

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade

Dissertação



**Dinâmica ambiental do herbicida 2,4-D e o potencial de contaminação
em plantas de fumo**

Matheus Machado Nogueira

Pelotas, 2017

Matheus Machado Noguera

Dinâmica ambiental do herbicida 2,4-D e potencial de contaminação em plantas de fumo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Fitossanidade (área de conhecimento: Herbologia).

Orientador: Edinalvo Rabaioli Camargo, Ph.D.

Co-Orientador (es): Luis Antonio de Avila, Ph.D.
Dr. Fernando Machado Machado
Dr. Dirceu Agostinetto
Dr. Fabio Clasen Chaves

Pelotas, 2017

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

N778d Nogueira, Matheus Machado

Dinâmica ambiental do herbicida 2,4-D e o potencial de contaminação em plantas de fumo / Matheus Machado Nogueira ; Edinaldo Rabaioli Camargo, orientador. — Pelotas, 2017.

82 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Ácido 2,4-diclorofenoxiacético. 2. Deriva. 3. Meia-vida. 4. *Nicotiana tabacum* L.. 5. Volatilização. I. Camargo, Edinaldo Rabaioli, orient. II. Título.

CDD : 632.95

Agradecimentos

À Deus, pelo dom da vida.

À minha família, em especial aos meus pais Ruben Moacir Noguera Fernández e Rosane Cristina Machado Noguera e minha irmã Ana Adelina Noguera Chattam, por serem meus maiores apoiadores, meu porto seguro e estarem sempre ao meu lado. Nada disso seria possível sem a ajuda de vocês!

À minha namorada Daiane Alves Delgado, pela amizade, carinho e sobretudo compreensão durante os períodos de dificuldade.

Ao meu orientador, Prof. Ph.D. Edinaldo Rabaioli Camargo, e co-orientador, Prof. Ph.D. Luis Antonio de Avila, que antes de considerá-los a nível acadêmico, os tenho como grandes amigos; excelentes pessoas, fundamentais não só para o desenvolvimento deste trabalho, mas também para meu crescimento pessoal e profissional.

Ao Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas (LaCEM/UFPel) e ao Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP/UFSM), os quais represento nas pessoas do Prof. Dr. Fabio Clasen Chaves e Prof. Dr. Renato Zanella, respectivamente, pelo auxílio nas análises cromatográficas necessárias para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos queridos amigos Andrisa Balbinot, Dalvane Rockenbach, Francisco de Assis Pujol Goulart, Lariza Benedetti e Raúl Andrés Córdova Martínez, pessoas sempre presentes que compartilharam angústias e também momentos de alegria, fazendo tudo parecer mais fácil.

À todos que de alguma forma colaboraram para o desenvolvimento deste trabalho e contribuíram com o meu crescimento pessoal.

Meus sinceros agradecimentos!

**“We are what we repeatedly do.
Excellence, then, is not an act, but a habit.”
Will Durant**

Resumo

NOGUERA, Matheus Machado. **Dinâmica ambiental do herbicida 2,4-D e o potencial de contaminação em plantas de fumo.** 2017. 82p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O herbicida 2,4-D foi descoberto na década de 40, e desde então é uma das mais importantes e utilizadas ferramentas para manejo de plantas daninhas. Sua importância vem aumentando devido ao surgimento de espécies resistentes ao glifosato, e recentemente, uma nova tecnologia foi desenvolvida, baseada no lançamento de cultivares tolerantes aos 2,4-D, assim como uma nova formulação do herbicida. Estes fatos geram incertezas quanto ao impacto ao meio ambiente e a cultivos suscetíveis, uma vez que a utilização deste ingrediente ativo provavelmente aumentará. Uma das culturas de grande importância a nível nacional que pode ser afetada pelo 2,4-D é o fumo, tanto por injúrias decorrentes de fitotoxicidade, quanto por contaminação do produto. Ambas as possibilidades são prejudiciais, porém a contaminação tem o agravante de não poder ser determinada visualmente devido à ausência de sintomas. Desta forma, o estudo do comportamento da molécula no ambiente assim como métodos eficazes de monitoramento são necessárias para evitar este problema. Os objetivos deste estudo foram: avaliar a contaminação do fumo em decorrência da aplicação do herbicida em diferentes situações (Capítulo I); determinar a distância mínima requerida entre locais de aplicação e lavouras de fumo para evitar a contaminação (Capítulo II); avaliar plantas olerícolas quanto a capacidade de expressão de sintomas, com o intuito de utilizá-las como plantas sentinelas (Capítulo III); desenvolver coletor passivo para monitoramento da presença do herbicida no ar (Capítulo IV). De acordo com os resultados, conclui-se que a aplicação do 2,4-D nas entre-linhas da cultura, dentre as épocas estudadas, foi a única que causou contaminação acima dos níveis tolerados. A deriva e volatilização do 2,4-D estão relacionadas com as condições ambientais, sendo que pode ser necessário respeitar a distância de até 75 metros entre a faixa de aplicação e lavouras de fumo. O tomateiro, dentre as espécies estudadas, é o que apresenta maior potencial de aplicação como planta sentinela, pela combinação entre alta sensibilidade e facilidade de visualização dos sintomas. Um protótipo de coletor passivo foi proposto, baseado na utilização do sorbente Strata X-A.

Palavras-chave: ácido 2,4-diclorofenoxiacético; deriva; meia-vida; *Nicotiana tabacum* L.; volatilização

Abstract

NOGUERA, Matheus Machado. **2,4-D environmental fate studies as a tool for evaluating the potential for tobacco contamination**. 2017. 82p. Dissertation (Master's Degree) – Plant Protection Graduate Program. Federal University of Pelotas, Pelotas.

The 2,4-D herbicide was discovered during the 40's, and since then, it is one of the most important and used tools for weed management. Its importance is increasing due to glyphosate resistant weeds, and recently a new technology was developed, based on tolerant crops and a new 2,4-D formulation herbicide. These facts causes some uncertainties about the negative impacts over the environment and susceptible crops. Tobacco is a Brazilian's important crop that may be affected by 2,4-D, due to injury and product contamination. Both possibilities are prejudicial, but product contamination has the aggravating that cannot be visually determined. Thus, studies about the environmental fate of this molecule, as well as effective monitoring tools are necessary to prevent problems. The main objectives of this work were: evaluate tobacco contamination as affected by 2,4-D application period (Chapter I); determine buffer safe zones for 2,4-D spraying to avoid contamination (Chapter II); assay vegetable crops sensitivity to 2,4-D sub-lethal doses for use as a sentinel plant (Chapter III); develop a passive sampler for 2,4-D monitoring under field conditions. According to the results, 2,4-D inter-row spraying was the only treatment causing contamination higher than the tolerance level. 2,4-D drift and volatilization are related to environmental conditions, and a 75 meter buffer zone may be required to avoid contamination over the tolerance level. Tomato plants were the most suitable for use as sentinel plant, as they showed easily observed symptoms under very low doses. A prototype for the passive collector based on Strata X-A as a solid sorbent is proposed.

