

CECÍLIA BRUSTOLINI ROSADO

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DE  
RESÍDUOS DE PARAQUAT EM GRÃO E VAGEM DE FEIJÃO E  
QUALIDADE FISIOLÓGICA DAS SEMENTES APÓS A DESSECAÇÃO**

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

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2016

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

T

R788d  
2016  
Rosado, Cecília Brustolini, 1990-  
Desenvolvimento de método para quantificação de resíduos de  
paraquat em grão e vagem de feijão e qualidade fisiológica das sementes  
após a dessecação / Cecília Brustolini Rosado. - Viçosa, MG, 2016.  
x, 44f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Antonio Alberto da Silva.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Feijão. 2. *Phaseolus vulgaris* L. 3. Vagem - Semente - Qualidade  
fisiológica. 4. Dessecantes. 5. Semente - Efeitos do herbicida. I.  
Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Química. Programa de  
Pós-graduação em Agroquímica. II. Título.

CDD 22. ed. 635.652

**CECÍLIA BRUSTOLINI ROSADO**

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DE  
RESÍDUOS DE PARAQUAT EM GRÃO E VAGEM DE FEIJÃO E  
QUALIDADE FISIOLÓGICA DAS SEMENTES APÓS A DESSECAÇÃO**

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

APROVADA: 15 de julho de 2016.

---

Antônio Augusto Neves

---

Eduardo Fontes Araújo

---

Renata Pereira Lopes Moreira  
(Coorientadora)

---

Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz  
(Presidente da Banca)

*Aos meus pais Sebastião e Carmem Amélia e a  
toda a minha Família,*

***Dedico este trabalho.***

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por sempre iluminar meus caminhos.

Ao professor Antônio Alberto pela orientação, confiança e ensinamentos.

Aos professores Renata e Francisco Cláudio pela coorientação no trabalho, conselhos e ensinamentos.

Aos professores Maria Eliana, Antônio Augusto e Eduardo Fontes por aceitarem ser membros da banca.

Aos meus pais, Sebastião e Carmem Amélia, e meus irmãos, Danilo e Karina, pelo amor, carinho e incentivo.

A toda minha família pelo apoio.

Ao meu noivo Liniker pelo apoio e companheirismo.

Aos meus amigos da pós-graduação pela amizade.

À equipe Planta Daninha pela ajuda, amizade e aprendizado.

A Carolina e Ivan pela ajuda e amizade.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa.

A Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade de realização do trabalho.

A todos que de uma maneira ou de outra, contribuíram para a execução desse trabalho.

## **BIOGRAFIA**

CECÍLIA BRUSTOLINI ROSADO, filha de Carmem Amélia Brustolini Rosado e Sebastião Graciano Silva Rosado, nasceu em Viçosa, estado de Minas Gerais, em 13 de abril de 1990.

Iniciou o curso de Química em março de 2009 na Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa MG, diplomando-se em julho de 2014. No mesmo ano, no mês de agosto, iniciou o curso de pós-graduação em Agroquímica com área de concentração em Química Analítica em nível de mestrado, na mesma instituição, submetendo-se à defesa de dissertação em 15 de julho de 2016.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vii
ABSTRACT .....	ix
<b>1. INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Literatura citada .....</b>	<b>3</b>
<b>2. MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DE RESÍDUO DE PARAQUAT NO GRÃO E NA VAGEM DO FEIJÃO .....</b>	<b>7</b>
<b>2.1. Resumo .....</b>	<b>7</b>
<b>2.2. Abstract .....</b>	<b>8</b>
<b>2.4. Material e métodos .....</b>	<b>10</b>
<b>2.4.1. Reagentes e soluções .....</b>	<b>10</b>
<b>2.4.2. Condições cromatográficas .....</b>	<b>10</b>
<b>2.4.3. Obtenção das amostras .....</b>	<b>11</b>
<b>2.4.4. Preparo das amostras .....</b>	<b>12</b>
<b>2.4.5. Método de extração .....</b>	<b>12</b>
<b>2.4.6. Otimização do método .....</b>	<b>12</b>
<b>2.4.7. Validação do método .....</b>	<b>13</b>
<b>2.4.7.1. Seletividade .....</b>	<b>13</b>
<b>2.4.7.2. Linearidade .....</b>	<b>13</b>
<b>2.4.7.3. Limite de detecção e quantificação .....</b>	<b>13</b>
<b>2.4.7.4. Precisão .....</b>	<b>14</b>
<b>2.4.7.5. Exatidão .....</b>	<b>14</b>
<b>2.4.8. Análise dos resultados .....</b>	<b>14</b>
<b>2.5. Resultados e Discussão .....</b>	<b>15</b>
<b>2.5.1. Otimização .....</b>	<b>15</b>
<b>2.5.1.1. Limpeza das amostras .....</b>	<b>15</b>
<b>2.5.1.2. Concentração de ácido .....</b>	<b>18</b>
<b>2.5.1.3. Aquecimento .....</b>	<b>18</b>
<b>2.5.1.4. Solvente de extração .....</b>	<b>19</b>
<b>2.5.2. Validação do método .....</b>	<b>20</b>
<b>2.5.2.4. Precisão e exatidão do método .....</b>	<b>22</b>
<b>2.5.3. Análise das amostras .....</b>	<b>22</b>
<b>2.6. Conclusões .....</b>	<b>25</b>

2.7. Literatura Citada .....	25
<b>3. EFEITOS DE HERBICIDAS DESSECANTES NA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE FEIJÃO .....</b>	<b>28</b>
3.1. Resumo .....	28
3.2. Abstract .....	28
3.3. Introdução.....	29
3.4. Material e métodos .....	30
3.4.1. Delineamento experimental .....	30
3.4.2. Semeadura.....	31
3.4.3. Aplicação dos herbicidas .....	32
3.4.4. Colheita .....	32
3.4.5. Qualidade fisiológica das sementes .....	33
3.4.5.1. Germinação.....	33
3.4.5.2. Primeira Contagem da Germinação (PCG).....	33
3.4.5.4. Envelhecimento Acelerado .....	34
3.4.5.5. Condutividade elétrica .....	34
3.4.6. Características agronômicas .....	35
3.4.6.1. Massa de 1.000 sementes.....	35
3.4.6.2. Produtividade .....	35
3.4.6.3. Número de dias de antecipação da colheita .....	35
3.4.7. Tratamento estatístico dos resultados .....	36
3.5. Resultados e Discussão.....	36
3.6. Conclusão .....	41
3.7. Literatura Citada .....	41
3.8. Anexos .....	43
<b>4. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>44</b>

## RESUMO

ROSADO, Cecília Brustolini, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2016. **Desenvolvimento de método para quantificação de resíduos de paraquat em grão e vagem de feijão e qualidade fisiológica das sementes após a dessecação.** Orientador: Antônio Alberto da Silva. Coorientadores: Renata Pereira Lopes Moreira e Francisco Cláudio Lopes de Freitas.

Acredita-se que a dessecação química da cultura do feijão para antecipar a colheita e garantir a qualidade fisiológica das sementes possa contaminar os grãos com resíduos de herbicidas e afetar as características fisiológicas das sementes. Para confirmar essas hipóteses nesse trabalho foram desenvolvidos métodos para análise de resíduos de paraquat na vagem e no grão do feijão e avaliados os efeitos da dessecação da cultura com paraquat e com a mistura (paraquat + diuron), aplicadas em três estádios de desenvolvimento da cultura: R8 (antes da maturação fisiológica), R8/R9 (na maturação fisiológica) e R9 (após a maturação fisiológica das sementes). Os métodos desenvolvidos para extração e quantificação do paraquat na vagem e grão no feijão basearam-se na extração sólido-líquido assistida por ultrassom fazendo-se a quantificação do herbicida por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de ultravioleta (HPLC-UV). A otimização do método foi feita avaliando-se os parâmetros de “clean up” da amostra e da extração como concentração de ácido clorídrico, natureza do solvente orgânico (metanol e acetonitrila), temperatura e tempo de aquecimento. Os métodos desenvolvidos foram validados, tanto para a vagem quanto para o grão do feijão, e aplicados às amostras. Os métodos foram lineares ( $r = 0,99$ ), apresentaram LOD e LOQ na vagem de 0,26 e 0,86  $\text{mg kg}^{-1}$  e no grão de 0,04 e 0,15  $\text{mg kg}^{-1}$ , respectivamente; com boa exatidão e repetitividade (recuperação  $>83\%$  e DPR  $<13\%$ ). Foram encontradas altas concentrações de paraquat na vagem independente do estádio de aplicação. Todavia, nos grãos, resíduos do paraquat apenas foram encontrados quando foi aplicada a mistura dos herbicidas (paraquat + diuron) nas plantas no estádio R8/R9. Quanto aos efeitos dos herbicidas sobre a qualidade fisiológica das sementes de feijão constatou-se que a dessecação das plantas nos estádios R8 com o paraquat e no estádio R8/R9 com a mistura de herbicidas resultaram em menor percentagem de germinação, vigor das sementes e produtividade de grãos. A qualidade fisiológica das sementes de feijão foi preservada quando a dessecação foi realizada nos estádios R8/R9 e R9 para o paraquat e R9 para a mistura de herbicidas. Conclui-se que a aplicação do paraquat isolado como dessecante não deixa resíduo do

herbicida nos grãos e que a dessecação deve ser feita nos estádios R8/R9 e R9 para antecipar a colheita em 8 e 6 dias, respectivamente, e garantir a qualidade fisiológica das sementes e a produtividade de grãos da cultura.

## ABSTRACT

ROSADO, Cecília Brustolini, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, July 2016. **Method development for paraquat residues quantification in the bean grain and pod and physiological quality of seeds after desiccation.** Adviser: Antônio Alberto da Silva. Co-advisers: Renata Pereira Lopes Moreira e Francisco Cláudio Lopes de Freitas.

It is believed that the chemistry of the bean crop desiccation to anticipate the harvest and ensure the physiological quality of seeds may contaminate grain with residues of herbicides and affect the physiological characteristics of seed. To confirm these assumptions in this work were developed methods for analysis of paraquat residues on green beans and bean grain and evaluated the effects of desiccation of culture with paraquat and the mixture (paraquat + diuron), applied in three stages of development of culture: R8 (before the physiological maturation), R8/R9 (on physiological maturation) and R9 (after physiological maturation of seeds). The methods developed for extraction and quantification of paraquat in pods and grain in the beans were based on solid-liquid extraction by quantification of the herbicide by high performance liquid chromatography with ultraviolet detector (HPLC-UV). Optimization of the method was made by evaluating the parameters of "clean up" of the sample and the concentration of hydrochloric acid extraction, nature of the organic solvent (methanol and acetonitrile), temperature and heating time. The methods developed have been validated for both the pod and the bean grain, and applied to the samples. The methods were linear ( $r = 0,99$ ), LOD and LOQ in 0.26 pod and 0.86 mg kg<sup>-1</sup> and in the grain of 0.04 and 0.15 mg kg<sup>-1</sup>, respectively; with good accuracy and repeatability (recovery > 83% and DPR < 13%). Were found high concentrations of paraquat in pod regardless of the stage of implementation. However, in the grains, paraquat residues were only found when it was applied to a mixture of the herbicides (paraquat + diuron) in plants at the stadium R8/R9. About the effects of herbicides on the physiological quality of seeds found to bean desiccation of plants in stadiums R8 with paraquat and at the stadium R8/R9 with the mixture of herbicides resulted in lower percentage germination, vigor of seeds and grain productivity. The physiological quality of seeds of beans was preserved when desiccation was held in stadiums R8/R9 and R9 to paraquat and R9 for the mixture of herbicides. It was concluded that the application of paraquat isolated as desiccant leaves no residue of herbicide in the grain and the drying must be done in stadiums R8/R9 and R9 to anticipate

the harvest in 8 and 6 days, respectively, and ensure the physiological quality of seeds and grain productivity of culture.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é o maior produtor e consumidor mundial de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.). O país produz 3,5 milhões de toneladas e o consumo nacional varia de 3,3 a 3,6 milhões de toneladas (CONAB, 2015). O feijão é um dos constituintes mais importantes da dieta dos brasileiros, sendo considerada ótima fonte de proteína, carboidratos e ferro. Além disso, o feijão é um dos produtos agrícolas mais importantes na economia mundial por ser cultivado em pequenas áreas e devido à necessidade de mão-de-obra durante o ciclo da cultura (VIEIRA et al., 2006).

Um dos principais problemas na produção do feijão ocorre durante a sua colheita quando as condições climáticas não são favoráveis. O momento ideal da colheita seria logo após a maturidade fisiológica, quando as sementes apresentam elevado vigor, germinação e máximo acúmulo de massa seca (SANTOS et al., 2005). No entanto, neste momento, as sementes apresentam alto grau de umidade, o que dificulta a colheita das mesmas.

As sementes de feijão atingem a maturidade fisiológica com grau de umidade superior a 25%, mas permanecem no campo devido à dificuldade de colheita. Nessa condição elas ficam expostas a variações ambientais de temperatura e umidade e suscetíveis a várias doenças e pragas (FRANÇA-NETO et al., 2007). Estes fatores podem afetar negativamente a qualidade fisiológica das sementes (LACERDA et al., 2005), resultando em aumento de grãos ardidos, manchados e enrugados (DOURADO NETO & FRANCELLI, 2000), resultando em perdas de produtividade.

Uma das alternativas para contornar esse problema consiste na aplicação de herbicidas dessecantes para antecipar a colheita. Esta técnica tem sido amplamente utilizada em campos de produção de sementes e de grãos. Isto ocorre porque aplicações de herbicidas dessecantes em fase pré-colheita do feijão promovem a secagem rápida da planta e uniformidade de maturação, além de permitir a antecipação e melhor planejamento da colheita (CESSNA et al., 2002).

Vários estudos têm sido realizados visando avaliar a antecipação da colheita do feijão com aplicações de herbicidas dessecantes. Na maioria dessas pesquisas tem-se observado resultados positivos quanto à eficácia de dessecantes na redução do teor de água e preservação da qualidade das sementes de feijão (KAPPES et al., 2012; SANTOS et al., 2004; DOMINGOS et al., 1997) e também em outras sementes como soja

(TERASAWA et al., 2009; DALTRO et al., 2010; GUIMARÃES et al., 2012), canola (SILVA et al., 2011; MARCIORI Jr. et al., 2002), azevém (CAMPOS et al., 2012) e milho (MAGALHÃES et al., 2002).

Dentre os produtos utilizados para dessecação de plantas, destaca-se o paraquat. Este herbicida se caracteriza por ser não-seletivo, isto é, apresenta ação total sobre todas as plantas, ter ação muito rápida e não apresentar ação residual no solo. Isto ocorre porque apresenta alto Koc; ou seja, é altamente adsorvido pelos colóides de solo (SILVA et al., 2007).

