

ANA BEATRIZ ROCHA DE JESUS PASSOS

**ATRIBUTOS DO SOLO E PRÁTICAS CULTURAIS QUE INFLUENCIAM NO
COMPORTAMENTO DO PICLORAM NO AMBIENTE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2015

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

P289a
2015

Passos, Ana Beatriz Rocha de Jesus, 1986-
Atributos do solo e práticas culturais que influenciam
no comportamento do picloram no ambiente :
Comportamento do picloram no ambiente / Ana Beatriz
Rocha de Jesus Passos. - Viçosa, MG, 2015.
xi, 55f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador : Antonio Alberto da Silva.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Herbicida. 2. Solos - Poluição. 3. Solos - Movimento
de herbicidas. 4. Impacto ambiental. 5. Cromatografia
líquida. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Química. Programa de Pós-graduação em Agroquímica.
II. Título.

CDD 22. ed.632.954

ANA BEATRIZ ROCHA DE JESUS PASSOS

**ATRIBUTOS DO SOLO E PRÁTICAS CULTURAIS QUE INFLUENCIAM NO
COMPORTAMENTO DO PICLORAM NO AMBIENTE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 19 de fevereiro de 2015.

Prof.^a Renata Pereira Lopes Moreira

Prof.º Cláudio Ferreira Lima

Prof.º José Barbosa dos Santos

Prof.º Francisco Cláudio
Lopes de Freitas

Prof.º Antonio Alberto da Silva
(Orientador)

*À Deus, aos meus pais, Naylê e
Horlin, à minha irmã Mariana e ao
meu namorado Daniel.*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus por me abençoar e iluminar e me dar sabedoria para concluir esta etapa da minha vida.

Aos meus pais, Naylê e Horlin, pelo amor e incentivo, sem os quais não teria chegado até aqui.

À minha irmã, Mariana pela companhia e carinho.

Ao meu namorado Daniel pela grande contribuição neste trabalho, mas principalmente pelo amor, carinho e paciência.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Química, pela oportunidade de realizar mais este trabalho.

Ao professor Antonio Alberto da Silva pela orientação, pelos ensinamentos e confiança.

À professora Maria Eliana pelos aconselhamentos e ensinamentos.

Ao Leonardo D'Antonino, aos professores Marcelo Rodrigues Reis, José Barbosa dos Santos, Francisco Cláudio L. de Freitas, Cláudio F. Lima e professora Renata Pereira L. Moreira pelas valiosas sugestões.

Ao professor Carlos Eduardo M. dos Santos pela ajuda nas análises estatísticas.

À toda equipe de Manejo Integrado de Plantas Daninhas pelos anos de convívio e amizade. Aos estagiários, em especial ao Matheus e Douglas, pela ajuda na condução dos experimentos.

Aos meus amigos de Viçosa pela grande amizade.

Às minhas cadelas, Lila e Pitucha, por tornarem meus dias mais felizes.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

À FAPEMIG e ao CNPq pelo apoio financeiro.

À todos que de alguma forma contribuíram para a realização este trabalho.

Obrigada!

BIOGRAFIA

ANA BEATRIZ ROCHA DE JESUS PASSOS, filha de Naylê Maria Rocha de Jesus Passos e Horlin Amorim Passos, nasceu em São José dos Campos, São Paulo, em 06 de novembro de 1986.

Iniciou o curso de Química em 2005, na Universidade Federal de Viçosa e graduou-se em 24 de julho de 2009. No mesmo ano iniciou o curso de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica pela mesma universidade, concluindo-o em 19 de julho de 2011.

Em 2011 iniciou o curso de Doutorado em Agroquímica na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se a defesa de tese em 19 de fevereiro de 2015.

ÍNDICE

RESUMO	viii
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. ATRIBUTOS DE SOLOS QUE INFLUENCIAM A SORÇÃO E DESSORÇÃO DO PICLORAM	6
2.1. RESUMO	6
2.2. ABSTRACT	6
2.3. INTRODUÇÃO	7
2.4. MATERIAL E MÉTODOS	9
2.4.1. Reagentes	9
2.4.2. Amostras de solos	10
2.4.3. Determinação do picloram por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	11
2.4.4. Tempo de equilíbrio e ensaios de sorção	11
2.4.5. Ensaios de dessorção	12
2.4.6. Validação	12
2.4.7. Isotermas de Freundlich	13
2.4.8. Correlação de Pearson e teste de Mantel	13
2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
2.5.1. Validação	13
2.5.2. Isotermas de Sorção e Dessorção	14
2.5.3. Correlações de Pearson e teste de Mantel	16
2.6. CONCLUSÃO	20
2.7. REFERÊNCIAS	20
3. INFLUÊNCIA DO pH DO SOLO E DO MANEJO DA VEGETAÇÃO NA LIXIVIAÇÃO DO PICLORAM	23
3.1. RESUMO	23

3.2. ABSTRACT	23
3.3. INTRODUÇÃO.....	24
3.4. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.4.1. Amostras de solo.....	25
3.4.2. Colunas de Lixiviação	26
3.4.3. Método de Extração	28
3.4.4. Análise Cromatográfica	28
3.4.5. Validação	29
3.4.6. Análise estatística	29
3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
3.5.1. Validação	30
3.5.1.1. Solo	30
3.5.1.2. Água percolada.....	34
3.5.2. Lixiviação do picloram	35
3.6. CONCLUSÃO.....	38
3.7. REFERÊNCIAS	38
4. INFLUÊNCIA DO MANEJO DA VEGETAÇÃO NA PERSISTÊNCIA DO PICLORAM NO SOLO.....	41
4.1. RESUMO	41
4.2. ABSTRACT	41
4.3. INTRODUÇÃO.....	42
4.4. MATERIAL E MÉTODOS.....	43
4.4.1. Amostra de solo	43
4.4.2. Casa de vegetação.....	44
4.4.3. Método de Extração	44
4.4.4. Análise Cromatográfica	45
4.4.5. Validação	45
4.4.6. Análise estatística	46

4.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
4.5.1. Validação	46
4.5.2. Meia-vida.....	49
4.6. CONCLUSÃO.....	52
4.7. REFERÊNCIAS	52
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	55

RESUMO

PASSOS, Ana Beatriz Rocha de Jesus, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2015. **Atributos do solo e práticas culturais que influenciam no comportamento do picloram no ambiente.** Orientador: Antonio Alberto da Silva. Coorientadora: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz.

Dentre os herbicidas que apresentam longa persistência no ambiente se destaca o picloram, que é o mais utilizado no Brasil na formação e no manejo de pastagens. Aplicações desse herbicida sem o conhecimento das interações com os atributos do solo podem resultar em sérios problemas ambientais. Acredita-se que o manejo adequado da forrageira na pastagem possa influenciar a persistência e a lixiviação deste herbicida no solo e, conseqüentemente, o risco ambiental. Nesta pesquisa foram realizados três experimentos. No primeiro foi determinada a sorção e a dessorção do picloram em vinte diferentes solos brasileiros. No segundo e terceiro, respectivamente, a sua lixiviação e persistência em um Latossolo Vermelho-Amarelo cultivado ou não com *Brachiaria brizantha*, sob diferentes manejos agrônômicos. A determinação da sorção e dessorção foi realizada pelo método “batch equilibrium” e analisada por cromatografia líquida de alta eficiência. Para interpretação dos resultados observados, os solos foram divididos em três grupos. As correlações entre os valores da constante de Freundlich para sorção (K_f) e para dessorção (K_{fd}) e o índice de histerese (H) com os atributos dos solos, foram testados pelo teste de Mantel a 1 e 5% de probabilidade. Para o estudo da lixiviação foram utilizadas colunas de PVC de 50 cm de comprimento previamente preparadas e preenchidas com os substratos (Latosolo Vermelho-Amarelo com dois valores de pH). No topo dessas colunas foram cultivadas ou não plantas de *B. brizantha*. Após 60 dias, as plantas foram roçadas rentes ao solo em 50% das colunas. O picloram foi aplicado no topo de todas as colunas e, 12 horas após, foi simulada uma chuva de 60 mm. Para quantificação do picloram extraído das amostras de solo e de água percolada foi utilizada a cromatografia líquida de alta eficiência. Para o estudo da persistência (meia-vida) o picloram foi aplicado em vasos contendo o substrato (Latosolo Vermelho-Amarelo) cultivado ou não a *B. brizantha*, sob dois manejos. O picloram foi aplicado no solo 60 dias após a emergência da *B. brizantha*, logo após o corte das plantas rentes ao solo. Este corte foi realizado em apenas 50% dos vasos que continham plantas. As coletas das amostras de solos das parcelas foram aos 2, 16, 30, 44, 58, 72, 86, 120, 150 e 180 dias após a aplicação do picloram e sua quantificação nas amostras também foi feita por cromatografia líquida de alta eficiência. A meia-vida foi calculada

pelo modelo de cinética de segunda ordem, que mais se adequou aos dados. O aumento do pH afetou negativamente o Kf do picloram nos Latossolos. Houve correlação significativa com soma de bases, matéria orgânica e capacidade de troca catiônica do solo para todos os grupos de solos. O índice de histerese foi afetado negativamente pelo aumento do teor de matéria orgânica nos Latossolos e positivamente pelo aumento do teor de argila nos demais grupos de solos. Não foi detectada a presença do picloram nas amostras de água percoladas através das colunas. Em amostras de solo com maior valor de pH, ocorreu maior lixiviação do herbicida independente do manejo da *B. brizantha*. Entretanto, a poda da forrageira reduziu a capacidade de retenção do herbicida no perfil do solo. A meia-vida do picloram em solo com braquiária sem poda e com poda foi reduzida em 81 e 64%, respectivamente, em relação ao solo isento de planta. Concluiu-se que a sorção e dessorção do picloram é influenciada pelos atributos dos solos, todavia a intensidade dessa influência é variada e depende do tipo de solo. Além disso, em solos cultivados com *B. brizantha* a meia-vida e lixiviação do picloram no solo é reduzida. Esta redução é ainda maior quando se faz o manejo adequado da forrageira na pastagem.

ABSTRACT

PASSOS, Ana Beatriz Rocha de Jesus, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2015. **Soil properties and cultural practices that influence in behavior of picloram in the environment.** Adviser: Antonio Alberto da Silva. Co-adviser: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz.

Among the herbicides have long persistence in the environment stands out picloram, which is the most used in Brazil in the formation and management of pastures. Applications of this herbicide without the knowledge of the interactions with the soil properties can result in serious environmental problems. It is believed that the proper management of forage in the pasture can influence the persistence and leaching of this herbicide in the soil and consequently the environmental risk. In this research three experiments were carried out. At first it was determined the sorption and desorption of the picloram in twenty different Brazilian soils. In the second and third, respectively, the leaching and persistence in a Oxisol cultivated or not with *Brachiaria brizantha* under different managements agronomic. The determination of the sorption and desorption was performed by the "batch equilibrium" and analyzed by high performance liquid chromatography. To interpret the observed results, the soils were divided into three groups. The correlations between the Freundlich constant values for sorption (Kf) and desorption (Kfd) and hysteresis index (H) with the attributes of soils were tested by Mantel's test 1 and 5% probability. For the study of leaching were used PVC columns of 50 cm in length previously prepared and filled with the substrates (Oxisol with two pH values). On top of these columns were grown or not *B. brizantha*. After 60 days, the plants were mowed closer to the soil by 50% of the columns. The picloram was applied on top of all columns, and 12 hours, was simulated rainfall of 60 mm. For quantification of picloram extracted from soil samples and percolated water was used high performance liquid chromatography. To study the persistence (half-life), picloram was applied to pots containing the substrate (Oxisol) cultivated or not with *Brachiaria* under two management. The picloram was applied to the soil 60 days after emergence *Brachiaria*, soon after cutting the plants flush to the soil. This cut was performed in only 50% of pots containing plants. Collect of the plots soil samples were at 2, 16, 30, 44, 58, 72, 86, 120, 150 and 180 days after the application of picloram and its quantification in the samples was also made by high performance liquid chromatography. The half-life was calculated by the kinetic model of the second order, which is more suited to the data. The increase in the pH adversely affected the Kf of picloram in Oxisols. There was a significant correlation with the sum of bases, organic matter and cation exchange

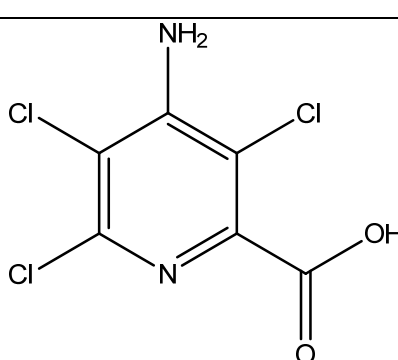
capacity of the soil for all soil groups. The hysteresis index was negatively affected by higher organic matter content in Oxisols and positively by increasing the clay content in the other soil groups. It was not detected the presence of picloram in water samples percolated. In the samples with higher pH, there was greater leaching of herbicide independent of the management of Brachiaria. However, pruning forage reduced the herbicide retention capacity of the soil profile. The half-life in soil with picloram Brachiaria without pruning or trimming was reduced by 81 and 64%, respectively, relative to soil free of plant. It was concluded that the sorption and desorption of picloram is influenced by the attributes of the soil, but the intensity of this influence is varied and depends on the soil type. Furthermore, in soils with Brachiaria half-life and picloram leaching in soils is reduced. This reduction is even greater when it is the proper management of the forage in the pasture.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil possui um dos maiores rebanhos bovinos do mundo que em sua maioria é criada em regime extensivo em áreas de pastagens (plantada ou natural) ocupando cerca de três quartos da área agrícola nacional (Rosa et al., 2014). Este tipo de exploração pecuária associado à grande extensão territorial do país, que possui condições climáticas adequadas para o crescimento das forrageiras o ano todo resulta em menor custo de produção de carne em comparação com outros países exportadores desse alimento (Embrapa, 2014).

Para se cultivar grandes áreas de pastagem com boa produtividade é fundamental fazer o manejo integrado das plantas daninhas. Para isso, é necessário fazer bom controle cultural e conhecer as interações dos herbicidas a serem recomendados com os atributos do solo. As plantas daninhas quando não manejadas adequadamente podem inviabilizar a atividade econômica, reduzindo a produtividade das forrageiras (Nunes, 2001). Para manejo dessas plantas infestantes deve-se utilizar boa cobertura do solo pela forrageira durante todo o ano. Para se conseguir isso, é necessário manter a fertilidade do solo, escolher uma forrageira adequada às condições de solo e clima e fazer o controle das plantas daninhas. A braquiária (*Brachiaria* spp.) tem sido uma das espécies forrageiras mais utilizadas na formação de pastagens no Brasil (Rosendo e Rosa, 2012) e para o controle das plantas daninhas na pastagem o herbicida mais utilizado tem sido o picloram (ácido 4-amino-3,5,6-tricloro-2-piridinocarboxílico) (Tabela 1) (Nunes, 2001).

Tabela 1. Características físico-químicas, fórmula estrutural e molecular do picloram

Fórmula Estrutural e Molecular	Características físico-químicas
 <chem>NC1=CC(Cl)=C(Cl)C(Cl)=N1C(=O)O</chem> $C_6H_3Cl_3N_2O_2$	Ponto de ebulição: 185,1 a 188,2 °C Massa Molar ($g\ mol^{-1}$): 241,5 pKa: 2,3 Solubilidade em água ($mg\ L^{-1}$): 520,0

FAO, 2012

O picloram é um herbicida sistêmico pertencente ao grupo químico dos ácidos piridinocarboxílicos, considerada uma auxina sintética (Maciel et al., 2013). Atua provocando distúrbios no metabolismo dos ácidos nucleicos, aumentando, assim, a atividade enzimática e a destruição do floema, bem como causando alongamento celular, turgescência e rompimento das células. É recomendado em aplicações em pós-emergência para o controle das plantas daninhas e em pulverizações em tocos logo após o corte dos arbustos e árvores para inibir as suas brotações (Carmo et al., 2008).

Quando atinge o solo o picloram pode permanecer por longo período (Fairchild et al., 2009; Chen et al., 2010) inviabilizando a rotação de culturas. Além disso, é muito lixiviado (Celis et al., 2002; Marco-Brown et al., 2014), podendo contaminar águas subterrâneas. Uma das alternativas para reduzir o impacto ambiental causado por esse herbicida pode ser o cultivo de espécies que podem acelerar a sua degradação ou reduzir o seu potencial de lixiviação nos solos (Meier et al., 2012; Ali et al., 2013; Liu et al., 2015). Alguns estudos (Carmo et al., 2008, Germaine et al., 2006; Souto et al., 2015) destacaram o papel da *B. brizantha* na redução da meia-vida deste herbicida no solo. Em todos estes estudos tem-se avaliado a eficiência da planta em remediar solos já contaminado pelo herbicida. Acredita-se que aplicações desse herbicida em área com boa cobertura dessa forrageira, mantendo-se o manejo adequado da pastagem, possa reduzir os danos ambientais dessa tecnologia, ou seja, menor persistência do herbicida no solo. Esta hipótese é sustentada pela teoria de que plantas mais desenvolvidas possam absorver e degradar maior quantidade do herbicida contaminante do solo da pastagem.

Conhecer a dinâmica dos herbicidas no ambiente por meio da determinação da sorção, lixiviação e meia-vida destes produtos pode evitar esses problemas de contaminação ambiental. Esses processos são dependentes do tipo de solo, das condições climáticas e das características dos produtos (García-Jaramillo et al., 2014). O conhecimento desses fatores é de fundamental importância para prever o comportamento de herbicidas nas diferentes classes de solo e para seleção de dosagens adequadas, bem como para evitar efeitos prejudiciais ao ambiente e às culturas subsequentes (Rossi et al., 2005).