Key-words: 2,4-dichlorophenoxyacetic acid; half-life; *Nicotiana tabacum* L.; spray drift; volatilization

Lista de figuras

- Figura 1 - Disposição das parcelas no campo; cada bloco foi representado por um camalhão e pelo espaço entre-camalhões à sua direita. Arroio do Padre, 2017. 19
- Figura 2 - Separação de fases após a adição dos sais NaCl e MgSO₄, onde a porção superior corresponde à acetoneitrila e a inferior à água destilada. Capão do Leão, 2017. 20
- Figura 3 - Concentração do herbicida 2,4-D no solo em diferentes dias após aplicação; os pontos representam a média da concentração no dia coletado, e as barras verticais representam o desvio padrão da média; tratamento 1: aplicação na entressafra; tratamento 2: aplicação em dessecação; tratamento 3: aplicação em jato dirigido. Capão do Leão, 2017..... 23
- Figura 4 - Variáveis ambientais monitoradas pelo Laboratório de Agrometeorologia, durante o período de condução do ensaio; as setas em vermelho indicam os dias da aplicação dos tratamentos; as setas em verde representam os dias em que foram aplicados os tratamentos. Capão do Leão, 2017. 26
- Figura 5 - Concentração de 2,4-D em amostras de folhas secas de tabaco; no eixo x, T1, T2, T3 e T4 correspondem aos tratamentos, e o número seguinte à coleta (1 = primeira coleta, 2 = segunda coleta). Capão do Leão, 2017. 27
- Figura 6 - Representação da disposição dos grupos de plantas e das bombas de ar ao longo da zona de deriva. Capão do Leão, 2017..... 32
- Figura 7 - Bomba de vácuo SKC utilizada na amostragem ativa do ar. Capão do Leão, 2017. 33

Figura 8 - Concentração de 2,4-D em folhas de tabaco em função da distância da faixa de aplicação, para plantas levadas ao campo antes da aplicação e coletadas após 30 minutos. Capão do Leão, 2017.	34
Figura 9 - Concentração de 2,4-D em folhas de tabaco em função da distância da faixa de aplicação, para plantas levadas ao campo antes da aplicação e coletadas após 24 horas. Capão do Leão, 2017.	35
Figura 10 - Concentração de 2,4-D em folhas de tabaco em função da distância da faixa de aplicação, para plantas levadas ao campo após 30 minutos da aplicação e coletadas após 24 horas. Capão do Leão, 2017.	37
Figura 11 - Exemplos de sintomas característicos de herbicidas auxínicos, observados em plantas de (A) alface, (B) repolho, (C) salsa, (D) tomate, (E) beterraba e (F). Capão do Leão, 2017.	49
Figura 12 - Valores de I25 estimados para as variáveis Massa Seca da Parte Aérea e Fitotoxicidade aos sete dias após aplicação, com as correspondentes porcentagens em relação à dose cheia (1005 g ea.ha ⁻¹). Capão do Leão, 2017.	52
Figura 13 - Amostradores passivos propostos por Harner et al. (2003) e Jaward et al. (2004).	57
Figura 14 - Médias de porcentagem de sorção para os materiais testados; as barras verticais representam os intervalos de confiança a nível de 95% de probabilidade. Capão do Leão, 2017.	64
Figura 15 - Ilustração da dissociação reversível do herbicida 2,4-D; em meios ácidos há maior concentração de prótons (H ⁺) no meio, que desloca a reação para a esquerda, deixando a molécula na forma protonada. Capão do Leão, 2017.	64
Figura 16 - Polímero Strata X-A com a amina quaternária (responsável pela carga positiva do sorbente) destacada em vermelho. Fonte: Phenomenex.	65
Figura 17 - Porcentagem de extração do 2,4-D em função da concentração inicial da solução aquosa; os pontos representam as médias e as barras representam os desvios padrão da média. Capão do Leão, 2017.	68
Figura 18 - Vista lateral do coletor passivo para monitoramento do herbicida 2,4-D; (A) fita contendo o Strata X-A, (B) dispositivo em formato circular, destacável, onde será aderida a fita, (C) proteção contra radiação solar e incidência	

direta de água das chuvas, (D) porção superior da estrutura do coletor passivo; a figura não encontra-se em escala. Capão do Leão, 2017. Fonte: GOMES, 201769

Figura 19 - Vista superior da estrutura do coletor passivo para monitoramento do herbicida 2,4-D; (a) estrutura metálica que será fixada nos locais de monitoramento, (b) proteção contra radiação solar e incidência direta de água das chuvas, mostrado na figura anterior; a figura não encontra-se em escala. Capão do Leão, 2017. Fonte: GOMES, 201770

Figura 20 - Representação do coletor passivo para monitoramento do herbicida 2,4-D instalado à campo; a porção destacada em vermelho corresponde ao dispositivo contendo o sorbente; a figura não encontra-se em escala. Capão do Leão, 2017. Fonte:GOMES, 201770

Lista de tabelas

Tabela 1 - Descrição dos tratamentos com as respectivas datas e condições meteorológicas no momento da aplicação	18
Tabela 2 - Relação das datas de coletas dos diferentes tratamentos com as respectivas porções coletadas	21
Tabela 3 - Parâmetros estimados pelo modelo cinético de primeira ordem para os diferentes tratamentos, com as respectivas meias-vidas calculadas	24
Tabela 4 - Concentração de 2,4-D em cartuchos OVS após 24 horas de amostragem ativa de ar.....	37
Tabela 5 - Valores médios para as variáveis meteorológicas durante e após a aplicação do herbicida 2,4-D, nos dois anos de condução do experimento	38
Tabela 6 - Descrição dos tratamentos utilizados (Fator A: espécies e Fator B: doses de 2,4-D) no experimento I.....	45
Tabela 7 - Relação das espécies e respectivas doses que causaram os primeiros sintomas diagnosticáveis de toxicidade aos sete dias após aplicação, em resposta à aplicação de sub-doses do herbicida 2,4-D.....	46
Tabela 8 - Descrição dos tratamentos utilizados (Fator A: espécie, Fator B: dose) no experimento II.....	47
Tabela 9 - Parâmetros estimados e significância (valor de p) para o teste de falta de ajuste, para as diferentes curvas ajustadas ao modelo log-logístico.....	50
Tabela 10 - Concentração de 2,4-D após extração por diferentes métodos e solventes	66
Tabela 11 - Concentração inicial e final de soluções aquosas de 2,4-D, após 24 horas de agitação com o sorbente Strata X-A.....	67