O paraquat (PQ) é um herbicida inibidor do fotossistema I (FSI), pertencente ao grupo dos herbicidas bipyridil, apresentando como nome IUPAC, 1,1'-dimetil-4,4'-bipyridílio dicloreto. É um composto de amônio biquartenário, de massa molecular de 257,16 g mol<sup>-1</sup>, densidade de 1,25 g mL<sup>-1</sup>, ponto de fusão entre 175 e 180°C e ponto de ebulição maior que 300°C. É um composto muito solúvel em água, pouco solúvel em álcoois e insolúvel em solventes orgânicos apolares (SCHMITT, et al., 2006).

O paraquat foi descoberto em 1950, e desde então, começou a ser amplamente utilizado em todo o mundo (SITTIPUNT, 2005) para o controle de plantas daninhas gramíneas e de folhas largas. Este composto tem sido classificado entre os herbicidas mais tóxicos e perigosos para as plantas, animais e humanos (AKSAKAL, 2013). É classificado como Classe II (muito tóxico) tendo como limite máximo de resíduo permitido no feijão de 0,05 mg kg<sup>-1</sup> e ingestão diária aceitável de 0,004 mg kg<sup>-1</sup> (ANVISA, 2014). A ingestão excessiva de PQ pode causar necrose tubular renal, danos às células do fígado lobular central, necrose, espessamento médio da artéria pulmonar, sendo que não existe medicamento específico até agora (GAO et al., 2010).

O mecanismo de ação do paraquat consiste em captar elétrons provenientes da fotossíntese, no fotossistema I, e formarem radicais livres; esses radicais são instáveis e rapidamente sofrem auto-oxidação formando radicais superóxidos. O superóxido reage com uma molécula de água formando água oxigenada, a qual na presença de Mg produzem radicais hidroxil que promovem a degradação rápida das membranas do cloroplasto conhecida como peroxidação de lipídios, ocasionam em vazamento do conteúdo celular e morte do tecido (SILVA et al., 2007).

O paraquat caracteriza-se pela rápida ação dessecante do tecido verde e pela baixa capacidade de translocação através dos tecidos vegetais (GUBBELS & KENASCHUK, 1981; NASCIMENTO & GUEDES, 1988; GUBBELS et al., 1993). No entanto, em dias nublados ou em condições de sombreamento, a produção de radicais livres ocorre de forma

mais lenta, possibilitando a translocação do produto. Efeitos similares são observados quando aplicado a mistura com Diuron (NORSWORTHY et al. 2011). Dessa forma, acredita-se que dependendo das condições climáticas e do horário de aplicação, poderá ser maior a possibilidade de se encontrar resíduos de paraquat nos grãos de feijão.

Diversos trabalhos têm avaliado o efeito de herbicidas dessecantes na antecipação da colheita do feijão, seus efeitos na produtividade e na qualidade fisiológica das sementes (DOMINGOS et al., 1997; COELHO et al., 2012; KAPPES et al., 2012). Todavia, pouco se sabe em relação ao acúmulo de paraquat nos grãos em função da época de aplicação e formulação do herbicida. Diante disso, torna-se importante avaliar o efeito do paraquat na qualidade fisiológica das sementes e o possível acúmulo do herbicida nos grãos e na vagem quando esse herbicida é utilizado em dessecação pré-colheita.

Métodos para quantificação do paraquat foram desenvolvidos em diferentes matrizes como vegetais (ZOU et al, 2014), frutas (FARAHI et al, 2015a), água (GAO et al, 2015), leite (FARAHI et al, 2015b) e urina (RUAN et al, 2014). Porém, ainda não se encontra na literatura um método para análise de paraquat na vagem e no grão do feijão, sendo necessário desenvolver um método para este fim.

Os métodos de extração utilizados para extração de paraquat são: extração sólido-líquido (KOLBERG et al, 2012); extração em fase sólida (BASSARAB, et al., 2011), microextração em fase sólida (GAO et al, 2015), extração em fase sólida magnética (RUAN et al, 2014). O método de extração mais utilizado é a extração sólido-líquido, enquanto que o método de análise mais utilizado é a cromatografia líquida (HAO et al, 2013), utilizando detectores de massas e ultravioleta, embora a cromatografia gasosa (GAO et al, 2015) e métodos eletroquímicos (FARAHI et al, 2016; KASMI et al, 2016) também possam ser utilizados.

### 1.1. Literatura citada

AKSAKAL, O. Assessment of paraquat genotoxicity on barley (*Hordeum vulgare* L.) seedlings using molecular and biochemical parameters. **Acta Physiol. Plant**, v. 35, p. 2281–2287, 2013.

ANVISA -Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **Consulta Pública n° 72**, de 29 de setembro de 2014. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2014.

BASSARAB, P.; WILLIANMS, D.; DEAN, J. R.; PERRY, J. J.; Determination of quaternary ammonium compounds in seawater samples by solid-phase extraction and

liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 1218, p. 673-677, 2011.

CAMPOS, C. F.; MARTINS, D.; COSTA, A. C. P. R.; CARDOSO, L. A.; MARTINS, C. C.; Efeito de herbicidas na dessecação e germinação de sementes remanescentes de *Lolium multiflorum* L. **Ciências Agrárias**, v 33, n. 6, p. 2067-2074, 2012.

CESSNA, A.J.; DARWENT, A.L.; TOWNLEY-SMITH, L.; HARKER, K.N.; KIRKLAND, K.J. Residues of glyphosate and its metabolite AMPA in field pea, barley and flax seed following preharvest applications. **Canadian Journal Plant Science**, v.82, p.485-489, 2002.

COELHO, C. M. M.; SOUZA C. A.; ZILIO, M.; MICHELS, A.; The effect of pre-arest desiccation on the yield and physiological quality of landrace bean seeds. **Ciências Agrárias**, v.3, suplemento 1, p. 2973-2980, 2012.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Perspectivas para a agropecuária**. Brasília, v. 3, p. 1-130, 2015.

DALTRO, E. M. F.; ALBUQUERQUE, M. C.F.; FRANÇA NETO, J. B.; GUIMARAES, S. C.; GAZZIERO, D. L. P.; HENNING, A. A. Aplicação de desseccantes em pré-colheita: efeito na qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 1, p. 111-122, 2010.

DOMINGOS, P.; SILVA, A. A.; SILVA, R. F. Qualidade da semente de feijão afetada por desseccantes, em quatro estádios de aplicação. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 19, no 2, p.275-282, 1997.

DOURADO NETO, D.; FANCELLI, A.L. Produção de feijão. **Guaíba: Agropecuária**, 385p, 2000.

FARAHI, A.; ACHAK, M.; GAINI, L.; MHAMMEDI, M. A.; MAKASSE, M.; Electrochemical determination of paraquat in tomato at Ag/NP-modified graphite electrode using square wave voltametry. **Food Analytical Methods**, 9, p 139-147, 2016

FARAHI, A.; ACHAK, M.; GAINI, L.; MHAMMEDI, M. A.; MINA, B.; Electrochemical determination of paraquat in citric fruit based electrodeposition of silver particle onto carbon paste electrode. **Journal of Food and Drug Analysis**, 23, p. 463-471, 2015a.

FARAHI, A.; GAINI, L.; ACHAK, M.; YAMANI, S.; MHAMMEDI, M. A.; BAKASSE, M.; Intection study of paraquat and silver electrode using electrochemical impedance spectroscopy: Application in milk and tomato samples. **Food Control**, v. 47, p. 679-685, 2015b.

FRANÇA-NETO, J.B.; KRZYŻANOWSKI, F.C.; PÁDUA, G.P.; COSTA, N.P.; HENNING, A.A. Tecnologia da produção de semente de soja de alta qualidade: Série Sementes. **Londrina: Embrapa Soja**, 12p, 2007.

GAO, L.; LIU, J.; YUAN, H.; DENG, X.; Solid-Phase Microextraction Combined with GC-MS for Determination of Diquat and Paraquat Residues in Water. **Chromatographia**, v. 78, p. 125-130, 2015.

GAO, R.; CHOI, N.; CHANG, S.I.; KANG, S.H.; SONG, J.M.; CHO, S.I.; LIM, D.W.; CHOO, J. Highly sensitive trace analysis of paraquat using a surface-enhanced Raman scattering microdroplet sensor. **Analytica Chimica Acta**, v. 681, p. 87–91, 2010.

GUBBELS, G.H. & KENASCHUK, E.O. Desiccation of flax with diquat. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 61, p. 575-581, 1981.

GUBBELS, G.H.; BONNER, D.M. & KENASCHUK, E.O. Effect of time of swathing and desiccation on plant drying, seed color and germination of flax. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 73, p. 1001-1007, 1993.

GUIMARÃES, V.F.; HOLLMANN, M.J.; FIOREZE, S.L.; ECHER, M.M.; RODRIGUES-COSTA, A.C.P.; ANDREOTTI, M. Produtividade e qualidade de sementes de soja em função de estádios de dessecação e herbicidas. **Planta Daninha**, v.30, n.3, p.567-573, 2012.

HAO, C.; ZHAO, X.; ORSE, D.; YANG, P.; TAUCHI, V.; MORRA F.; Optimized liquid chromatography tandem mass spectrometry approach or the determination of diquat and paraquat herbicides. **Journal of chromatography A**, 1304, p. 169-176, 2013.

KAPPES, C.; ARF, O.; ARF, M. V.; FERREIRA, J. P.; ALCADE, A. M.; PORTUGAL, J. R. Produtividade de feijoeiro de inverno submetido à dessecação com paraquat na pré-colheita. **Revista Ceres**, v. 59, n.1, p. 56-64, 2012.

KASMI, S.; LAHRICH, S.; FARAHI, A.; ZRIOUIL, M.; AHMAMOU, M.; BAKASSE, M.; MHAMMEDI, M. A.; Eletrochemical determination of paraquat in potato, lemon, Orange and natural water samples using sensitive-rich clay carbon electrode. **Journal of Taiwan Institute of Chemical Engineers**. 58, p. 165-172, 2016.

KOLBERG, D. I. S.; MACK, D.; ANASTASSIADES, M.; HETMANSKI, M. T.; FUSSELL, R. J.; MEIJER, T.; MOL, H. G. J.; Development and independent laboratory validation of a simple method for the determination of paraquat and diquat in potato, cereals and pulses. **Anal Bioanal Chem**, 404, p. 2465-2474, 2012.

LACERDA, A. L. S.; LAZARINI, E.; SÁ, M. E.; VALÉRIO FILHO, W. V. Efeitos da dessecação de plantas de soja no potencial fisiológico e sanitário das sementes. **Bragantia**, v. 64, n. 3, p. 447-457, 2005.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; KARAM, D.; Eficiência dos dessecantes Paraquat e Diquat na antecipação da colheita do milho. **Planta daninha**, v. 20, n. 3, p. 449-455, 2002.

MARCIORI Jr., O.; INOUE, M. H.; BRACCINI, A. L.; OLIVEIRA Jr., R. S.; AVILA, M. R.; LAWDER, M.; CONSTANTIN, J.; Qualidade e produtividade de sementes de

canola (*Brassica napus*) após aplicação de dessecantes em pré-colheita. **Planta Daninha**, v. 20, n. 2, 2002.

NASCIMENTO, W.M. & GUEDES, A.C. Efeito do paraquat na qualidade da semente de cenoura. **Horticultura Brasileira**, v. 6, p. 38, 1988.

NORSWORTHY, J.K.; SMITH, K.L.; GRIFFITH, G. Evaluation of combinations of paraquat plus photosystem II-inhibiting herbicides for controlling failed stands of maize (*Zea mays*). **Crop Protection**, v. 30, p. 307-310, 2011.

RUAN, X. L.; QIU, J. J.; WU, C.; HUANG, T.; MENG, R. B.; LAI, Y. Q.; Magnetic single-walled carbon nanotubes-dispersive solid-phase extraction method combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of paraquat in urine. **Journal of Chromatography B**, v. 965, p. 85-90, 2014.

SANTOS, J. B.; FERREIRA, E. A.; FERREIRA, E. M.; SILVA, A. A.; FERREIRA, L. R. Efeitos da dessecação de plantas de feijão sobre a qualidade de sementes armazenadas. **Planta Daninha**, v. 23, n. 4, p. 645-651, 2005.

SANTOS, J.B.; FERREIRA, E.A.; SANTOS, E.A.; SILVA, A.A.; SILVA, F.M.; FERREIRA, L.R. Qualidade de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) após aplicação do carfentrazone-ethyl em pré-colheita. **Planta Daninha**, v. 22, n. 4, p. 633-639, 2004.

SILVA, A. A.; VIVIAN, R.; OLIVEIRA Jr., R. S. Herbicidas: comportamento no solo. In: SILVA, A. A.; SILVA J. F. (Ed.). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2007.

SILVA, J.A.G.; MOTTA, M.B.; WINCH, J.A.; CRESTANI, M.; FERNANDES, S.B.V; BERTO, J.L.; GAVIRAGHI, F.; MARTINS, J.A.K.; WAGNER, J.F.; VALENTINI, A.P.F; ZAMBONATO, F. Dessecação em pré-colheita como estratégia de manejo na redução de perdas por fatores de ambiente em canola. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.17, n.1-4, p.15-24, 2011.

SITTIPUNT C. Paraquat poisoning. **Respir Care**, v. 50, p. 383–385, 2005.

SCHMITT, G. C.; PANIZ, C.; GROTO, D.; VALENTINI, J.; SCHOTT, K. L.; POMBLUM, V. J.; GARCIA, S. C.; Aspectos gerais e diagnóstico clinicolaboratorial da intoxicação por paraquat. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 42, n.4, 2006.

TERASAWA, J. M.; PANOBIANCO, M.; POSSAMAI, E.; KOEHLER, H.S. Antecipação da colheita na qualidade fisiológica de sementes de soja. **Bragantia**, v. 68, n. 3, p. 765-773, 2009.

VIEIRA, C.; DE PAULA Jr, T. J.; BORÉM, A.; **Feijão 2ª edição**, Viçosa, ed. UFV, 2006.

ZOU, T.; HE, P.; CAO, J.; LI, Z.; Determination of Paraquat in vegetables using HPLC-MS-MS. **Journal of Chromatographic Science**, 53, p. 204-209, 2015.

