27.

Silva AA, Ferreira FA, Ferreira LR. Herbicidas: Classificação e Mecanismos de Ação. In: Silva AA, Silva JF. *Tópicos em Manejo de Plantas Daninhas*. Viçosa: Editora UFV, 2007. p. 83-148 (a).

Silva AA, D'Antonino L, Vivian R, Jr Oliveira RS. Comportamento de herbicidas no solo. In: Monquero PA. (Ed.). *Aspectos da Biologia e Manejo das Plantas Daninhas*. São Carlos: Rima, 2014. p. 165-216 (b).

Silva AA, Vivian R, Jr Rubem SO. Herbicidas: Comportamento no solo. In: Silva AA, Silva JF. *Tópicos em Manejo de Plantas Daninhas*. Viçosa: Editora UFV, 2007. 190-248 (b).

Spadotto CA, Matallo MB, Gomes MF. Sorção Do Herbicida 2,4-D Em Solos Brasileiros. *Pesticidas: R.Ecotoxicol. e Meio Ambiente*. 2003; 13: 103-10.

Spark KM, Swift RS. Effect of soil composition and dissolved organic matter on pesticide sorption. *The Science of the total environment*. 2002; 298: 147-61.

Villaverde J, Kah M, Brow DC. Adsorption and degradation of four acidic herbicides in soils from southern Spain. *Pest Management Science*. 2008; 64:703-10.

Werner D, Garratt JA e Pigott G. Sorption of 2,4-D and other phenoxy herbicides to soil, organic matter, and minerals. *J Soils Sediments*. 2013; 13: 129–139.

MEIA-VIDA DO 2,4-D EM HORIZONTES DE UM ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO

Resumo - Com a aprovação de culturas resistentes ao 2,4-D no Brasil espera-se rápido aumento do uso deste herbicida. Quando aplicado, as moléculas desse herbicida podem atingir o solo e serem lixiviadas para horizontes mais profundos. Em razão disso é de grande importância conhecer a cinética de degradação do 2,4-D nessas condições. Nesta pesquisa foi determinada a meia-vida do 2,4-D nos horizontes de um Argissolo Vermelho-Amarelo. Para isso, foram coletadas amostras de solo nos horizontes A B e C deste solo. Além disso, fez-se misturas das amostras dos horizontes AB ($1/4 A + 3/4B$) e ABC ($1/3$ de cada horizonte). O 2,4-D foi aplicado na superfície dos vasos contendo 300 g de cada substrato na dose de 1.340 g ha^{-1} . Estes vasos permaneceram em ambiente aberto. Aos 0, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 24, 32 e 48 dias após aplicação do herbicida, foram coletadas amostras dos substratos e armazenadas em freezer até ao momento da extração e análise cromatográfica. Antes dessa etapa foi desenvolvido e validado um protocolo para extração e quantificação do 2,4-D das amostras do solo. Constatou-se que a meia-vida do 2,4-D foi de 6, 40, 25, 15 e 8 dias, quando presente nas amostras dos horizontes A B, C, AB e ABC, respectivamente. A meia-vida é menor no horizonte A seguido dos substratos que apresentam parte desse horizonte. Isso foi atribuído em razão da possível maior quantidade e diversidade da microbiota presente no horizonte superficial deste solo, importante na degradação desse herbicida. Nos horizontes inferiores, o 2,4-D apresentou maior tempo de meia-vida, com maiores valores no horizonte B seguido do C. Atribuiu-se o resultado ao fato do horizonte C apresentar elevado teor de areia e baixo teor de argila e matéria orgânica, o que pode ter favorecido a volatilização do herbicida. Conclui-se que a meia-vida do herbicida 2,4-D é maior nos horizontes mais profundos do Argissolo Vermelho-Amarelo.

Palavras-chave: Persistência. Cinética de degradação. Metodologia extração 2,4-D. Impacto ambiental.

2,4-D HALF-LIFE IN HORIZONS OF A RED-YELLOW ARGISOL

Abstract - With the approval of cultures resistant to 2,4-D in Brazil, a rapid increase in the use of this herbicide is expected. When applied, the molecules of this herbicide can reach the soil and be leached to deeper horizons. As a result, it is very important to know the degradation kinetics of 2,4-D under these conditions. In this research, the half-life of 2,4-D was determined in the horizons of a Red-Yellow Argisol. For this purpose, soil samples were collected from horizons A B and C of this soil. In addition, mixtures of AB ($1/4$ A + $3/4$ B) and ABC ($1/3$ of each horizon) were used. 2,4-D was designed on the surface of pots containing 300 g of each substrate at a dose of 1,340 g ha⁻¹. These vessels will remain in an open environment. At 0, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 24, 32 and 48 days after application of the herbicide, they were collected from the substrates and stored in a freezer until the time of extraction and chromatographic analysis. Before this stage, a protocol for the extraction and quantification of 2,4-D from soil accounts was developed and validated. It was found that the half-life of 2,4-D was 6, 40, 25, 15 and 8 days, when present in horizons A B, C, AB and ABC, respectively. The half-life is shorter on horizon A followed by substrates that have part of that horizon. This was attributed due to the possible greater quantity and diversity of the microbiota present in the superficial horizon of this soil, important in the degradation of this herbicide. In the lower horizons, 2,4-D has a longer half-life, with higher values on horizon B followed by C. The result was attributed to the fact that horizon C has a high content of sand and a low content of clay and matter organic, which may have favored the volatilization of the herbicide. It is concluded that the half-life of the herbicide 2,4-D is greater in the deeper horizons of the Red-Yellow Argisol.

Keywords: Persistence. Degradation kinetics. 2,4-D Extraction methodology. Environmental impact.

INTRODUÇÃO

O 2,4-D é um dos herbicidas mais antigos utilizados no controle de plantas daninhas em pós-emergência. Apesar de seu grande auxílio na produção, se manejado de forma incorreta pode gerar contaminação ambiental pelos resíduos que permanecem no solo. Um dos parâmetros utilizados na avaliação da permanência desses compostos no ambiente é a meia-vida, definida como o tempo necessário para que ocorra dissipação de 50% da quantidade inicial aplicada (Silva et al., 2007)

O tempo necessário para degradação de um herbicida é influenciado por vários fatores. A sorção do herbicida pode interferir por reduzir sua participação na fase líquida do solo, o que o torna menos acessível aos microrganismos (Guo et al., 2000). Esses organismos têm grande influência na dissipação de herbicidas no ambiente por utilizarem esses compostos como fonte de energia (Boivin et al., 2005; Huang et al., 2017). As condições climáticas também influenciam na degradação do herbicida, temperaturas mais altas podem favorecer esse processo (Conklin & Lym, 2013).