Sumário

1	Introdução	13
2	Capítulo I – Dissipação do herbicida 2,4-D em função da época de aplicação e seu efeito sobre a contaminação de folhas de tabaco	16
2.1	Introdução	16
2.2	Materiais e métodos	17
2.3	Resultados e discussão.....	22
2.4	Conclusões	29
3	Capítulo II – Contaminação de plantas de tabaco pelo herbicida 2,4-D em função da distância da faixa de aplicação	30
3.1	Introdução	30
3.2	Materiais e métodos	31
3.3	Resultados e discussão.....	33
3.4	Conclusões	41
4	Capítulo III – Seleção de espécies bioindicadoras da ocorrência de deriva do herbicida 2,4-D.....	42
4.1	Introdução	42
4.2	Materiais e métodos	44
4.3	Resultados e discussão.....	48
4.4	Conclusões	53
5	Capítulo IV – Construção de um coletor passivo para monitoramento da ocorrência do herbicida 2,4-D no ar	55

5.1	Introdução.....	55
5.2	Materiais e métodos.....	58
5.3	Resultados e discussão.....	63
5.4	Conclusões.....	70
6	Conclusões gerais.....	72
7	Referências.....	73

1 Introdução

O fumo é uma planta do gênero *Nicotiana*, pertencente à família *Solanaceae*, que é cultivada em mais de 130 países no mundo. Embora este gênero abrigue mais de 60 espécies, *N. tabacum* é a mais cultivada e de maior importância econômica. Virginia, Burley, Comum, Maryland, Oriental, Amarelinho, Tibagi, Dark e Fumo Aromático são alguns dos grupos varietais em que as plantas de fumo podem ser classificadas. São marcantes as diferenças entre estes grupos, principalmente quanto ao manejo da cultura, necessidades edafoclimáticas e características sensoriais. Virginia e Burley são os grupos varietais mais importantes e predominam nas plantações de fumo.

O cultivo do fumo representa uma das principais atividades agrícolas do Brasil. Em 2016, mais de 380 mil hectares foram destinados à fumicultura, produzindo mais de 375 milhões de toneladas (IBGE, 2017), números que colocam o Brasil como o segundo maior produtor de fumo em folha do mundo, atrás apenas da China. A produção brasileira corresponde a aproximadamente 11% do total produzido mundialmente e está concentrada na região sul, principalmente no Rio Grande do Sul onde é produzido 45% do fumo brasileiro (IBGE, 2017). Além disso, o fumo nacional é de elevada qualidade e possui preços competitivos, características que fazem do Brasil o maior exportador mundial (BARRETO; NOVAIS, 2016).

No Brasil, todo o fumo produzido faz parte de um sistema integrado de produção, onde há uma íntima relação entre os produtores e as empresas. Este sistema é regido por contratos anuais entre fumicultores e as indústrias, onde aos produtores cabe produzir os volumes de fumo contratados e seguir as orientações técnicas de manejo recomendadas pelo técnico da empresa, e às indústrias cabe fornecer insumos certificados, assistência técnica gratuita e comprar integralmente a safra contratada por preços negociados com a representação dos produtores (DA

SILVEIRA, 2015). Uma característica das unidades produtoras de fumo é o tamanho das propriedades, em média menores que 15 hectares, e uso de mão de obra familiar. Geralmente a área destinada ao fumo é pequena, mas representa, muitas vezes, a principal fonte de renda da mesma (AREND, 2014).

O produto final – folhas de fumo submetidas ao processo de secagem (cura) natural ou artificial – é classificado de acordo com a Instrução Normativa MAPA número 10, DOU 16.04.2007, republicado em 17.04.2007. Nesta instrução normativa estão descritas as possíveis classificações do produto, como grupo (estufa ou galpão), sub-grupo (folhas manocadas ou soltas), classe (baixeiras, semimeeiras, meeiras ou ponteiras), tipo (primeira, segunda ou terceira), etc. O preço pago pela indústria por ocasião da compra da produção é consequência da classificação que o produto recebe.

Por tratar-se de uma cultura não alimentícia, não foram determinados Limites Máximos de Resíduos e tampouco período de carência para os agrotóxicos registrados para uso em fumo. A presença de agrotóxicos no fumo pode resultar na contaminação dos consumidores e pessoas expostas à fumaça do cigarro (RAHMAN et al., 2012) além de interferir nas características organolépticas do cigarro, que é o principal produto do fumo. Essas possibilidades despertaram a atenção das empresas fumageiras, o que levou o *Cooperation Centre for Scientific Research Relative to Tobacco* (CORESTA) a estabelecer limites de referência para 106 compostos em folhas curadas de fumo (CORESTA, 2016), muitos dos quais não são utilizados na cultura. A presença de contaminantes no fumo é determinada por inúmeros fatores, dentre os quais podemos destacar a dinâmica ambiental dos compostos em questão.

O resultado da interação entre processos de transporte, transferência e transformação a que uma molécula estará sujeita após ser lançada ao meio é o que se chama de dinâmica ambiental (GAVRILESCU, 2005). O transporte ocorre quando não há mudança na identidade do composto, somente sua movimentação ao longo de um compartimento ambiental. A mudança entre compartimentos ambientais é chamada de transferência (por exemplo, água > ar, ou solo > água). Por outro lado, nos processos de transformação a molécula sofre alguma alteração em sua estrutura, causada por agentes bióticos (degradação bacteriana, fúngica, etc.) ou fatores abióticos (fotólise, hidrólise, reações redox, etc.). Por ser influenciada por inúmeros fatores, é difícil precisar como uma molécula irá se comportar no ambiente e quais

impactos poderá causar. Desta forma, cada situação em específico requer que estudos sejam realizados, para que tenha-se visão mais clara do assunto.

Neste sentido, a tecnologia Enlist representa uma grande mudança nos padrões de utilização de herbicidas, pois permitirá o uso de 2,4-D em culturas e momentos do ano que antigamente não eram possíveis. Esta tecnologia engloba a inserção de genes que promovem tolerância ao 2,4-D em cultivares de soja, algodão e milho (WRIGHT et al., 2010), assim como a formulação sal colina do 2,4-D, substituindo o sal dimetilamina antigamente utilizado. Pelo menos em nível acadêmico já é possível notar o impacto deste lançamento: o 2,4-D voltando a ser extensivamente estudado em dissertações e teses (INACIO, 2016; NELSON, 2017). Já na prática, ainda há poucos relatos das consequências desta tecnologia.

Considerando a importância da cultura do fumo para o Brasil, é necessário avaliar os possíveis efeitos do aumento do uso do herbicida 2,4-D sobre esta cultura, assim como desenvolver métodos eficientes de monitoramento. Em vista do exposto, os objetivos deste trabalho foram: avaliar a contaminação do fumo em decorrência da aplicação do herbicida em diferentes situações (Capítulo I); determinar a distância mínima requerida entre locais de aplicação e lavouras de fumo para evitar a contaminação (Capítulo II); avaliar plantas olerícolas quanto a capacidade de expressão de sintomas, com o intuito de utilizá-las como plantas sentinelas (Capítulo III); desenvolver coletor passivo para monitoramento da presença do herbicida no ar (Capítulo IV).