## 2. MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DE RESÍDUO DE PARAQUAT NO GRÃO E NA VAGEM DO FEIJÃO

### *Method for paraquat residue quantification in grain and pod bean*

#### 2.1. Resumo

A utilização de dessecantes para antecipação da colheita do feijão, como o herbicida paraquat, é uma prática comum, porém, pouco se sabe sobre o acúmulo de resíduos desse herbicida na vagem e no grão dessa cultura. Baseado na hipótese de que a aplicação de formulações contendo o paraquat, em diferentes épocas de dessecação, pode contaminar o grão e a vagem do feijão e que não há métodos para quantificação desse herbicida nessas matrizes, foi feito esse trabalho. O método desenvolvido baseia-se na extração sólido-líquido assistida por ultrassom com determinação por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de ultravioleta (HPLC-UV). Para o estudo foram utilizadas amostras de vagens e de grãos oriundos de plantas submetidas à dessecação pré-colheita com paraquat e da mistura (paraquat + diuron) em diferentes épocas de dessecação (R8, antes da maturação fisiológica; R8/R9, na maturação; R9, após a maturação). Para o desenvolvimento do método, inicialmente foi realizada a otimização dos parâmetros de “clean up”. Os melhores resultados foram obtidos fazendo-se três lavagens da matriz com água deionizada, para remoção dos interferentes, e extração assistida por ultrassom. A extração do analito também foi otimizada, sendo avaliados a concentração de ácido clorídrico, a natureza do solvente orgânico (metanol e acetonitrila), a temperatura e o tempo de aquecimento, cujos melhores resultados foram, respectivamente, 0,3 mol L<sup>-1</sup>, metanol, 60 °C e 15 minutos. O método foi validado, obtendo-se uma curva analítica com bom ajuste linear ( $r = 0,99$ ) e Limites de Detecção e Quantificação, respectivamente, 0,26 e 0,86 mg kg<sup>-1</sup> para vagem e 0,04 e 0,15 mg kg<sup>-1</sup> para o grão de feijão. A exatidão (> 83%) e precisão, avaliada pela repetitividade, (DPR <13%) apresentaram resultados satisfatórios. Finalmente, as amostras foram analisadas utilizando o método desenvolvido, sendo encontrados resíduos de paraquat na vagem em maiores teores nas amostras que receberam a mistura (paraquat + diuron) nos estádios R8 e R9 e para o paraquat em R8/R9. No grão, foram encontrados resíduos de paraquat somente no estágio R8/R9 para a mistura. Conclui-se que o método desenvolvido foi satisfatório para a função proposta e que a dessecação das plantas para antecipar a colheita

não deve ser feita com a mistura (paraquat + diuron) pois pode ocorrer resíduos de paraquat no grão do feijão.

**Palavras chave:** *Phaseolus vulgaris*, herbicida, cromatografia, otimização, validação

## 2.2. Abstract

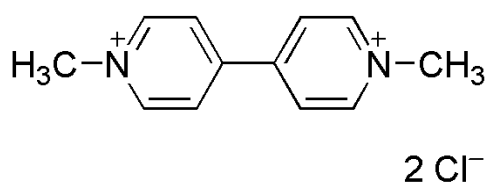
The use of desiccants for anticipation of the harvest of beans, as the herbicide paraquat, is a common practice, however, little is known about the accumulation of residues of this herbicide in a pod and grain of this culture. Based on the hypothesis that the application of formulations containing paraquat in different periods of desiccation, may contaminate the grain and bean pod and that there are no methods for quantification of this herbicide in these arrays, was made this work. The method developed is based on the solid-liquid extraction with determination by high performance liquid chromatography with ultraviolet detector (HPLC-UV). For the study were used samples of green beans and grain from plants subjected to desiccation pre-harvest with paraquat and the mixture (paraquat + diuron) in different periods of desiccation (R8, before the physiological maturation; R8/R9, the ripening; R9, after maturation). For the development of the method, it was initially performed the optimization of the parameters of "clean up". The best results were obtained by making three washes of array with deionized water for removal of interfering, and ultrasound-assisted extraction. Analyte extraction was also optimized, being evaluated the concentration of hydrochloric acid, the nature of the organic solvent (methanol and acetonitrile), temperature and heating time, whose best results were, respectively, 0.3 mol L<sup>-1</sup>, methanol, 60° C and 15 minutes. The method was validated, thus obtaining an analytical curve with good fit linear ( $r = 0,99$ ) and limits of detection and Quantification, respectively, 0.26 and 0.86 mg kg<sup>-1</sup> for pod and 0.04 and 0.15 mg kg<sup>-1</sup> for the beans. Accuracy (>83%) and precision evaluated by repetitiveness, (DPR < 13%) presented satisfactory results. Finally, samples were analyzed using the method developed, being found paraquat residues on pod in greater concentrations in the samples that were given the mixture (paraquat + diuron) at stages R8, and R9 and paraquat in R8/R9. In the grain, only found paraquat residues on the R8/R9 Stadium to the mix. It is concluded that the method was suitable for the proposed function and the desiccation of plants to anticipate the harvest should not be made with

the mixture (paraquat + diuron) because paraquat residues may occur in the grain of the bean.

**Key words:** Phaseolus vulgaris, herbicide, chromatography, optimization, validation

### 2.3. Introdução

O Paraquat (1,1'-dimetil-4,4'-bipiridílio dicloreto) (Figura 1) é um herbicida não seletivo, de contato, largamente utilizado como dessecante no plantio direto e em dessecação pré-colheita de diversas culturas (SILVA et al., 2007). É classificado como Classe II (Muito tóxico), tendo como limite máximo de resíduo permitido no feijão de 0,05 mg kg<sup>-1</sup> e ingestão diária aceitável de 0,004 mg kg<sup>-1</sup> (ANVISA, 2014).



**Figura 1.** Estrutura química do Paraquat

Esse herbicida vem sendo utilizado na dessecação pré-colheita do feijão devido às dificuldades enfrentadas na colheita, como o alto teor de água na maturação fisiológica (superior a 25%), o qual seria o momento ideal da colheita. Dessa forma, as sementes ficam expostas a variações ambientais de temperatura e umidade, ficando suscetíveis a várias doenças e pragas (FRANÇA-NETO et al., 2007).

A utilização de herbicidas dessecantes como o paraquat é uma forma de contornar esse problema, pois a aplicação em fase pré-colheita promove a secagem rápida da planta e uniformidade de maturação, permitindo a antecipação da colheita (CESSNA et al., 2002). Acredita-se que não há risco de encontrar resíduos dos herbicidas dessecantes nos grãos (EKMEKCI, TERZIOGLU, 2005). Porém, a utilização da mistura (paraquat + diuron): inibidores de fotossistema II (FS II) em mistura com inibidores do fotossistema I (FS I) poderá reduzir a velocidade de ação do paraquat e permitir maior difusão desse herbicida no tecido vegetal, tornando assim possível a chegada do herbicida no grão (NORSWORTHY et al., 2011).

Acredita-se que a vagem protege o grão na aplicação do dessecante, pois a dessecação não induz a deiscência (abertura da vagem) (PENCKOWSKI et al, 2005), porém não há estudos confirmando esta teoria. Vale ressaltar também que na colheita mecanizada a vagem é triturada e o feijão é separado, formando uma fumaça de pó que pode ser inalado pelo operador. A inalação do paraquat é um problema, visto que sua toxicidade a mamíferos é elevada.

Devido à alta toxicidade do paraquat, alguns métodos estão sendo utilizados para sua determinação (ZOU et al, 2015; FARAHI et al, 2015a, KOLBERG et al, 2012; FARAHI et al, 2015b; RUAN et al, 2014), porém, ainda não foi desenvolvido um método para análise de paraquat na vagem e no grão do feijão.

Os métodos de análise mais utilizados para estes estudos, são os cromatográficos, tanto líquido (HAO et al., 2013) quanto gasoso (GAO et al., 2015) e eletroquímico (FARAHI et al., 2016; KASMI et al., 2016). Com relação aos métodos de extração, os mais usados são a extração sólido-líquido (IBÁNEZ et al., 1996) e microextração em fase sólida (GAO et al., 2015).

Dessa forma, esse trabalho teve como objetivo desenvolver e validar um método para determinação do paraquat na vagem e no grão do feijão utilizando a extração sólido-líquido e análise por cromatografia líquida. Após a validação, pretende-se aplicar o método desenvolvido em amostras submetidas à dessecação pré-colheita com paraquat e com a mistura (paraquat + diuron) aplicada em diferentes épocas de dessecação.

## **2.4. Material e métodos**

### **2.4.1. Reagentes e soluções**

Os reagentes utilizados foram metanol (99,5% v/v) e ácido clorídrico (99,5% v/v) adquiridos da Vetec. Foi preparada uma solução padrão estoque de paraquat, na concentração de 1000,00 mg L<sup>-1</sup>, pela solubilização do padrão do paraquat (99,9% m/m) adquirido da Sigma-Aldrich em água destilada. Foram preparadas também soluções de trabalho nas concentrações de 10,00 e 100,00 mg L<sup>-1</sup> de paraquat fazendo-se a diluição da solução padrão. Todas as soluções foram armazenadas em freezer (-20 °C).

### **2.4.2. Condições cromatográficas**

Para determinação do paraquat foi utilizado um cromatógrafo líquido Shimadzu modelo Prominence (HPLC) acoplado a um detector de ultravioleta (UV). A coluna

utilizada foi C18 de aço inox modelo Shimadzu VP-ODS Shimpack (250 mm x 4,6 mm d. i.). A fase móvel foi composta por uma solução aquosa de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0,1% v/v e metanol na proporção 90:10, v/v. O fluxo foi de 1,0 mL min<sup>-1</sup>, o volume de injeção foi de 1 µL para amostras de vagem e 5 µL para o grão, o comprimento de onda monitorado foi de 263 nm.

### 2.4.3. Obtenção das amostras

Para obtenção das amostras foi realizado um experimento no campo experimental pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa. O experimento consistiu em plantar o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) em delineamento em blocos casualizados em esquema fatorial 2x3+1, com quatro repetições. O primeiro fator foi composto pelo herbicida paraquat e a sua mistura com diuron; o segundo fator por épocas de dessecação em diferentes estádios fenológicos (R8; R8/R9 e R9) e um tratamento adicional referente à testemunha (isenta de herbicida).

Os estádios fenológicos em que foram aplicados os herbicidas são: R8 (antes da maturação fisiológica, 50% do total de vagens começam a apresentar coloração avermelhada); R8/R9 (na maturação fisiológica, 90% do total de vagens apresentavam coloração vermelha); R9 (após a maturação fisiológica, 50% das vagens apresentavam coloração marrom).

A semeadura do feijão foi feita em densidade populacional de 25 plantas por m<sup>2</sup> no dia 6 de abril de 2015. As parcelas foram constituídas por três linhas de 6 m com espaçamento entrelinhas de 0,5 m, sendo a área útil composta pela linha central. A cultivar de feijão semeado foi ouro vermelho, fertilizado com 300 kg ha<sup>-1</sup> de 8-28-16 (N-P-K). Foram aplicados os herbicidas paraquat (400 g ha<sup>-1</sup>) marca comercial Gramoxone e a mistura de (paraquat + diuron) marca comercial Gramocil nas doses 200 + 400 ha<sup>-1</sup> dos ingredientes ativos, respectivamente). As aplicações foram realizadas nos dias 25 de maio, 7 de junho e 10 de junho de 2015, para R8, R8/R9 e R9, respectivamente, de acordo com o planejamento experimental. A aplicação dos herbicidas foi feita utilizando pulverizador costal de precisão, pressurizado com CO<sub>2</sub>, equipado com barra com três pontas XR11003, espaçadas de 0,50 m. Foi aplicado o equivalente a 250 L ha<sup>-1</sup> de calda para ambos herbicidas. No momento das aplicações dos herbicidas foram registradas as condições climáticas.

A colheita foi realizada manualmente nos dias 6, 13, 15 e 20 de julho de 2015, para R8, R8/R9, R9 e a testemunha, respectivamente. Foram colhidos apenas a linha do interior da parcela, de modo a manter as linhas exteriores como bordadura.

#### **2.4.4. Preparo das amostras**

As amostras de grãos e de vagem de feijão foram secas em estufas a 70 °C, separadamente, até peso constante, trituradas em moinho e peneiradas em malha de 2 mm. Após o preparo, as amostras foram armazenadas em geladeira a 4 °C até o dia das análises.

#### **2.4.5. Método de extração**

Antes de realizar a extração, as amostras foram submetidas a uma etapa de “clean up”. Para isto, foram pesadas 5,00 g da amostra do grão ou 2,50 g da amostra de vagem em tubos de centrífuga de 50 mL. Adicionou-se 20,00 mL de água destilada ao sistema e a mistura foi homogeneizada. Em seguida, a mistura foi submetida ao ultrassom por 5 minutos, posteriormente centrifugado por 15 minutos a 5000 rpm e o sobrenadante foi descartado. Este processo foi repetido mais duas vezes.

Para a extração, adicionou-se 8,00 mL de metanol e 2,00 mL de HCl 1,5 mol L<sup>-1</sup> ao sistema. A mistura foi homogeneizada manualmente e submetida ao ultrassom por 10 minutos. Em seguida, o sistema foi aquecido a 60 °C por 15 minutos em banho termostático e centrifugado novamente. O sobrenadante foi evaporado até secura com ar comprimido e aquecimento a 60 °C e reconstituído para 1,00 mL com água destilada. Finalmente, a amostra foi filtrada em membrana de PTFE de 0,45 µm e analisada em HPLC-UV.

Para a vagem não foi preciso evaporar o extrato, que foi filtrado e analisado em HPLC-UV.

#### **2.4.6. Otimização do método**

Inicialmente alguns parâmetros, como extração assistida por ultrassom e agitação em vortex, foram avaliados para extração dos interferentes “clean up”. Em seguida, os parâmetros da extração, como concentração de ácido clorídrico da solução extratora, natureza e volume de solvente orgânico, temperatura e o tempo de aquecimento, foram

avaliados de maneira univariada. O método foi otimizado para o grão e aplicado da mesma forma para a vagem após a validação de ambos.

Para iniciar a otimização foram utilizados como método de extração o método padrão desenvolvido para resíduos de pesticidas polares (ANASTASSIADES et al., 2010) modificado. Esse método consiste em adicionar 5 g da amostra em 10 mL de água, 10 mL de metanol acidificado com 0,01% de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, misturar por 1 minuto em vortex e centrifugar por 5 minutos. Porém, foi utilizado, após o clean up, 5 mL de água, 5 mL de metanol acidificado com 0,01% de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, submetida ao ultrassom por 10 minutos e centrifugado por 15 minutos a 5000 rpm.

Nesta etapa, utilizaram-se amostras brancas de feijão, provenientes do tratamento sem aplicação de herbicidas dessecantes (testemunha).

#### **2.4.7. Validação do método**

##### **2.4.7.1. Seletividade**

A seletividade do método foi avaliada comparando a amostra (grão ou vagem do feijão) fortificada com a amostra isenta do analito (paraquat). Comparou-se a presença ou ausência do herbicida no tempo de retenção de 2,7 minutos. O feijão e a vagem foram previamente fortificados com 1,0 mg kg<sup>-1</sup> e 5,0 mg kg<sup>-1</sup> do herbicida, respectivamente.

##### **2.4.7.2. Linearidade**

Para o estudo da linearidade do método fez-se uma curva analítica nas concentrações 0,15; 0,35; 0,55; 0,75; 0,95 e 1,05 mg kg<sup>-1</sup> para o feijão e nas concentrações 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0 e 10,0 mg kg<sup>-1</sup> para a vagem. Foram feitas quatro repetições, em ordem aleatória. A qualidade do ajuste foi verificada através da análise do coeficiente de correlação do método (r).