A meia-vida é muito importante do ponto de vista agrônômico nos herbicidas que são aplicados diretamente sobre o solo no controle em pré-emergência de plantas daninhas. Saber o tempo que um herbicida permanece no solo auxilia o manejo, pois permite estimar o período em que o controle ainda é ativo, manejando assim as outras aplicações. Determinar a meia-vida também reduz problemas de carryover, intoxicação da cultura seguinte por resíduos do herbicida, pois pode-se evitar a utilização de herbicidas de longo período residual para culturas anuais e de ciclo curto (Cobucci et al., 1998; Rector et al., 2020).

Ambientalmente, determinar a meia-vida de um composto permite avaliar o risco de contaminação ambiental, pois quanto mais tempo um herbicida permanece no ambiente maior o risco desse produto lixiviar e atingir camadas inferiores (Cerdeira et al., 2007; Qian et al., 2017). Ao longo do perfil, as características do solo como teor de matéria orgânica, textura, fertilidade e aeração são diferentes (Bhattarai et al., 2015). Esses fatores interferem na diversidade e na quantidade de microrganismos, importantes na degradação de produtos químicos. Sendo assim a meia-vida do 2,4-D pode ser alterada quando lixiviado, aumentando a possibilidade desse herbicida atingir corpos d'água subterrâneos. A partir disso, este estudo tem por objetivo determinar a meia-vida do 2,4-D em amostras de solo de diferentes horizontes de um Argissolo Vermelho-Amarelo.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e preparo das amostras

O experimento foi realizado utilizando amostras de solo dos diferentes horizontes de um Argissolo Vermelho-Amarelo, coletadas no município de Viçosa-MG, Brasil (Figura 1). A distinção foi realizada de forma visual e analisando as características de cada perfil.

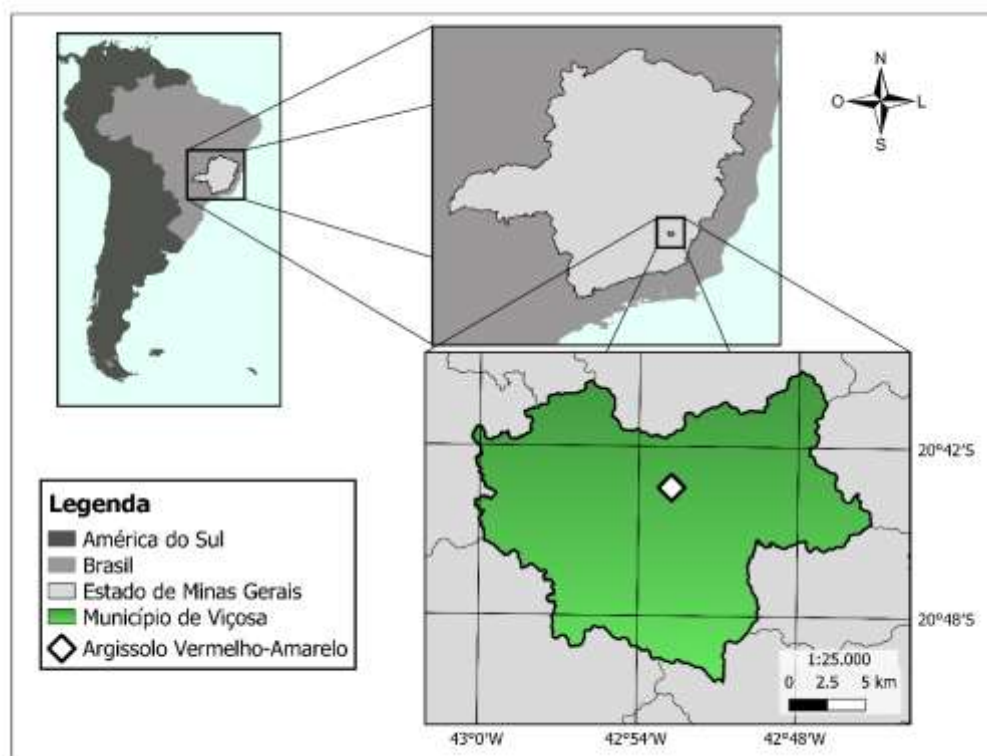


Figura 7. Localização do Argissolo Vermelho-amarelo (LVA) coletado no Município de Viçosa-MG.

Os horizontes coletados foram secos a sombra e peneirados em malha de 4 mm com intuito de retirar restos culturais e homogeneizar as amostras. Para mais informações foram utilizados além dos horizontes A (Hor A), B (Hor B) e C (Hor C) as misturas entre os horizontes A e B (Hor AB) na proporção de $\frac{1}{4}$ e $\frac{3}{4}$ de cada horizonte, respectivamente e a mistura de todos os horizontes (Hor ABC) com $\frac{1}{3}$ de cada. Cada horizonte e mistura foram submetidos a análise química e física do solo (Tabela 1).

Tabela 7. Análise química e física da areia e das amostras dos horizontes A (Hor A), B (Hor B), C (Hor C) e das misturas dos horizontes A e B (Hor AB) e dos horizontes A, B e C (Hor ABC) de um Argissolo Vermelho-Amarelo.

Solos	pH	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	t	V	m	MO
	H ₂ O	cmol/dm ³			----- Cmol _c dm ³ -----				----- % -----		
Hor A	5,93	45,6	51	8,79	1,93	0	2,8	10,85	79,5	0	6,01
Hor B	5,92	1,9	10	0,92	0,38	0	1,6	1,33	45,4	0	0,64
Hor C	5,1	2,4	16	0,34	0,31	0	0,5	0,69	58	0	0,13
Hor AB	5,35	5,6	20	2,34	0,69	0	2	3,08	60,6	0	1,54
Hor ABC	5,46	10,2	24	3,3	0,89	0	1,8	4,25	70,2	0	1,92
	A. grossa		A. fina		Silte		Argila		Classe textural		
Hor A	6		7		23		66		Muito argilosa		
Hor B	0		3		36		60		Muito argilosa		
Hor C	30		44		23		30		F.Argilo-Arenosa		
Hor AB	25		4		35		58		Argila		
Hor ABC	29		7		18		46		Argila		

Para determinação da meia-vida do herbicida 2,4-D, foram utilizados vasos plásticos com capacidade de 0,5 L preenchidos com 0,3 dm³ de solo. Depois foi realizada aplicação de 1.340 g de e.a. ha⁻¹ do 2,4-D na superfície do solo, com auxílio de um pulverizador pressurizado a CO₂ equipado com dois bicos TT 11002, espaçados de 0,50 m, mantidos à pressão de 25 lb pol⁻² e volume de calda de 150L ha⁻¹.