2 Capítulo I – Dissipação do herbicida 2,4-D em função da época de aplicação e seu efeito sobre a contaminação de folhas de fumo

2.1 Introdução

A descoberta do ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) representa um marco histórico na ciência das plantas daninhas, pois foi o primeiro herbicida orgânico, sistêmico e seletivo comercialmente explorado (TROYER, 2001). Suas características toxicológicas, ambientais e agronômicas o fazem um dos herbicidas mais utilizados atualmente, apesar de já terem se passado mais de 70 anos de sua descoberta.

Sobre o comportamento ambiental deste herbicida, podemos dizer que por ser um herbicida aniônico e apresentar boa solubilidade em água, o mesmo pode ser classificado como potencialmente móvel no solo, onde há um certo risco de contaminação das águas por lixiviação ou escoamento superficial (WAUCHOPE et al., 1992). Estas características também afetam sua biodisponibilidade, expondo a molécula aos processos de degradação e absorção, e portanto, reduzindo sua persistência e mobilidade (SENSEMAN, 2007). Além disso, ao ser formulado como sal, os herbicidas à base de 2,4-D tiveram sua volatilidade drasticamente reduzida, atenuando os problemas causados pelas antigas formulações éster (SOSNOSKIE et al., 2015).

Porém, o exato comportamento do herbicida não é possível de ser predito e tampouco generalizado, pois fatores como as propriedades físico-químicas da molécula, as características do solo, os sistemas de manejo e as condições edafoclimáticas podem influenciá-lo (VOOS; GROFFMAN, 1997; CHAPLAIN et al., 2011). Conseqüentemente, mesmo herbicidas como o 2,4-D podem causar danos ao meio ambiente e às culturas. Por exemplo, Shamsavari et al. (2012) encontrou

concentrações de 2,4-D de até 15ppm em amostras de água subterrânea, e Gilreath et al. (2006) constatou que o 2,4-D aplicado com 74 dias de antecedência ao transplante de mudas de tomateiro foi capaz de causar uma redução de 9% na produtividade. Em soja, a aplicação de 2,4-D uma semana antes da semeadura não reduziu a produtividade da cultura, mas causou danos visíveis de fitotoxicidade (THOMPSON et al., 2007). A presença de resíduos no solo também pode resultar na contaminação de alimentos de acordo com Donnarumma et al. (2009) e Luo et al. (2011), que verificaram contaminação pelo inseticida dieldrin e por metais pesados, respectivamente, porém este fenômeno todavia não foi relatado para o 2,4-D.

Uma cultura de grande importância que pode ser afetada pela presença de resíduos de 2,4-D no solo é o fumo. Embora este herbicida não seja registrado para aplicações na cultura do fumo, o 2,4-D pode vir a ser aplicado em outras culturas plantadas em rotação na mesma área. Além disso, a baixa diversidade de herbicidas registrados para uso no fumo pode fazer com que agricultores o utilizem mesmo sem registro. Neste caso, a aplicação é feita em jato dirigido entre os camalhões (principalmente após a colheita das folhas baixas, quando a maior incidência de radiação solar estimula a germinação e crescimento de plantas daninhas) ou em dessecação (nas lavouras onde se utiliza o sistema de plantio direto). O impacto destas aplicações na contaminação do fumo colhido é desconhecido. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a dissipação do herbicida 2,4-D aplicado em diferentes épocas em uma lavoura de fumo, e o seu impacto na contaminação do produto colhido.

2.2 Materiais e métodos

Para a realização deste estudo, foi realizado experimento a campo em uma propriedade produtora de fumo, no interior do município de Arroio do Padre – RS (31°29'29.4"S 52°22'00.3"W), durante os meses de agosto de 2016 a março de 2017. O delineamento utilizado foi o de blocos ao acaso, com cinco repetições e quatro tratamentos. Cada tratamento foi representado por uma época de aplicação do herbicida 2,4-D: aplicação na entressafra, simulando aplicação na cultura antecessora; aplicação na dessecação pré-transplante das mudas de fumo; aplicação em jato dirigido, após a colheita das folhas baixas; e testemunha sem aplicação. As

datas e condições ambientais no momento da aplicação estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1 - Descrição dos tratamentos com as respectivas datas e condições meteorológicas no momento da aplicação

Tratamento	Dados da aplicação			
	Data	UR (%)	Vento (km.h ⁻¹)	Temperatura (°C)
Entressafra	10/ago	85	0,9	9,8
Dessecação pré-transplante	15/set	79	1,3	13,4
Jato dirigido	07/fev	72	1,5	22,5
Testemunha sem aplicação	-	-	-	-

As datas foram definidas de acordo com o objetivo do ensaio e de modo que se encaixassem na rotina de trabalho do produtor. Dessa forma, como a área onde o ensaio foi instalado encontrava-se em pousio, a aplicação na entressafra foi realizada no início do desenvolvimento da cultura de cobertura.

Uma amostra de solo foi retirada do local do experimento para análise química e física, que de acordo com laudo emitido pelo Laboratório de Análise de Solos da UFPel apresentava as seguintes características: areia = 56,4%; silte = 26,6%; argila = 17%; textura = 2; pH água (1:1) = 5,5; CTC pH7 = 9,4cmolc.dm⁻³; matéria orgânica = 1,79%; Ca = 4,6cmolc.dm⁻³; Mg = 1,4cmolc.dm⁻³; Al trocável = 0,2cmolc.dm⁻³; P-Mehlich = 39,5mg.dm⁻³; K trocável = 86mg.dm⁻³;

Cada bloco foi representado por um camalhão e a entre-linha situada à direita do mesmo, e entre os blocos foi deixado um camalhão como bordadura com o intuito de reduzir o risco de contaminação por deriva das aplicações. As parcelas mediram 5m de comprimento por 1,5m de largura. A figura 1 ilustra a disposição das parcelas no campo.

A aplicação dos tratamentos foi realizada com o auxílio de um equipamento costal pressurizado a CO₂ e equipado com pontas do tipo leque (Teejet XR 110.015) espaçadas entre si a 50cm, calibrado para depositar 150L.ha⁻¹. A dose utilizada do herbicida foi de 1005 g e.a.ha⁻¹ (correspondente a 1,5 L.ha⁻¹ de DMA 806 BR), e à todas as caldas foi adicionado óleo mineral na dose de 0,5% v.v⁻¹.



Figura 1 - Disposição das parcelas no campo; cada bloco foi representado por um camalhão e pelo espaço entre-camalhões à sua direita. Arroio do Padre, 2017.

As condições ambientais foram monitoradas através do Laboratório de Agrometeorologia (LA), situado na Estação Terras Baixas da Embrapa Clima Temperado, no município de Capão do Leão. Embora o ideal seria ter uma estação instalada *in situ*, os dados do LA podem servir como indicativos de períodos de seca/chuva e épocas de altas e baixas temperaturas do ar. O LA está situado a aproximadamente 34,3 km em linha reta do local do ensaio, na latitude 31° 52' 00" S e longitude 52° 21' 24" W.