##### **2.4.7.3. Limite de detecção e quantificação**

Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram estimados de acordo com as Equações 1 e 2.

$$\text{LOD} = 3 \times \frac{S}{S} \quad (\text{Eq. 1})$$

$$\text{LOQ} = 10 \times \frac{S}{S} \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde,  $s$  é o desvio padrão do coeficiente linear e  $S$  é o coeficiente angular da curva analítica (slope) (ANVISA, 2003).

#### **2.4.7.4. Precisão**

A precisão foi avaliada em termos da repetitividade e da precisão intermediária. Para estimar a repetitividade, as amostras do grão e vagem do feijão foram fortificadas em três níveis de concentração: 0,15; 0,55 e 1,05 mg kg<sup>-1</sup> para o grão e 1,0; 5,0 e 10,0 mg kg<sup>-1</sup> para a vagem. As análises foram realizadas em replicatas intra-dia (n=4).

A precisão intermediária foi estimada sob as mesmas condições descritas anteriormente em três dias não consecutivos.

Os resultados foram expressos pelo desvio padrão relativo (DPR).

#### **2.4.7.5. Exatidão**

A exatidão foi estimada a partir de ensaios de recuperação do analito. Para isso, as amostras foram fortificadas em três níveis de concentração, sendo as concentrações utilizadas para o grão de feijão igual a 0,15; 0,55 e 1,05 mg kg<sup>-1</sup> e para vagem igual a 1,0; 5,0 e 10,0 mg kg<sup>-1</sup>. As análises foram realizadas em replicatas (n=4) e as concentrações obtidas pela curva analítica foram comparadas com as concentrações teóricas. Os resultados foram expressos em termos de porcentagem de recuperação.

#### **2.4.8. Análise dos resultados**

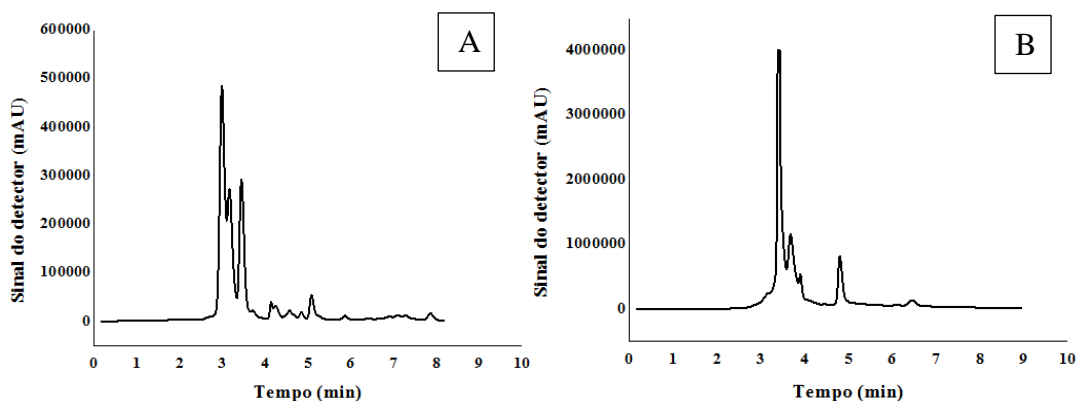
Os resultados da concentração de paraquat nas amostras foram submetidos à análise de variância e, quando a interação entre época de aplicação e herbicidas foi significativa ( $P < 0,05$ ), foram feitos os desdobramentos necessários. O teste Tukey foi aplicado para verificar o comportamento da época de aplicação dos dessecantes, dentro de cada herbicida aplicado, e o comportamento de cada herbicida dentro de cada época de aplicação.

## 2.5. Resultados e Discussão

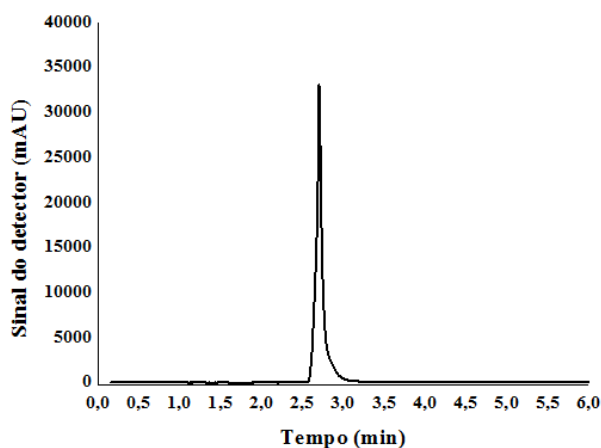
### 2.5.1. Otimização

#### 2.5.1.1. Limpeza das amostras

Na Figura 2 encontram-se os cromatogramas dos extratos do grão (A) e da vagem (B) de feijão preparados de acordo o método padrão desenvolvido para resíduos de pesticidas polares (ANASTASSIADES et al., 2010) modificado. Como pode ser visto, tanto para a vagem quanto para o grão de feijão, há várias substâncias com tempo de retenção próximo ao pico do paraquat ( $\approx 2,7$  min) (Figura 3), os quais podem influenciar na determinação do mesmo.



**Figura 2.** Cromatogramas dos extratos do Grão (A) e vagem (B) do feijão, obtidos pelo método padrão para determinação de pesticidas polares (ANASTASSIADES et al., 2010) modificado.

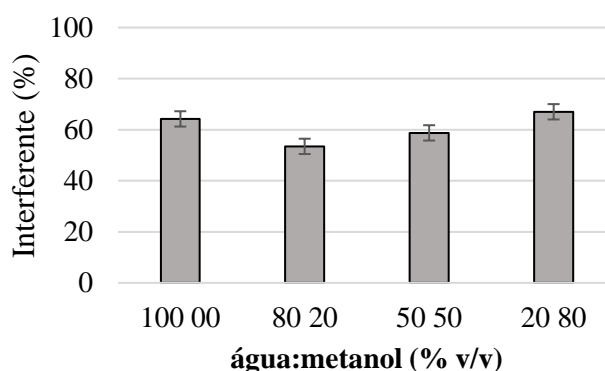


**Figura 3.** Cromatograma do paraquat ( $20 \text{ mg L}^{-1}$ )

Diante destes resultados, percebe-se a necessidade de uma etapa de “clean-up” para eliminação destes interferentes. Segundo Afonso et al (2010) feijões escuros (preto, vermelho) apresentam maior teor de compostos fenólicos do que os claros. Apresentam

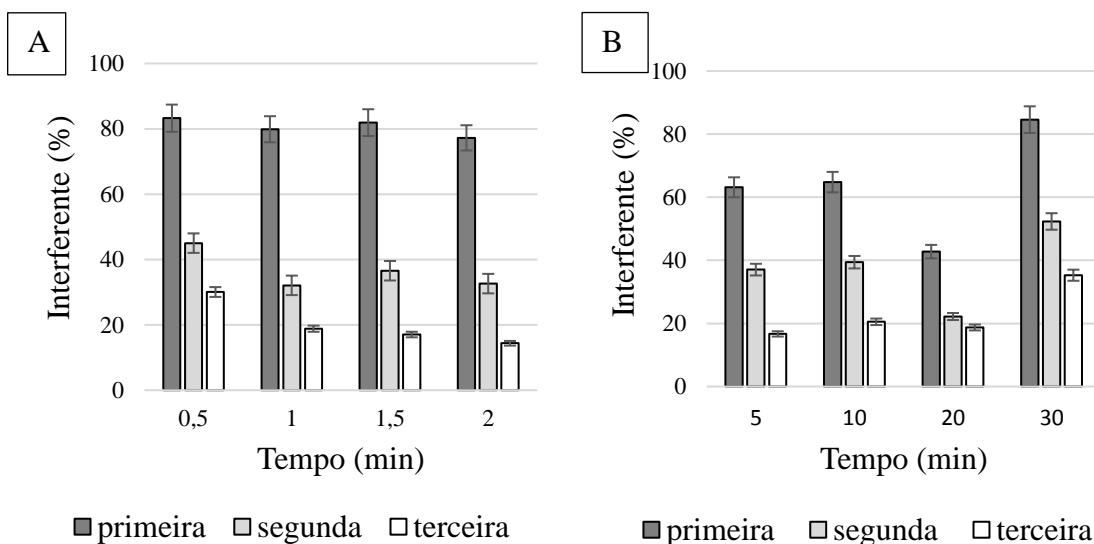
também antocianinas, sendo as principais delphinidina 3-glicósido (56%), petunidina 3-glucósido (26%) e malvidina 3-glucosido (18%). Alguns dos compostos presentes nestas matrizes são polares, assim são solúveis em solventes polares, tornando possível fazer um “clean-up” (limpeza) da amostra com esses solventes.

Neste contexto, foram testadas diferentes proporções de uma solução de limpeza composta por água:metanol, que foi adicionada ao sistema para eliminação destes interferentes. Os resultados foram avaliados em termos de porcentagem de interferentes que permaneceram na amostra (Figura 4). Nesta figura é possível verificar que não houve diferença significativa entre os tratamentos, escolhendo-se fazer a limpeza utilizando água, que é um solvente não tóxico. Vale ressaltar que não houve extração do paraquat nesta etapa, indicando que apesar de ser muito solúvel em solventes polares, a adsorção do paraquat no grão é muito forte.



**Figura 4.** Porcentagem de extração dos interferentes no grão (extração assistida por ultrassom, 5 minutos) após uma lavagem com diferentes proporções de uma solução de limpeza composta por água:metanol e posterior extração pelo método padrão para determinação de pesticidas polares (ANASTASSIADES et al., 2010) modificado.

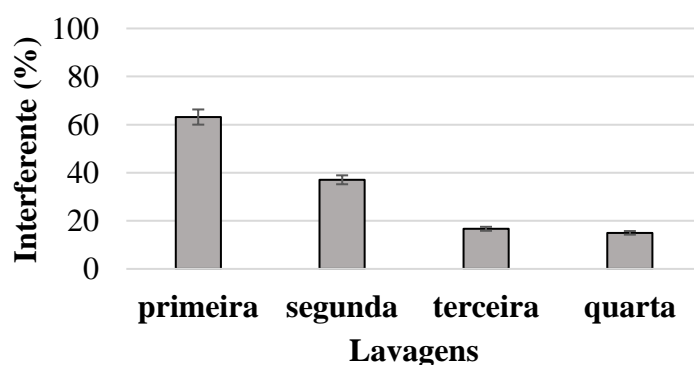
Visando melhorar a etapa de “clean up”, uma vez que apenas  $\approx 35\%$  dos interferentes foram eliminados, o tempo de contato entre a matriz e a solução de limpeza foi estudado em duas diferentes condições, agitação em vortex ou uso de ultrassom. A Figura 5 mostra os resultados obtidos para ambos processos após sucessivas etapas de lavagem com água. Como pode ser visto, tanto para a agitação em vortex quanto em extração assistida por ultrassom, em três lavagens, não foi possível extrair todo interferente.



**Figura 5.** Porcentagem de interferentes no grão pelo tempo de limpeza depois de sucessivas lavagens com água (A) agitação em vortex, (B) extração assistida por ultrassom. Posterior extração pelo método padrão para determinação de pesticidas polares (ANASTASSIADES et al., 2010) modificado.

Como pode ser observado, os melhores resultados foram obtidos para três lavagens com agitação de 2 minutos em vortex (restando apenas 14% do interferente) e para extração assistida por ultrassom no tempo de 5 minutos (restando apenas 14% do interferente), ambos em três lavagens.

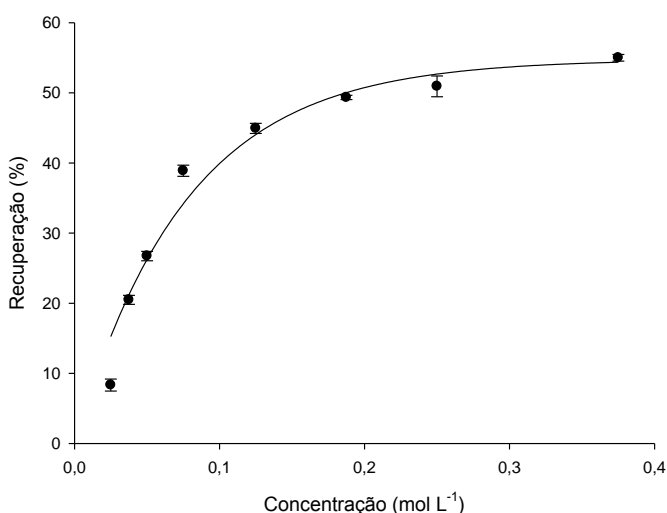
A segunda opção foi escolhida uma vez que é possível agitar várias amostras ao mesmo tempo no ultrassom. Visando melhorar a eficiência de extração dos interferentes, efetuaram-se quatro lavagens na etapa de “clean up” e, como pode ser observado na Figura 6, não foi obtido melhora no resultado. Dessa forma, optou-se por três lavagens nas etapas posteriores.



**Figura 6.** Porcentagem de interferentes no grão (extração assistida por ultrassom, 5 minutos) pelo número de lavagens com água e agitação ultrassom e posterior extração pelo método padrão para determinação de pesticidas polares (ANASTASSIADES et al., 2010) modificado.

### 2.5.1.2. Concentração de ácido

O paraquat fica fortemente adsorvido no grão de feijão necessitando de um ácido forte para romper estas interações. Desta forma, a concentração ideal de ácido clorídrico adicionado ao sistema foi investigada. A Figura 7 apresenta os resultados obtidos e, como pode ser observado, a influência da concentração na extração do paraquat seguiu modelo exponencial dado por  $Y=54,7751(1- e^{-13,0435X})$  com  $R^2$  igual a 0,9804. De acordo com esse modelo foi possível verificar que a porcentagem de recuperação aumenta à medida que aumenta a concentração do ácido, até que em  $0,3 \text{ mol L}^{-1}$  a recuperação começa a ser estabilizada. Devido a isso, foi escolhida a concentração de  $0,3 \text{ mol L}^{-1}$  nas etapas posteriores.

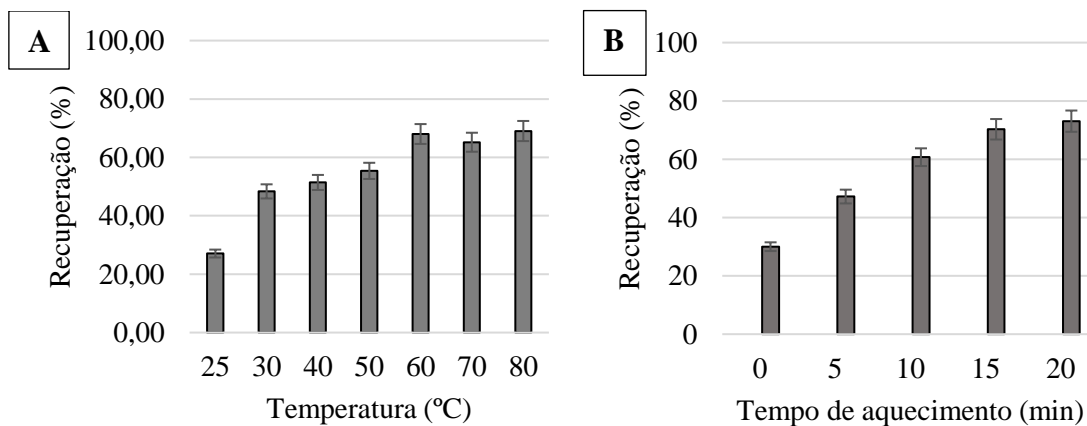


**Figura 7.** Porcentagem de recuperação do paraquat no grão em função da concentração do ácido clorídrico. Condições de extração: 10 mL de solução de ácido clorídrico, 10 minutos de ultrassom e centrifugação de 15 minutos a 5000 rpm.