O termo sorção é utilizado para descrever os fenômenos de adsorção, absorção e precipitação de moléculas no solo. Portanto a sorção é o processo de retenção de moléculas orgânicas (soluto) pelo solo (ou constituinte do solo), sem indicar o mecanismo envolvido. A sorção de herbicidas pelos constituintes do solo controla a

quantidade destas moléculas presentes na solução do solo, e determina a persistência, a lixiviação, mobilidade e biodisponibilidade do pesticida no meio. (Damin, 2005).

O processo de lixiviação é a principal forma de transporte no solo de moléculas de herbicidas em água (Prata et al., 2003). Essas moléculas se movimentam no sentido descendente na matriz do solo ou com a água do solo, sendo sua intensidade dependente das características físico-químicas do produto, do solo e do clima (Inoue et al., 2003). A lixiviação é fundamental para a incorporação superficial da maioria dos herbicidas, atingindo sementes ou plantas em germinação. Porém quando esse processo é muito intenso, pode carregá-los para camadas mais profundas do solo ocorrendo limitação de sua ação e possivelmente contaminação do lençol freático (Monqueiro et al., 2008)

O tempo de meia-vida é definido como o tempo necessário para que ocorra a dissipação de 50% da quantidade inicial do herbicida aplicado. Este tempo é necessário para medir a persistência desses produtos no ambiente (Silva et al., 2007). Herbicidas com grande persistência podem resultar tanto no fenômeno denominado carryover, onde os seus resíduos que permanecem no solo afetam culturas sensíveis sucessoras, quanto no aumento do impacto ambiental, visto que permanecerá por mais tempo no ambiente.

As características do picloram (Tabela 1) o tornam um herbicida com grande potencial de contaminação de solos e águas. Além de conhecer a sorção, lixiviação e meia-vida deste herbicida no intuito de amenizar esse problema, tem-se que entender a dinâmica deste produto na presença de culturas na qual é aplicado.

Em vista do exposto nesta pesquisa foram realizados três experimentos para se comprovar a hipótese que afirma que “para realizar o Manejo Integrado das Plantas Daninhas é necessário fazer bom controle cultural e conhecer as interações dos herbicidas a serem recomendados com os atributos do solo”. No primeiro experimento foi determinada a sorção e a dessorção do picloram em diferentes solos brasileiros. No segundo e terceiro, respectivamente, a sua lixiviação e persistência em um Latossolo Vermelho-Amarelo cultivado ou não com *B. brizantha*, sob diferentes manejos agronômicos.

REFERÊNCIAS

Ali H, Khan E, Sajad MA. Phytoremediation of heavy metals – concepts and applications Chemosphere 2013; 91:869–881.

Carmo ML, Procopio SO, Pires FR, Cargnelutti Filho A, Braz GBPV, Silva WFPV, Barroso ALL, Silva GP, Carmo EL, Braz AJBP, Assis RL. Influência do período de cultivo de *Panicum maximum* (cultivar Tanzânia) na fitorremediação de solo contaminado com picloram. *Planta Daninha* 2008; 26:315-322.

Celis R, Hermosín M, Cornejo L, Carrizosa M, Cornejo J. Clay-herbicide complexes to retard picloram leaching in soil. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 2002; 82:503–517.

Chen L, Zeng G, Zhang Y, Tang L, Huang D, Liu C, Pang Y, Luo J. Trace detection of picloram using an electrochemical immunosensor based on three-dimensional gold nanoclusters. *Analytical Biochemistry* 2010; 407:172–179.

Damin V. Biodegradação, sorção e dessorção do herbicida ¹⁴C-Diuron em dois Latossos tratados com lodo de esgoto. Dissertação de Mestrado (Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo 2005; 71p.

Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Diagnóstico das Pastagens no Brasil. Documentos / Embrapa Amazônia Oriental 2014; 1ªed, 36p.

Fairchild JF, Feltz KP, Sappington LC, Allert AL, Nelson KJ, Valle J. An Ecological Risk Assessment of the Acute and Chronic Toxicity of the Herbicide Picloram to the Threatened Bull Trout (*Salvelinus confluentus*) and the Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 2009; 56:761-769.

FAO – Food and Agriculture Organization of United Nations. FAO Specification and Evaluations for Agricultural Pesticides: Picloram. FAO 2012.

García-Jaramillo M., Cox L, Cornejo J, Hermosín MC. Effect of soil organic amendments on the behavior of bentazone and tricyclazole. *Science of the Total Environment* 2014; 467:906–913.

Germaine KJ, Liu X, Cabellos GG, Hogan JP, Ryan D, Dowling DN. Bacterial endophyte-enhanced phytoremediation of the organochlorine herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *FEMS Microbiology Ecology* 2006; 57:302–310.

Inoue MH, Oliveira JR. RS, Regitano JB, Tormena CA, Tornisielo VL, Constantin J. Critérios para avaliação do potencial de lixiviação dos herbicidas comercializados no estado do Paraná. *Planta Daninha* 2003; 21:313-323.

- Liu H, Yuan M, Tan S, Yang X, Lan Z, Jiang Q, Ye Z, Jing Y. Enhancement of arbuscular mycorrhizal fungus (*Glomus versiforme*) on the growth and Cd uptake by Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum*. *Applied Soil Ecology* 2015; 89:44–49.
- Maciel GM, Inácio FD, Sá-Nakanishi AB, Haminiuk CWI, Castold R, Comar JF, Bracht A, Peralta RM. Response of *Ganoderma lucidum* and *Trametes* sp. to the herbicide picloram: Tolerance, antioxidants and production of ligninolytic enzymes. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2013; 105:84-92.
- Marco-Brown JL, Areco MM, Sanchés RMT, Afonso MS. Adsorption of picloram herbicide on montmorillonite: Kinetic and equilibrium studies. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 2014; 449:121-8.
- Meier S, Borie F, Bolan N. Phytoremediation of metal-polluted soils by arbuscular mycorrhizal fungi. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 2012; 42:741–775.
- Monqueiro PA, Amaral LR, Binha DP, Silva AC, Silva PV. Potencial de lixiviação de herbicidas no solo submetidos a diferentes simulações de precipitação. *Planta Daninha* 2008; 26:403-409.
- Nunes SG. Controle de Plantas Invasoras em Pastagens Cultivadas nos Cerrados. *Embrapa Gado de Corte* 2001; 35p.
- Prata F, Cardinali VCB, Lavorenti A, Tornisiello VL, Regitano JB. Glyphosate sorption and desorption in soils with different phosphorus levels. *Scientia Agricola* 2003; 60:175-180.
- Rosa R, Sano EE, Rosendo JS. Estoque de carbono em solos sob pastagens cultivadas na bacia hidrográfica do Rio Paranaíba. *Sociedade & Natureza* 2014; 26:333-351.
- Rosendo JS, Rosa R. Comparação do estoque de C estimado em pastagens e vegetação nativa de Cerrado. *Sociedade & Natureza* 2012; 24:359-376.
- Rossi CVS, Alves PLCA, Marques Júnior J. Mobilidade do sulfentrazone em Latossolo Vermelho e em Chernossolo. *Planta Daninha* 2005; 23:701-710.
- Silva AA, Vivian R, Oliveira Jr RS. Herbicidas: Comportamento no solo. In: Silva AA, Silva JF (Eds) *Tópicos em manejo de plantas daninhas*. Editora UFV 2007; 367p.
- Souto KM, Avila LA, Cassol GV, Machado SLO, Marchesan E. Phytoremediation of lowland soil contaminated with a formulated mixture of Imazethapyr and Imazapic. *Revista Ciência Agronômica* 2015; 46:185-192.

2. ATRIBUTOS DE SOLOS QUE INFLUENCIAM A SORÇÃO E DESSORÇÃO DO PICLORAM

2.1. RESUMO

Aplicações de herbicidas sem o conhecimento de suas interações com os atributos do solo podem resultar na ineficiência agronômica do tratamento, além de elevado risco de contaminação do solo e de águas superficiais e subterrâneas. Objetivou-se nesta pesquisa determinar os atributos de vinte solos que influenciam nas constantes de sorção e dessorção e o índice de histerese do picloram. As determinações da sorção e dessorção foram realizadas pelo método “batch equilibrium” e analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência. As correlações entre os valores da constante de Freundlich para sorção (K_f) e para dessorção (K_{fd}) e o índice de histerese (H), com as características dos solos, foram testados pelo teste de Mantel a 1 e 5% de probabilidade. Visando avaliar a diversidade das amostras na significância das correlações foram avaliadas três grupos de solos. O primeiro constou de nove amostras de Latossolos; o segundo com amostras de onze solos de diferentes classes (com exceção dos Latossolos) e o terceiro composto pelos solos dos dois grupos anteriores. Apenas no grupo dos Latossolos observou-se correlação significativa dos valores de pH e de K_f . Resultado semelhante foi observado entre a soma de bases, teor de matéria orgânica e capacidade de troca catiônica com o K_f , porém em todos os grupos de solos. A correlação foi negativa entre o H e o teor de matéria orgânica nos Latossolos e positiva entre o H e o teor de argila nos outros dois grupos. Isto indica que apesar da sorção do picloram nos solos citados não ser dependente do teor de argila, a dessorção é influenciada por este atributo. Conclui-se que não é possível expressar num modelo a estimativa do comportamento do picloram em solos de classes diferentes. As correlações dos atributos do solo com a sorção e dessorção desse herbicida variam com o tipo de solo.

Palavras-chave: Herbicidas, impacto ambiental, carryover.

2.2. ABSTRACT

Herbicide applications without the knowledge of their interactions with soil properties may result in the inherent inefficiency of the treatment, and high risk of contamination of soil, surface and groundwater. The objective of this research was to determine the attributes of twenty soils that influence the constant sorption and desorption and the

hysteresis index of picloram. The determination of the sorption and desorption were performed using the "batch equilibrium" and analyzed by high performance liquid chromatography. The correlations between the Freundlich constant values for sorption (Kf) and desorption (Kfd) and the hysteresis index (H), with soil characteristics were tested using the Mantel test at 1 and 5% probability. To evaluate the diversity of samples on the significance of the correlations were assessed three soil groups. The first consisted of nine samples of Oxisols; the second with samples of eleven soils of different classes (with the exception of Oxisols) and the third composed of the two previous groups soils. Only the group of Latosols there was significant correlation of pH values and Kf. Similar results were observed between the sum of bases, organic matter content and cation exchange capacity with Kf, but in all soil groups. The correlation was negative between the H and the organic matter content in Oxisols and positive between the H and the clay content in the other two groups. This indicates that despite the sorption of picloram in those soils not be dependent on the clay content, desorption is influenced by this attribute. We conclude that it is not possible to express a model estimating the picloram behavior in different soil classes. The correlations of soil attributes with the sorption and desorption of this herbicide vary with the type of soil.

Keywords: Herbicides, environmental impact, carryover.

2.3. INTRODUÇÃO

O uso de herbicidas tem sido prática essencial no controle de plantas daninhas na agricultura, sobretudo em cultivos com maior uso das tecnologias disponíveis. Todavia, o elevado uso destes agroquímicos tem despertado a atenção quanto aos riscos de contaminação ambiental, principalmente com relação aos produtos com longo período residual no solo.

O picloram (ácido 4-amino-3,5,6-tricloro-2-piridinacarboxílico) é um herbicida sistêmico pertencente ao grupo químico dos ácidos piridinocarboxílicos, considerada uma auxina sintética (Maciel et al., 2013). No Brasil é utilizado para controle de plantas lenhosas e plantas daninhas de folha larga (FAO, 2012), seja em mistura com o 2,4-D para pastagens ou isoladamente em culturas como arroz, cana-de-açúcar e trigo (MAPA, 2014). Possui longo período residual, aumentando os riscos de contaminação do solo e água, além de outras culturas cultivadas em sucessão ao seu uso (Wauchope et al., 1992; Close et al., 2008; Fairchild et al., 2009).

Os herbicidas quando atingem o solo estão sujeitos aos processos de redistribuição como a lixiviação e o escoamento superficial. Todavia esses processos estão relacionados com a sorção do herbicida nos colóides do solo e determinará o destino final dos produtos químicos orgânicos no ambiente, devendo ser considerado durante a avaliação dos riscos ambientais (Doretto et al., 2014). Por ser muito solúvel em água e estar na sua forma iônica em pH da maioria dos solos ($pK_a = 2,3$), a sorção do picloram normalmente é baixa, sendo classificado como muito lixiviável (Marco-Brown et al., 2014).

Uma vez sorvido, o herbicida pode sofrer o processo de dessorção, que é o retorno para a solução do solo, do produto antes sorvido. Este processo também é fundamental para determinar a quantidade deste disponível para as espécies-alvo, seu comportamento em fluxos de escoamento, e poluição das águas subterrâneas (Sondhia et al., 2014). Quando a energia para que ocorra a dessorção é maior que a energia necessária para que ocorra a sorção, ocorre um fenômeno conhecido como histerese.

A sorção e dessorção do picloram já foram determinadas por outros pesquisadores e relatadas como dependentes do pH, mineralogia e teor de matéria orgânica do solo (Assis et al., 2011; Marco-Brown et al., 2012; Oliveira Jr. et al., 2013; Marco-Brown et al., 2014). Todavia, esses trabalhos foram realizados com pequeno número de amostras de solo e sem a análise da correlação existente entre as constantes de sorção (K_f) e dessorção (K_{fd}) com os atributos químicos e granulométricos do solo. Isso pode levar a erros de interpretações, sobretudo quando os solos avaliados são de classificações semelhantes.

O uso de métodos estatísticos específicos pode contribuir para um melhor entendimento do comportamento de herbicidas no solo e permitir a recomendação segura do ponto de vista técnico e ambiental desses produtos. A importância da correlação entre os atributos químicos e físicos do solo reside na possibilidade de se avaliar o quanto a alteração de um atributo pode afetar na sorção ou dessorção (Flessner et al., 2014).

Estima-se que aproximadamente 39% do território brasileiro seja ocupado por Latossolos (Ferreira et al., 2010) e grande parte desta área seja cultivada com pastagem, sujeita a aplicação do picloram. Neste sentido, o conhecimento dos aspectos sortivos do picloram em Latossolos e em outros solos brasileiros pode ser importante para ajustes na recomendação do uso deste herbicida e, conseqüentemente, na melhoria da eficiência no controle das plantas daninhas com menor contaminação ambiental.

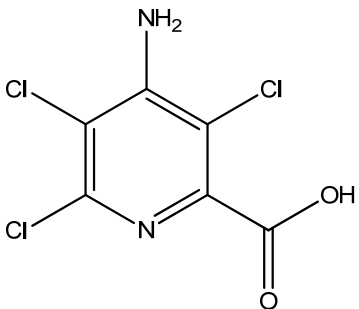
Neste estudo foram determinadas as constantes de sorção (K_f) e dessorção (K_{fd}), o índice de histerese (H) do picloram e a correlação destas variáveis com atributos de 20 solos de diferentes regiões do Brasil.

2.4. MATERIAL E MÉTODOS

2.4.1. Reagentes

Todos os solventes utilizados eram grau HPLC e os demais reagentes de grau analítico ao menos. O cloreto de cálcio foi fornecido pela Vetec, Brasil. Picloram (ácido 4-amino-3,5,6-tricloropiridina-2-carboxílico; 99,6%) (tabela 1) foi obtido da Sigma-Aldrich, Alemanha. A partir da diluição de uma solução padrão estoque de 1000 mg L⁻¹ do picloram em etanol, foram feitas as soluções de trabalho em solução de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹.

Tabela 1. Características e fórmula estrutural do picloram

Fórmula Estrutural	Características
	Fórmula Molecular: C ₆ H ₃ Cl ₃ N ₂ O ₂ Massa Molar (g mol ⁻¹): 241,5 pKa: 2,3 Solubilidade em água (mg L ⁻¹): 520,0

FAO, 2012

2.4.2. Amostras de solos

Tabela 2. Atributos físicos e químicos dos 20 solos estudados

Solo	Legenda	Areia	Silte	Argila	pH	SB ^(a)	t ^(b)	MO ^(c)
		----- % -----	%	-----	(H ₂ O)	(cmol _c dm ⁻³)		%
Argissolo Vermelho	AV	42	20	38	5,2	1,87	8,64	2,1
Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico latossólico	AVAdl	48	23	29	4,6	1,90	8,01	1,76
Cambissolo	Cam	87	7	6	4,2	0,84	2,82	1,05
Cambissolo húmico	Ch	62	12	26	5,1	1,65	8,42	2,3
Gleissolo Háptico Tb distrófico (cc)	GHcc	32	45	23	5,4	2,64	7,84	2,35
Gleissolo Háptico Tb distrófico (sc)	GHsc	32	45	23	4,6	3,67	6,86	2,35
Latossolo Amarelo	LA	72	1	28	6,3	4,18	5,50	2,2
Latossolo Vermelho	LV	79	1	20	6,2	1,13	2,61	0,8
Latossolo Vermelho-Amarelo (1) (cc)	LVA1cc	27	4	69	5,9	1,23	9,48	3,7
Latossolo Vermelho-Amarelo (1) (sc)	LVA1sc	27	4	69	5,0	1,23	10,14	3,7
Latossolo Vermelho-Amarelo (2) (cc)	LVA2cc	56	5	39	5,8	2,87	5,51	1,55
Latossolo Vermelho-Amarelo (2) (sc)	LVA2sc	56	5	39	4,6	0,85	5,64	1,55
Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico	LVAAd	69	16	15	5,0	2,22	6,84	2,75
Latossolo Vermelho-Amarelo húmico (cc)	LVAhcc	36	5	59	5,8	4,81	11,58	4,3
Latossolo Vermelho-Amarelo húmico (sc)	LVAhsc	36	5	59	4,8	1,41	12,14	4,3
Neossolo Quatzarênico órtico	NQO	88	8	4	5,3	1,00	2,49	1,55
Neossolo Regolítico	NR	51	17	32	5,1	4,29	12,38	5,10
Organossolo	Org	34	30	36	5,0	8,57	34,81	20,2
Planossolo Háptico	PH	87	4	9	5,6	0,53	2,35	1,1
Plintossolo Háptico distrófico	PHr	32	45	23	6,1	4,81	7,81	2,22

cc: Com correção da acidez; sc: Sem correção da acidez. (a) Soma de bases; (b) Capacidade de troca catiônica; (c) Matéria orgânica. (EMBRAPA, 1997)

A sorção e a dessorção do picloram foram avaliadas em amostras de dezesseis solos de diferentes localidades brasileiras sem histórico de aplicação de herbicidas (Tabela 2). As amostras destes solos foram coletadas a uma profundidade de 0 a 20 cm dos solos, secas ao ar e peneiradas em malha de 2 mm. Para quatro solos foi realizada a correção da acidez, após a determinação da curva de neutralização de acidez com CaCO_3 , totalizando vinte amostras de solos (Tabela 2).