As variáveis analisadas foram concentração de 2,4-D no solo e em folhas secas de fumo. Para quantificação do herbicida no solo, amostrou-se o mesmo aos 0, 1, 3, 7, 14, 21, 28, 35, 60 e 120 dias após aplicação (DAA) de cada tratamento. O dia “zero” correspondeu à coleta realizada previamente à aplicação. As amostras foram coletadas dos camalhões na profundidade de 0-15 cm com auxílio de uma pá, acondicionadas individualmente em sacos plásticos e armazenadas em freezer até seu processamento.

Para ser quantificado, o herbicida precisa ser extraído da amostra de solo. A etapa de extração foi realizada no Laboratório de Dinâmica Ambiental de Herbicidas, pertencente ao Centro de Herbologia, da Universidade Federal de Pelotas. Para isso, as amostras foram descongeladas, homogeneizadas e uma alíquota foi seca em estufa com circulação forçada de ar, a 35°C. O restante de cada amostra permaneceu

armazenado em freezer, como backup. As amostras secas foram destorroadas e novamente armazenadas em sacos plásticos, mantidas à temperatura ambiente. O processo de extração foi adaptado de Anastassiades et al. (2003) e consistiu das seguintes etapas: (a) pesagem da alíquota de solo (2,0g) em um tubo Falcon de 50mL de capacidade; (b) adição de 10mL de água destilada + 10mL de acetonitrila grau HPLC (marca Synth); (c) agitação em mesa oscilatória durante cinco minutos, a 240rpm; (d) centrifugação a 13000rpm durante dez minutos; (e) transferência do sobrenadante para um novo tubo Falcon; (f) adição de 2,5g NaCl e 4,0g MgSO₄, para separação das fases (figura 2); (g) agitação manual do extrato; e, (h) transferência de uma alíquota da fase orgânica (parte superior) para vial HPLC de vidro previamente identificado. Os vials foram mantidos em geladeira até envio para análise.



Figura 2 - Separação de fases após a adição dos sais NaCl e MgSO₄, onde a porção superior corresponde à acetonitrila e a inferior à água destilada. Capão do Leão, 2017.

A amostragem das folhas de fumo foi realizada em duas épocas (22 de dezembro de 2016 e 22 de fevereiro de 2017), de forma que coincidisse com as colheitas realizadas pelo produtor. Na primeira ocasião, somente folhas da porção inferior foram coletadas. Na segunda amostragem, coletou-se e armazenou-se separadamente folhas em duas porções das plantas: mediana e superior (tabela 2).

Tabela 2- Relação das datas de coletas dos diferentes tratamentos com as respectivas porções coletadas

Tratamento	22/dez		22/fev	
	Coletado	Porção	Coletado	Porção
Entressafra	x	Inferior	x	Mediana/Superior
Dessecação pré-transplante	x	Inferior	x	Mediana/Superior
Jato dirigido	-	-	x	Mediana/Superior
Testemunha sem aplicação	x	Inferior	x	Mediana/Superior

Cada amostra foi composta por três a quatro folhas oriundas de diferentes plantas da parcela. As amostras foram colocadas em sacos de papel e secas em estufa com circulação forçada de ar a 35°C. Após a secagem, cada amostra foi fragmentada e homogeneizada. A etapa de extração foi realizada pela empresa Eurofins (Hamburgo, Alemanha), responsável pelas análises. Uma porção do material vegetal foi enviado para análise, e outra foi mantida como backup.

A quantificação do herbicida nas folhas de fumo e nos extratos provenientes de solo foi realizada pela empresa Eurofins (Hamburgo, Alemanha), com auxílio de um equipamento HPLC (Agilent 1260, Santa Clara, CA) acoplado a espectrômetro de massa em tandem (Sciex API 5500, Concord, ON). O HPLC foi equipado com coluna analítica Phenomenex Luna C18 (5µm, 150mm × 2mm), precedida de pré-coluna Phenomenex C18 (4 x 2mm). O fluxo da fase móvel foi de 0,4mL min⁻¹, e a mesma foi constituída de água (A) e metanol (M), acidificados com ácido fórmico a 0,05%. Foi utilizado um gradiente de eluição variando de 10% a 90% de M, com aumento da concentração de M ocorrendo linearmente em três minutos. A composição foi mantida em 90% de M por mais nove minutos antes do retorno às condições iniciais, quando a coluna foi reequilibrada por dois minutos com a fase móvel em sua composição inicial. O volume de injeção foi de 20µL, onde 2µL correspondiam à amostra e 18µL à água mais 0,5% de ácido fórmico. O tempo de retenção para o 2,4-D foi de 8,82 ± 0,1min. As amostras foram analisadas no modo de ionização negativo utilizando duas transições de massa: 219 -> 161amu e 221-> 163amu. As soluções estoque para preparo da curva de calibração foram feitas em acetonitrila nas concentrações de 0,5; 1; 2,5; 5; 10; 25 e 50ng.mL⁻¹ de 2,4-D, e apresentou R² maior que 0,999. Os limites de quantificação (LOQ) e detecção (LOD) foram de 0,02mg.kg⁻¹ e 0,01mg.kg⁻¹ para amostras de fumo, e de 0,005mg.kg⁻¹ e 0,002mg.kg⁻¹ para amostras de solo,

respectivamente. Soluções estoque foram incluídas a cada conjunto de amostras analisadas.

Os dados provenientes dos extratos do solo e ajustados ao modelo de regressão não linear do tipo exponencial, utilizando-se o software R (R CORE TEAM, 2017) e o pacote *mkln* (versão 0.9.46.2), conforme equação abaixo:

$$C = C_0 \cdot e^{-kt}$$

Onde: C corresponde a concentração do herbicida no tempo t , C_0 corresponde à concentração inicial do herbicida e k à taxa de dissipação.

Os dados, então, foram analisados visualmente quanto à homocedasticidade e normalidade de distribuição dos resíduos. O ajuste dos dados ao modelo foi avaliado visualmente e pela significância estatística do modelo e de seus parâmetros estimados, a nível de 95% de probabilidade. Este modelo, conhecido como modelo cinético de primeira ordem, é amplamente utilizado para descrever a dissipação de agrotóxicos no ambiente, por ser simples e seus parâmetros serem de fácil interpretação (FOCUS, 2014). Além disso, a estimativa de k permite o cálculo da meia-vida (TD_{50}) da molécula, que pode ser definida como o tempo necessário para que sua concentração seja reduzida pela metade, e é calculada de acordo com a seguinte fórmula:

$$TD_{50} = \frac{\ln 2}{k}$$

Já para os dados de concentração de 2,4-D nas folhas de fumo, foram calculados os intervalos de confiança das médias a nível de 95% de probabilidade, e a comparação entre os tratamentos foi baseada na sobreposição dos mesmos.