### 2.5.1.3. Aquecimento

A temperatura é outro fator que pode influenciar na recuperação do analito e, portanto, foi investigado. De acordo com a Figura 8, a temperatura utilizada na extração e o tempo em que as amostras permanecem nessa temperatura influenciaram na recuperação do paraquat no grão de feijão. Isso pode estar relacionado com a velocidade de extração, a qual é acelerada em altas temperaturas, favorecendo a quebra das interações intermoleculares estabelecidas entre os constituintes presentes na matriz do grão de feijão e o paraquat. Resultados similares foram encontrados por Kolberg et al (2012).

Como pode ser observado na Figura 8, a recuperação foi aumentada à medida que se aumentou a temperatura, permanecendo praticamente constante após 60 °C. Dessa forma, a temperatura de 60 °C foi selecionada para estudos posteriores.



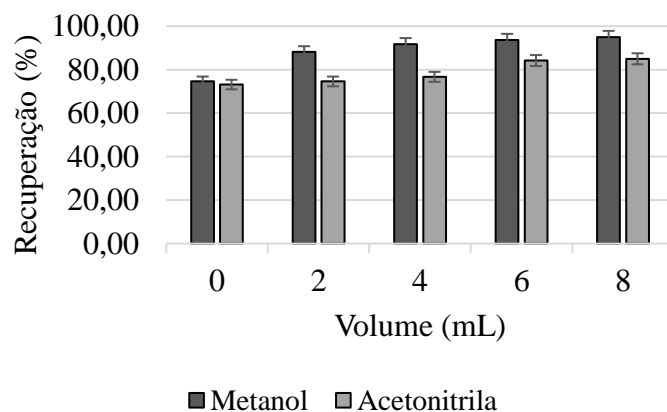
**Figura 8.** Recuperação de paraquat no grão em função: A) temperatura; B) do tempo de aquecimento a 60 °C. Condições de extração: 10 mL de HCl 0,3 mol L<sup>-1</sup>, 10 minutos de ultrassom e centrifugação de 15 minutos a 5000 rpm.

Em relação ao tempo de aquecimento, também houve aumento da porcentagem de recuperação à medida que se aumentou o tempo em que as amostras permaneceram sob aquecimento de 60 °C. Foi escolhido o tempo de 15 minutos, pois a partir deste a recuperação do paraquat permaneceu constante.

#### 2.5.1.4. Solvente de extração

De acordo com a Figura 8, pode-se observar que a taxa de recuperação foi inferior a 80%. Desta forma, visando melhorar esta taxa de recuperação, estudos envolvendo a natureza do solvente utilizado na extração do paraquat foram efetuados.

Na Figura 9 encontra-se a porcentagem de recuperação de paraquat ao utilizar diferentes volumes de metanol ou acetonitrila. É possível observar que o aumento do volume de ambos solventes aumentou a taxa de extração, de 74% para 95% para metanol, e de 73% para 85% para acetonitrila. Como o volume de 8,00 mL de metanol apresentou o melhor resultado, este foi escolhido na etapa de extração.

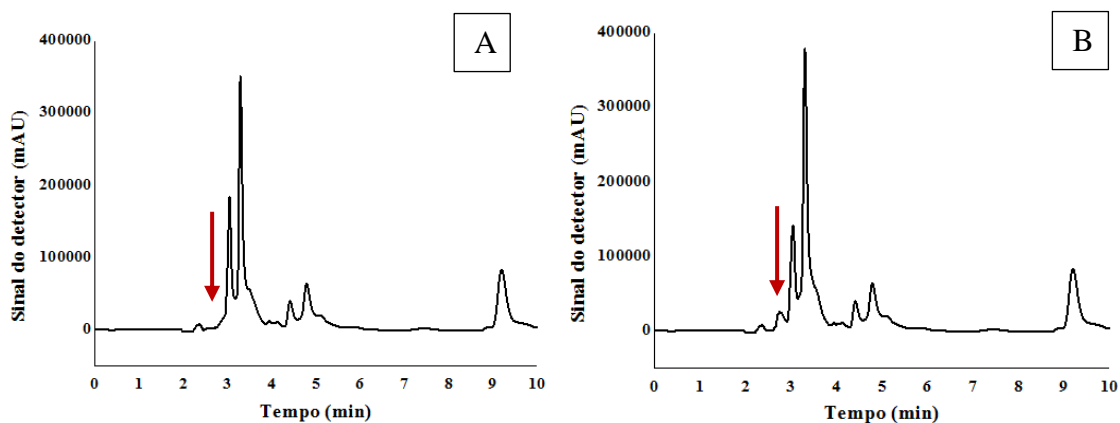


**Figura 9.** Porcentagem de recuperação de paraquat no grão em função da adição de metanol e acetonitrila. Condições de extração: 10 mL de solução de extração (metanol e ácido clorídrico na concentração final de  $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ ), 10 minutos de ultrassom, aquecimento e centrifugação de 15 minutos a 5000 rpm.

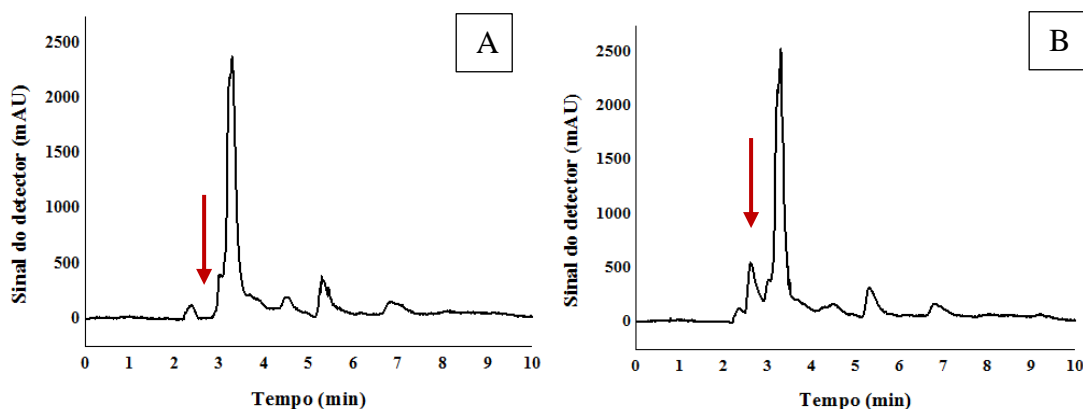
## 2.5.2. Validação do método

### 2.5.2.1. Seletividade

As Figuras 10 e 11 apresentam os cromatogramas obtidos na ausência e presença do paraquat no grão e vagem do feijão, respectivamente. Nota-se que apesar do pico do herbicida estudado não estar totalmente resolvido, foi possível obter a área do pico de maneira reprodutiva, podendo-se concluir que o método é seletivo.



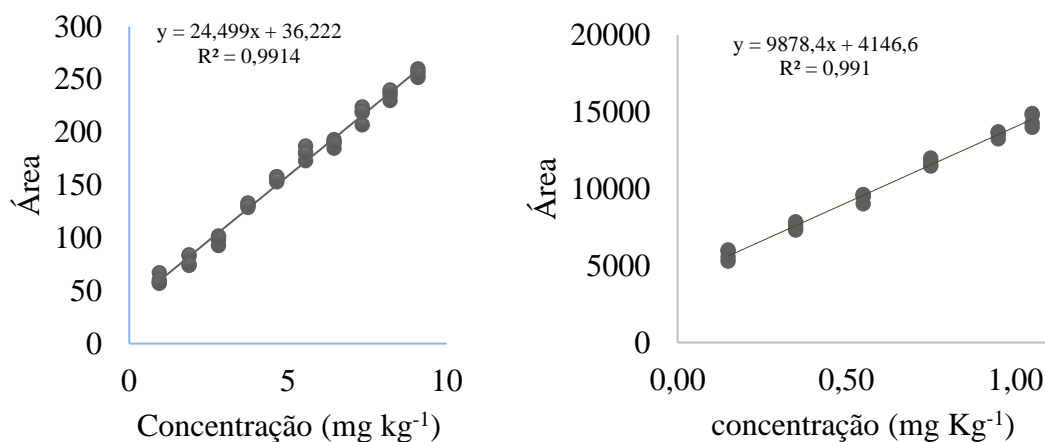
**Figura 10.** Cromatogramas amostras de grão de feijão A) Branco B) fortificado com  $1 \text{ mg kg}^{-1}$  do padrão de paraquat. O Pico referente ao paraquat está indicado com uma seta.



**Figura 11.** Cromatogramas das amostras de vagem A) Branco B) fortificado com 5 mg kg<sup>-1</sup> do padrão de paraquat. O Pico referente ao paraquat está indicado com uma seta.

### 2.5.2.2. Linearidade

Foram construídas curvas analíticas para as matrizes vagem e grão do feijão, sendo que as respectivas equações ajustadas para o paraquat foram  $Y = 24,499X + 36,222$  (Figura 12A) e  $Y = 9878,4X + 9878,4$  (Figura 12B). Os ajustes lineares geraram coeficiente de correlação ( $r$ ) superiores a 0,99. A ANVISA recomenda utilizar um  $r$  de 0,99. Logo, os métodos desenvolvidos para vagem e para o grão mostraram ser lineares.



**Figura 12.** Curva analíticas do paraquat: A) vagem do feijão e B) grão do feijão.

### 2.5.2.3. Limite de detecção e limite de quantificação

Os limites de detecção (LOD) e os limites de quantificação (LOQ) encontrados para a vagem foram de 0,26 e 0,86 mg kg<sup>-1</sup> e para o grão de 0,04 e 0,15 mg kg<sup>-1</sup>.

O limite máximo de resíduo (LMR) permitido para o grão é de 0,05 mg kg<sup>-1</sup> (ANVISA, 2014). Como pode ser visto, o LOD foi inferior ao LMR enquanto que o LOQ foi superior. Portanto, o método pode ser usado para verificar se a concentração de

paraquat no grão está acima do permitido, porém só é possível quantificar valores acima de 0,15 mg kg<sup>-1</sup>. Para a vagem não há limite máximo de resíduo registrado.

#### 2.5.2.4. Precisão e exatidão do método

Na Tabela 1 encontram-se os valores de recuperação e desvio padrão relativo (DPR) para a vagem e o grão utilizando o método de extração otimizado.

**Tabela1.** Concentração, recuperação (R) e desvio padrão relativo (RPR) em dias não consecutivos para análise da precisão e exatidão do método

Amostra	Concentração (mg Kg <sup>-1</sup> )	Dia 1		Dia 2		Dia 3		R (%)	DPR
		R (%)	DPR	R (%)	DPR	R (%)	DPR		
Vagem	1,0	85,25	10,00	99,61	11,14	91,07	11,81	92,47	12,63
	5,0	84,39	3,96	97,92	6,03	89,90	2,73	90,74	7,62
	10,0	112,31	3,94	113,56	4,60	113,30	4,17	113,06	3,87
Grão	0,15	101,10	4,52	96,51	11,00	85,10	10,59	91,85	12,37
	0,55	83,01	2,80	85,37	8,69	96,55	7,92	88,31	9,51
	1.05	91,44	4,85	87,83	3,01	90,32	5,05	89,86	4,37

A precisão do método foi avaliada em função da repetitividade e precisão intermediária. O DPR para estudo da repetitividade variou de 3,94 a 10,00% no primeiro dia, 4,60 a 11,14% no segundo dia de 2,73 a 11,81% no terceiro dia para as amostras de vagem. Para o feijão, houve variação de 2,80 a 4,85%, 3,01 a 11,00% e 5,05 a 10,59%, no primeiro, segundo e terceiro dias, respectivamente. Para a precisão intermediária, a variação foi de 3,87 a 12,63% para a vagem e de 4,37 a 12,37% para o feijão. Os valores de DPR podem variar em até 20% para matrizes complexas (SANCO, 2013), logo o método desenvolvido tanto para a vagem quanto para o grão apresentaram boa repetitividade e boa precisão intermediária.

A exatidão variou de 84,39 a 113,56% para a vagem e para o grão de 83,01 a 101,10%. Os valores da recuperação podem variar de 70 a 120% (SANCO, 2013) logo o método desenvolvido foi exato.

#### 2.5.3. Análise das amostras

A concentração de paraquat na vagem do feijão foi influenciada pela interação entre herbicidas e épocas de aplicação (Tabela 2). A concentração encontrada de paraquat

na época R8 foi a menor, seguida por R9 e R8/R9. Já para mistura (paraquat + diuron) a concentração foi menor em R8/R9, seguida por R8 e R9. Não foi detectado paraquat na testemunha.

**Tabela 2.** Concentração de paraquat ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) encontrada na vagem em função da época de dessecação e do herbicida aplicado na dessecação

Época de dessecação	Herbicida		Média
	paraquat	paraquat + diuron	
<b>R8</b>	7,26 cB	10,66 bA	8,96
<b>R8/R9</b>	16,47 aA	6,06 cB	11,27
<b>R9</b>	14,09 bB	16,31 aA	15,21
<b>Média</b>	12,61	11,01	
<b>Testemunha</b>	Não detectado		
<b>CV (%)</b>	11,17		

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. R8: antes da maturação fisiológica, R8/R9: na maturação fisiológica, R9: após a maturação fisiológica.

Para o herbicida paraquat a menor concentração encontrada em R8 deve-se a maior quantidade de folhas nas plantas de feijão neste estágio, como pode ser visto na Figura 13, essas folhas serviram de barreira, impedido a chegada do herbicida na vagem, no entanto, nas outras épocas as folhas estavam mais secas e muitas já haviam caído, permitindo a chegada do herbicida na vagem.



**Figura 13.** Parcelas antes da aplicação dos desseccantes nos estádios A) R8, antes da maturação fisiológica; B) R8/R9, na maturação fisiológica e C) R9, após a maturação fisiológica.

Foi encontrado resíduo de paraquat no grão do feijão no estágio R8/R9 para a mistura de herbicidas (Tabela 3). Neste mesmo estágio foi encontrado a menor concentração de paraquat na vagem. Isso indica que a presença do herbicida diuron nesse estágio reduziu a velocidade de ação do paraquat tornando possível maior difusão desse herbicida no tecido da vagem e, por consequência, a contaminação dos grãos.