Após essa etapa os vasos foram mantidos em ambiente aberto sujeitos as condições climáticas (Figura 2). Para determinação da meia-vida foram realizadas 10 coletas, nos dias 0, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 24, 32 e 48 após a aplicação do herbicida. O solo coletado para posterior análise era mantido fechado hermeticamente e refrigerado a -20 °C.

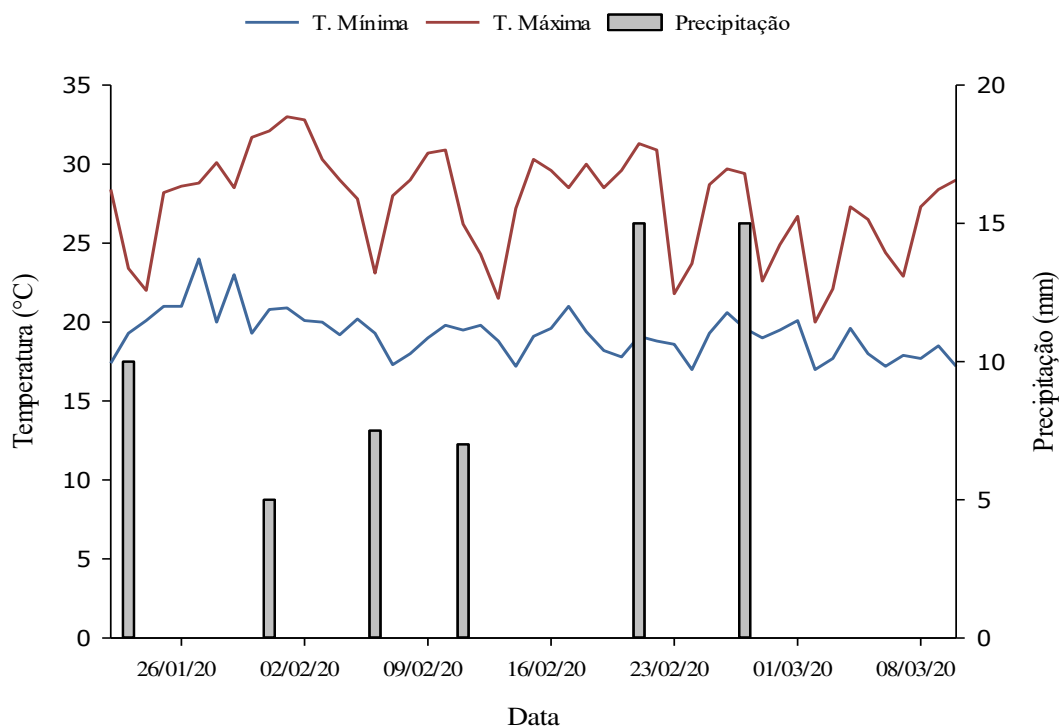


Figura 8. Distribuição de precipitações pluviais, temperaturas máximas e mínimas diárias registradas no local e período do experimento de meia-vida do 2,4-D.

Método de extração

As extrações do herbicida nas amostras de solo foram realizadas por otimização do método de extração sólido líquido proposto por Assis (2011). Em tubos falcon foram pesadas 5g de solo das amostras armazenadas e adicionados 20 mL de solução de KCl 0,5 mol L⁻¹ corrigida para pH 7 com solução de NaHO 0,1 mol L⁻¹. Depois os tubos foram colocados em agitação vertical por 1h, e centrifugados por 7 min a 3500 rpm. O sobrenadante obtido foi retirado e filtrado em membrana PTFE (0,45 µm de poro) e posteriormente analisada por CLAE.

As condições cromatográficas para determinação e quantificação do 2,4-D nos horizontes e misturas do Argissolo Vermelho-Amarelo teve como fase móvel solução de acetonitrila: água (acidificada 0,01% v/v de ácido ortofosfórico) a uma proporção de 48:52. A temperatura do forno foi de 30 °C, comprimento de onda de 240 nm, volume injetado de 40 µL e fluxo de 1 ml min⁻¹.

Validação do método de extração

A validação do método de extração foi baseada nos parâmetros de seletividade, linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão, seguindo as orientações propostas por métodos nacionais de ensaios químicos (ANVISA, 2017; INMETRO, 2018).

A seletividade foi avaliada comparando os resultados dos cromatogramas dos extratos obtidos após a metodologia de extração ser aplicada nos horizontes e misturas com e sem a presença de herbicida, fortificados na concentração de 2 mg/Kg.

A linearidade foi obtida fortificando amostras isentas de herbicida de cada horizonte e misturas em triplicata com concentrações crescentes, 0,05; 0,10; 0,25; 0,50; 1,00; 2,00; 4,00. Após isso, foi realizada a metodologia de extração e determinada a concentração nos extratos para criação das curvas e avaliação dos R^2 .

Os limites de detecção e quantificação foram determinados pela comparação dos sinais medidos das amostras com baixa concentração conhecidas do analito e dos ruídos dos brancos das amostras. Assim, definiu-se a concentração mínima que o analito poderia ser detectado com segurança em uma relação sinal/ruído de 3:1 e sua quantificação com segurança numa relação sinal/ruído de 10:1.

A exatidão foi determinada fortificando as amostras de solo dos horizontes e misturas com dose baixa, média e alta, nos valores de 0,5; 2,0 e 4,0 mg kg⁻¹, e avaliando o quanto foi possível recuperar pelo método de extração.

A precisão foi determinada em termos de repetitividade onde se avaliou o coeficiente de variação de 3 doses do extrato correspondente a 0,5; 2,0 e 4,0 mg kg⁻¹ em todos os horizontes e misturas avaliados.