Visando correlacionar as variáveis avaliadas (sorção, dessorção e H) com os atributos dos solos, fez-se este estudo agrupando os solos em três grupos diferentes. O primeiro foi composto por um grupo homogêneo somente com os Latossolos, o segundo com os outros onze solos de diferentes classificações (sem os Latossolos) e o terceiro composto por todos os solos em estudo. Para interpretação dos resultados utilizou-se Correlação de Pearson e teste de Mantel.

2.4.3. Determinação do picloram por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A quantificação do picloram foi realizada utilizando-se um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência, modelo Shimadzu LC 20AT, detector de arranjo de fotodiodo (Shimadzu SPD- M20A), coluna C_{18} de aço inox (Shimadzu VP-ODS Shim-pack 250 mm x 4,6 mm d. i., 5 μm de tamanho de partícula). Foram utilizadas as condições cromatográficas que consistiam em empregar uma fase móvel constituída por acetonitrila e água (acidificada com 0,1% m/v de ácido ortofosfórico) na proporção 40:60, volume de injeção de 20 μL , uma razão de fluxo de 0,8 ml min^{-1} e comprimento de onda de 223 nm, estabelecidas por Santos et al. (2010) com algumas modificações. O tempo de retenção do picloram foi aproximadamente 7,0 minutos.

2.4.4. Validação

O método para determinação da sorção e dessorção foi validado segundo os parâmetros seletividade, linearidade, limites de detecção e quantificação. A linearidade foi determinada utilizando sete concentrações em triplicata de 0,05 a 1,1 mg L^{-1} em CaCl_2 0,01 mol L^{-1} . A seletividade foi avaliada analisando os sobrenadantes resultantes da agitação do solo com 10 mL de solução de CaCl_2 0,01 mol L^{-1} isenta e com presença de picloram. O limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) foram determinados pelo método baseado em parâmetros da curva analítica, onde esses

parâmetros são expressos por $3,3x$ (s/S) e $10x$ (s/S), respectivamente, nos quais s é a estimativa do desvio padrão da resposta, que pode ser a estimativa do desvio padrão do coeficiente linear da equação e S é a inclinação ou coeficiente angular da curva analítica (Ribani et al., 2004).

2.4.5. Tempo de equilíbrio e ensaios de sorção

O tempo de equilíbrio necessário para a sorção do picloram foi determinado pelo método “batch equilibrium”, segundo a OECD (2000). O método consiste em pesar em tubos 2,00 g de amostra de solos e posteriormente adicionar 10 mL de solução do herbicida $600 \mu\text{g L}^{-1}$ em CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. Estes tubos foram agitados verticalmente por diferentes intervalos de tempo (0,5; 1; 2; 4; 8; 12; 16; 20; 24 h) em temperatura de 27°C e centrifugados por 6 minutos à $805 \times g$ (3000 rpm). Parte do sobrenadante foi filtrado em membrana MCE (Mixed Cellulose Esters) com porosidade de $0,45 \mu\text{m}$ para análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O tempo de equilíbrio de sorção foi determinado por meio do ajuste de equações de regressão referentes à concentração herbicida no solo em função do tempo. O tempo de equilíbrio foi considerado o tempo a partir do qual a concentração do herbicida permaneceu constante no solo.

A sorção do picloram nas amostras de solo foi avaliada utilizando soluções de trabalho preparadas a partir da solução estoque nas concentrações 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1,0 e $1,1 \text{ mg L}^{-1}$ em CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. Destas soluções foram adicionados 10 mL em tubos contendo 2,00 g de solos. Em seguida, estes tubos foram agitados verticalmente pelo tempo de equilíbrio determinado anteriormente e centrifugados por 6 minutos por $805 \times g$ e o sobrenadante filtrado em membrana MCE $0,45 \mu\text{m}$ para posterior análise por CLAE.

2.4.6. Ensaios de dessorção

O estudo da dessorção foi realizado retirando o sobrenadante de todos os tubos contendo os solos após o ensaio de sorção e adicionando a estes 10 mL de solução de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ isenta de herbicida. Para a homogeneização do solo com a solução, os tubos foram agitados manualmente por 10 segundos. Posteriormente foram submetidos à agitação vertical pelo mesmo tempo no qual foram feitos os ensaios de

sorção e centrifugados. O sobrenadante foi filtrado em membrana MCE 0,45µm para análise por CLAE.

2.4.7. Isotermas de Freundlich

O cálculo da concentração de herbicida sorvido ao solo (C_s) em mg kg^{-1} , foi realizado 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} . Para o cálculo da constante de Freundlich de dessorção (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 ($C_s = K_f C_e^{1/n}$) para a determinação das constantes de sorção (K_f) e de dessorção (K_{fd}).

O índice de histerese foi calculado dividindo-se o $1/n$ de sorção por $1/n$ de dessorção, segundo Peruchi et al. (2015).

2.4.8. Correlação de Pearson e teste de Mantel

Análise de correlação de Pearson foi realizada entre as características químicas e físicas dos solos avaliados e as constantes K_f , K_{fd} e H do picloram pelo teste de Mantel ($p < 0,01$ e $0,05$). A análise foi realizada pelo programa Genes (Cruz, 2013).

Quanto mais próxima da unidade o valor da correlação, mais esta influencia nas constantes. Se positiva, correlação direta. Se negativa, correlação indireta.

2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.5.1. Validação

Em nenhuma das 20 amostras de solo avaliadas havia qualquer interferente no mesmo tempo de retenção do picloram, indicando que o método é seletivo. Os cromatogramas de cinco amostras de solos isentas e com o herbicida são apresentados na Figura 1.

A linearidade na faixa de trabalho foi determinada no intervalo de 0,05 a 1,1 mg L^{-1} , com coeficiente de correlação de 0,99. Este valor indica boa linearidade da resposta

do método para o picloram na faixa de concentração utilizada. Os limites de detecção e quantificação foram de 16,4 e 49,8 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

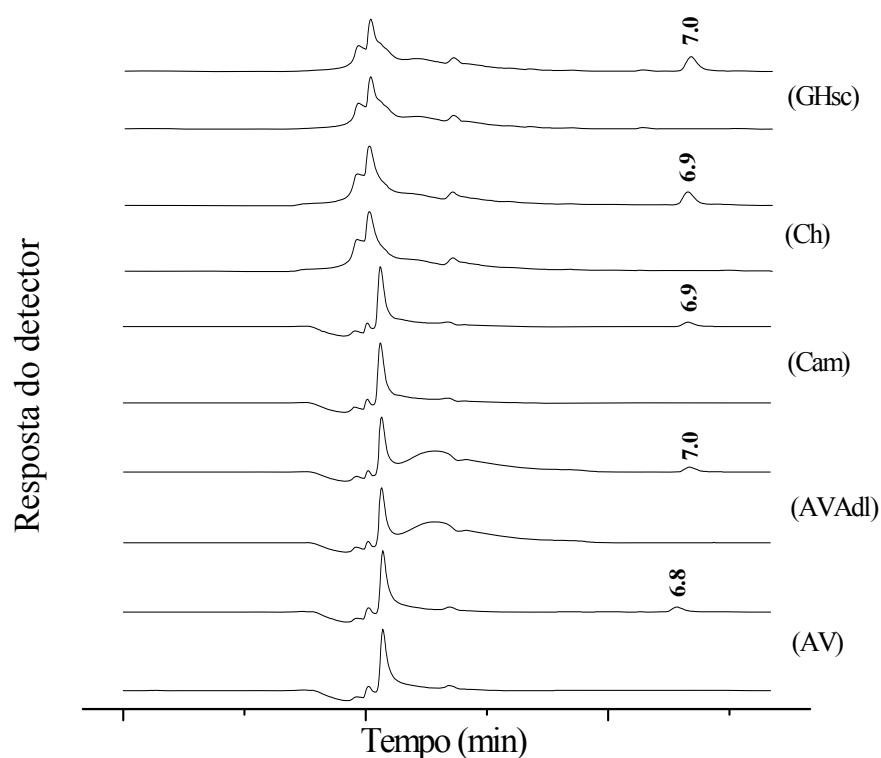


Figura 1. Cromatogramas de cinco solos com e sem a presença do picloram, $t_R \sim 7.0$.

2.5.2. Isotermas de Sorção e Dessorção

O tempo de equilíbrio variou de 4 a 12 horas para os solos em estudo (tabela 3), portanto optou-se por trabalhar com o tempo máximo obtido de 12 horas, afim de padronizar o tempo para todos os solos.

Os coeficientes de determinação das isotermas de Freundlich mostraram que os modelos foram bem ajustados aos dados, pois variaram de 0,94 a 0,99.

Tabela 3. Equações de regressão das curvas de tempo de equilíbrio para 20 solos estudados.

Solo	R ²	Equação	Tempo de equilíbrio (h)
AV	0,96	$y = 349,70 + 252,97*(1 - e^{-0,97x})$	8
AVAdl	0,98	$y = 94,14 + 195,22*(1 - e^{-0,72x})$	8
Camb	0,97	$y = 320,71 + 301,96*(1 - e^{-0,54x})$	12
Ch	0,98	$y = 348,67 + 344,08*(1 - e^{-0,75x})$	8
GHcc	0,94	$y = 202,29 + 390,84*(1 - e^{-1,01x})$	8
GHsc	0,94	$y = 223,50 + 498,83*(1 - e^{-0,90x})$	8
LA	0,97	$y = 265,84 + 301,39*(1 - e^{-1,10x})$	8
LV	0,97	$y = 298,99 + 375,50*(1 - e^{-1,43x})$	8
LVA1cc	0,94	$y = 737,35 + 352,93*(1 - e^{-0,80x})$	8
LVA1sc	0,99	$y = 796,04 + 609,14*(1 - e^{-0,88x})$	8
LVA2cc	0,98	$y = 347,13 + 206,39*(1 - e^{-0,49x})$	12
LVA2sc	0,98	$y = 974,15 + 249,16*(1 - 0,59^x)$	12
LVAAd	0,99	$y = 234,49 + 499,47*(1 - e^{-1,96x})$	8
LVAhcc	0,98	$y = 708,12 + 445,91*(1 - e^{-0,49x})$	12
LVAhsc	0,99	$y = 963,96 + 427,81*(1 - e^{-1,03x})$	8
NQO	0,98	$y = 140,05 + 129,15*(1 - e^{-0,72x})$	12
NR	0,99	$y = 288,70 + 285,41*(1 - e^{-1,55x})$	4
Org	0,97	$y = 357,92 + 269,42*(1 - e^{-0,42x})$	12
PH	0,99	$y = 141,13 + 199,05*(1 - e^{-0,68x})$	8
PHd	0,99	$y = 357,92 + 269,42*(1 - e^{-0,42x})$	12

As constantes de sorção e dessorção variaram de 0,19 à 18,89 e de 0,21 à 86,60, respectivamente (Tabela 4). O solo com menor índice de histerese foi o Latossolo Amarelo enquanto que o Latossolo Vermelho foi o solo com maior histerese.

Tabela 4. Parâmetros de Freundlich para a sorção e dessorção e índice de histerese do picloram em 20 solos.

Solo	Sorção			Dessorção			
	Kf	1/n	R ²	Kf _d	1/n _d	R ²	H
AV	1,23	1,30	0,96	4,61	1,49	0,98	0,87
AVAdl	0,19	0,55	0,97	1,26	1,25	0,98	0,44
Cam	0,48	0,56	0,99	4,43	1,29	0,99	0,43
Ch	1,43	1,00	0,95	42,00	2,96	0,99	0,33
GHcc	0,74	1,03	0,99	2,49	1,25	0,97	0,82
GHsc	0,91	0,87	0,99	33,26	3,37	0,94	0,26
LA	0,52	0,41	0,99	16,64	2,22	0,99	0,18
LV	0,82	1,02	0,95	0,58	0,58	0,96	1,75
LVA1cc	2,64	0,87	0,95	3,70	1,11	0,93	0,78
LVA1sc	3,93	0,85	0,98	6,42	1,15	0,99	0,74
LVA2cc	0,97	1,52	0,99	4,04	0,90	0,99	1,69
LVA2sc	2,27	0,77	0,98	1,05	1,11	0,94	0,69
LVAAd	1,14	0,49	0,94	2,43	1,38	0,98	0,36
LVAhcc	1,61	0,92	0,95	0,21	0,88	0,95	1,04
LVAhsc	2,92	1,02	0,98	6,83	1,98	0,90	0,51
NQO	0,41	1,05	0,99	86,60	3,28	0,99	0,32
NR	1,18	0,89	0,97	1,22	0,98	0,97	0,90
Org	18,89	0,84	0,97	41,43	1,08	0,97	0,78
PH	0,19	0,48	0,99	8,35	1,61	0,99	0,30
PHd	1,04	0,88	0,99	2,08	1,51	0,98	0,58

2.5.3. Correlações de Pearson e teste de Mantel

A correlação foi significativa entre o Kf e o pH, soma de bases (SB), capacidade de troca catiônica (t) e teor de matéria orgânica dos Latossolos (Tabela 5). A constante Kf_d não correlacionou com nenhuma das características, enquanto que o índice de histerese foi afetado pela MO.

Tabela 5. Correlações de Pearson entre os Kf, Kfd e H com os oito atributos químicos e físicos dos Latossolos e os demais solos.

Características	Latossolos									
	K	Kf	H	pH	SB	t	MO	Areia	Silte	Argila
Kf	-	-	-	-0,62*	-0,52*	0,68*	0,61*	-0,31	0,05	0,28
Kfd		-	-	0,26	0,31	0,00	0,07	0,29	-0,29	-0,21
H			-	0,38	-0,09	-0,38	-0,46*	-0,14	-0,36	0,21
pH				-	0,50	-0,37	-0,27	0,46	-0,48	-0,34
SB					-	0,13	0,19	-0,04	-0,05	0,06
(T)						-	0,98**	-0,40	0,21	0,33
MO							-	-0,22	0,27	0,15
Areia								-	0,07	-0,98**
Silte									-	-0,29
Argila										-

	Demais solos									
	K	Kf	H	pH	SB	T	MO	Areia	Silte	Argila
Kf	-	-	-	-0,05	0,82**	0,96**	0,99**	-0,32	0,16	0,42
Kfd		-	-	-0,02	0,03	0,10	0,21	0,31	-0,22	-0,31
H			-	0,20	0,49	0,51*	0,41	-0,53	0,29	0,67*
pH				-	0,13	-0,04	-0,05	-0,17	0,22	0,03
SB					-	0,90**	0,87**	-0,68**	0,56*	0,60*
(T)						-	0,98**	-0,51*	0,27	0,64**
MO							-	-0,36	0,18	0,48*
Areia								-	-0,89**	-0,79**
Silte									-	0,42
Argila										-

** e *: Significativo a 1 e 5% de probabilidade pelo teste de Mantel, respectivamente.

O picloram é um herbicida ácido fraco. O aumento do pH do solo causa a desprotonação dos grupo hidroxila presente na molécula do herbicida tornando-a carregada negativamente (Maciel et al., 2013). Os Latossolos brasileiros são solos altamente intemperizados com predominância de argilas 1:1 (caulinita) (Leal et al., 2013). Esse tipo de argila tem cargas dependentes do pH. Portanto o aumento do pH faz com que essas argilas também possuam cargas negativas e conseqüentemente ocorre a repulsão do picloram (Passos et al., 2013).

A correlação foi significativa entre o Kf e a SB, t e teor de matéria orgânica para o segundo conjunto de solos (Tabela 5). Conforme observado para os Latossolos, o Kfd

também não foi alterado por nenhuma das características avaliadas. O H correlacionou com o t e o teor de argila.

A ausência de correlação com do Kf com o pH na análise realizada sem os Latossolos pode estar relacionado à predominância de argilas 2:1, pouco afetadas pela variação de pH. Isto torna o efeito do pH insignificante para esses solos.

O teor de matéria orgânica, a SB e a t correlacionaram com o Kf em ambos os grupos de solos, porém com maiores valores de correlação para o segundo grupo. Este fato pode estar relacionado com a menor influência do pH na sorção do picloram nos Latossolos.