No trabalho desenvolvido por Norsworthy et al. (2011), o herbicida paraquat foi associado a um herbicida inibidor de fotossistema II para controlar falhas em estandes de milho, em sucessão de culturas, devido inundações e danos por congelamento. Foi observado que o controle do milho foi maior fazendo essa associação do que a aplicação do paraquat isolado. Dessa forma, esses autores também evidenciaram que a aplicação do paraquat associado a um herbicida inibidor de FS II aumenta a difusão do paraquat na planta.

No estágio R9 não foi encontrado resíduo de paraquat no grão porque a ligação entre o grão e a vagem já foi rompida. Segundo Smiderle e Dias (2011) após a maturidade fisiológica a semente é desligada da planta mãe.

Não foi encontrado resíduo de paraquat nas aplicações em R8 e R9 para a aplicação do herbicida paraquat e para a mistura e em R8/R9 para o paraquat. Porém não é possível afirmar que não houve translocação do paraquat, uma vez que o método desenvolvido só permite detectar resíduos acima de 0,04 mg kg<sup>-1</sup>.

**Tabela 3.** Concentração de paraquat encontrada no grão em função da época de dessecação e do herbicida aplicado na dessecação.

Época de dessecação	Herbicida	
	Paraquat	Paraquat + Diuron
<b>R8</b>	Não detectado	Não detectado
<b>R8/R9</b>	Não detectado	Detectado
<b>R9</b>	Não detectado	Não detectado
<b>Testemunha</b>	Não detectado	

Como foi encontrado resíduo de paraquat no feijão na época R8/R9 para a mistura, pode-se afirmar que não deve aplicar a mistura para dessecação, pois existe riscos de contaminação dos grãos; podendo inclusive ocorrer concentrações acima do limite recomendado pela ANVISA. Por outro lado, a utilização da aplicação isolada do paraquat mostrou-se segura. Todavia na vagem, independente da aplicação isolada ou em mistura do paraquat com o diuron, altas concentrações do paraquat foram encontradas quando os dessecantes foram aplicados independente do estágio de desenvolvimento da cultura. Isto indica a possibilidade de alto risco de contaminação dos trabalhadores no momento da colheita mecanizada por inalação do paraquat presente na fumaça produzida em razão da trituração da vagem.

## 2.6. Conclusões

1. Os métodos desenvolvidos para quantificar resíduos de paraquat no grão e na vagem de feijão utilizando a extração sólido-líquido assistida por ultrassom e análise por cromatografia líquida de alta eficiência são eficientes e apresentam boa recuperação e repetitividade.
2. Independente da época ou do herbicida dessecante aplicado (paraquat ou da mistura paraquat + diuron) elevadas concentrações do paraquat são encontradas nas vagens. Isto exige cuidados especiais na operação da colheita do feijão para se evitar a intoxicação dos operários.
3. Aplicações isoladas do paraquat como dessecante são seguras quanto a não contaminação dos grãos com resíduo deste herbicida.
4. A mistura (paraquat + diuron) não deve ser aplicada como dessecante para antecipar colheita do feijão pois existem riscos de contaminação dos grãos com o paraquat.

## 2.7. Literatura Citada

AFONSO, S. M. E.; **Caracterização físico-química e atividade antioxidante de novas variedades de feijão (phaseolus vulgaris L.)**. Dissertação, Bragança, 2010.

ANASTASSIADES, M.; KOLBERG, D. I.; MACK, D.; SIALOVA, I.; ROUX, D.; FUGEL, D.; Quick method for the analysis of highly polar pesticides in foods of plant origin involving simultaneous extraction with metanol and LC-MS/MS determination. **EU Reference laboratories for residues of pesticides**, v. 5, p. 34, 2010.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução RE nº899 de 29 de maio de 2003. **Resolução RE no 475**, de 19 de março de 2002. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2003.

ANVISA -Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **Consulta Pública nº 72**, de 29 de setembro de 2014. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2014.

CESSNA, A.J.; DARWENT, A.L.; TOWNLEY-SMITH, L.; HARKER, K.N.; KIRKLAND, K.J. Residues of glyphosate and its metabolite AMPA in field pea, barley and flax seed following preharvest applications. **Canadian Journal Plant Science**, v.82, p.485-489, 2002.

EKMEKCI, Y; TERZIOGLU, S.; Effects of oxidative stress induced by paraquat on wild and cultivated wheats. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. San Diego, v. 83, n. 2, p. 69-81, 2005.

FARAH, A.; ACHAK, M.; GAINI, L.; MHAMMEDI, M. A.; MAKASSE, M.; Electrochemical determination of paraquat in tomato at Ag/NP-modified graphite electrode using square wave voltametry. **Food Anal. Methods**, 9, p 139-147, 2016.

FARAH, A.; ACHAK, M.; GAINI, L.; MHAMMEDI, M. A.; MINA, B.; Electrochemical determination of paraquat in citric fruit based electrodeposition of silver particle onto carbon paste electrode. **Journal of Food and Drug Analysis**, 23, p. 463-471, 2015a.

FARAH, A.; GAINI, L.; ACHAK, M.; YAMANI, S.; MHAMMEDI, M. A.; BAKASSE, M.; Intention study of paraquat and silver electrode using electrochemical impedance spectroscopy: Application in milk and tomato samples. **Food Control**, v. 47, p. 679-685, 2015b.

FRANÇA-NETO, J.B.; KRZYŻANOWSKI, F.C.; PÁDUA, G.P.; COSTA, N.P.; HENNING, A.A. **Tecnologia da produção de semente de soja de alta qualidade: Série Sementes**. Londrina: Embrapa Soja. p. 12, 2007.

GAO, L.; LIU, J.; YUAN, H.; DENG, X.; Solid-phase Microextraction combined with GC-MS for determination of Diquat and paraquat residues in water. **Chromatographia**, 78, p. 125-130, 2015.

HAO, C.; ZHAO, X.; ORSE, D.; YANG, P.; TAUCHI, V.; MORRA F.; Optimized liquid chromatography tandem mass spectrometry approach for the determination of diquat and paraquat herbicides. **Journal of chromatography A**, 1304, p. 169-176, 2013.

IBÁÑEZ, M.; PICÓ, Y.; MANES, J.; On-line liquid chromatographic trace enrichment and high-performance liquid chromatographic determination of, diquat, paraquat and difenzoquat in water. **Journal of Chromatography A**, 728, p. 325-331, 1996.

KASMI, S.; LAHRICH, S.; FARAH, A.; ZRIOUIL, M.; AHMAMOU, M.; BAKASSE, M.; MHAMMEDI, M. A.; Electrochemical determination of paraquat in potato, lemon, Orange and natural water samples using sensitive-rich clay carbon electrode. **Journal of Taiwan Institute of Chemical Engineers**. 58, p. 165-172, 2016.

KOLBERG, D. I. S.; MACK, D.; ANASTASSIADES, M.; HETMANSKI, M. T.; FUSSELL, R. J.; MEIJER, T.; MOL, H. G. J.; Development and independent laboratory validation of a simple method for the determination of paraquat and diquat in potato, cereals and pulses. **Anal Bioanal Chem**, v. 404, p. 2465-2474, 2012.

NORSWORTHY, J. K.; SMITH, K. L.; GRIFFITH, G.; Evaluation of combinations of paraquat plus photosystem II – inhibiting herbicides for controlling failed stands of maize (*Zea Mays*). **Crop Protection**, v. 30, p. 307-310, 2011.

PENCOWSKI, L.; PODOLAN, M. J.; LOPEZ-OVEJERO, R. F.; Efeito de herbicidas aplicados na pré-colheita na qualidade fisiológica das sementes de feijão. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 4, n. 2, 2005.

RUAN, X. L.; QIU, J. J.; WU, C.; HUANG, T.; MENG, R. B.; LAI, Y. Q.; Magnetic single-walled carbon nanotubes-dispersive solid-phase extraction method combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of paraquat in urine. **Journal of Chromatography B**. 965, p. 85-90, 2014.

SANCO. Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. **European commission health & consumer protection directorate-general**. p. 1-42, 2013.

SILVA, A. A.; VIVIAN, R.; OLIVEIRA Jr., R. S. Herbicidas: comportamento no solo. In: SILVA, A. A.; SILVA J. F. (Ed.). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2007.

SMIDERLE, O. J.; DIAS, C. T. S.; Épocas de colheita e armazenamento de sementes de arroz produzidas no cerrado de Roraima. **Revista Agro@ambiental On-line**, v. 5, p. 18-23, 2011.

ZOU, T.; HE, P.; CAO, J.; LI, Z.; Deterination of Paraquat in vegetables using HPLC-MS-MS. **Journal of Chromatographic Science**, 53, p. 204-209, 2015.

### 3. EFEITOS DE HERBICIDAS DESSECANTES NA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE FEIJÃO

#### *Effects of herbicides desiccants on physiological quality of bean seeds*

#### 3.1. Resumo

Aplicações de paraquat e da mistura (paraquat + diuron) como dessecantes para antecipar a colheita do feijão é prática comum entre os produtores. Fazem isso para antecipar a colheita dos grãos ou sementes, visando evitar efeitos adversos do clima sobre a qualidade do produto colhido. Na literatura são escassas as informações sobre o estágio de desenvolvimento da cultura ideal para se aplicar estes produtos, tendo-se em vista obter a máxima produtividade e qualidade fisiológica das sementes. Visando confirmar a hipótese de que aplicações de dessecantes realizadas no estágio de desenvolvimento inadequado interferem na qualidade fisiológica das sementes foi realizada esta pesquisa. Os herbicidas utilizados como dessecantes, paraquat e mistura (paraquat + diuron), foram aplicados em três estádios de desenvolvimento da cultura de feijão: R8 (antes da maturação fisiológica), R8/R9 (na maturação fisiológica) e R9 (após a maturação fisiológica). Foram avaliadas a produtividade e as características fisiológicas das sementes (massa de 1000 sementes, germinação e o vigor das sementes pelos testes de envelhecimento acelerado e de condutividade elétrica e comprimento de radícula). A dessecação do feijoeiro para colheita de sementes no estágio R8 utilizando o paraquat e nos estádios R8/R9 com a mistura (paraquat + diuron) causou redução da porcentagem de germinação e do vigor das sementes e, também, na produtividade da cultura. Entretanto, aplicações de herbicidas paraquat nos estádios R8/R9 e R9 ou da mistura (paraquat + diuron) no estágio R9 preservaram a qualidade fisiológica das sementes, sem afetar a produtividade. As aplicações dos dessecantes nos estádios R8, R8/R9 e R9 anteciparam a colheita em 11, 8 e 6 dias, respectivamente.

**Palavras chave:** Herbicida, Paraquat, diuron, vigor.

#### 3.2. Abstract

Applications of paraquat and the mixture (paraquat + diuron) as desiccants to anticipate the harvest of beans is common practice among producers. They do it to

anticipate the harvest of grains or seeds to avoid adverse climate effects on the quality of the harvested product. In the literature are scarce information about the stage of development of culture ideal for applying these products, with a view to obtain the maximum productivity and physiological quality of seeds. In order to confirm the hypothesis that desiccant applications held in the stadium of inappropriate development interfere in the physiological quality of seeds was carried out this research. The herbicides used as desiccants, paraquat and mixing (paraquat + diuron), were applied at three stages of development of bean culture: R8 (before the physiological maturation), R8/R9 (on physiological maturation) and R9 (after physiological maturity). We evaluated productivity and physiological characteristics of seed (mass of 1000 seeds, germination and vigor of seeds by accelerated aging tests and electric conductivity and radicle length). Desiccation of the bean seed collection at the stadium R8 using paraquat and at stages R8/R9 with the mixture (paraquat + diuron) caused a reduction in the percentage of germination and vigor of the seed and, also, on the productivity of the crop. However, applications of herbicides paraquat in stadiums R8/R9 and R9 or mixing (paraquat + diuron) on the R9 Stadium preserved the physiological quality of seeds, without affecting productivity. The applications of desiccant in the stadiums R8, R8/R9 and R9 anticipated harvesting in 11, 8 and 6 days, respectively.

**Keywords:** Herbicide, paraquat, diuron, vigor

### **3.3. Introdução**

A colheita do feijão é um dos principais problemas enfrentados pelos produtores de sementes. O momento ideal para esta prática seria logo após a maturação fisiológica, quando as sementes apresentam máximo acúmulo de matéria seca, elevados vigor e germinação (SANTOS et al., 2005a). Todavia, nesta ocasião as sementes apresentam grau de umidade acima de 25%, o que dificulta a colheita, devido ao grande risco de perda da produção por amassamento das sementes (DOMINGOS et al., 1997). Com o atraso da colheita, fatores do meio ambiente como umidade, temperatura e precipitações pluviais tornam as sementes mais susceptíveis a deterioração e invasão por microrganismos (MARCHIORI Jr. et al., 2002).

Dessa forma, qualquer procedimento que possibilite a antecipação da colheita irá colaborar na preservação da qualidade fisiológica das sementes, sendo de interesse

econômico para os produtores (DALTRO et al., 2010). Para atingir este objetivo (produção de sementes com ótimas qualidades fisiológicas) normalmente os produtores utilizam herbicidas para dessecar a cultura antes da colheita. Entretanto, aspectos importantes devem ser considerados quando se utilizam herbicidas dessecantes, como: o modo de ação do produto, as condições ambientais em que esse é aplicado, o estágio fenológico em que a cultura se encontra, eventual ocorrência de resíduos tóxicos no material colhido, influência na produção, germinação e vigor de sementes (LACERDA et al., 2005).

Dentre os herbicidas dessecantes mais utilizados no Brasil se destaca o paraquat, o qual tem sua eficiência comprovada em vários trabalhos (KAPPES et al., 2012; GUIMARÃES et al., 2012).

O paraquat (inibidor do fotossistema I) é considerado ótimo dessecante por agir rapidamente dessecando a planta em um curto espaço de tempo e não transloca na planta (EKMEKCI, TERZIOGLU, 2005). Outro produto que merece destaque na dessecação do feijoeiro é o Gramocil. Este tem em sua composição a mistura do paraquat e diuron. O diuron pertence ao grupo dos herbicidas inibidores do fotossistema II, o qual diminui o transporte de elétrons no fotossistema I. Este fato reduz a velocidade de ação do paraquat permitindo maior difusão desse herbicida nos tecidos vegetais, podendo atingir com maior facilidade os grãos da cultura (NORSWORTHY et al, 2011).

Dessa forma, é importante fazer o estudo da qualidade fisiológica das sementes ao fazer aplicação de paraquat ou da mistura paraquat + diuron, uma vez que o paraquat pode atingir as sementes gerando resíduos no grão com possibilidade de afetar a qualidade fisiológica das sementes.

De acordo com o exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade fisiológica de sementes do feijão após dessecação pré-colheita com os herbicidas paraquat e a mistura paraquat + diuron em diferentes épocas.