2.3 Resultados e discussão

O resultado das análises de extratos de solo com aplicação de 2,4-D em diferentes épocas encontra-se ilustrado na figura 3. A redução da concentração do herbicida ao longo do período de amostragem, nos três tratamentos aplicados, evidencia que houve dissipação do 2,4-D. Porém podemos notar que a redução na

concentração do herbicida dá-se de forma abrupta nos tratamentos 1 e 3, e que no tratamento 2 a dissipação ocorreu lentamente, o que deverá ser comprovado posteriormente pelos valores de meia-vida calculados.

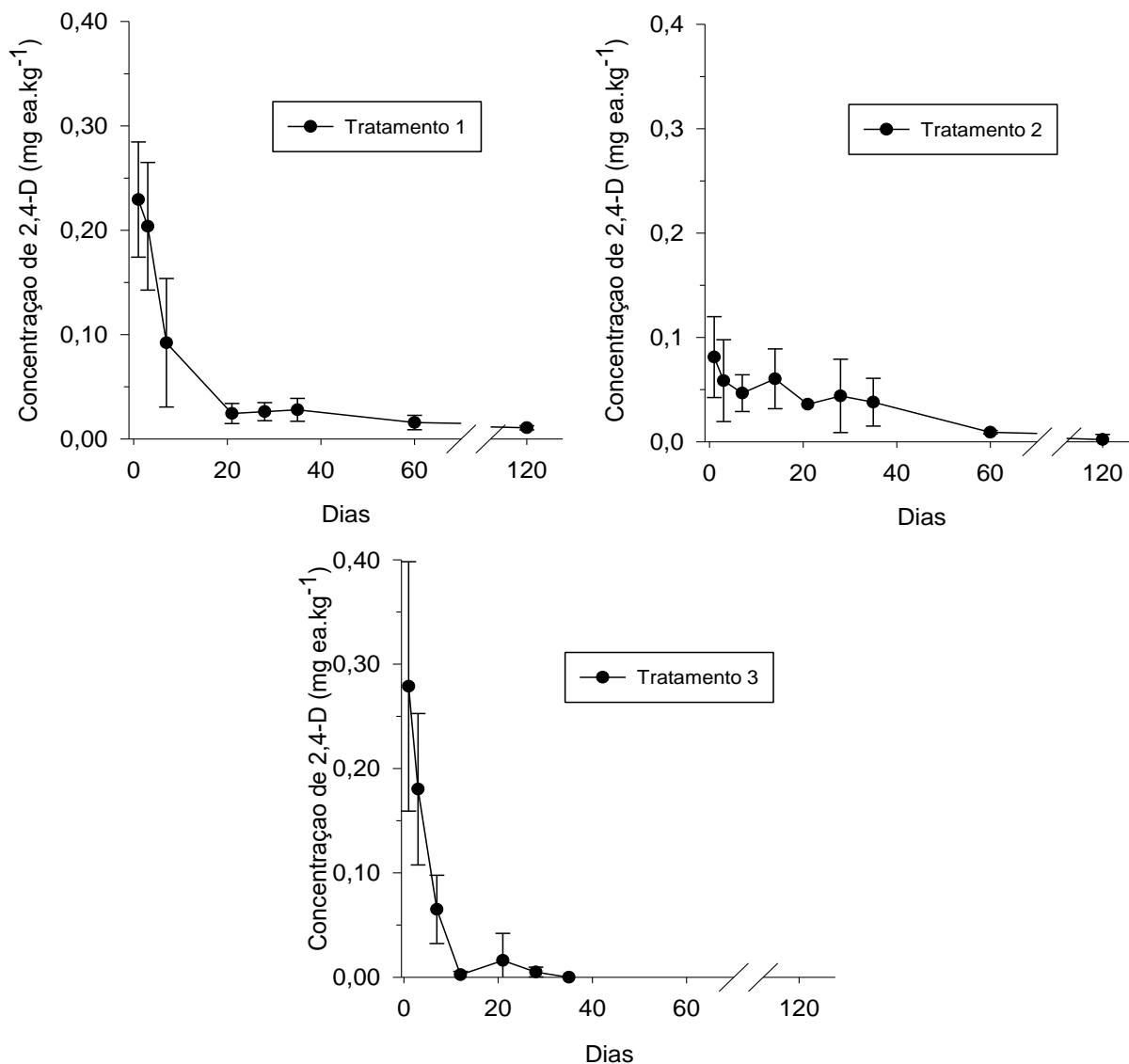


Figura 3 - Concentração do herbicida 2,4-D no solo em diferentes dias após aplicação; os pontos representam a média da concentração no dia coletado, e as barras verticais representam o desvio padrão da média; tratamento 1: aplicação na entressafra; tratamento 2: aplicação em dessecação; tratamento 3: aplicação em jato dirigido. Capão do Leão, 2017.

O plantio das mudas de fumo ocorreu no dia 10 de outubro de 2016, decorridos 58 e 25DAA dos tratamentos 1 e 2, respectivamente. Ainda que houvessem resíduos de 2,4-D no solo por ocasião do plantio, conforme ilustrado na figura 3, nenhum sintoma de fitotoxicidade nas mudas foi observado.

Também nota-se que houve diferença na concentração inicial entre os tratamentos, e que os valores encontrados foram menores do que o esperado. A concentração inicial esperada pode ser calculada da seguinte forma:

- a) Inicialmente calcula-se a quantidade de solo existente por unidade de área, considerando o perfil do solo amostrado e sua densidade aproximada:

$$100m \times 100m \times 0,15m = 1500m \text{ solo}^3 \cdot ha^{-1}$$



$$1500m \text{ solo}^3 \cdot ha^{-1} \times 1,1T \text{ solo} \cdot m \text{ solo}^{-3} = 1650T \text{ solo} \cdot ha^{-1}$$

- b) Depois, basta dividir a dose do herbicida pela quantidade de solo calculada anteriormente:

$$\frac{1005 \text{ g ea 2,4D} \cdot ha^{-1}}{1650 T \text{ solo} \cdot ha^{-1}} = \frac{1\ 005\ 000 \text{ mg ea 2,4D} \cdot ha^{-1}}{1\ 650\ 000 \text{ kg solo} \cdot ha^{-1}} = 0,61 \text{ mg 2,4D} \cdot kg \text{ solo}^{-1}$$

A maior média de concentração inicial do experimento foi observada no tratamento com aplicação em jato dirigido, de $0,27 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, bem abaixo do esperado. O provável motivo para essa divergência de valores foi a presença de cobertura vegetal nas parcelas, que interceptou o herbicida e reduziu sua chegada ao solo. Para reforçar esta hipótese podemos observar que a média do tratamento 2 foi a menor dentre as demais, resultado da densa cobertura do solo pela espécie de inverno no momento da aplicação. Nas outras duas oportunidades também havia cobertura sobre o solo, porém em menor densidade, propiciando maior chegada do herbicida ao solo e resultando em maiores médias.