A correlação foi significativa entre a constante Kf e as características SB, t e teor de matéria orgânica quando analisadas as 20 amostras de solo (Tabela 6). O mesmo foi observado para a constante Kf_d com teor de argila e para índice de histerese com pH e teor de argila.

Tabela 6. Correlações de Pearson entre os Kf, Kf_d e H com oito atributos químicos e físicos dos 20 solos em estudo.

Características	Kf	Kf_d	H	pH	SB	T	MO	Areia	Silte	Argila
Kf	-	-	-	-0,14	0,66*	0,93**	0,97**	-0,28	0,17	0,18
Kf_d		-	-	-0,11	0,11	0,13	0,24	0,28	0,07	-0,36*
H			-	0,39*	0,08	0,06	0,04	-0,28	-0,19	0,46*
pH				-	0,18	-0,14	-0,11	0,09	-0,16	0,03
SB					-	0,77**	0,77**	-0,46**	0,47*	0,15
(T)						-	0,97**	-0,44**	0,28	0,27
MO							-	-0,30	0,23	0,15
Areia								-	-0,48*	-0,73**
Silte									-	-0,25
Argila										-

** e * : Significativo a 1 e 5% de probabilidade pelo teste de Mantel, respectivamente.

A análise realizada com todos os solos indica que o tamanho e a diversidade da amostra afetam a magnitude da variação dos parâmetros de sorção e dessorção (Tabela 6). A correlação significativa entre o pH e o Kf observada nos Latossolos não foi verificada quando houve maior heterogeneidade de solos avaliados. Todavia, outros parâmetros como SB, t e MO correlacionaram com o Kf independente da composição do grupo avaliado.

Em geral, a matéria orgânica é um importante sorvente de herbicidas com baixas polaridade e solubilidade em água, devido à suas interações hidrofóbicas com esses

produtos (Trigo et al., 2014). Porém o picloram é herbicida com alta polaridade e solubilidade em água e o teor de matéria orgânica teve correlações positivas e com valores elevados com o Kf dos solos. Isto ocorre, porque a matéria orgânica também pode absorver moléculas de herbicidas carregadas (Flessner et al., 2014).

A correlação positiva entre Kf e a capacidade de troca catiônica reflete o efeito do aumento do teor de matéria orgânica que é a principal contribuinte para esta propriedade desses solos (Oliveira Jr. et al., 2001). Ou seja, a correlação significativa da constante de sorção com o teor de matéria orgânica, conseqüentemente gera uma correlação significativa com a t.

Outro fator também relacionado diretamente à t é a SB (Caner et al., 2014). O efeito deste fenômeno é a correlação positiva e significativa entre Kf e t e conseqüente correlação com SB. No entanto para os Latossolos houve uma correlação negativa entre Kf e SB e positiva entre Kf e t. A correção da acidez dos solos, em sua maioria Latossolos, foi realizada com CaCO_3 . Os cátions de Ca^{2+} adicionados contribuíram para o aumento da SB e conseqüentemente para a elevação do pH dos solos. O aumento do pH diminuiu o Kf e o mesmo aconteceu para a SB. Como houve pouca variação de t com o aumento de SB, o mesmo não ocorreu para esta variável.

O índice de histerese significativamente positivo para argila nos solos do segundo grupo (Tabela 5) indica que apesar da sorção desses solos não ser dependente do teor de argila, a dessorção é influenciada por essa característica. Isto não ocorre para os Latossolos, pois a sorção de herbicidas em argilas 1:1 (predominante nestes solos) é menos intensa que em argilas 2:1 (Prado et al., 2014). Uma vez que as interações nessas argilas são mais fortes, ocorre uma menor dessorção, aumentando o índice de histerese.

O teor de matéria orgânica correlacionou-se negativamente com o índice de histerese dos Latossolos. Isto mostra que a matéria orgânica, dos fatores que influenciam a sorção, é a que tem a interação mais fraca com o picloram.

O tamanho e a diversidade das amostras tiveram relação direta com os resultados observados. Estudos de sorção e dessorção de herbicidas em uma pequena amostra de solos podem gerar conclusões generalistas incorretas. Para avaliação do comportamento do picloram no solo, o indicado é que as informações sejam geradas separadamente para cada tipo de solo, visto que a constante de sorção e o índice de histerese são influenciados por diferentes propriedades químicas e físicas.

A análise de correlação de Pearson mostrou-se importante ferramenta no estudo do comportamento do picloram no solo. O uso dessa ferramenta estatística deve ser incentivado, sobretudo para evitar interpretações incorretas dos resultados. Todavia, a

eficiência desse tipo de análise baseia-se na definição preliminar e correta das amostras de solo que irão compor o estudo.

2.6. CONCLUSÃO

A influência dos atributos do solo nas constantes de sorção e dessorção e índice de histerese varia com o tipo de solo. Portanto não é possível expressar num modelo a estimativa do comportamento do picloram em solos de classes diferentes.

2.7. REFERÊNCIAS

Assis EC, Silva AA, Barbosa LC, Queiroz MELR, D'Antonino L, Cruz LS. Sorption and desorption of picloram in soils under pastures in Brazil. *Planta Daninha* 2011; 29:893-9.

Caner L, Radtke LM, Vignol-Lelarge ML, Inda AV, Bortoluzzi EC, Mexias ES. Basalt and rhyo-dacite weathering and soil clay formation undersubtropical climate in southern Brazil. *Geoderma* 2014; 235-36:100-12.

Close ME, Lee R, Sarmah AK, Pang L, Dann R, Magesan GN, Watt JPC, Vincent KW. Pesticide sorption and degradation characteristics in New Zealand soils - a synthesis from seven field trials. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 2008; 36:9-30.

Cruz CD. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum. Agronomy* 2013; 35:271-76.

Doretto KM, Peruchi LM, Rath S. Sorption and desorption of sulfadimethoxine, sulfaquinoxaline and sulfamethazine antimicrobials in Brazilian soils. *Science of the Total Environment* 2014; 476-477:406-14.

EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual methods of soil analysis. Rio de Janeiro: EMBRAPA 1997.

Fairchild JF, Feltz KP, Sappington LC, Allert AL, Nelson KJ, Valle J. An ecological risk assessment of the acute and chronic toxicity of the herbicide picloram to the threatened bull trout (*Salvelinus confluentus*) and the rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 2009; 56:761-69.

FAO – Food and Agriculture Organization of United Nations. FAO Specification and Evaluations for Agricultural Pesticides: Picloram. FAO 2012.

Ferreira CA, Silva AC, Torrado PV, Rocha WW. Genesis and classification of oxisols in a highland toposequence of the upper Jequitinhonha Valley (MG). *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 2010; 34:195-209.

Flessner ML, Wehtje GR, McElroy JS, Howe JA. Methiozolin sorption and mobility in sand-based root zones. *Pest Management Science* 2014. DOI: 10.1002/ps.3896.

Leal RMP, Alleoni LRF, Tornisielo VL, Regitano JB. Sorption of fluoroquinolones and sulfonamides in 13 Brazilian soils. *Chemosphere* 2013; 92:979-85.

Maciel GM, Inácio FD, Sá-Nakanishi AB, Haminiuk CWI, Castold R, Comar JF, Bracht A, Peralta RM. Response of *Ganoderma lucidum* and *Trametes* sp. to the herbicide picloram: Tolerance, antioxidants and production of ligninolytic enzymes. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2013; 105:84-92.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em 25 de setembro de 2014.

Marco-Brown JL, Areco MM, Sanchés RMT, Afonso MS. Adsorption of picloram herbicide on montmorillonite: Kinetic and equilibrium studies. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 2014; 449:121-8.

Marco-Brown JL, Barbosa-Lema CM, Sánchez RMT, Mercader RC, Afonso MS. Adsorption of picloram herbicide on iron oxide pillared montmorillonite, *Applied Clay Science* 2012; 58:25–33.

OECD – Organization for Economic Co-operation and Development. OECD - guidelines for testing of chemicals: adsorption, 106. OECD 2000.

Oliveira Jr. RS, Alonso DG, Koskinen WC. Comparative sorption, desorption and leaching potential of aminocyclopyrachlor and picloram. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes* 2013; 48:1049-57.

Oliveira Jr.RS, Koskinen WC, Ferreira FA. Sorption and leaching potential of herbicides on Brazilian soils. *Weed Research* 2001; 41:97-110.

Passos ABRJ, Freitas MAM, Torres LG, Silva AA, Queiroz MELR, Lima CF. Sorption and desorption of sulfentrazone in Brazilian soils. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes* 2013; 48:646-50.

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

Prado B, Duwig C, Hidalgo C, Müller K, Mora L, Raymundo E, Etchevers JD. Transport, sorption and degradation of atrazine in two clay soils from Mexico: Andosol and Vertisol. *Geoderma* 2014; 232-34:628-39.

Ribani M, Bottoli CBG, Collins CH, Jardim ICSF, Melo LFC. Validation for chromatographic and electrophoretic methods. *Química Nova* 2004; 27:771-80.

Santos LBO, Infante CMC, Masini JC. Determination of Picloram in Waters by Sequential Injection Chromatography with UV Detection. *Journal of Brazilian Chemical Society* 2010; 21:1557-62.

Sondhia S, Khare RR. Soil adsorption studies of a rice herbicide, cyhalofop-butyl, in two texturally different soils of India. *Environmental Monitoring and Assessment* 2014; 186:5969-76.

Trigo C, Koskinen WC, Kookana RS, Sorption-desorption of indaziflam and its three metabolites in sandy soils. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes* 2014, 49:836-43.

Wauchope RD, Buttler TM, Hornsby AG, Augustijn-Beckers PWM, Burt JP. The SCS/ARS/ CES Pesticide Properties Database for Environmental Decision-Making. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 1992; 123:1-155.

3. INFLUÊNCIA DO pH DO SOLO E DO MANEJO DA BRAQUIÁRIA NA LIXIVIAÇÃO DO PICLORAM

3.1. RESUMO

Acredita-se que lixiviação de herbicidas em solos de pastagens seja reduzida quando este herbicida é aplicado em solo com boa cobertura vegetal da forrageira. Visando testar essa hipótese avaliou-se nesta pesquisa a lixiviação do picloram em um Latossolo Vermelho-Amarelo com valores de pH 5,3 e 6,4, cultivado ou não com *Brachiaria brizantha*. Para isso, colunas de PVC de 50 cm de comprimento previamente preparadas foram preenchidas com os substratos. No topo dessas colunas foram cultivadas ou não plantas de *B. brizantha*. Estas se desenvolveram por 60 dias. Após este período as plantas foram roçadas em 50% das colunas. Logo após, foi aplicado no topo de todas as colunas o picloram na dose de 1920 g ha⁻¹, seguido da aplicação de uma chuva simulada de 60 mm após 12 horas. A determinação do picloram lixiviado foi realizada em 10 profundidades (0-5; 5-10; 10-15; 15-20; 20-25; 25-30; 30-35; 35-40; 40-45 e 45-50 cm). Para quantificação do picloram extraído das amostras de solo e de água percolada foi utilizada a cromatografia líquida de alta eficiência. Não foi detectada a presença do picloram nas amostras percoladas através das colunas. Em amostras de solo com maior valor de pH ocorreu maior lixiviação do herbicida independente do manejo da *B. brizantha*. Entretanto, a poda da forrageira reduziu a capacidade de retenção do herbicida no perfil do solo. Conclui-se que a lixiviação do picloram é mais acentuada em solos com maiores valores de pH e sem cobertura vegetal. Isto poderá resultar em menor eficiência do herbicida no controle das plantas daninhas e aumentar o risco de contaminação ambiental.

Palavras-chave: herbicida, pastagem, *Brachiaria brizantha*, contaminação ambiental.

3.2. ABSTRACT

It is believed that leaching of herbicides in pasture soils is reduced when this herbicide is applied in soil with good vegetation cover forage. To test this hypothesis was evaluated in this research to picloram leaching in a Oxisol with pH 5.3 and 6.4, cultivated or not with *Brachiaria brizantha*. For this purpose, PVC columns of 50 cm length were prepared previously filled with the substrates. On top of these columns were grown or not plant of *B. brizantha*. These were grown for 60 days. After this period the plants were slashed by 50% of the columns. After, was applied on top of all

columns picloram at a dose of 1920 g ha⁻¹, followed by the application of a simulated rainfall of 60 mm, after 12 hours. The determination of picloram leaching was made in 10 depths (0-5; 5-10; 10-15; 15-20; 20-25; 25-30; 30-35; 35-40; 40-45 and 45-50 cm). For quantification of picloram extracted from soil samples and percolated water was used high performance liquid chromatography. It was not detected the presence of picloram in samples percolated. In the samples with higher pH value was greater leaching of herbicide independent of the management of *Brachiaria*. However, pruning forage reduced the herbicide retention capacity of the soil profile. It is concluded that the leaching of picloram is more pronounced in soils with higher pH values and without vegetation. This may result in reduced herbicide efficiency in weed control and increase the risk of environmental contamination

Keywords: herbicide, pasture, *Brachiaria brizantha*, environmental contamination.

3.3. INTRODUÇÃO

Os problemas ambientais ocasionados pela aplicação de herbicidas na agricultura têm despertado a busca pelo conhecimento do comportamento desses produtos no ambiente. Quando aplicados no solo, estes compostos estão sujeitos aos processos de distribuição, e podem atingir águas subterrâneas e superficiais através do escoamento superficial e a lixiviação (Celis et al., 2005).

A lixiviação é um processo fundamental para a incorporação ao solo de alguns herbicidas, sobretudo dos produtos que agem no controle de sementes e plântulas (Grichar et al., 2007). No entanto, a lixiviação pode conduzir parte destas partículas para camadas mais profundas do solo, limitando, assim, a atividade do herbicida e aumentando o seu potencial para se tornar um contaminante das águas subterrâneas (Guerra et al., 2013).

A mobilidade dos herbicidas no perfil do solo é dependente de vários fatores como os atributos do solo (natureza e conteúdo dos constituintes orgânicos e minerais, pH), as propriedades e a concentração do pesticida aplicado e o tempo de sua aplicação, bem como da frequência e abundância de precipitação ou irrigação (Muller et al., 2007). Além disso, esses fatores ocorrem influência de práticas agronômicas como o preparo do solo ou aplicação de fertilizantes (Oikali-Haouchineet al., 2013).

Dentro de um mesmo grupo químico de herbicidas existe relação direta entre solubilidade do herbicida em água e mobilidade no perfil do solo. Deste modo aqueles que apresentarem maior solubilidade em água têm maior potencial de contaminação das

águas subterrâneas, uma vez que podem facilmente migrar para os aquíferos (Celis et al., 2005). O picloram é um herbicida com alta solubilidade em água ($0,520 \text{ g L}^{-1}$) e de carácter aniônico em pH da maioria dos solos e ambientes aquáticos ($\text{pK}_a \sim 2,3$). Essas características como consequência podem gerar baixa sorção do herbicida nas partículas de solo aumentando as possibilidades de lixiviação no solo (Marco-Brown et al., 2014).

Os estudos sobre o processo de lixiviação de herbicidas no solo em ambiente controlado têm sido realizados, predominantemente, com o uso de colunas de PVC (Delwiche et al., 2014; Kalbe et al., 2014; López-Piñero et al., 2014). Nestes estudos, as colunas preenchidas com o solo são submetidas à aplicação do herbicida e da simulação de chuvas. Esse método desconsidera o papel das plantas na dinâmica do produto no ambiente o que não representa a realidade para herbicidas aplicados em pastagens. Nestas normalmente os herbicidas são aplicados em área completamente coberta pela forrageira e espécies infestantes.

Diante do exposto, nesta pesquisa teve-se como objetivo determinar a influência do pH do solo e do manejo da *Brachiaria brizantha* na lixiviação do picloram no perfil do solo.

3.4. MATERIAL E MÉTODOS

3.4.1. Amostras de solo

O solo utilizado foi um Latossolo Vermelho-Amarelo coletado na profundidade de 0 a 20 cm, em área sem histórico de aplicação de herbicidas, e peneirado em malha de 4 mm. A amostra de solo foi dividida em duas partes e em apenas uma fez-se a correção do pH utilizando CaCO_3 . Obteve-se assim dois substratos com pH diferente: 5,3 e 6,4 (Tabela 1).

Tabela 1. Atributos químicos e físicos do Latossolo Vermelho-Amarelo (LVA)

Análise Química													
Solo	pH	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	(t)	T	V	m	MO
	H ₂ O	mg dm ⁻³			----- cmol dm ⁻³ -----			----- % -----					
LVA _{sc}	5,3	134,9	110	9,9	1,0	0,0	4,79	11,18	11,18	15,97	70	0,0	1,76
LVA _{cc}	6,4	134,9	106	11,9	1,2	0,0	1,65	13,37	13,37	15,02	89	0,0	1,76
Análise Física													
Areia				Silte				Argila					
----- % -----													
34				12				54					

cc: Com correção da acidez; sc: Sem correção da acidez. (a) Soma de bases; (b) Capacidade de troca catiônica; (c) Matéria orgânica. (EMBRAPA, 1997)

3.4.2. Colunas de Lixiviação

Foram preparadas 12 colunas de PVC (Policloreto de vinila) de 20 cm de diâmetro por 50 cm de comprimento para cada amostra de solo (pH 5,3 e 6,4). Estas colunas foram previamente parafinadas no seu interior para evitar escorrimento lateral da água a ser utilizada para mobilidade do herbicida. Na sequência, discos de papel-filtro (nº 10 - porosidade de 10 µm) de 16 cm de diâmetro e uma malha de gaze (abertura de malha de 15 mm), foram colocados na parte inferior da coluna, para reter o solo.