Determinação da meia-vida

Foram submetidas a extração pelo método proposto as amostras dos substratos coletados nas diferentes épocas. Os extratos obtidos foram quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência. Com os dados obtidos foi calculada a meia-vida do 2,4-D para cada horizonte e mistura analisados, utilizando o modelo:

$$C_t = C_o * e^{-kt}$$

No qual C_t é a concentração no tempo, C_o a concentração inicial e k a constante de degradação

Determinação do índice de GUS

Para avaliar o potencial risco de contaminação ambiental foi determinado o índice de GUS, por meio da equação:

$$GUS = \log t^{1/2} * (4 - \log K_{oc})$$

Onde $t^{1/2}$ é a meia-vida e o K_{oc} é o coeficiente de sorção normalizado para o teor de carbono orgânico. Calculado na equação:

$$K_{oc} = \frac{100 K_d}{f_{oc}}$$

No lugar de K_d foi utilizado K_f determinado em estudos de sorção do 2,4-D nas mesmas amostras de solo desta pesquisa, o f_{oc} indica a porcentagem de matéria orgânica no solo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tempo de corrida foi de 12 min, o tempo de retenção do 2,4-D nas condições utilizadas foi de 9,3 min. As condições cromatográficas foram seletivas para o 2,4-D, como pode ser observado na comparação dos cromatogramas da matriz do solo com e sem a presença do herbicida, onde no tempo de retenção registrado não foram observados interferentes que prejudicassem a identificação do pico cromatográfico do 2,4-D (Figura 3).

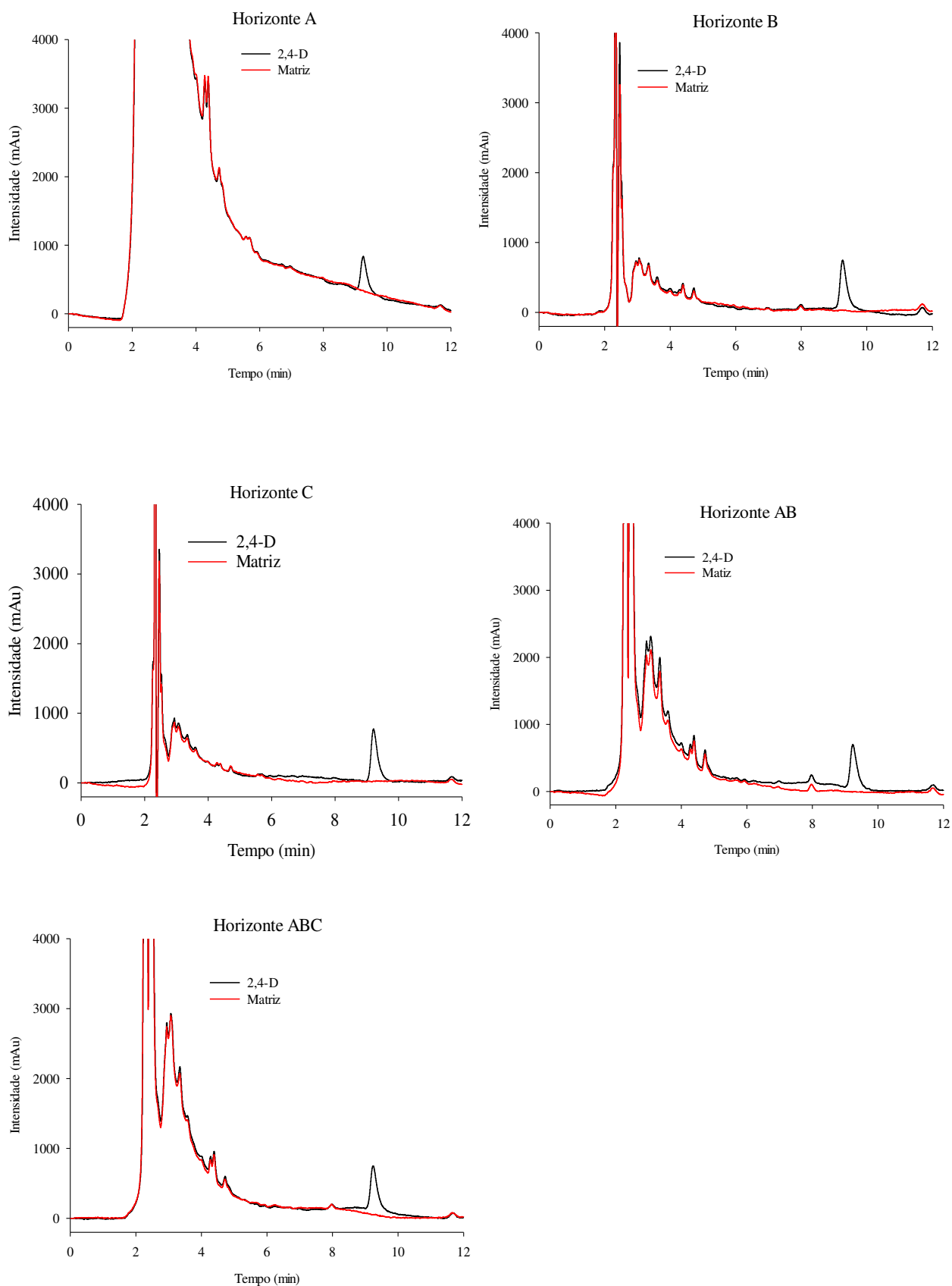


Figura 3. Cromatogramas dos horizontes A (Hor A), B (Hor B), C (Hor C) e das misturas dos horizontes A e B (Hor AB) e dos horizontes A, B e C (Hor ABC) de um Argissolo Vermelho-Amarelo após o método de extração com e sem a presença de herbicida.

A linearidade da reposta nas faixas de trabalho foi de 0,05 a 6,00 mg kg⁻¹ com valores de R² acima de 0,990 demonstrando um bom ajuste linear para todos os substratos analisados (Tabela 2).

Tabela 8. Equação de linearidade e R² para 2,4-D nos horizontes Hor A, Hor B e Hor C e misturas Hor AB Hor ABC de um Argissolo Vermelho-Amarelo

Horizonte / Mistura	Equação	R ²
A	$\hat{Y} = 3756,0686 * x - 308,0441$	0,9960
B	$\hat{Y} = 4656,8291 * x - 385,7405$	0,9968
C	$\hat{Y} = 5301,9663 * x - 367,1248$	0,9975
AB	$\hat{Y} = 4552,9137 * x - 362,4792$	0,9967
ABC	$\hat{Y} = 4825,0467 * x - 353,1019$	0,9941

Na imagem abaixo estão representados graficamente as curvas de regressão para cada horizonte e mistura (Figura 4). A linearidade do método dentro da faixa estudada está adequada, pois os resíduos se apresentaram de forma aleatória (Figura 5).