Para os dados provenientes da análise dos extratos do solo, houve ajuste aceitável ao modelo proposto. Os parâmetros estimados e os valores de meia-vida calculados encontram-se descritos na tabela 3.

Tabela 3- Parâmetros estimados pelo modelo cinético de primeira ordem para os diferentes tratamentos, com as respectivas meias-vidas calculadas

Tratamento		C ₀	k	T ₅₀ (dias)
Nº	Descrição			
1	Entressafra	0,2621	0,1156	6,0
2	Dessecação	0,0727	0,0229	30,3
3	Jato dirigido	0,3561	0,2357	2,9

Os resultados obtidos no presente experimento indicam que a TD_{50} do herbicida 2,4-D variou entre 2,9 a 30,3 dias, e são corroborados pelo trabalho de Wilson, Geronimo e Armbruster (1997), que reuniram os resultados de 30 ensaios realizados a campo envolvendo dissipação de 2,4-D. A TD_{50} máxima e mínima encontradas pelos autores foram 29,1 e 2,3 dias, respectivamente, sendo que a maior frequência foi observada na faixa de 5 a 8 dias. Outros valores de TD_{50} já reportados incluem 4,9 dias (CRESPÍN et al., 2001), 3,4 dias (DÍEZ; BARRADO, 2010), 0,8 e 2,8 dias (LIU et al., 2012).

A hipótese de que a degradação microbiana é o principal mecanismo de dissipação do herbicida 2,4-D no solo é amplamente aceita há anos (SANDMANN; LOOS; VAN DYK, 1988). Já foi comprovado, inclusive, que a aplicação deste herbicida pode beneficiar temporária e seletivamente microorganismos capazes de utilizá-lo como fonte de carbono e energia (MACUR et al., 2007). Em vista disso, os principais fatores relacionados à dissipação do 2,4-D serão aqueles que afetem tanto a atividade microbiana quanto a biodisponibilidade do herbicida, como por exemplo o teor de água do solo, sua textura e teor de matéria orgânica e a temperatura ambiente.

Johnson, Terry e Gbur (1995) estudaram a influência da umidade e temperatura de incubação na degradação microbiana do 2,4-D, e concluíram que a diminuição da temperatura (de 30°C para 15°C) e do potencial mátrico (de 0kPa para -100kPa) aumentou a TD_{50} calculada em 4 e 1,7 vezes, respectivamente. Já Han e New (1994) constataram completa inibição da degradação quando o potencial mátrico foi fixado em -22000kPa. O baixo conteúdo de água no solo pode impactar diretamente a atividade microbiana e reduzir o número de microorganismos no solo. Além disso, o impacto pode ser considerado indireto quando se dá através do aumento da sorção e formação de resíduos não extraíveis, tanto do herbicida como de nutrientes necessários pelos microorganismos (BOUSEBA et al., 2009).

Além disso, pode-se atribuir certa importância ao processo de lixiviação e escoamento superficial na dissipação do herbicida neste ensaio por dois motivos: o solo continha quase 60% de areia e esta fração do solo contribui pouco para a sorção do herbicida (BEKBÖLET; YENIGÜN; YÜCEL, 1999), e as amostras de solo foram coletadas do camalhão, onde há maior fluxo de água pois o mesmo encontra-se acima do nível do solo.

Diante do exposto, é possível atribuir a maior persistência do herbicida 2,4-D nas duas primeiras épocas de aplicação às condições climáticas durante o período de amostragem destes tratamentos. Ao observarmos a figura 4, nota-se que a temperatura média diária no início do experimento variou de 10 a 16°C, enquanto que após a aplicação do tratamento 3, as médias variaram entre 25 e 30°C. Além disso, após a aplicação do tratamento 2, houve um período de 19 dias sem eventos de chuva, e passados 31 dias da aplicação, o acumulado foi de somente 6,5mm.

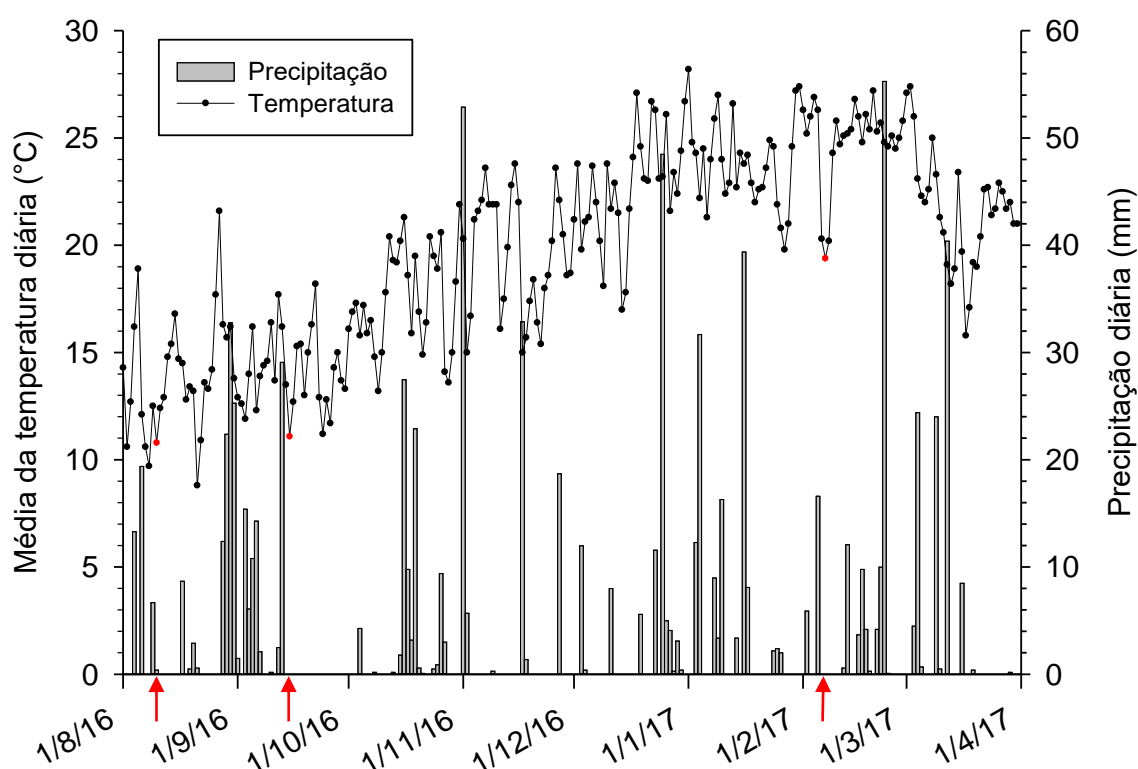


Figura 4 - Variáveis ambientais monitoradas pelo Laboratório de Agrometeorologia, durante o período de condução do ensaio; as setas em vermelho indicam os dias da aplicação dos tratamentos; as setas em vermelho representam os dias em que foram aplicados os tratamentos. Capão do Leão, 2017.