As colunas foram preenchidas com amostras de solo semeando-se a seguir as sementes de *B. brizantha* no topo de metade das colunas. A umidade do solo de todas as colunas foi mantida próxima a capacidade de campo, por meio de irrigações diárias. Aos 10 dias após a emergência da *B. brizantha* foi realizado o desbaste, mantendo-se cinco plantas por coluna (Figura 1 – a e b). Aos 60 dias após a emergência as colunas foram saturadas com água para eliminar qualquer bolha de ar presente. A saturação da coluna foi alcançada colocando-se a coluna dentro de um recipiente (caixa d'água) com até 80 % da altura da mesma, por um período de 48 horas. Posteriormente, as colunas foram deixadas na posição vertical por 24 h para a drenagem do excesso de água.



Figura 1. Colunas após 60 dias da montagem (a) sem planta (b) com planta, (c) poda da *Brachiaria brizantha* e (d) abertura longitudinal das colunas.

Após a drenagem da água separou-se três colunas com plantas de cada valor de pH de solo e foi realizada a poda das plantas de braquiária (Figura 1-c), sendo cortadas a uma altura de 2 cm do solo. Desta maneira, para cada valor de pH, foram avaliados três tratamentos: solo sem planta, solo com braquiária com poda e solo com braquiária sem poda. O experimento foi delineado em blocos casualizados, com três repetições.

O picloram foi aplicado diretamente no solo na parte superior das colunas na dose de 1920 g ha^{-1} com exceção de três colunas com solos de cada valor de pH que serviram de branco. Após 12 horas da aplicação, foi simulada uma chuva de 60 mm. A água percolada foi coletada no final das colunas. Depois de 72 horas, as colunas foram abertas longitudinalmente e realizou-se o seccionamento do solo de cada coluna a cada 5 cm e coletadas as amostras (Figura 1 - d).

As amostras foram secas ao ar, peneiradas em malha de 2 mm para posterior análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

3.4.3. Método de Extração

A extração do herbicida nas amostras de solo foi realizada segundo metodologia de Assis et al. (2011) com modificações. Para confirmação dos resultados obtidos por esses autores, foram realizados testes de extração e em seguida a quantificação dos extratos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O método consiste em pesar 2,00 gramas de solo seco, previamente homogeneizado, em frascos de tampa rosqueável com 50,0 mL de capacidade; adicionando a seguir 20,0 mL da solução extratora de KCl 0,5 mol L⁻¹. Os frascos contendo essa mistura foram agitados em agitador vertical por 1 hora, seguido de centrifugação por 6 minutos a 3000 rpm. Do sobrenadante foi retirada uma alíquota de 1,5 mL que foi filtrada em membrana de 0,45 µm para posterior análise por CLAE.

As amostras de água percolada foram centrifugadas por 6 minutos a 3000 rpm e filtradas em membrana de 0,45 µm para posterior análise por CLAE.

3.4.4. Análise Cromatográfica

As determinações do picloram foram realizadas utilizando-se um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência modelo Shimadzu LC 20AT, detector de arranjo de fotodiodo (Shimadzu SPD- M20A), coluna C₁₈ de aço inox (Shimadzu VP-ODS Shim-pack 250 mm x 4,6 mm d. i., 5 µm de tamanho de partícula).

As condições cromatográficas para a análise foram fase móvel composta de água (acidificada com 0,1% de ácido fosfórico) e acetonitrila na proporção 60:40 (v/v); fluxo de 0,8 mL min⁻¹; volume de injeção de 20 µL; temperatura da coluna de 30° C; comprimento de onda: 223nm (Santos et al., 2010). As análises foram realizadas em triplicata. A identificação do sinal do picloram foi feita por comparação do tempo de retenção.

A solução estoque do herbicida foi preparada a partir do padrão de Picloram (ácido 4-amino-3,5,6-tricloropiridina-2-carboxílico; 99,6%) obtido da Sigma-Aldrich, Alemanha, na concentração de 1000 mg L⁻¹ em etanol e as soluções de trabalho preparadas a partir desta.

3.4.5. Validação

O método de extração do picloram em amostras de solos foi validado segundo os parâmetros seletividade, linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão.

A seletividade foi avaliada pela comparação dos cromatogramas dos extratos obtidos, após a utilização do método otimizado dos dois solos isentos de herbicida e desses fortificados com o picloram a $1,5 \text{ mg kg}^{-1}$.

A linearidade do aparelho foi obtida utilizando oito concentrações crescentes em triplicata em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Ao passo que a linearidade do método foi determinada fortificando amostras de solos isentas de herbicida em concentrações crescentes para a obtenção de extratos com concentrações determinadas após o procedimento de extração.

Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram determinados pelo método baseado em parâmetros da curva analítica, onde esses parâmetros são expressos por $3,3x \text{ (s/S)}$ e $10x \text{ (s/S)}$, respectivamente, nos quais “s” é a estimativa do desvio padrão do coeficiente linear “S” é a inclinação ou coeficiente angular da curva analítica (Ribani et al., 2004).

A avaliação do parâmetro precisão foi realizada em dois níveis: repetitividade e precisão intermediária. Para a repetitividade utilizou-se uma concentração do extrato próximo de 2 vezes o limite de quantificação do método para cada solo com sete repetições, pela mesma analista e mesmo equipamento. Enquanto que a precisão intermediária foi avaliada pela análise das porcentagens de recuperação do herbicida em cada solo e seus respectivos coeficientes de variação (CV) em três dias diferentes (1º, 7º e 14º dia) para uma concentração de aproximadamente 2 vezes o limite de quantificação para o método em cada solo.

A exatidão foi determinada com concentrações finais dos extratos de aproximadamente 1, 2 e 10 vezes o limite de quantificação do método para cada solo.

Para as análises na água percolada apenas determinou-se a seletividade, linearidade ($40 \text{ a } 1000 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) e limites de detecção e quantificação utilizando amostras de água percolada fortificada com o picloram.

3.4.6. Análise estatística

Para discussão dos resultados obtidos utilizou-se a análise descritiva.

3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.5.1. Validação

3.5.1.1. Solo

O método proposto se mostrou seletivo para ambos os solos estudados (Figura 2).

A linearidade na faixa de trabalho da resposta do aparelho foi de 10,0 a 150 $\mu\text{g L}^{-1}$ e do método utilizado para o LVA_{SC} de 110 a 1500,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e para o LVA_{CC} de 100,0 a 1500,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (Figura 3), com bom ajuste linear.

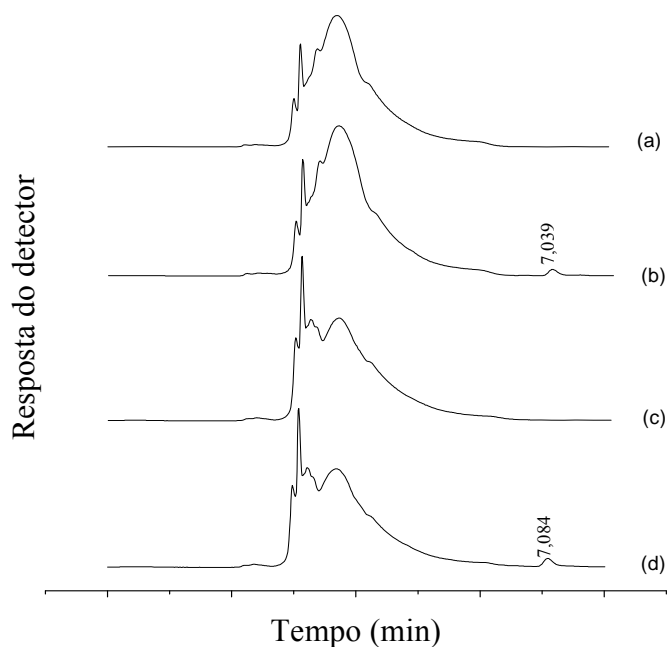


Figura 2. LVA_{SC} (a) isento de picloram e (b) com picloram ($1,5 \text{ mg kg}^{-1}$) $t_{\text{R}} = 7,039$ e LVA_{CC} (c) isento de picloram e (d) com picloram ($1,5 \text{ mg kg}^{-1}$), $t_{\text{R}} = 7,084$

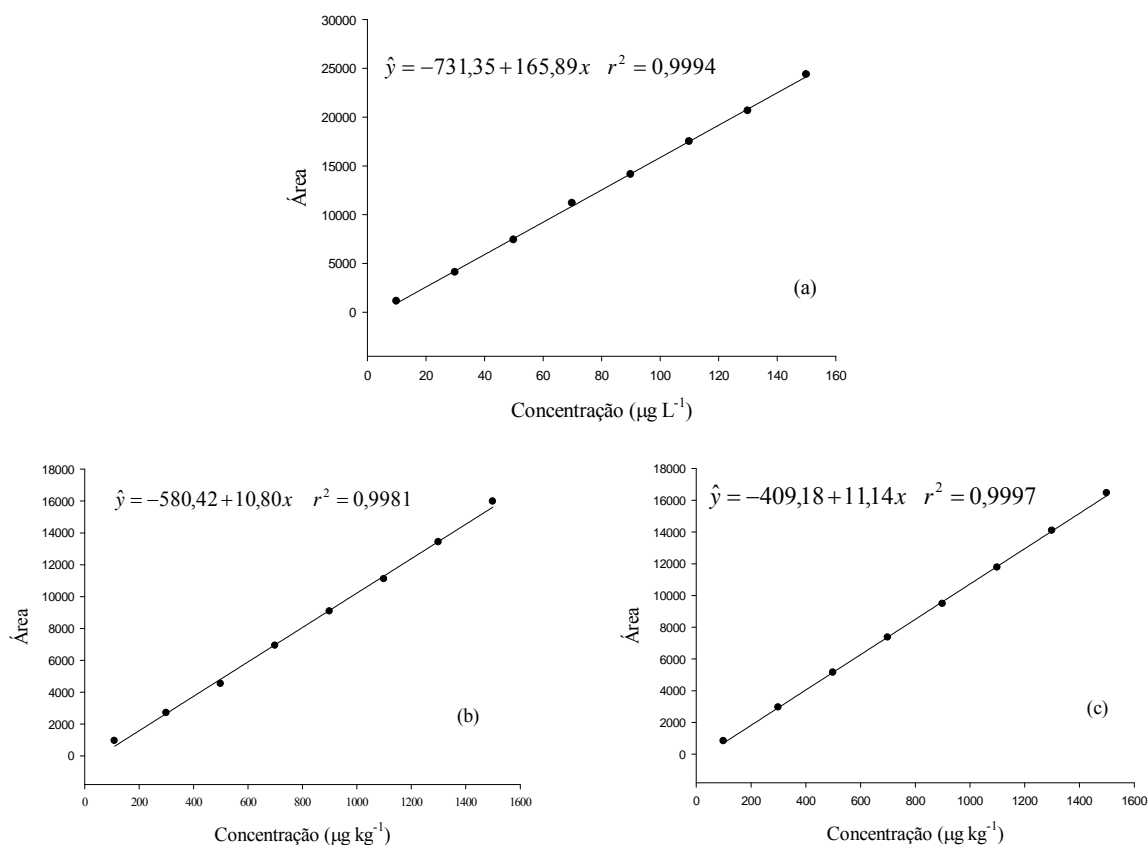


Figura 3. Linearidade do aparelho (a) e do método para LVA_{SC} (b) e LVA_{CC} (c).

Para verificar se o ajuste linear foi adequado à curva analítica do método, plotou-se o gráfico de resíduos (Figura 4).

Problemas no ajuste da curva podem ser detectados pela análise do gráfico dos resíduos como desvios da linearidade, presença de amostras atípicas, heterocedasticidade e dependência entre os erros (Ribeiro et al., 2008). Observa-se na figura 4 a boa distribuição dos resíduos em ambos os solos. Este comportamento é referente à resíduos que estão normalmente distribuídos.

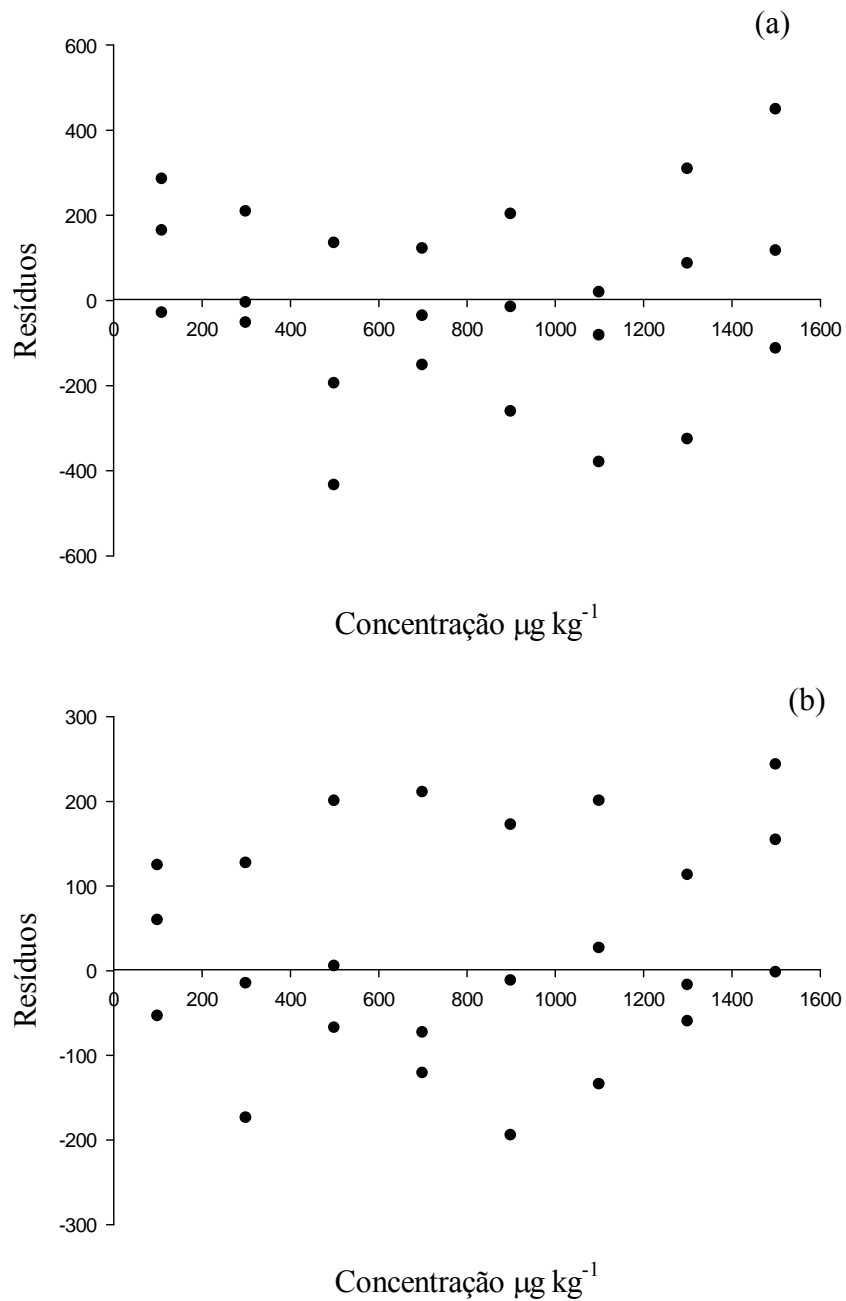


Figura 4. Dispersão dos resíduos da regressão da resposta analítica em função da concentração de picloram na faixa de (a) 110 a 1500,0 μg kg⁻¹ para o LVA_{SC} e de (b) 100,0 a 1500,0 μg kg⁻¹ para o LVA_{CC}.

Os valores dos limites de detecção e quantificação para ambos os solos encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3. Limites de detecção e quantificação do LVA_{SC} e LVA_{CC}

Parâmetro avaliado	LVA _{SC}	LVA _{CC}
Limite de Detecção (LD) $\mu\text{g kg}^{-1}$	35,9	28,5
Limite de Detecção (LD) $\mu\text{g L}^{-1}$	3,6	2,8
Limite de Quantificação (LQ) $\mu\text{g kg}^{-1}$	108,8	86,6
Limite de Quantificação (LQ) $\mu\text{g L}^{-1}$	10,9	8,7

Tabela 4. Porcentagens de recuperação (% R) e coeficientes de variação (CV) obtidos após sete extrações do picloram em amostras dos solos fortificados (repetitividade).

Solo	% R	CV (%)
LVA _{SC}	91,24	1,32
LVA _{CC}	96,20	2,88

Tabela 5. Porcentagens de recuperação (% R) e coeficientes de variação (CV) obtidos após análise em diferentes dias, pelo mesmo analista (precisão intermediária).

Solo	1º dia	7º dia	14º dia	CV
	----- % R \pm dp -----			%
LVA _{SC}	90,59 \pm 2,07	91,20 \pm 3,28	98,64 \pm 4,33	4,83
LVA _{CC}	96,20 \pm 2,77	103,54 \pm 4,02	99,02 \pm 1,91	8,36

Tabela 6. Valores da porcentagem de recuperação e coeficiente de variação obtidos após análise de diferentes concentrações (exatidão).