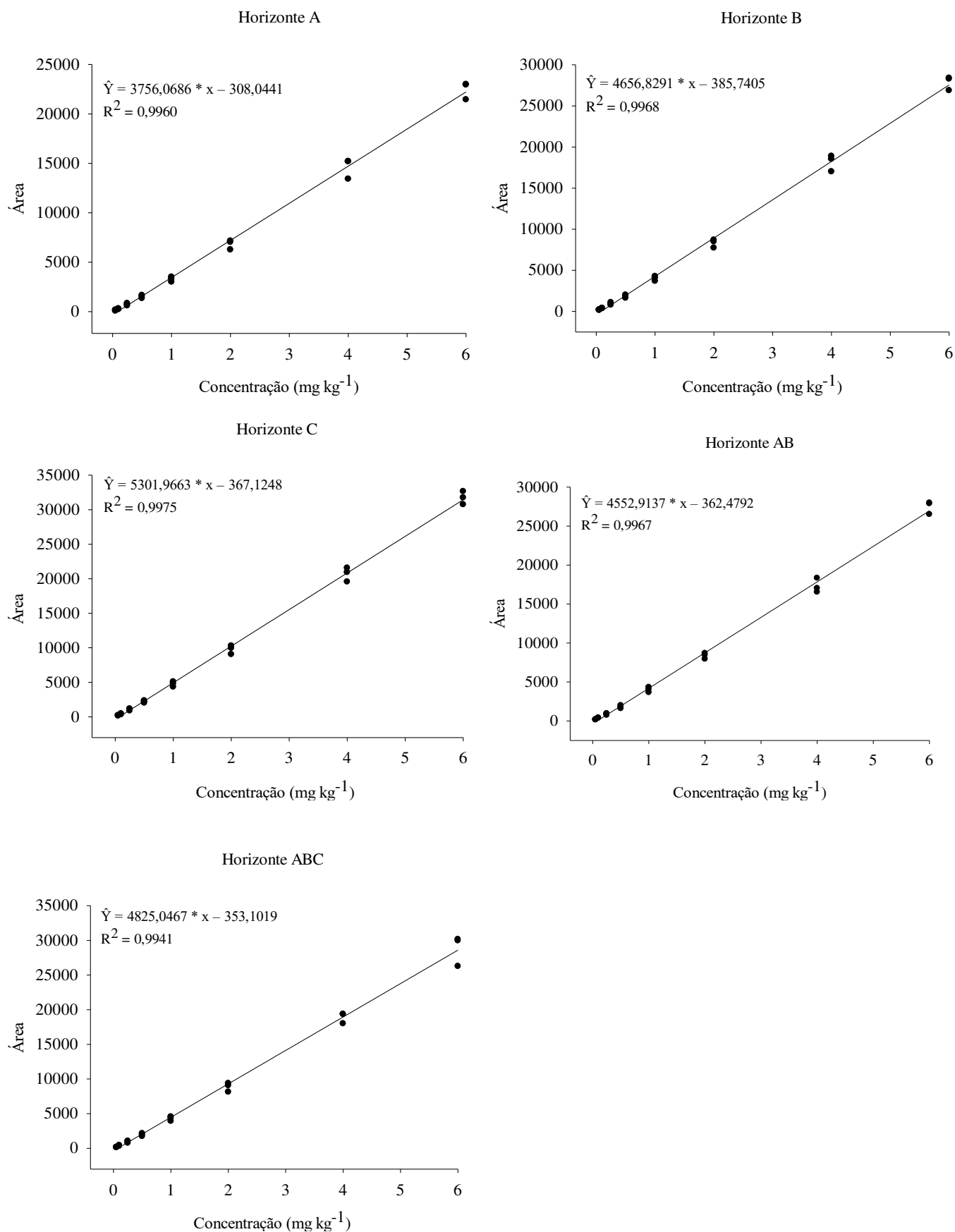


Figura 4. Linearidade do método de extração por cromatografia líquida de alta eficiência para 2,4-D nos horizontes A (Hor A), Hor B e Hor C e misturas dos horizontes A e B (Hor AB) e A, B e C (Hor ABC) de um Argissolo Vermelho-Amarelo.