### **3.4. Material e métodos**

#### **3.4.1. Delineamento experimental**

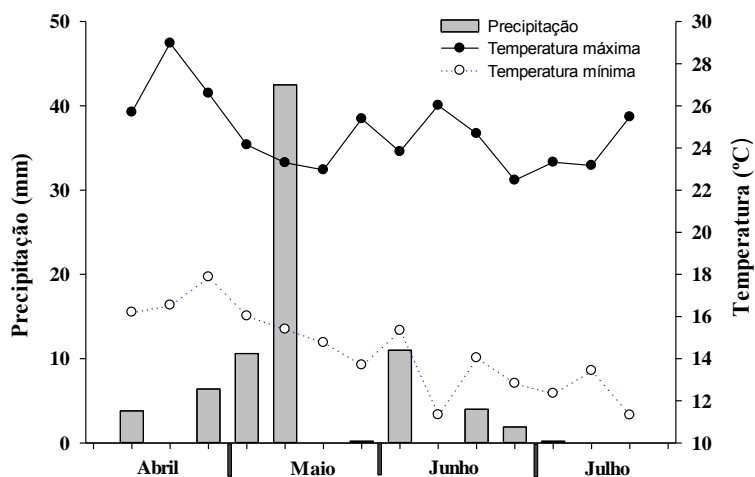
O experimento foi conduzido em campo experimental pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa no delineamento em blocos casualizados em esquema fatorial  $2 \times 3 + 1$ , com quatro repetições. O fator A foi composto por dois herbicidas: paraquat ( $400 \text{ g ha}^{-1}$ ) e paraquat + diuron ( $200 + 400 \text{ g ha}^{-1}$ )

<sup>1</sup>) e o fator B por três épocas de dessecação em diferentes estádios fenológicos: R8 (antes da maturação fisiológica, 50% do total de vagens começando a apresentar coloração avermelhada - Figura 1A ); R8/R9 (na maturação fisiológica, 90% do total de vagens apresentavam coloração vermelha - Figura 1B); e R9 (após a maturação fisiológica, 50% das vagens apresentavam coloração marrom - Figura 1C) e mais uma testemunha sem aplicação do herbicida.



**Figura 1.** Estádios de desenvolvimento das vagens do feijão no momento das aplicações dos herbicidas dessecantes: R8 (A), R8/R9 (B) e R9 (C).

Cada unidade experimental foi constituída por três linhas com 6 m de comprimento, espaçadas de 0,5 m, sendo que a área útil foi constituída pela linha central, descontando-se 0,5 m em cada extremidade. Os dados climáticos referentes à precipitação pluvial e temperaturas máximas e mínimas diárias durante o período do experimento estão apresentados na Figura 2.



**Figura 2.** Dados semanais de precipitação pluvial e temperaturas máxima e mínima durante a condução do experimento no campo no período de abril a julho de 2015. Fonte: INMET 2016.

### 3.4.2. Semeadura

A semeadura do feijão vermelho, cultivar ouro vermelho, foi realizada no dia 6 de abril de 2015, na densidade de 12,5 sementes por metro linear, utilizando semeadora

tratorizada para plantio direto. Simultaneamente à semeadura, foram aplicados 300 kg ha<sup>-1</sup> do fertilizante 8-28-16 (N-P-K) na linha de plantio. De acordo com a necessidade, foram realizadas irrigações suplementares por meio de aspersão e duas capinas manuais no intuito de evitar a interferência das plantas daninhas.

### 3.4.3. Aplicação dos herbicidas

As aplicações dos herbicidas Gramoxone® (paraquat) e Gramocil® (diuron + paraquat) foram realizadas utilizando pulverizador costal de precisão. Este pulverizador estava com barra com três pontas XR11003, espaçadas de 0,50 m. Durante as aplicações manteve-se a pressão constante de 300 kPa por meio de CO<sub>2</sub> pressurizado. O volume de calda foi equivalente a 250 L ha<sup>-1</sup> e as aplicações foram realizadas entre 14:00 e 15:00 horas e no início das mesmas foram registradas as condições climáticas (Anexo 1).

### 3.4.4. Colheita

A colheita foi realizada manualmente quando as plantas se encontravam desfolhadas, com as vagens secas e com teor de umidade dos grãos em torno de 20%. Na Tabela 1 estão apresentadas as datas, eventos e atividades realizadas na condução do experimento.

**Tabela 1.** Data, eventos e atividades realizadas na condução do experimento no campo

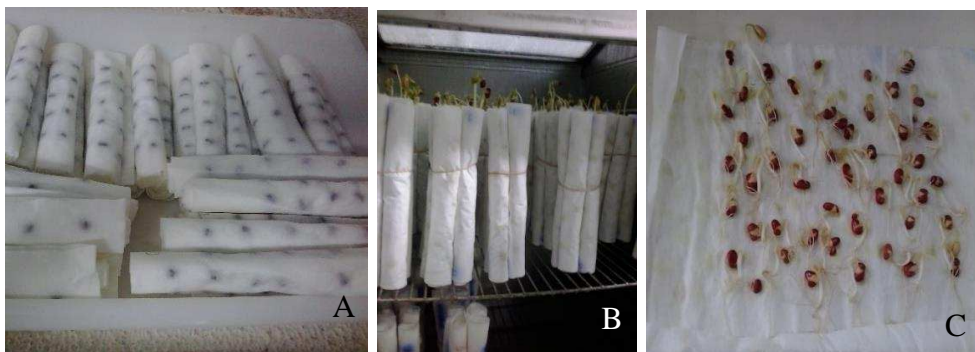
Data	Evento	Atividade realizada
06/04/2015		Semeadura
16/04/2015	Emergência	
30/05/2015	Florescimento	
25/06/2015	Estádio R8	1ª aplicação dos dessecantes
06/07/2015		Colheita das plantas dessecadas em R8
07/07/2015	Maturação fisiológica (R8/R9)	2ª aplicação dos dessecantes
10/07/2015	(R9)	3ª aplicação dos dessecantes
13/07/2015		Colheita das plantas dessecadas em R8/R9
15/07/2015		Colheita das plantas dessecadas em R9
20/07/2015		Colheita testemunha

### 3.4.5. Qualidade fisiológica das sementes

Após a colheita, foi retirada uma amostra de sementes para avaliação da qualidade fisiológica por meio do teste de germinação, envelhecimento acelerado, teste de frio e condutividade elétrica, segundo metodologia proposta por (KRZYZANOWSKI; VIEIRA; FRANÇA NETO, 1999).

#### 3.4.5.1. Germinação

O teste de germinação (Figura 3) foi realizado utilizando 50 sementes de feijão por parcela, as quais foram semeadas sobre três folhas de papel germitest umedecidas, previamente, com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel. Os rolos foram mantidos em germinador a temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Para obtenção dos resultados foram realizadas contagens aos 5 e 9 dias, onde as plântulas foram classificadas em normais ou anormais. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais, após a obtenção da média aritmética das repetições (BRASIL, 2009).



**Figura 3.** Detalhes do teste de germinação: rolos de papel germitest umedecidos contendo 50 sementes de feijão (A), rolos mantidos em germinador (B) e contagem de plântulas normais aos 5 e 9 dias (C).

#### 3.4.5.2. Primeira Contagem da Germinação (PCG)

A PCG foi realizada, conjuntamente com o teste de germinação, avaliando-se o número de plântulas normais no quinto dia após a semeadura. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

### 3.4.5.3. Tamanho de Radícula

Na PCG foram coletadas 10 plântulas normais, aleatórias, de cada parcela e medido, com auxílio de uma régua, o tamanho da raiz primária de cada plântula, sendo o resultado expresso em cm.

### 3.4.5.4. Envelhecimento Acelerado

O teste de envelhecimento acelerado (Figura 4) foi realizado utilizando o método da caixa plástica (gerbox), colocando-se sobre a tela suspensa no interior da caixa plástica, 200 sementes em camada única, contendo no interior da caixa 40 mL de água. As caixas foram tampadas e mantidas a 42 °C e 100% de umidade relativa, por 72 horas (KRZYZANOWSKI; VIEIRA; FRANÇA NETO, 1999), até o teor de água das sementes atingirem valores em torno de 22% base úmida, o qual foi estimado pelo método de estufa à 105°C ± 3 (BRASIL, 2009) durante 24 horas. Decorrido esse período, as sementes foram submetidas ao teste de germinação e no quinto dia após a instalação, foi determinada a porcentagem de plântulas normais.

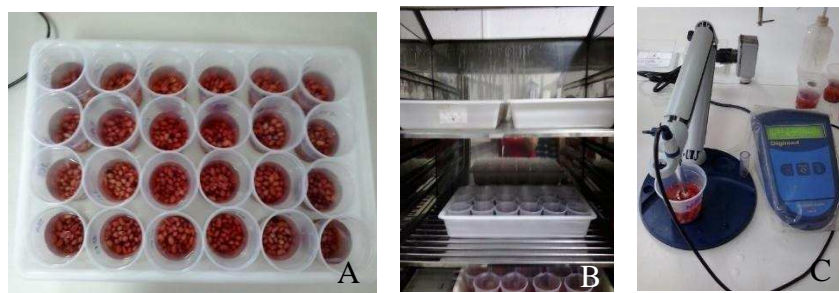


**Figura 4.** Detalhes do teste de envelhecimento acelerado: 200 sementes de feijão em camada única sobre a tela suspensa no interior do gerbox (A), 40 mL de água na parte inferior do gerbox (B) e visão lateral da disposição das sementes de feijão e água dentro do gerbox (C).

### 3.4.5.5. Condutividade elétrica

O teste de condutividade elétrica (Figura 5) foi realizado conforme a metodologia recomendada por Krzyzanowski, Vieira e França Neto (1999). Foram colocadas 50 sementes/repetição, previamente pesadas, em copos plásticos contendo 25 mL de água deionizada, e mantidos à 25 °C por 24 horas. Em seguida, foi mensurada a condutividade

elétrica utilizando um condutivímetro (Digimed – DM32). Os valores obtidos foram expressos em  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ .



**Figura 5.** Detalhes do teste de condutividade elétrica: Copos plásticos contendo 50 sementes de feijão e 25 mL de água (A), amostras no germinador (B) e mensuração da condutividade elétrica (C).

### 3.4.6. Características agronômicas

#### 3.4.6.1. Massa de 1.000 sementes

A massa de mil sementes foi estimada pela pesagem de oito amostras de 100 sementes, feita a média dos valores e multiplicada por 10 para fazer a correção da massa para 1000 sementes. Este foi expresso em gramas.

#### 3.4.6.2. Produtividade

A produtividade das sementes de feijão foi estimada por meio da pesagem das sementes colhidas da área útil de cada parcela e a determinação da umidade pelo método da estufa à  $105^{\circ}\text{C} \pm 3$  (BRASIL, 2009), corrigindo-se os dados para 13% de umidade de acordo com a Equação 1. A produtividade foi expressa em  $\text{kg ha}^{-1}$ .

$$\text{Produtividade} = \frac{\text{peso} \times (100 - \text{umidade})}{87} \quad (\text{Equação 1})$$

#### 3.4.6.3. Número de dias de antecipação da colheita

O número de dias de antecipação da colheita foi determinado por meio da diferença, em dias, da data de colheita dos tratamentos com dessecação em relação à colheita da testemunha (sem aplicação dos desseccantes).

### **3.4.7. Tratamento estatístico dos resultados**

Os resultados foram submetidos à análise de variância e, quando a interação entre época de aplicação e herbicidas foi significativa ( $P < 0,05$ ), foi feito os desdobramentos necessários. Foi aplicado o teste Tukey para verificar o comportamento da época de aplicação dos dessecantes, dentro de cada herbicida aplicado, e o comportamento de cada herbicida dentro de cada época de aplicação. Foi aplicado o teste Dunnett, 5% de probabilidade, para comparar os tratamentos com a testemunha.

### **3.5. Resultados e Discussão**

A germinação das sementes foi influenciada apenas pelas épocas de aplicação dos dessecantes (Tabela 2). A germinação foi reduzida quando os herbicidas foram aplicados no estágio R8 em comparação com o R9. O paraquat aplicado no R8 reduziu o valor dessa variável em comparação com a ausência de aplicação de herbicidas.

Pinto et al (2014) e Domingos et al (1997) avaliaram a germinação para os feijões preto e carioca, respectivamente, ambos observaram que a época de dessecação não afetou a germinação. O resultado diferente pode ter sido encontrado devido a primeira época estudada neste trabalho (R8, 24 dias após o florescimento (DAF)) foi inferior ao de Pinto et al (2014), 39 DAF, e Domingos et al (1997), 26 DAF.

Para a germinação na primeira contagem houve interação entre os fatores época de aplicação e herbicidas (Tabela 2). A aplicação de paraquat no estágio R8 reduziu o valor dessa variável em comparação com as demais épocas, enquanto que para a mistura (paraquat + diuron) melhores índices foram verificados no estágio R9. Quando se comparam os herbicidas dentro de cada época de aplicação, verificam-se índices superiores quando foi aplicado à mistura em relação ao paraquat isolado nos estágios R8 e R9. Também para a primeira contagem, o paraquat aplicado no estágio R8 reduziu a porcentagem de sementes germinadas na primeira contagem, em comparação com a testemunha, indicando redução no vigor das sementes, uma vez que a primeira contagem de germinação avalia indiretamente a velocidade de germinação (KRZYZANOWSKI; VIEIRA; FRANÇA NETO, 1999). Kappes et al. (2012), também constataram influência da época de dessecação com o herbicida paraquat sobre esta variável.

**Tabela 2.** Resultados do teste de germinação, primeira contagem da germinação e tamanho de raiz das sementes de feijão submetidas à dessecação pré-colheita em diferentes épocas

Avaliação	Época de dessecação	Herbicida		Média
		Paraquat	Paraquat + Diuron	
		-----%-----		
		-----%-----		
<b>Teste de germinação</b>	R8	93,25*	96,75	95,00 b
	R8/R9	97,75	97,25	97,50 ab
	R9	97,50	97,75	97,63 a
	Média	96,17	97,25	
	Testemunha		97,25	
	CV (%)		2,06	
<b>Primeira contagem germinação</b>	R8	66,0 bB*	83,5 bA	74,75
	R8/R9	86,0 aA	81,0 bA	83,50
	R9	84,0 aB	91,5 aA	87,75
	Média	78,67	85,33	
	Testemunha		83,25	
	CV (%)		5,16	
<b>Tamanho de radícula</b>		-----cm-----		
	R8	5,48	5,28	5,35 b
	R8/R9	6,98*	6,08	6,53 a
	R9	7,98*	6,35	7,16 a
	Média	6,81 A	5,90 B	
	Testemunha		5,55	
	CV (%)		11,09	

Dentro de uma mesma variável, médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. \*/ diferem da testemunha pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Não houve interação entre fatores para a variável tamanho de radícula, sendo estudada a influenciada pelos fatores isolados (Tabela 2). A aplicação dos desseccantes na época R8 reduziu o tamanho das raízes. A aplicação do paraquat resultou em maiores tamanhos de radícula que a aplicação da mistura. A utilização de paraquat nas épocas R8/R9 e R9 proporcionou aumento dessa variável em relação à testemunha. Maior crescimento de radícula indica plântulas com maior capacidade de transformação e armazenamento de suprimentos de reserva nos tecidos e maior incorporação destes pelo eixo embrionário (KRZYZANOWSKI; VIEIRA; FRANÇA NETO, 1999).