Solo	Concentrações			CV (%)
	110 $\mu\text{g kg}^{-1}$	220 $\mu\text{g kg}^{-1}$	1100 $\mu\text{g kg}^{-1}$	
LVA _{SC}	% R	% R	% R	4,62
	99,83	91,24	93,90	
LVA _{CC}	100 $\mu\text{g kg}^{-1}$	200 $\mu\text{g kg}^{-1}$	1000 $\mu\text{g kg}^{-1}$	1,37
	% R	% R	% R	
	98,79	96,20	96,91	

Os demais parâmetros avaliados estão de acordo com as recomendações do AOAC (2002) para análise de resíduos, com porcentagens de recuperação entre 80 e 115% e coeficientes de variação menores que 15% (Tabela 4, 5 e 6).

O método validado é seletivo, preciso, exato, possui boa linearidade dentro da faixa de trabalho e bons limites de detecção e quantificação, mostrando que o método é adequado para quantificação do picloram nos diferentes solos.

3.5.1.2. Água percolada

O cromatograma do branco da matriz isenta do herbicida, não possui picos de co-extrativos referentes ao mesmo tempo de retenção (aproximadamente 7 minutos) do picloram, caracterizando um método seletivo (Figura 5).

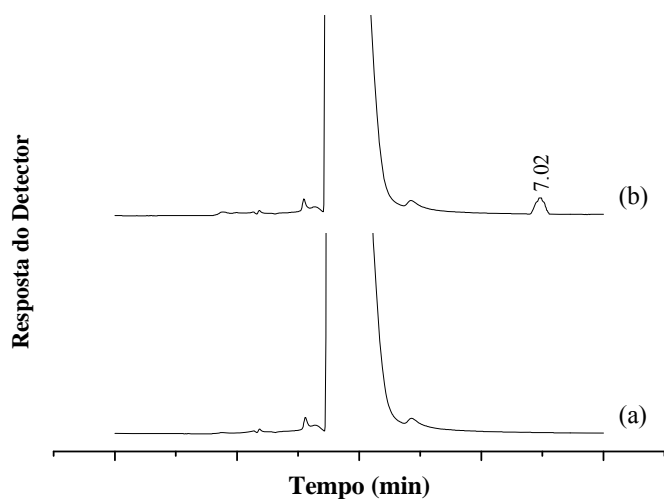


Figura 5. Cromatograma da amostra de água isenta (a) e com picloram em concentração de $500 \mu\text{g L}^{-1}$ (b).

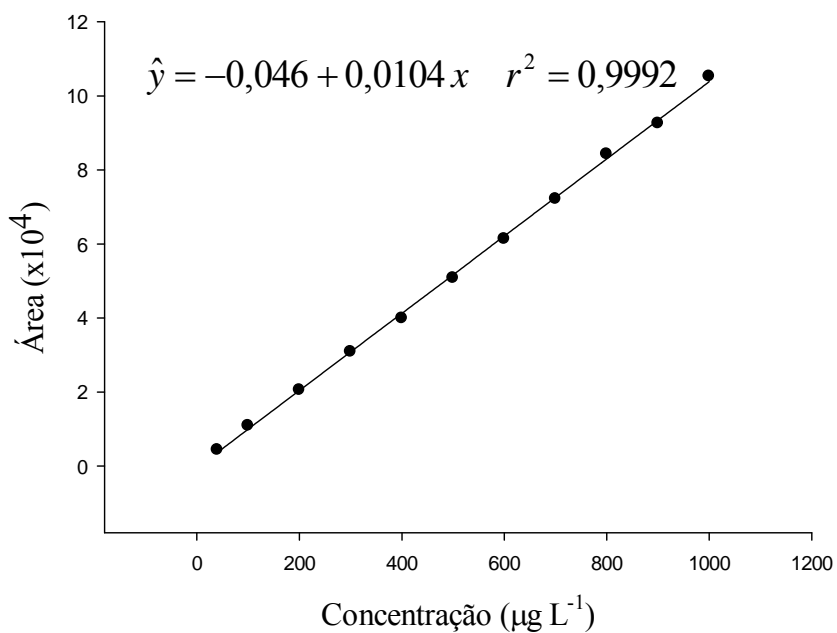


Figura 6. Linearidade do método para água percolada

A linearidade foi determinada no intervalo de 40 a 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$, com coeficiente de determinação de 0,99 (Figura 6). Os limites de detecção e quantificação foram de 11,32 e 34,32 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

3.5.2. Lixiviação do picloram

O picloram lixiviou com maior intensidade no solo com pH 6,4 do que no solo sem correção (pH 5,3) (Figura 7). O herbicida foi detectado até a camada de 30-40 e 25-30 cm nestes solos, respectivamente. A quantidade do picloram detectado no solo com pH 5,3 decresceu com o aumento das profundidades. Todavia, no solo com pH 6,4, maior concentração do herbicida foi constatada na camada de 5-10 cm.

A maior mobilidade do picloram em solos com maior valor de pH ocorre pelo fato de nos Latossolos haver predominância de argilas 1:1 (caulinita), que possuem cargas dependentes do pH (Passos et al., 2013). A elevação do pH faz com que essas argilas se tornem carregadas negativamente devido à desprotonação das hidroxilas presentes na superfície delas (Maciel et al., 2013). O picloram, com o aumento do pH, também se torna carregado negativamente. Este herbicida é um ácido fraco ($\text{pK}_a \sim 2.3$) e nestas condições perde um hidrogênio da hidroxila. Como as argilas e o picloram estão com carga negativa, ocorre uma repulsão resultando em uma menor sorção deste produto e conseqüente maior lixiviação.

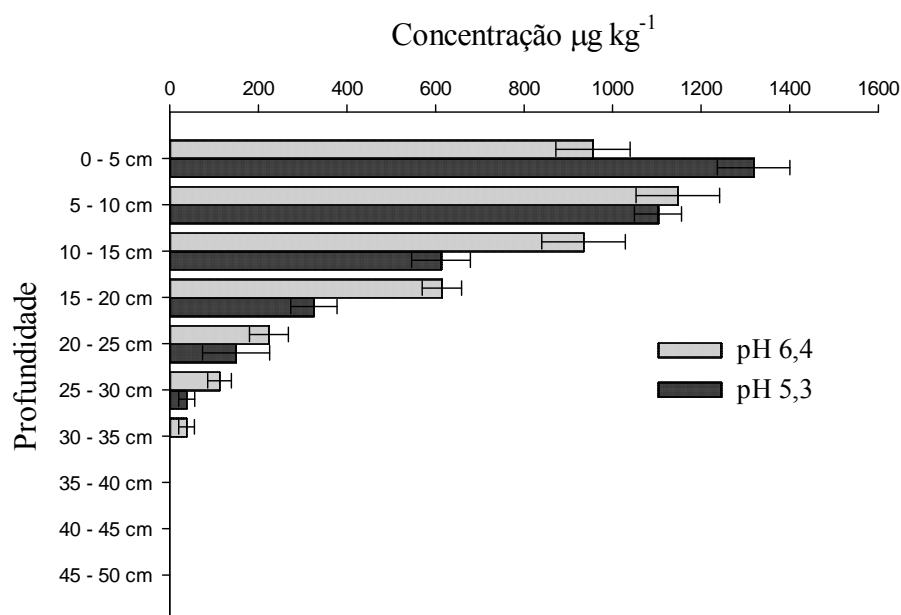


Figura 7. Média da concentração do picloram em cada profundidade para cada valor de pH.

O picloram lixiviou em maiores profundidades (30-35 cm) no solo sem cultivo (Figura 8). A presença da parte aérea da braquiária reduziu a lixiviação em 10 cm, sendo detectado o herbicida até a camada de 20-25 cm. Esses resultados indicam a importância da parte aérea da planta na redução da lixiviação do herbicida, visto que em solo com a presença somente das raízes da forrageira (manejo com poda) o herbicida foi detectado até a camada de 25-30 cm.

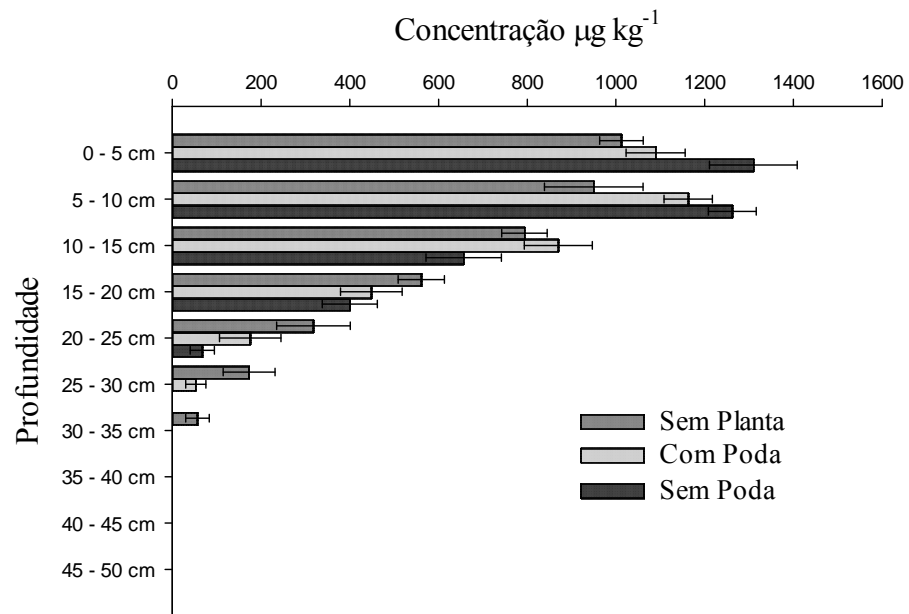


Figura 8. Média da concentração do picloram em cada profundidade para cada manejo.

Comparando separadamente cada valor de pH em cada manejo, observa-se que a presença da braquiária com parte aérea fez com que o picloram no solo com menor valor de pH lixiviasse menos do que qualquer outro manejo em qualquer pH (Tabela 6). Ao contrário, no solo com mais alto valor de pH e sem planta encontrou-se picloram até 35 cm, profundidade até onde ocorreu a máxima lixiviação.

No manejo sem planta no LVA_{CC} (pH 6,4), o picloram lixiviou mais uniformemente nos 4 primeiros segmentos, enquanto que no LVA_{SC} (pH 5,3) houve maior concentração do herbicida até 10 cm. Isto evidencia a menor sorção do picloram estando este mais presente na solução do solo em valores de pH mais altos. O mesmo ocorreu para os demais manejos, porém de forma bem menos intensa.

As concentrações totais do picloram em cada manejo e pH, indica um valor maior para o pH 6,4. Isto pode ter ocorrido, pois como o herbicida lixiviou mais, nas maiores profundidades foram encontradas concentrações altas de picloram. Entretanto,

para os solos com pH 5,3, o herbicida estava menos disponível na solução do solo, lixiviando menos e apenas pequenas quantidades, menores que o limite de detecção, estariam em maiores profundidades não sendo detectados. Estudos realizados por coleta da água percolada em lisímetros com solos com valor de pH próximos de 5,3 mostram que o picloram foi encontrado em lixiviados até 109 cm (Berisford et al., 2006). Este resultado indica que mesmo mais sorvido, este herbicida ainda possui uma alta disponibilidade na solução do solo neste valor de pH.

Comparando-se o LVA onde se podou a braquiária (manejo com poda) nos dois diferentes valores de pH, percebe-se que a maior lixiviação devido ao maior valor de pH fez com que o picloram fosse encontrado em maior concentração no segundo segmento da coluna e não no primeiro como observado no solo com pH 5,3 (Tabela 6). O mesmo ocorre no manejo sem poda, porém quando há a poda da planta, a segunda maior concentração do herbicida é encontrada no terceiro segmento (10-15 cm), enquanto que no manejo sem poda o mesmo não foi observado. Isto pode ter ocorrido, pois sem a presença da parte aérea, a planta perde um pouco da sua capacidade de retenção do herbicida. Por ser uma boa remediadora do picloram em solos (Carmo et al., 2008), isto sugere que a braquiária absorva parte do herbicida quando há parte aérea. Estudos mostram que o picloram é absorvido pelas plantas de *Eleusine coracana* e *Panicum maximum* e permanece na parte aérea (Nascimento et al., 2014). O mesmo pode ter ocorrido com as plantas de braquiária.

Tabela 6. Concentração do picloram ($\mu\text{g kg}^{-1}$) em cada segmento da coluna em LVA nos dois valores de pH e nos diferentes manejos e o total de cada tratamento.

Manejo	pH	Concentração do picloram ($\mu\text{g kg}^{-1}$)								Total
		Segmentos da coluna (cm)								
		0-5	5-10	10-15	15-20	20-25	25-30	30-35	35-50	
Sem planta	5,3	1091,3	1061,0	742,2	419,0	204,2	114,6	0,0	0,0	3632,3 \pm 56,76
Sem planta	6,4	933,2	838,9	845,2	703,1	430,9	231,2	113,2	0,0	4095,7 \pm 67,92
Com poda	5,3	1355,9	1038,4	523,3	318,9	244,5	0,0	0,0	0,0	3481,0 \pm 80,33
Com poda	6,4	823,1	1287,4	1216,8	577,9	106,1	105,7	0,0	0,0	4117,0 \pm 58,33
Sem poda	5,3	1508,6	1208,3	571,6	238,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3526,5 \pm 84,78
Sem poda	6,4	1110,9	1315,7	741,4	561,9	134,7	0,0	0,0	0,0	3864,6 \pm 63,53

Portanto a presença da braquiária com parte aérea pode absorver parte do picloram ocorrendo uma menor lixiviação do herbicida. Enquanto que quando há apenas

a raiz da planta, esta diminui a lixiviação, porém menos do que quando não houve poda da braquiária. Podendo ser apenas um impedimento físico.

Não foi detectado picloram nas amostras de água percolada.

3.6. CONCLUSÃO

Conclui-se que a lixiviação do picloram é mais acentuada em solos com maiores valores de pH e sem cobertura vegetal. Isto poderá resultar em menor eficiência do herbicida no controle das plantas daninhas e aumentar o risco de contaminação ambiental.

3.7. REFERÊNCIAS

AOAC International. AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals. AOAC International 2002, 38p.

Assis EC, Silva AA, D'antonino L, Queiroz MELR, Barbosa LC. Leaching of picloram in ultisol under different rainfall volumes. *Planta Daninha* 2011, 29:1129-1136.

Berisford YC, Bush PB, Taylor Jr JW. Leaching and persistence of herbicides for kudzu (*Pueraria montana*) control on pine regeneration sites. *Weed Science* 2006; 54:391-400.

Carmo ML, Procópio SO, Pires FR, Cargnelutti Filho A, Barroso ALL, Silva GP, Carmo EL, Braz GBP, Silva WFP, Braz AJBP, Pacheco LP. Plant Selection for Phytoremediation of Soils Contaminated with Picloram. *Planta Daninha* 2008, 26:301-313.

Celis R, Real M, Herмосín MC, Cornejo J. Sorption and leaching behaviour of polar aromatic acids in agricultural soils by batch and column leaching tests. *European Journal of Soil Science* 2005, 56:287-297.

Delwiche KB, Lehmann J, Walter MT. Atrazine leaching from biochar-amended soils. *Chemosphere* 2014, 95:346-352.

EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual methods of soil analysis. Rio de Janeiro: EMBRAPA 1997.

- Grichar WJ, Dotray PA. Weed control and sesame (*Sesamum indicum* L.) response to preplantin incorporated herbicides and method of incorporation. *Crop Protection* 2007, 26:1826–1830.
- Guerra N, Oliveira Júnior RB, Constantin J, Oliveira Neto AM, Dan HA, Braz GBP. The leaching of trifloxysulfuron-sodium and pyriithiobac-sodium in soil columns as a function of soil liming. *Acta Scientiarum. Agronomy* 2013, 35:175-181.
- Kalbe U, Bandow N, Bredow A, Mathies H, Piechotta C. Column leaching tests on soils containing less investigated organic pollutants. *Journal of Geochemical Exploration* 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gexplo.2014.06.014>.
- López-Piñeiro A, Peña D, Albarrán A, Sánchez-Llerena J, Becerra D. Long-term effects of olive mill waste amendment on the leaching of herbicides through undisturbed soil columns and mobility under field conditions. *Soil & Tillage Research* 2014, 144:195–204.
- Maciel GM, Inácio FD, Sá-Nakanishi AB, Haminiuk CWI, Castold R, Comar JF, Bracht A, Peralta RM. Response of *Ganoderma lucidum* and *Trametes* sp. to the herbicide picloram: Tolerance, antioxidants and production of ligninolytic enzymes. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2013; 105:84-92.
- Marco-Brown JL, Areco MM, Sánchez RMT, Afonso MS. Adsorption of picloram herbicide on montmorillonite: Kinetic and equilibrium studies. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 2014, 449:121-128.
- Müller K, Magesan GN, Bolan NS. A critical review of the influence of effluent irrigation on the fate of pesticides in soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 2007, 120:93–116.
- Nascimento AF, Pires FR, Chagas K, Procópio SO, Oliveira MA, Cargnelutti Filho A, Belo AF; Egreja Filho FB. Risk of soil recontamination due to using *Eleusine coracana* and *Panicum maximum* straw after phytoremediation of picloram. *International Journal of Phytoremediation* 2014, 17:313-321.
- Oukali-Haouchine O, Barriuso E, Mayata Y, Moussaoui KM. Factors affecting metribuzin retention in Algerian soils and assessment of the risks of contamination. *Environmental Monitoring Assessment* 2013, 185:4107–4115.
- Passos ABRJ, Freitas MAM, Torres LG, Silva AA, Queiroz MELR, Lima CF. Sorption and desorption of sulfentrazone in Brazilian soils. *Journal of Environmental Science*

and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes 2013; 48:646-650.