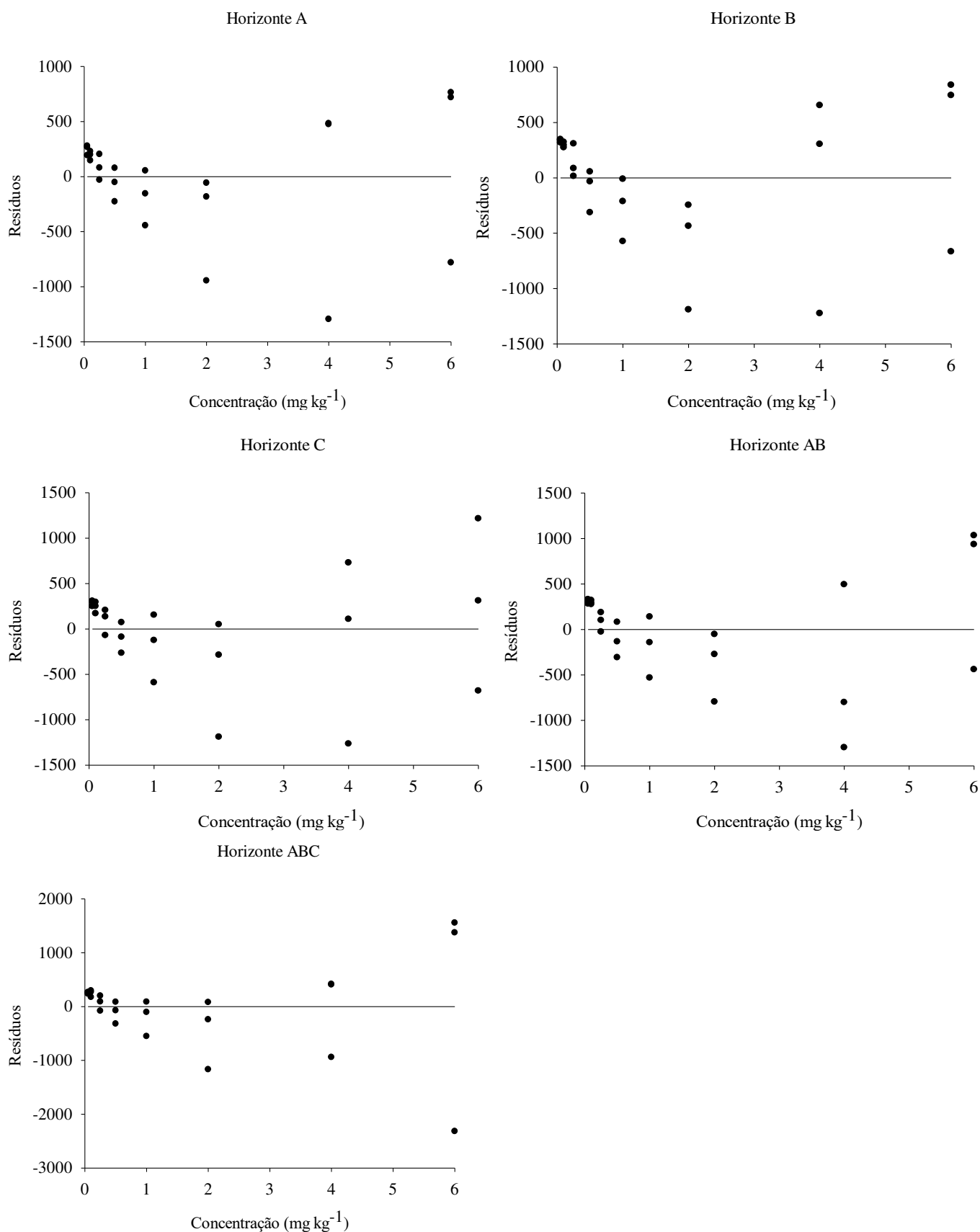


Figura 5. Dispersão de resíduos da regressão da resposta analítica em função da concentração do 2,4-D nos horizontes A (Hor A), Hor B e Hor C e misturas dos horizontes A e B (Hor AB) e A, B e C (Hor ABC) de um Argissolo-Vermelho Amarelo.

Os limites de detecção e quantificação de cada horizonte e mistura variaram de 0,08 a 0,11 mg kg⁻¹ e de 0,11 a 0,18 mg kg⁻¹, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 9. Limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) para o para o 2,4-D nos horizontes A (Hor A), Hor B e Hor C e misturas dos horizontes A e B (Hor AB) e A, B e C (Hor ABC) de um Argissolo Vermelho-Amarelo.

Horizonte	Limite de detecção (mg kg ⁻¹)	Limite de quantificação (mg kg ⁻¹)
A	0,11	0,18
B	0,11	0,18
C	0,08	0,11
AB	0,09	0,15
ABC	0,11	0,18

O teste de exatidão avaliou a quantidade de 2,4-D recuperado, após a fortificação das amostras com três concentrações e extração pelo método, sendo a porcentagem de recuperação entre 93,88 a 111,66 valores dentro do estabelecido para validação do teste de 70 a 120 % (Tabela 4).

Tabela 10. Nível de fortificação, dose recuperada e porcentagens de recuperação do 2,4-D após extração para os nos horizontes A (Hor A), Hor B e Hor C e misturas dos horizontes A e B (Hor AB) e A, B e C (Hor ABC) de um Argissolo Vermelho-Amarelo.

Horizonte	Dose aplicada	Dose Recuperada	% Recuperação
A	0,5	0,50	99,49
	2	2,02	101,21
	4	4,47	111,66
B	0,5	0,47	94,76
	2	2,01	100,52
	4	4,37	109,35
C	0,5	0,47	93,88
	2	1,93	96,47
	4	4,15	103,84
AB	0,5	0,48	95,02
	2	2,02	100,93
	4	4,38	109,56
ABC	0,5	0,47	94,36
	2	2,14	106,89
	4	4,47	111,78

A precisão foi realizada avaliando os desvios padrões em razão da concentração média determinada e expressa em porcentagem. Os valores estão bem abaixo dos estabelecidos pelo INMETRO de no máximo 20% de desvio padrão relativo (Tabela 5).

Tabela 11. Nível de fortificação, dose recuperada, desvio padrão e desvio padrão relativo do 2,4-D após extração nos horizontes A (Hor A), Hor B e Hor C e misturas dos horizontes A e B (Hor AB) e A, B e C (Hor ABC) de um Argissolo Vermelho-Amarelo.

Horizonte	Dose aplicada	Dose extraída	DP	DP Relativo %
A	0,5	0,50	0,00	0,88
	2	2,02	0,03	1,63
	4	4,47	0,29	6,58
B	0,5	0,48	0,02	3,47
	2	2,02	0,05	2,60
	4	4,38	0,02	0,40
C	0,5	0,47	0,03	5,88
	2	2,14	0,19	8,90
	4	4,47	0,06	1,42
AB	0,5	0,47	0,02	3,89
	2	2,01	0,04	2,14
	4	4,37	0,08	1,73
ABC	0,5	0,47	0,02	3,45
	2	1,93	0,06	3,21
	4	4,15	0,10	2,30

A validação do teste demonstra que a metodologia utilizada é adequada para quantificação do herbicida 2,4-D nas amostras de solo. A partir disso, foram realizadas extrações do 2,4-D nos horizontes e misturas de horizontes do Argissolo-Vermelho Amarelo. As curvas de regressão da concentração do 2,4-D nas amostras de solo em função do tempo estão representadas na figura 6.