Para o teste de envelhecimento acelerado (Tabela 3), houve interação significativa entre herbicidas e épocas de aplicação. Quando se aplicou o paraquat, observou-se maior germinação no estágio R8/R9, seguido do R9 e R8. Já para o uso da mistura a maior

germinação foi obtida no estágio R9. Ao se comparar os herbicidas em cada época de aplicação, verifica-se que índices superiores foram obtidos quando se aplicou a mistura dos herbicidas em relação ao produto isolado nos estádios R8 e R9 e sem efeitos para o estágio R8/R9. Todavia, maiores perdas de vigor por meio do teste de envelhecimento acelerado foram constatadas para a aplicação de paraquat no estágio R8, cujos valores foram inferiores aos observados na testemunha que foi semelhante aos demais tratamentos.

**Tabela 3.** Envelhecimento acelerado das sementes de feijão submetidas à dessecação pré-colheita em diferentes épocas

Época de dessecação	Herbicida		Média
	Paraquat	Paraquat +Diuron	
	-----%-----		
<b>R8</b>	81,0 cB*	93,5 bA	87,25
<b>R8/R9</b>	96,5 aA	92,0 bA	94,25
<b>R9</b>	90,0 bB	98,5 aA	94,25
<b>Média</b>	89,2	94,7	
<b>Testemunha</b>		94,5	
<b>CV (%)</b>		3,43	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. \*/ diferem da testemunha pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Também para a condutividade elétrica houve interação entre os fatores (Tabela 4). Quando se aplicou o paraquat, menores níveis para esta variável foram constatados nos estádios R8 e R9, enquanto que para a mistura em R8/R9 foi obtido menores valores. Na comparação entre herbicidas foram observados melhores resultados com o uso da mistura nos estádios R8 e R9. Comparada à testemunha, à época R8 para aplicação de paraquat e R8/R9 para a mistura, obtiveram valores menores, que indicam melhor integridade das membranas celulares.

No trabalho desenvolvido por Coelho et al. (2012) a condutividade de três genótipos de feijão variou de 41,24 a 89,73  $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$  e no trabalho de Kappes et al. (2012) variou de 57,10 a 72,10  $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$  para feijão carioca. Os valores foram próximos ao encontrado nesse trabalho. Estes são diferentes pois o valor da condutividade elétrica varia de acordo com a quantidade e o tipo de compostos presentes na solução do lixiviado (KRZYZANOWSKI; VIEIRA; FRANÇA NETO, 1999), variando assim seu valor para cada espécie.

Nos trabalhos de Coelho et al. (2012) e Kappes et al. (2012) também foi encontrado que a dessecação de alguns tratamentos preservou a integridade das membranas celulares.

**Tabela 4.** Condutividade elétrica ( $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$ ) em função da época de dessecação e da aplicação de herbicidas dessecantes

Época de dessecação	Herbicida		Média
	Paraquat	Paraquat + Diuron	
	----- $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$ -----		
<b>R8</b>	63,46 bB*	73,88 aA	68,67
<b>R8/R9</b>	76,78 aA	58,84 bA*	67,81
<b>R9</b>	65,36 bB	75,40 aA	70,38
<b>Média</b>	68,53	69,38	
<b>Testemunha</b>		76,56	
<b>CV (%)</b>		8,38	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. \*/ diferem da testemunha pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Para a massa de 1000 sementes, cuja interação entre os fatores herbicidas e época de aplicação também foi significativa (Tabela 6), a aplicação do paraquat no estágio R8 e da mistura no estágio R8/R9 reduziram os valores dessa variável e melhores resultados foram alcançados quando se aplicou a mistura em comparação com o produto isolado no estágio R8, no entanto, no R9 as aplicações não causaram diferenças no peso de 1000 grãos. O paraquat aplicado no R8 e a mistura aplicada no R8/R9 reduziram o acúmulo de massa nas sementes em relação à testemunha sem aplicação de herbicidas, indicando que nesses tratamentos as sementes foram mais leves.

**Tabela 6.** Massa de 1000 sementes de feijão em função da época de dessecação e do Herbicida

Época de dessecação	Herbicida		Média
	Paraquat	Paraquat + Diuron	
	-----g-----		
<b>R8</b>	145,11 cB*	181,25 aA	163,18
<b>R8/R9</b>	192,13 aA	151,22 bB*	171,68
<b>R9</b>	178,93 bA	183,97 aA	181,45
<b>Média</b>	172,05	172,15	
<b>Testemunha</b>		190,26	
<b>CV (%)</b>		3,76	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. \*/ diferem da testemunha pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Houve interação significativa entre herbicidas e épocas de aplicação sobre a produtividade (Tabela 7). A aplicação do paraquat no estágio R8, reduziu a produtividade em comparação às demais épocas. Já para a mistura (paraquat + diuron) a produtividade foi reduzida quando estes foram aplicados no estágio R8/R9 em comparação com o R9. Na comparação entre herbicidas dentro de cada época, só foi encontrada diferença na produtividade quando se aplicou os herbicidas no estágio R8/R9, com melhores resultados para o uso isolado do paraquat. Os tratamentos não diferiram da testemunha em nenhuma das combinações avaliadas, embora se perceba diferença numérica com menores valores para o estágio R8 para os dois dessecantes, no R9 para o paraquat + diuron.

É de se esperar que plantas dessecadas antes da maturação fisiológica (R8) interrompam o crescimento das sementes por cessar o fluxo de fotoassimilados produzidos no aparato fotossintético e armazenados nos tecidos de reservas das sementes, afetando, conseqüentemente, a produtividade. Miguel (2003) e Kappes et al (2012) constataram que a dessecação feita em épocas precoces, 30 dias após o florescimento, diminuíram a produtividade.

**Tabela 7.** Produtividade (kg ha<sup>-1</sup>) de sementes de feijão em função da época de dessecação e do herbicida

Época de dessecação	Herbicida		Média
	Paraquat	Paraquat + Diuron	
	-----kg ha <sup>-1</sup> -----		
<b>R8</b>	2.259,17 bA	2.417,23 abA	2.338,20
<b>R8/R9</b>	3.084,75 aA	2.301,90 bB	2.693,32
<b>R9</b>	2.735,66 abA	2.925,43 aA	2.830,55
<b>Média</b>	2693,19	2548,18	
<b>Testemunha</b>	2715,10		
<b>CV (%)</b>	11,83		

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. \*/ diferem da testemunha pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Com a aplicação dos herbicidas dessecantes foi possível antecipar a colheita das sementes de feijão pelos períodos de 11, 8 e 6 dias em relação à testemunha (Tabela 8). Esta antecipação é favorável no sentido de liberar a área mais cedo para implantação de outra cultura e, principalmente, à redução do tempo de exposição das sementes a

intemperes no campo, preservando sua integridade fisiológica. Ressalta-se que, mesmo com as perdas observadas para aplicação dos dessecantes no estágio R8, esta pode ser vantajosa em caso de condições climáticas desfavoráveis, como ocorrência de chuvas por períodos prolongados que pode resultar em perda parcial ou total do campo de sementes e até mesmo na produção de grãos, devido à vulnerabilidade da cultura.

**Tabela 8.** Número de dias de antecipação da colheita de feijão submetido à dessecação em diferentes estágios fenológicos em relação à testemunha sem herbicidas.

Época de dessecação	Dessecante	Número de dias de antecipação da colheita
R8	Paraquat	11
	Paraquat + diuron	11
R8/R9	Paraquat	8
	Paraquat + diuron	8
R9	Paraquat	6
	Paraquat + diuron	6

### 3.6. Conclusão

A dessecação da cultura do feijão com os herbicidas paraquat aplicado nos estádios R8/R9 e R9 ou com a mistura paraquat + diuron no estágio R9 preservam a qualidade fisiológica das sementes e não afetam a produtividade. Além disso, permitiu antecipar a colheita da cultura 8 e 6 dias, respectivamente. Entretanto, a dessecação no estágio R8 utilizando o herbicida paraquat e nos estádios R8/R9 com a paraquat + diuron resultaram em redução da germinação, vigor das sementes e na produtividade.

### 3.7. Literatura Citada

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Secretaria de Defesa Agropecuária**. Brasília: MAPA/ACS, 395p, 2009.

COELHO, C. M. M.; SOUZA C. A.; ZILIO, M.; MICHELS, A.; The effect of pre-arvest desiccation on the yield and physiological quality of landrace bean seeds. **Ciências Agrárias**, v.3, suplemento 1, p. 2973-2980, 2012.

DALTRO, E. M. F.; ALBUQUERQUE, M. C.F.; FRANÇA NETO, J. B.; GUIMARAES, S. C.; GAZZIERO, D. L. P.; HENNING, A. A. Aplicação de dessecantes em pré-colheita: efeito na qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 1, p. 111-122, 2010.

DOMINGOS, P.; SILVA, A. A.; SILVA R. F.; Qualidade da semente de feijão afetada por dessecantes, em quatro estádios de aplicação. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, n. 2, p. 275-282, 1997.

EKMEKCI, Y; TERZIOGLU, S.; Effects of oxidative stress induced by paraquat on wild and cultivated wheats. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 83, n. 2, p. 69-81, 2005.

GUIMARÃES, V. F.; HOLLMANN, M. J.; FIOREZE, S. L.; ECHER, M. M.; RODRIGUES-COSTA, A. C. P.; ANDREOTTI, M.; Produtividade e qualidade de sementes de soja em função de estágios de dessecação e herbicidas. **Planta Daninha**, v. 30, n. 3, p. 567-573, 2012.

KAPPES, C.; ARF O.; FERREIRA, J. P.; PORTUGAL, J. R.; ALCALDE, A. M.; ARF, M. V.; VILELA, R. G.; Qualidade fisiológica de sementes e crescimento de plântulas de feijoeiro, em função de aplicações de paraquat em pré-colheita. **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, Goiânia, v. 42, n.1, p.9-18, 2012.

KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina. **Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes (ABRATES)**, 1999.

LACERDA A. L. S.; LAZARINI, E.; SÁ, M. E.; WALTER FILHO, V. V.; Aplicação de dessecantes na cultura de soja: antecipação da colheita e produção de sementes. **Planta Daninha**, v. 19, n. 3, p. 381-390, 2001.

LACERDA, A. L. S.; LAZARINI, E.; SÁ, M. E.; VALÉRIO FILHO, W. V. Efeitos da dessecação de plantas de soja no potencial fisiológico e sanitário das sementes. **Bragantia**, v. 64, n. 3, p. 447-457, 2005.

MARCHIORI Jr., O.; INOUE, M. H.; BRACCINI, A. L.; OLIVEIRA Jr., R. S.; AVILA, M. R.; LAWDER, M.; CONSTANTIN, J.; Qualidade e produtividade de sementes de canola (*Brassica napus*) após aplicação de dessecantes e pré-colheita. **Planta Daninha**, v. 20, n. 2, p. 253-261, 2002.

MIGUEL M. H.; **Herbicidas dessecantes: Momento de aplicação, eficiência e influência no rendimento e na qualidade de sementes de feijão**. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 111p, 2003.

NORSWORTHY, J. K.; SMITH, K. L.; GRIFFITH, G.; Evaluation of combinations of paraquat plus photosystem II – inhibiting herbicides for controlling failed stands of maize (*Zea Mays*). **Crop Protection**, v. 30, p. 307-310, 2011.

PINTO, M. A. B.; BASSO, C. J.; KULCZYNSKI, S. M.; BELLÉ, C.; Productivity and physiological quality of seeds with burn down herbicides at the pre harvest of ean crops. **Journal of Seed Science**, v.6, n.4, p. 384-391, 2014.

SANTOS, J. B.; FERREIRA, E A.; FERREIRA, E.M.; SILVA, A. A.; ERREIRA, L. R.; Efeitos da dessecação de plantas de feijão sobre a qualidade de sementes armazenadas. **Planta Daninha**, v. 2, n. 4, p. 645- 651, 2005a.

### 3.8. Anexos

#### Anexo 1. Condições climáticas na aplicação

		1ª Aplicação	2ª Aplicação	3ª Aplicação
Horário		14:00	14:00	15:00
Temperatura (°C)	Instante	18,8	18,5	26,1
	Máxima	19	19	26,3
	Mínima	17,2	17,1	24,7
Umidade	Instante	69	80	47
	Máxima	74	88	55
	Mínima	68	79	46
Ponto de Orvalho (°C)	Instante	13	15	13,9
	Máxima	13,7	16	15,9
	Mínima	12,2	15	13,3
Pressão (hPa)	Instante	949,1	940,8	941,8
	Máxima	949,4	941,4	942,3
	Mínima	949	940,8	941,8
Vento (m/s)	Velocidade	1	1,8	1,4
	Direção	242°	268°	327°
	Raj	4,6	3,9	3,5
Radiação (kJ/m <sup>2</sup> )		1300	911,4	2468
Chuva (mm)		0	0	0

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesse trabalho foram desenvolvidos métodos para extração e quantificação de paraquat em amostras de vagem e grão de feijão. Avaliou-se também a qualidade química e fisiológica das sementes após dessecação pré-colheita com paraquat e a mistura paraquat + diuron em três estádios de dessecação R8, R8/R9 e R9. Os métodos desenvolvidos mostraram ser lineares, seletivos, exatos e precisos. Na análise química encontrou-se altas concentrações de paraquat na vagem em todos tratamentos e no grão somente no estádio R8/R9 para a mistura. Na qualidade fisiológica, esse tratamento resultou em menor germinação, vigor e produtividade. O mesmo ocorreu para o estádio R8. Melhores resultados foram encontrados para os estádios R8/R9 e R9 para o paraquat e R9 para a mistura de herbicidas. A colheita foi antecipada em 11, 8 e 6 dias nos estádios R8, R8/R9 e R9, respectivamente.

Estes resultados mostraram que o estádio de dessecação e o dessecante podem influenciar na qualidade química e fisiológica das sementes de feijão. Sendo que para obter melhor qualidade da semente é indicado fazer a dessecação nos estádios R8/R9 e R9 para o paraquat e R9 para a mistura de herbicidas. A colheita no estádio R8 apesar de resultar em algumas perdas após a dessecação pode ser vantajosa em caso de condições climáticas desfavoráveis por antecipar a colheita em 11 dias. A dessecação não deve ser feita no estádio R8/R9 para a mistura uma vez que foram encontrados resíduos no grão acima do permitido e pela menor germinação, vigor e produtividade das sementes.

Conclui-se também que a vagem e as folhas do feijoeiro protegem o grão da chegada do dessecante no mesmo, com exceção do estádio R8/R9 para a mistura. Deve-se considerar ainda que cuidados devem ser tomados na colheita mecanizada do feijão, independente da época ou do herbicida (paraquat ou da mistura), devido à alta concentração de paraquat encontrada na vagem.