Ribani M, Bottoli CBG, Collins CH, Jardim ICSF, Melo LFC. Validation for chromatographic and electrophoretic methods. *Química Nova* 2004, 27:771-780.

Ribeiro FADL, Ferreira MMC, Morano SC, Silva LRD, Schneider RP. Planilha de validação: Uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. *Química Nova*, 2008, 31:164-171.

Santos LBO, Infante CMC, Masini JC. Determination of Picloram in Waters by Sequential Injection Chromatography with UV Detection. *Journal of Brazilian Chemical Society* 2010, 21:1557-1562.

4. INFLUÊNCIA DO MANEJO DA VEGETAÇÃO NA PERSISTÊNCIA DO PICLORAM NO SOLO

4.1. RESUMO

A inviabilização da rotação de culturas devido à contaminações do solo por herbicidas ocorre com muita frequência no Brasil, em áreas de pastagens. Isto resulta do manejo inadequado das plantas daninhas nestas áreas com aplicações frequentes do picloram. Este herbicida apresenta baixo índice de sorção nos solos e longa persistência no ambiente. Acredita-se que o manejo adequado da forrageira nas pastagens possa reduzir a meia-vida do picloram no solo. Neste trabalho foi determinada a meia-vida do picloram em solo cultivado com *Brachiaria brizantha* sob diferentes manejos. Para realizar este estudo a *B. brizantha* foi cultivada, ou não, em vasos revestidos com filmes de polietileno e preenchidos com amostras de um Latossolo Vermelho-Amarelo. Após 60 dias da emergência das plantas da *B. brizantha*, em 50% das parcelas experimentais, que continham plantas, estas foram cortadas rentes ao solo. Em seguida, aplicou-se o picloram em todas as parcelas. Após aplicação, foram coletadas amostras de solos das parcelas aos 2, 16, 30, 44, 58, 72, 86, 120, 150 e 180 dias. Estas amostras, logo após as coletas, foram secas ao ar e armazenadas em freezer a temperatura -20 °C para posterior extração e quantificação do picloram por cromatografia líquida de alta eficiência com detector UV-Vis. Para o cálculo da meia-vida utilizou-se um modelo de cinética de segunda ordem, que mais se adequou aos dados. A meia-vida do picloram em solo com braquiária sem poda e com poda foi reduzida em 81 e 64%, respectivamente, em relação ao solo isento de planta. Concluiu-se que a meia-vida do picloram no solo é influenciada pela cobertura do solo com a *B. brizantha* e que o manejo adequado dessa forrageira pode reduzir a persistência desse herbicida nos solos.

Palavras-chave: herbicida, pastagem, impacto ambiental.

4.2. ABSTRACT

The impracticability of crop rotation due to soil contamination by herbicides occurs frequently in Brazil, in pastures. This results from inadequate management of weeds in these areas with frequent picloram applications. This herbicide has low sorption rate in soils and long persistence in the environment. It is believed that the proper management of forage in pastures can reduce the half-life of picloram in soil. In this work we determined the half-life of picloram in soil cultivated with *Brachiaria brizantha* under

different managements. To carry out this study, *Brachiaria* was grown or not in coated pots with polyethylene film and filled with samples of an Oxisol. After 60 days of the emergence of the plants of *Brachiaria* in 50% of the plots, containing plants, these were cut close to the soil. Then was applied the picloram in all plots. After application, plots of soil samples were collected from the 2, 16, 30, 44, 58, 72, 86, 120, 150 and 180 days. After, these samples were dried and stored in a freezer at -20 °C temperature for subsequent extraction and quantification of picloram by high performance liquid chromatography with UV-Vis detector. To calculate the half-life was used one kinetic model of second order, which is more suited to data. The half-life of picloram in soil with *Brachiaria* without pruning or trimming was reduced by 81 and 64%, respectively, relative to soil free of plant. It was concluded that the half-life of picloram in soil is influenced by soil cover with *Brachiaria* and the proper management of this forage can reduce the persistence of this herbicide in the soil.

Keywords: herbicide, pasture, environmental impact.

4.3. INTRODUÇÃO

O Brasil possui um dos maiores rebanhos bovinos do mundo que em sua maioria é criada em regime extensivo em áreas de pastagens (plantada ou natural) que ocupa cerca de 173 milhões de hectares. Este tipo de exploração pecuária associado à grande extensão territorial do país, que possui condições climáticas adequadas para o crescimento das de forrageiras o ano todo,, resulta em menor custo de produção de carne em comparação com outros países exportadores desse alimento (Embrapa, 2014).

Uma condição essencial para se manter grandes áreas de pastagem com boa produtividade é o manejo adequado das plantas daninhas. Estas quando não manejadas adequadamente podem inviabilizar a atividade econômica reduzindo a produtividade das forrageiras (Nunes, 2001). Dentre as espécies de plantas daninhas que causam os maiores danos se destacam as dicotiledôneas. Para manejo dessas plantas infestantes deve-se utilizar o manejo integrado que consiste numa boa cobertura do solo pela forrageira durante todo o ano. Para se conseguir isso, é necessário manter a fertilidade do solo, escolher uma forrageira adequada às condições de solo e clima e fazer o controle das plantas daninhas. A braquiária (*Brachiaria brizantha*) tem sido uma das espécies forrageiras mais utilizadas na formação de pastagens no Brasil (Boddey et al., 2004) e para o controle das plantas daninhas o herbicida mais utilizado tem sido o picloram (ácido 4-amino-3,5,6-tricloro-2-piridinocarboxílico) (Belo et al., 2011).

O picloram é recomendado em aplicações em pós-emergência para o controle das plantas daninhas e em pulverizações em tocos logo após o corte dos arbustos e árvores para inibir a rebrota. Quando atinge o solo este herbicida pode permanecer por longo período (Wauchope et al., 1992; Fairchild et al., 2009; Bandžuchová et al., 2011) inviabilizando a rotação de culturas. Além disso, é muito lixiviado (Maciel et al., 2013) podendo contaminar águas subterrâneas.

Uma das alternativas para reduzir o impacto ambiental causado por esse herbicida pode ser o cultivo de espécies que podem acelerar a sua degradação ou reduzir o seu potencial de lixiviação nos solos (Nascimento et al., 2015). Para o picloram, alguns estudos (Carmo et al., 2008, Germaine et al., 2006; Souto et al., 2015) destacaram o papel da *B. brizantha* na redução da meia-vida deste herbicida no solo. Em todos estes estudos tem-se avaliado a eficiência da planta em remediar solos já contaminado pelo herbicida. Acredita-se que aplicações desse herbicida em área com boa cobertura da *B. brizantha*, mantendo-se o manejo adequado da pastagem possa reduzir os danos ambientais dessa tecnologia, ou seja, diminuindo a persistência do herbicida no solo.

Nesta pesquisa teve-se o objetivo de determinar por cromatografia líquida de alta eficiência a meia-vida do picloram em solo cultivado com *B. brizantha* já desenvolvida e em parcelas onde a forrageira havia sido podada simulando o pastejo animal.

4.4. MATERIAL E MÉTODOS

4.4.1. Amostra de solo

O solo utilizado foi um Latossolo Vermelho-Amarelo coletado na profundidade de 0 a 20 cm e peneirado em malha de 4 mm. Este solo foi caracterizado química e fisicamente (Tabela 1).

Tabela 1. Atributos químicos e físicos do Latossolo Vermelho-Amarelo (LVA)

Análise Química												
pH	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	(t)	T	V	m	MO
H ₂ O	mg dm ⁻³		----- cmol dm ⁻³ -----			-----			----- % -----			
5,3	134,9	110	9,9	1,0	0,0	4,79	11,18	11,18	15,97	70	0,0	1,76
Análise Física												
Areia				Silte				Argila				
-----%-----												
34				12				54				

4.4.2. Casa de vegetação

Vasos com 30 cm de diâmetro foram revestidos com sacos plásticos e preenchidos com 7 kg de solo cada, onde semeou-se seis sementes de braquiária (*B. brizantha*), totalizando 60 vasos com planta e 30 vasos sem planta. O solo foi mantido com umidade próxima a capacidade de campo por meio de irrigações diárias para o pleno desenvolvimento da braquiária. Aos 10 dias após a emergência foi realizado o desbaste, padronizando-se cinco plantas por vaso.

Aos 60 dias após a emergência, foi realizada a poda da braquiária em 30 vasos resultando em três tratamentos: vasos sem planta, vasos com braquiária com poda e vasos com braquiária sem poda. Logo após, o picloram foi aplicado nos vasos diretamente no solo na dose de 1920 g ha⁻¹. Foram realizadas dez coletas de amostras de solo nos vasos ao longo do tempo totalizando 180 dias (2, 16, 30, 44, 58, 72, 86, 120, 150 e 180 dias). As amostras de solo de cada vaso foram homogeneizadas e parte foi seca ao ar e peneirada em malha de 2 mm. Estas amostras foram armazenadas congeladas à -20 °C até a extração e análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

4.4.3. Método de Extração

A extração do herbicida nas amostras de solo foi realizada segundo metodologia de Assis et al. (2011) com modificações. Para confirmação dos resultados obtidos por esses autores, foram realizados testes de extração e em seguida a quantificação dos extratos por CLAE. O método consiste em pesar 2 gramas de solo seco, previamente homogeneizado, em frascos de tampa rosqueável com 50,0 mL de capacidade;

adicionando a seguir 20,0 mL da solução extratora de KCl 0,5 mol L⁻¹. Os frascos contendo essa mistura foram agitados em agitador vertical por 1 hora, seguido de centrifugação por 6 minutos a 3000 rpm. Do sobrenadante foi retirado uma alíquota de 1,5 mL que foi filtrada em membrana de 0,45 µm para posterior análise por CLAE.

4.4.4. Análise Cromatográfica

As determinações do picloram foram realizadas utilizando-se um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência modelo Shimadzu LC 20AT, detector de arranjo de fotodiodo (Shimadzu SPD- M20A), coluna C₁₈ de aço inox (Shimadzu VP- ODS Shim-pack 250 mm x 4,6 mm d. i., 5 µm de tamanho de partícula). A solução estoque do herbicida foi preparada a partir do padrão de picloram (ácido 4-amino-3,5,6-tricloropiridina-2-carboxílico; 99,6%) obtido da Sigma-Aldrich, Alemanha, na concentração de 1000 mg L⁻¹ em etanol e as soluções de trabalho preparadas a partir desta.

As condições cromatográficas da análise foram: fase móvel composta de água (acidificada com 0,1% v/v de ácido fosfórico) e acetonitrila na proporção 60:40 (v/v); fluxo de 0,8 mL min⁻¹; volume de injeção de 20 µL; temperatura da coluna de 30 °C; comprimento de onda: 223 nm (Santos et al., 2010). As análises foram realizadas em triplicata. A identificação do sinal do picloram foi feita por comparação do tempo de retenção.

4.4.5. Validação

O método de extração do picloram em amostras de solos foi validado segundo os parâmetros seletividade, linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão.

A seletividade foi avaliada pela comparação dos cromatogramas dos extratos obtidos, após a utilização do método otimizado em solo isento de herbicida e desse fortificado com o picloram a 1,5 mg kg⁻¹.

A linearidade do método na faixa de trabalho foi determinada fortificando amostras de solos isentas de herbicida em concentrações crescentes para a obtenção de extratos com concentrações determinadas após o procedimento de extração.

Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram determinados pelo método baseado em parâmetros da curva analítica, onde esses parâmetros são expressos

por $3,3x (s/S)$ e $10x (s/S)$, respectivamente, nos quais s é a estimativa do desvio padrão da resposta da equação da linha de regressão e S é a inclinação ou coeficiente angular da curva analítica (Ribani et al., 2004).

A avaliação do parâmetro precisão foi realizada em dois níveis: repetitividade e precisão intermediária. Para a repetitividade utilizou-se uma concentração do extrato próximo de 2 vezes o limite de quantificação do método no solo com sete repetições, pela mesma analista e mesmo equipamento. Enquanto que a precisão intermediária foi avaliada pela análise das porcentagens de recuperação do herbicida em cada solo e pelo coeficiente de variação (CV) de três dias diferentes (1º, 7º e 14º dia) para uma concentração de aproximadamente 2 vezes o limite de quantificação para o método em cada solo.

A exatidão foi determinada com concentrações finais dos extratos de aproximadamente 1, 2 e 10 vezes o limite de quantificação do método para cada solo.

4.4.6. Análise estatística

A meia-vida do picloram foi calculada com base no melhor modelo de cinética de degradação: zero ($C = C_0 - kt$), primeira ($\ln C = \ln C_0 - kt$) ou segunda ordem ($1/C = 1/C_0 + kt$), onde C é a concentração do picloram no tempo t e C_0 é a concentração inicial. Após escolha do melhor modelo em posse da constante k calculou-se os tempos de meia-vida ($t_{1/2}$).

A avaliação da diferença entre os tratamentos em época de coleta foi realizada utilizando a análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey à 5% de probabilidade.

4.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.5.1. Validação

Os cromatogramas dos extratos do LVA estudado não apresentaram interferentes no mesmo tempo de retenção do picloram (Figura 1)

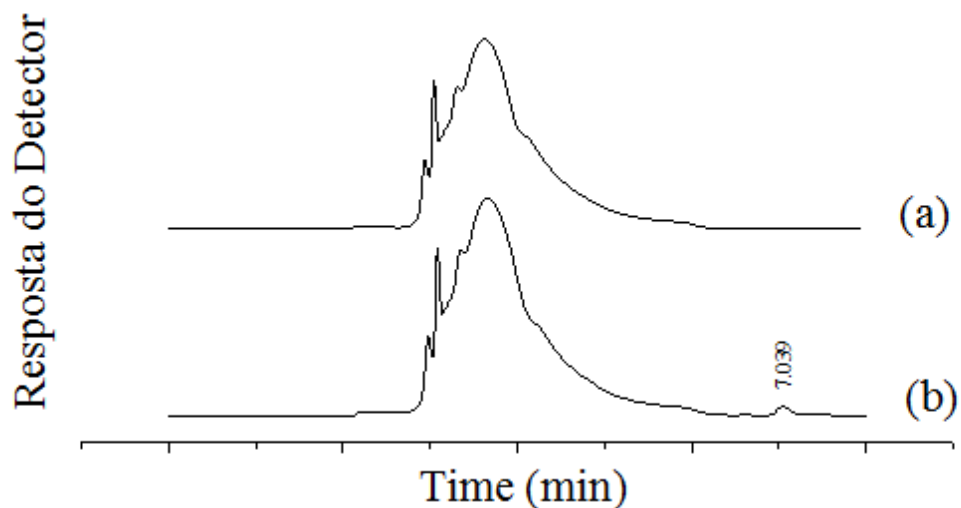


Figura 1. Cromatograma do LVA na (a) presença e (b) ausência de picloram na concentração de $1,5 \text{ mg kg}^{-1}$ ($t_R \sim 7.0$).

A linearidade na faixa de trabalho da resposta do método utilizado para o LVA foi de $0,8$ a $4,0 \text{ mg kg}^{-1}$ (Figura 2). Para verificar e confirmar se o ajuste linear foi adequado à curva analítica do método, plotou-se o gráfico de resíduos (Figura 3). Uma boa distribuição dos resíduos confirma o bom ajuste linear da curva (Ribeiro et al., 2008).

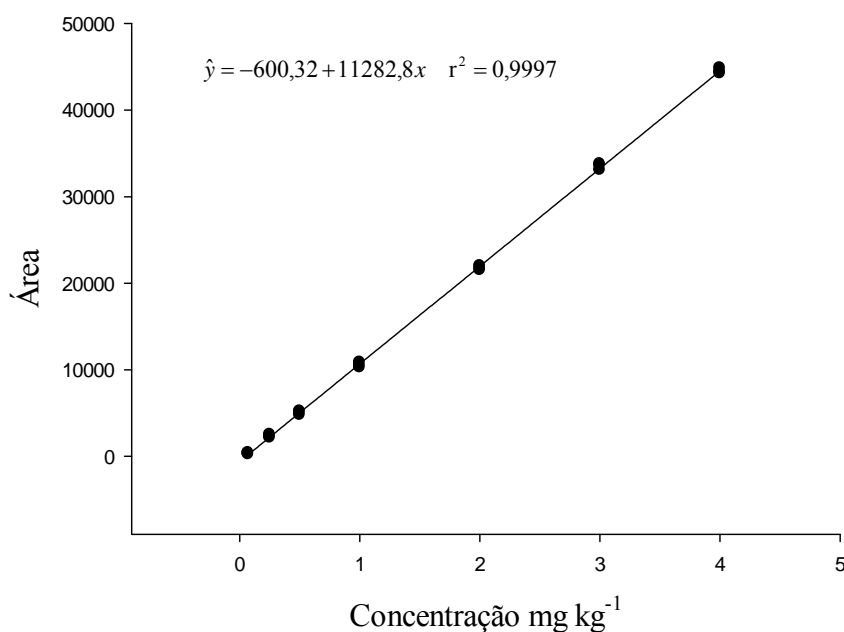


Figura 2. Linearidade do método na faixa de trabalho para LVA.