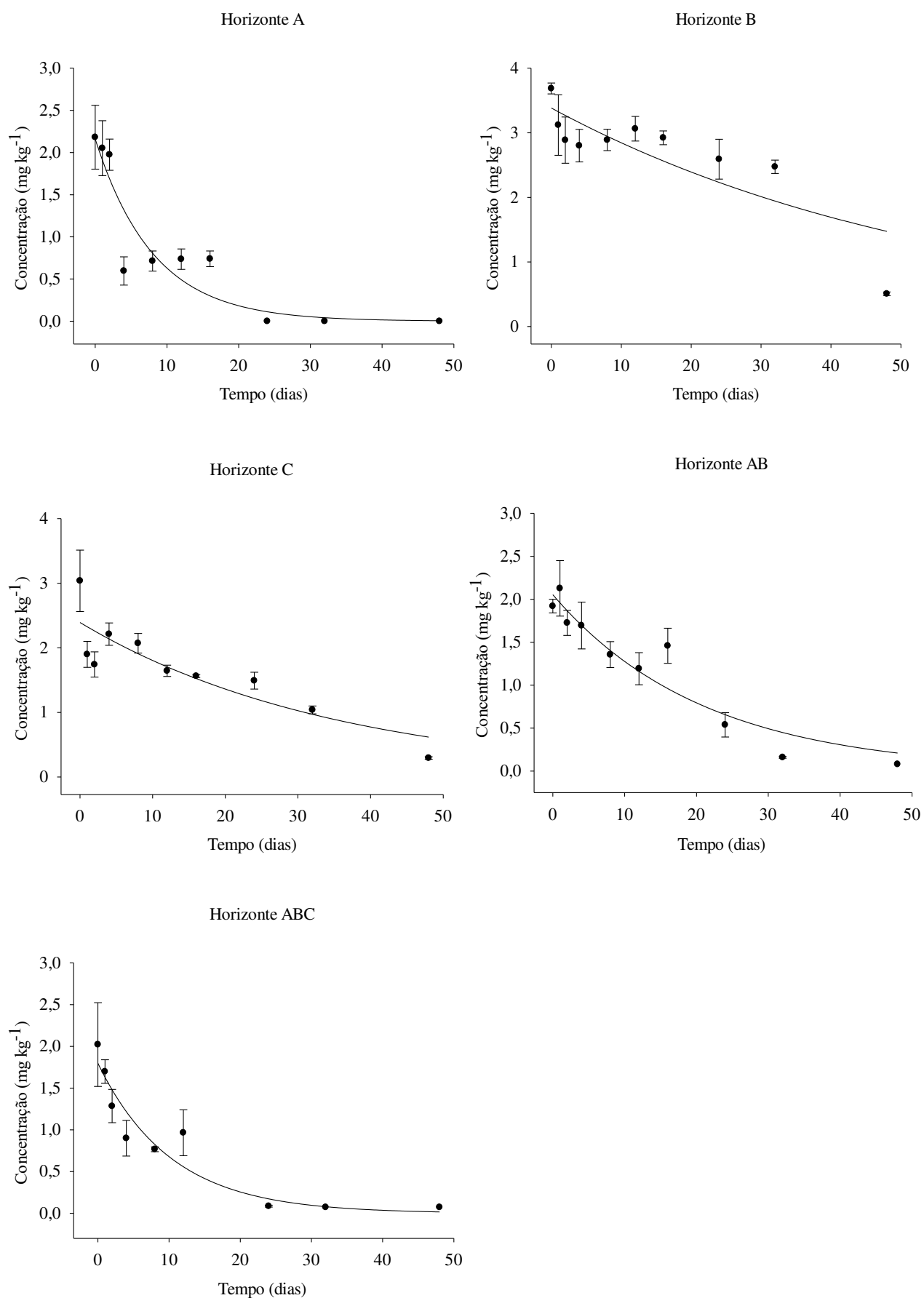


Figura 6. Comportamento da concentração de 2,4-D, após aplicação de 1.340 g e.a ha⁻¹, em função do tempo, nos horizontes A (Hor A), Hor B e Hor C e misturas dos horizontes A e B (Hor AB) e A, B e C (Hor ABC).

A meia vida foi menor na seguinte ordem dos horizontes e misturas A, ABC, AB, C e B (Tabela 6). O menor valor de meia-vida no horizonte A pode estar relacionada a maior microbiota presente nesta camada do solo, comparado aos outros horizontes (Bhattarai et al., 2015). Diversas espécies e consórcios microbianos tem capacidade para degradar herbicidas após exposição ao um longo tempo, desempenhando papéis-chave na biodegração de um herbicida (Huang et al ,2017). Essa possível degradação pode também ter influenciado a degradação na mistura AB e ABC, devido a presença de porcentagens do horizonte A, sendo uma maior porcentagem na mistura ABC.

Tabela 12. Equação de regressão, R² e meia-vida do 2,4-D nos horizontes A (Hor A), Hor B e Hor C e misturas dos horizontes A e B (Hor AB) e A, B e C (Hor ABC) de um Argissolo Vermelho-Amarelo.

Horizonte	Equação	R ²	Meia-vida
A	$y = 2,1621 * \exp^{(-0,1233*x)}$	0,87	6
B	$y = 3,3838 * \exp^{(-0,0173*x)}$	0,68	40
C	$y = 2,3928 * \exp^{(-0,0282*x)}$	0,76	25
AB	$y = 2,0532 * \exp^{(-0,0475*x)}$	0,90	15
ABC	$y = 2,0532 * \exp^{(-0,0475*x)}$	0,91	8

No horizonte B pode ter ocorrido o oposto do primeiro horizonte. Devido a sua profundidade, existe menor diversidade e quantidade de microrganismos, fazendo com que a degradação fosse menor e prolongando o tempo de meia-vida do herbicida (Vanderheyden et al., 1997). A sorção no horizonte B pode ter contribuído, pois 2,4-d se degrada de forma distinta na fase líquida e na fase sorvida, sendo a última mais lenta. Os produtos químicos sorvidos são geralmente considerados menos acessíveis aos microrganismos, que preferencialmente ou exclusivamente utilizam moléculas em solução (Guo et al. 2000).

No horizonte C esperava-se que o valor de meia-vida fosse maior que do horizonte B devido a sua profundidade, mas isso não ocorreu. O menor valor de meia-vida no horizonte C, pode estar relacionado aos baixos teores de matéria orgânica e alto teores de areia que reduziram a sorção do herbicida como determinado em estudos de sorção do 2,4-D nas mesmas amostras de solo desta pesquisa no ensaio de sorção. O herbicida disponível na solução do solo

pode ter sofrido volatilização. Esse processo é intensificado em solos arenosos, com baixos teores de matéria orgânica, umidade próxima da capacidade de campo, dias de alta insolação, presença de vento e baixa umidade relativa do ar, durante o período que os vasos permaneceram em ambiente aberto vários desses processos podem ter acontecido (Figura 2) (Gleber & Spadotto, 2004).

Para estimar o risco de contaminação do 2,4-D foi calculado o índice de GUS (Groundwater Ubiquity Score) capaz de classificar o potencial de lixiviação de um herbicida com base em sua persistência (como $t_{1/2}$) e mobilidade (como KOC). Valores de GUS menores que 1,8 os herbicidas são consideráveis não lixiviáveis, entre 1,8 e 2,8 potencial lixiviador intermediário e acima de 2,8 representam produtos lixiviáveis. No horizonte A o herbicida 2,4-D não é considerado um produto capaz de lixiviar, nos demais horizontes tem potencial intermediário de lixiviação (Tabela 7).

Tabela 13. Índice GUS (Groundwater Ubiquity Score) e classificação do potencial de lixiviação do 2,4-D para horizontes A (Hor A), Hor B e Hor C e misturas dos horizontes A e B (Hor AB) e A, B e C (Hor ABC) de um Argissolo Vermelho-Amarelo.

Solo	GUS	Potencial de lixiviação
Hor A	1,60	Não-lixiviado
Hor B	1,90	Lixiviador intermediário
Hor C	2,34	Lixiviador intermediário
Hor AB	1,91	Lixiviador intermediário
Hor ABC	2,09	Lixiviador intermediário

A classificação com não-lixiviado no horizonte A ocorre devido ao curto período de meia vida, associado a maior capacidade sortiva do 2,4-D nesse horizonte. Diferente dos outros horizontes, que possuem assim um risco maior de lixiviação.

CONCLUSÕES

A meia-vida do 2,4-D é menor no horizonte A do Argissolo Vermelho-Amarelo seguido dos substratos que apresentam partes desse horizonte. Nos horizontes inferiores, o 2,4-D apresentou maior tempo de meia-vida, com maiores valores no horizonte B seguido do C. Pode-se afirmar que a meia-vida do herbicida é influenciada pelas características de cada horizonte.

O Índice de GUS mostra que o potencial de lixiviação do 2,4-D aumenta nos horizontes mais profundos do solo. Assim, o herbicida lixiviado a camadas mais profundas do perfil aumenta o potencial de contaminação de águas subterrâneas.

REFERÊNCIAS

- ANVISA. (2017). Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Resolução n. 166. Brasil: ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
- Assis EC, Silva AA, Barbosa LC, Queiroz MELR, D'Antonino L e Gonçalves VA. Optimization and validation of the solid-liquid extraction technique for determination of picloram in soils by high performance liquid chromatography. *Planta Daninha*. 2011; 29 (3), 683-96.
- Bhattacharai A, Bhattacharai B, Pandey S. Variation of soil microbial population in different soil horizons. *J Microbiol Exp*. 2015; 2(2): 75-78.
- Bhattacharai A, Bhattacharai B, Pandey S. Variation of soil microbial population in different soil horizons. *J Microbiol Exp*. 2015; 2 (2):75-78.
- Cerdeira AL, Desouza MD, Queiroz SCN, Ferracini VL, Bolonhezi D, Gomes MAF, et al. Leaching and half-life of the herbicide tebuthiuron on a recharge area of Guarany aquifer in sugarcane fields in Brazil. *Journal of Environmental Science and Health B*. 2007; 42 (6): 635-39.
- Cobucci T, Prates HT, Falcão CLM, Rezende MMV. Effect of imazamox, fomesafen, and acifluorfen soil residue on rotational crops. *Weed Science*. 1998; 46 (2): 258-63.
- Conklin KL e Lym RG. Effect of temperature and moisture on aminocyclopyrachlor soil half-life. *Weed Tecchology*. 2013; 27(3): 552-556
- Fu F, Xiao L, Wang W, Xu X, Xu L, Qi G, et al. Study on the degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and 2-methyl-4-chloro-phenoxyacetic sodium (MCPA sodium) in natural agriculture-soils of Fuzhou, China using capillary electrophoresis. *Science of the Total Environment*. 2009; 407 (6): 1998-2003.
- Gebler L, Spadotto CA. Comportamento ambiental dos herbicidas. In: Vargas L, Roman ES. *Manual de manejo e controle de plantas daninhas*. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2004; 57-87.
- Gustafson DI. Groundwater ubiquity score: a simple method for assessing pesticide leachability. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1989; 8 (4): 339-57.

Huang X, He J, Yan X, Chen K, Zhang L, Liu X, et al. Microbial catabolism of chemical herbicides: Microbial resources, metabolic pathways and catabolic genes. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2017; 143:272-97.

IMETRO. (2018). Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos. DOC-CGCRE-008. IMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade industrial.

Law SE. Agricultural electrostatic spray application: a review of significant research and development during de 20th century. *J. Electrostat*, 2001; 51: 25-42.

Lei Guo, William A Jury, Robert J Wagenet, Markus Flury, Dependence of pesticide degradation on sorption: nonequilibrium model and application to soil reactors, *Journal of Contaminant Hydrology*. 2000; 43 (1): 45-62.

Qian Y, Matsumoto H, Liu X, Li S, Liang X, Liu Y, Zhu G, Wang M. Dissipation, occurrence and risk assessment of a phenylurea herbicide tebuthiuron in sugarcane and aquatic ecosystems in South China. *Environ Pollut*. 2017; 227: 389-396.

Rector L, Pittman K, Beam S, Bamber K, Cahoon C, Frame W, et al. Herbicide carryover to various fall-planted cover crop species. *Weed Technology*. 2020; 34 (1): 25-34.

Silva AA, Vivian R, Jr Rubem SO. Herbicidas: Comportamento no solo. In: Silva AA, Silva JF. *Tópicos em Manejo de Plantas Daninhas*. Viçosa: Editora UFV, 2007. 190-248.

Vanderheyden V, Debongnie P, Pussemier L. Accelerated Degradation and Mineralization of Atrazine in Surface and Subsurface Soil Materials. *Pestic. Sci*. 1997; 49: 237-242

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nessa dissertação utilizando métodos biológicos e químicos (cromatografia líquida de alta eficiência-CLAE) foi estudada a dinâmica do 2,4-D no perfil de um Argissolo Vermelho-Amarelo.

Constatou-se que a sorção do 2,4-D variou entre os horizontes, sendo menor nas camadas subsuperficiais; onde os teores de argila e matéria orgânica eram mais baixos em relação às camadas superiores. Quanto a persistência (meia-vida) do 2,4-D esta foi menor no horizonte A seguido dos substratos que apresentam mistura com esse horizonte. Uma das hipóteses para constatação seria maior quantidade e diversidade da microbiota na camada superficial do solo, atributo importante na degradação de herbicidas (Bhattarai et al., 2015; Huang et al., 2017).

Constatou-se, também, que o potencial de contaminação de águas subterrâneas do 2,4-D, estimado pelo índice de GUS (Gustafson, 1989) são alterados quando este herbicida é lixiviado para camadas mais profundas do solo. Considerando que o 2,4-D será aplicado em extensas áreas em solos com diferentes atributos, é muito importante que antes que se faça as aplicações conhecer a sorção e a persistência do 2,4-D nestes solos. Em razão disso, acredito que os resultados dessa pesquisa, trarão grande contribuição para o avanço da ciência das Plantas Daninhas.