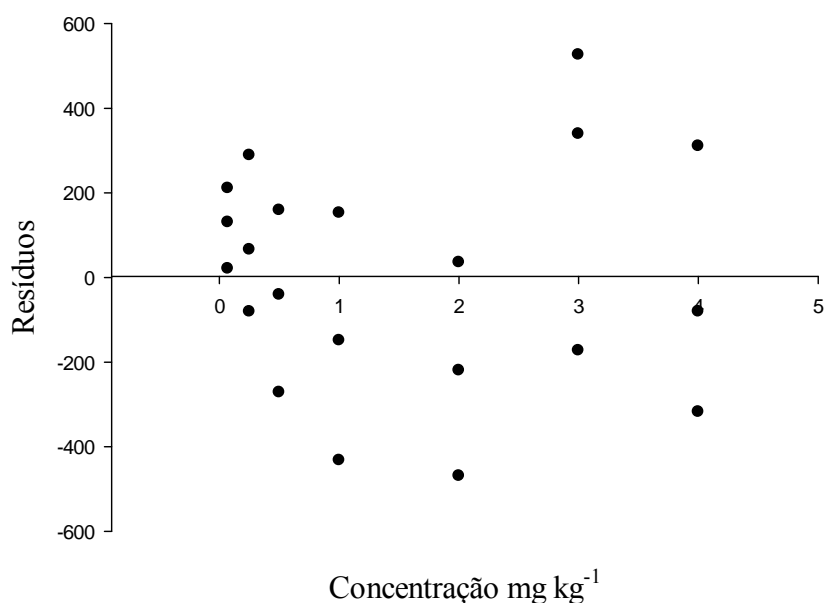


Figura 3. Dispersão dos resíduos da regressão da resposta analítica em função da concentração de picloram na faixa de 0,8 a 4,0 mg kg⁻¹ para o LVA.

O limite de detecção e quantificação foram de 25,73 e 77,98 µg kg⁻¹, respectivamente.

Os demais parâmetros avaliados estão de acordo com as recomendações do AOAC (2002) para análise de resíduos, com porcentagens de recuperação entre 80 e 115% e coeficientes de variação menores que 15% (Tabela 2, 3, 4).

Tabela 2. Porcentagens de recuperação (% R) e coeficientes de variação (CV) obtidos após sete extrações do picloram em amostras dos solos fortificados (repetitividade).

Solo	% R	CV (%)
LVA	100,44	2,10

Tabela 3. Porcentagens de recuperação (% R) e coeficiente de variação (CV) obtidos após análise em diferentes dias, pelo mesmo analista (precisão intermediária).

Solo	1º dia	7º dia	14º dia	CV
	----- % R ± dp -----			%
LVA	100,44 ± 2,12	95,84 ± 5,67	93,01 ± 0,78	3,89

Tabela 4. Valores da porcentagem de recuperação e coeficiente de variação obtidos após análise de diferentes concentrações (exatidão).

Solo	Concentrações			CV (%)
	80 $\mu\text{g kg}^{-1}$	160 $\mu\text{g kg}^{-1}$	800 $\mu\text{g kg}^{-1}$	
LVA	% R	% R	% R	3,14
	95,01	100,44	99,38	

O método se mostrou seletivo, linear, com bons limites de detecção e quantificação, além de boa precisão e exatidão nas análises.

4.5.2. Meia-vida

A escolha do modelo cinético foi de acordo com o melhor ajuste ao coeficiente de determinação (r^2) e com o menor valor para a raiz quadrada do erro médio quadrático (RMSE) (Remini et al., 2015). O modelo cinético de segunda ordem foi o que mais se adequou à todos os tratamentos (Tabela 5). O cálculo da meia-vida procedeu-se utilizando a equação $t_{1/2} = (1/C_0k)$, onde C_0 é a concentração do picloram no tempo inicial.

A presença da braquiária diminuiu a meia-vida do picloram no solo. Quando houve poda da planta a redução foi aproximadamente de 64%, enquanto que a planta sem poda diminuiu o tempo de meia-vida do herbicida de 93 para 17 dias, ou seja, em torno de 81% de redução (Figura 4 e Tabela 6). Em trabalho onde foi utilizada outra planta remediadora do picloram, a *Eleusina coracana*, porém nos estágios iniciais de desenvolvimento, a redução da meia-vida foi de 43 a 50% (Silva et al., 2012).

A presença da parte aérea da forrageira diminuiu o tempo de meia-vida em quase à metade quando comparada ao manejo com poda. Isto significa que o pastejo excessivo de animais, em pastagens onde se aplica o picloram, prejudica a degradação do herbicida, porém ainda permite uma maior redução da meia-vida comparada a solos sem a presença da planta. É possível que ocorra uma degradação devido à micro-organismos presentes no sistema radicular da forrageira. Estudos mostram que a maior parte da degradação do picloram no solo é devido à ação de micro-organismos (Sadowsky et al., 2009). Isto mostra a grande importância da presença da raiz da braquiária no solo contaminado com o herbicida.

Tabela 5. Equação de regressão para cada ordem de reação e seus respectivos coeficientes de determinação (r^2) e valor da raiz quadrada do erro médio quadrático (RMSE).

Tratamento	Ordem	Equação	r^2	RMSE
Sem Poda	0	$y = -0,008x + 1,3154$	0,6119	0,3542
	1	$y = -0,0112x + 0,1754$	0,8774	0,2318
	2	$y = 0,0277x + 0,3148$	0,8652	0,1072
Com Poda	0	$y = -0,0074x + 1,4288$	0,7155	0,2586
	1	$y = -0,0089x + 0,3956$	0,9157	0,1496
	2	$y = 0,0129x + 0,5163$	0,9789	0,1052
Sem Planta	0	$y = -0,0053x + 1,3452$	0,5657	0,2719
	1	$y = -0,0051x + 0,2672$	0,7118	0,1804
	2	$y = 0,0054x + 0,7741$	0,8323	0,1349

A braquiária é conhecida por sua capacidade de remediação do picloram em solo nos estágios iniciais de seu desenvolvimento (Carmo et al., 2008). O mesmo pode ser afirmado com a planta já desenvolvida, visto que a presença desta planta acelerou a degradação deste herbicida. A presença da parte aérea da braquiária pode ter estimulado a absorção do picloram, por isso uma menor meia-vida no solo nos tratamentos sem poda. A planta pode ter acumulado o herbicida em suas folhas, como as plantas de *Eleusina coracana* e *Panicum maximum*, que cultivadas em solo com presença de picloram, acumularam o herbicida na parte aérea (Nascimento et al., 2015).

Tabela 6. Tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) do picloram em solo sem planta e com braquiária com e sem poda.

Tratamento	$t_{1/2}$ (dias)
Sem poda	17,56
Com poda	33,32
Sem planta	93,30

Quando há a poda da parte aérea de uma planta, esta tende a restaurar o equilíbrio entre seus órgãos. Uma das maneiras é cessar o crescimento da raiz e realocar o carbono deste órgão para a rebrota. A consequência deste movimento é a morte de parte das raízes (Chesney e Vasquez, 2007; Moura e Costa, 2001). Com um volume

menor de raiz a comunidade microbiana presente na rizosfera tende a diminuir (Bardgett et al., 1998). Com uma menor atividade dos micro-organismos do solo, a degradação do picloram decresce, prejudicando a degradação deste herbicida.

O solo cultivado com braquiária podada se comporta semelhante ao solo sem cultivo até aos 120 dias após a aplicação (Tabela 7). A partir desse período se diferenciam do solo sem planta, porém não se assemelha ao solo com cultivo sem poda. Isto ocorre, pois a braquiária, devido à poda, perde parte da sua capacidade de remediar o picloram, e após 120 dias, quando estava novamente desenvolvida, a absorção do herbicida foi mais intensa e, portanto diferente do solo sem planta.

A concentração do picloram no tratamento com braquiária sem poda manteve-se diferente dos demais em todas as épocas de coleta, exceto no tempo de 150 dias (Tabela 7). Porém, com tempo de coleta de amostras superior à 180 dias poderia resultar em uma maior semelhança entre os tratamentos com e sem poda, devido ao maior desenvolvimento da planta anteriormente podada.

A presença da planta de braquiária em solos contaminados por picloram, ajuda na redução da meia-vida deste herbicida diminuindo problemas de toxidez em culturas sucessivas, além de reduzir a possibilidade de contaminação de águas subterrâneas ou superficiais devido ao seu movimento no perfil do solo.

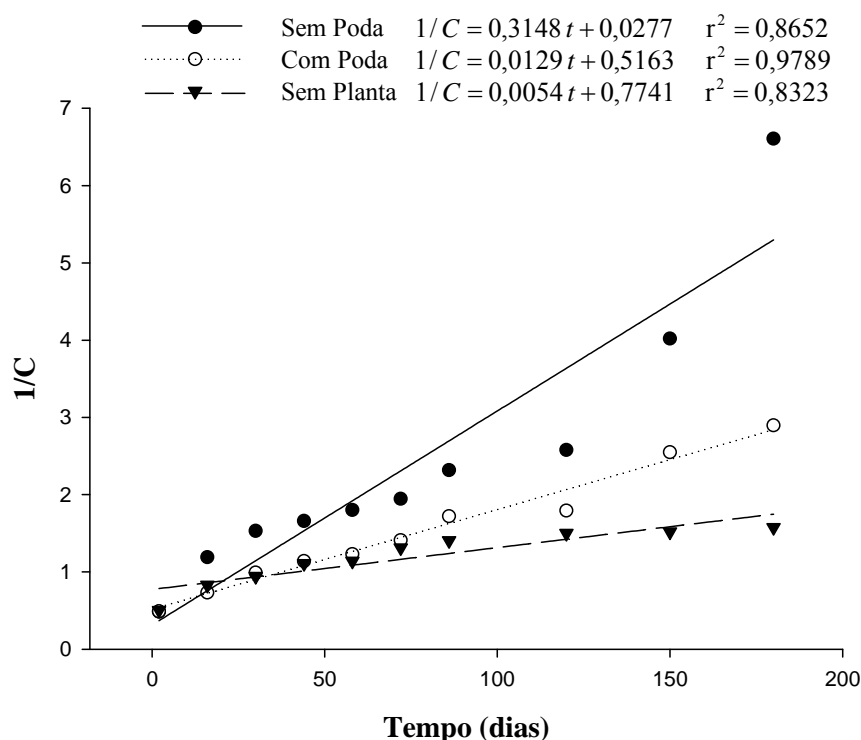


Figura 4. Curvas de cinética de segunda ordem para a degradação do picloram em solo sem planta e com braquiária com e sem poda.

Tabela 7. Concentrações do picloram em solo sem planta e cultivado com braquiária sem e com poda, em diferentes dias após a aplicação do herbicida

Tempo	Manejos da braquiária		
	Sem Planta	Com Poda	Sem Poda
DAA	Concentração do picloram (mg kg ⁻¹)		
2	1,985 a	2,042 a	2,056 a
16	1,206 a	1,366 a	0,840 b
30	1,060 a	1,009 a	0,654 b
44	0,901 a	0,878 a	0,603 b
58	0,877 a	0,813 ab	0,555 b
72	0,762 a	0,709 a	0,514 b
86	0,712 a	0,582 ab	0,432 b
120	0,667 a	0,558 a	0,388 b
150	0,658 a	0,393 b	0,249 b
180	0,635 a	0,345 b	0,151 c
CV (%)	CV _{parcela} = 14,59	CV _{sub-parcela} =11,82	

DAA: Dias após a aplicação. CV: Coeficiente de variação. *Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

4.6. CONCLUSÃO

O picloram aplicado em pastagem com *B. brizantha* já desenvolvida reduz a meia-vida do herbicida, resultando em menor risco ambiental em comparação a aplicações em solo com pouca ou nenhuma cobertura vegetal.

4.7. REFERÊNCIAS

AOAC International. AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals. AOAC International 2002, 38p.

Assis EC, Silva AA, D'antonino L, Queiroz MELR, Barbosa LC. Leaching of picloram in ultisol under different rainfall volumes. *Planta Daninha* 2011, 29:1129-1136.

Bandžuchová L, Švorc L, Sochr J, Svítková J, Chýlková J. Voltammetric method for sensitive determination of herbicide picloram in environmental and biological

samples using boron-doped diamond film electrode. *Electrochimica Acta* 2013; 111:242-249.

Bardgett RD, Wardle DA, Yeates GW. Linking above-ground and below-ground interactions: how plant responses to foliar herbivory influence soil organisms. *Soil Biology and Biochemistry* 1998; 30:1867-1878.

Belo AF, Coelho ATCP, Tironi SP, Ferreira EA, Ferreira LR, Silva AA. Photosynthetic Activity of Plants Cultivated in Soil Contaminated with Picloram. *Planta Daninha* 2011; 29:885-892.

Boddey RM, Macedo R, Tarré RM, Ferreira E, Oliveira OC, Rezende CP, Cantarutti RB, Pereira JM, Alves BJR, Urquiaga S. Nitrogen cycling in Brachiaria pastures: the key to understanding the process of pasture decline. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 2004; 103:389–403.

Carmo ML, Procópio SO, Pires FR, Cargnelutti Filho A, Barroso ALL, Silva GP, Carmo EL, Braz GBP, Silva WFP, Braz AJBP, Pacheco LP. Plant Selection for Phytoremediation of Soils Contaminated with Picloram. *Planta Daninha* 2008; 26:301-313.

Chesney P, Vasquez N. Dynamics of non-structural carbohydrate reserves in pruned *Erythrina poeppigiana* and *Gliricidia sepium* trees. *Agroforestry Systems* 2007; 69:89-105.

Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Diagnóstico das Pastagens no Brasil. Documentos / Embrapa Amazônia Oriental 2014; 1ªed, 36p.

Fairchild JF, Feltz KP, Sappington LC, Allert AL, Nelson KJ, Valle J. An Ecological Risk Assessment of the Acute and Chronic Toxicity of the Herbicide Picloram to the Threatened Bull Trout (*Salvelinus confluentus*) and the Rainbow Trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 2009; 56:761-769.

Germaine KJ, Liu X, Cabellos GG, Hogan JP, Ryan D, Dowling DN. Bacterial endophyte-enhanced phytoremediation of the organochlorine herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *FEMS Microbiology Ecology* 2006; 57:302–310.

Maciel GM, Souza CGM, Araújo CAV, Bona E, Haminiuk CWI, Castoldi R, Bracht A, Peralta RM. Biosorption of herbicide picloram from aqueous solutions by live and heat-treated biomasses of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst and *Trametes* sp. *Chemical Engineering Journal* 2013; 215-216:331-338.

Moura GM, Costa NL. Efeito da frequência e altura de poda na produtividade de raízes e parte aérea em mandioca. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 2001; 36:1053-1059.

Nascimento AF, Pires FR, Chagas K, Procópio SO, Oliveira MA, Cargnelutti Filho A, Belo AF, Egreja Filho FB. Risk of Soil Recontamination Due to Using *Eleusine coracana* and *Panicum maximum* Straw After Phytoremediation of Picloram. *International Journal of Phytoremediation* 2015; 17:313-321.

Nunes SG. Controle de Plantas Invasoras em Pastagens Cultivadas nos Cerrados. Embrapa Gado de Corte 2001; 35p.

Remini H, Mertz C, Belbahi A, Achir N, Dornier M, Madani K. Degradation kinetic modelling of ascorbic acid and colour intensity in pasteurised blood orange juice during storage. *Food Chemistry* 2015; 173:665-673.

Ribani M, Bottoli CBG, Collins CH, Jardim ICSF, Melo LFC. Validation for chromatographic and electrophoretic methods. *Química Nova* 2004, 27:771-780.

Sadowsky MJ, Koskinen WC, Bischoff M, Barber BL, Becker JM, Turco RF. Rapid and Complete Degradation of the Herbicide Picloram by *Lipomyces kononenkoae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2009; 57:4878-4882.

Santos LBO, Infante CMC, Masini JC. Determination of Picloram in Waters by Sequential Injection Chromatography with UV Detection. *Journal of Brazilian Chemical Society* 2010, 21:1557-1562.

Silva LOC, Silva AA, Queiroz MELR, Lima CF, Rocha PRR, D'Antonino L. Action of *Eleusine coracana* in the Remediation of Soils Contaminated with Picloram. *Planta Daninha* 2012, 30:627-632.

Souto KM, Avila LA, Cassol GV, Machado SLO, Marchesan E. Phytoremediation of lowland soil contaminated with a formulated mixture of Imazethapyr and Imazapic. *Revista Ciência Agronômica* 2015; 46:185-192.

Wauchope RD, Buttler TM, Hornsby AG, Augustijn-Beckers PWM, Burt JP. The SCS/ARS/ CES Pesticide Properties Database for Environmental Decision-Making. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 1992; 123:1-155.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesta pesquisa foram determinadas as constantes de sorção e dessorção e o índice de histerese do picloram em 20 diferentes solos brasileiros e relação dessas variáveis com os atributos desses solos. Além disso, foi avaliado o comportamento do picloram em um Latossolo Vermelho-Amarelo quando o herbicida foi aplicado em pastagem com diferentes manejos da forrageira. Verificou-se que a sorção e dessorção do picloram são dependentes dos atributos dos solos, principalmente matéria orgânica, pH, soma de bases, capacidade de troca catiônica e argila, porém a intensidade dessa dependência varia de acordo com o tipo de solo. Constatou-se, ainda, que a presença da *Brachiaria brizantha* reduz a lixiviação e a meia-vida do picloram no solo e, que este efeito, é maior quando o herbicida é aplicado em pastagem com bom manejo da forrageira.

Estes resultados confirmam a teoria “para realizar o Manejo Integrado das Plantas Daninhas é necessário fazer bom controle cultural e conhecer as interações dos herbicidas a serem recomendados com os atributos do solo”. Estas são as condições para aplicações seguras dos herbicidas do ponto vista técnico e ambiental.