Uma vez que as demais variáveis que poderiam influenciar na dinâmica do herbicida permaneceram inalteradas (por exemplo, características do solo, dose e formulação do herbicida), podemos considerar como principal fonte de variação as condições climáticas apresentadas.

Interessantemente, mesmo 120 DAA dos tratamentos 1 e 2, ainda havia no solo quantidades detectáveis (mas não quantificáveis, em alguns casos) do herbicida, apesar da baixa TD_{50} estimada. Este fenômeno que já foi relatado algumas vezes na literatura, quando resíduos de 2,4-D foram encontrados no solo passados 120 dias

(DÍEZ; BARRADO, 2010) e 12 meses (BAUMGARTNER et al., 2017) da aplicação. Os autores sugerem que isso possa ocorrer devido a um efeito de concentração, onde haveria diminuição da degradação à medida que a concentração diminui.

Os dados de concentração de 2,4-D nas folhas de fumo encontram-se ilustrados na figura 5. Na primeira coleta realizada, todas as amostras apresentaram quantidades semelhantes do herbicida, abaixo de $0,1\text{mg.kg}^{-1}$. Os tratamentos 1 e 2 foram aplicados quando ainda não haviam plantas de fumo na área. Desta forma, a contaminação pode ter ocorrido de duas formas: absorção radicular de resíduos presentes no solo ou deposição do herbicida presente no ar, proveniente de aplicações realizadas nas redondezas. A contaminação por deposição não pode ser descartada pois culturas como soja e milho também são exploradas na região, e nestas, o 2,4-D é frequentemente utilizado. Independentemente da origem do 2,4-D nestas amostras, a concentração do herbicida está abaixo de $0,2\text{ppm}$, limite recomendado por Coresta (2016) e que está representado na figura 5 pela linha em vermelho.

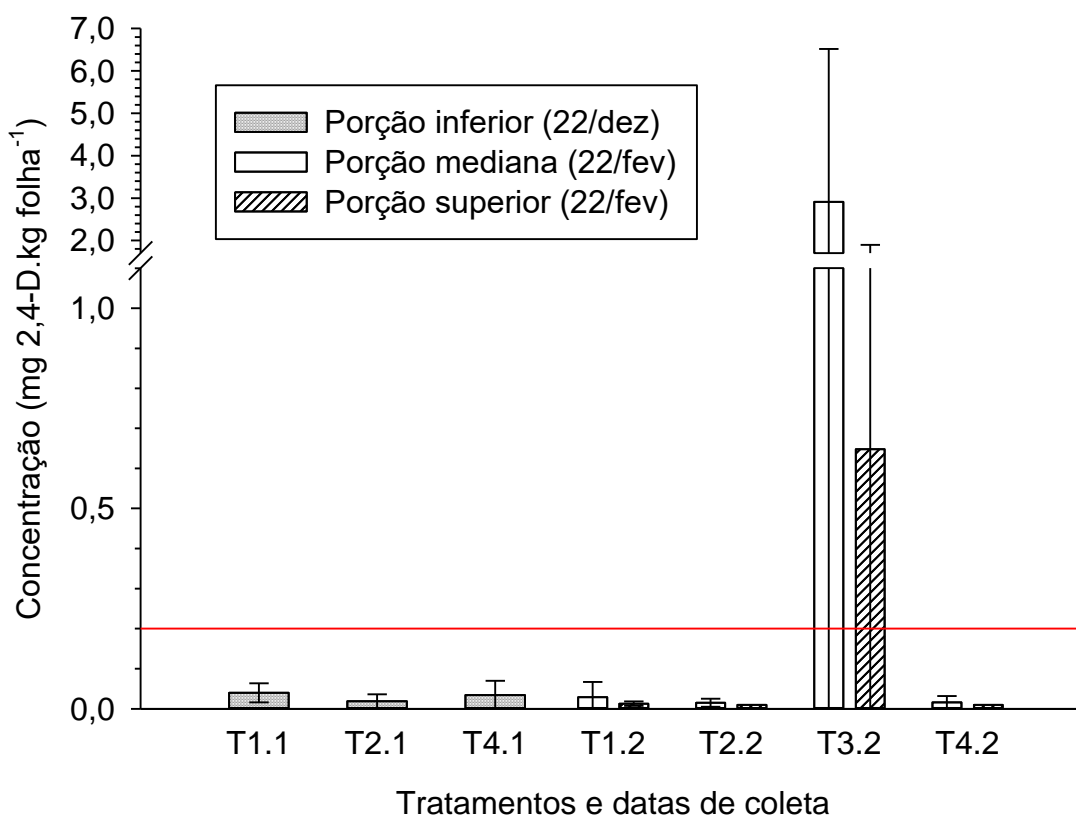


Figura 5 - Concentração de 2,4-D em amostras de folhas secas de fumo; no eixo x, T1, T2, T3 e T4 correspondem aos tratamentos, e o número seguinte à coleta (1 = primeira coleta, 2 = segunda coleta). Capão do Leão, 2017.

Em amostras da segunda coleta foram identificadas as maiores concentrações do ensaio, referentes ao tratamento três, com aplicação em jato dirigido. Neste tratamento, as folhas contaminadas em maior grau foram retiradas da porção mediana das plantas, mais próximas do solo. Portanto é provável que a contaminação tenha sido ocasionada pela deriva e volatilização do herbicida aplicado. Em ambas amostras deste tratamento, os intervalos de confiança da média incluem o valor zero. Desta forma, o tratamento não teria relevância estatística. No entanto, do ponto de vista prático, seria temerário afirmar que o efeito da aplicação do herbicida em jato dirigido não é significativo, pois poderia incentivar o leitor à esta prática. Os grandes IC calculados podem ser resultado da variabilidade na arquitetura das plantas no momento da aplicação, o que causou diferença na interceptação do herbicida. Aparentemente a amostragem de várias folhas na parcela não foi capaz de diminuir esta variabilidade.

Nos demais tratamentos da segunda coleta, quantidades menores que $0,1\text{mg.kg}^{-1}$ (e por vezes não quantificáveis) foram encontradas. Provavelmente a fonte de contaminação neste caso tenha sido a própria aplicação do tratamento 3, mas novamente, as hipóteses de absorção radicular e deposição do herbicida proveniente de outras áreas não pode ser desconsiderada.

Por fim, deve-se salientar que o processo de secagem ao qual as amostras de fumo foram submetidas pode ter afetado a concentração do herbicida nas mesmas. Conforme demonstrado por vários autores (KAUSHIK; SATYA; NAIK, 2009; BAJWA; SANDHU, 2014; CHAUHAN; KUMARI; RANA, 2014), a concentração dos contaminantes pode ser reduzida ou aumentada, de acordo com as interações da molécula com a matriz. Se a molécula é carregada juntamente com a água, haverá diminuição na concentração; por outro lado, não havendo degradação do analito e o mesmo não sendo transportado com o fluxo de água, haverá aumento na concentração. No caso específico do fumo com resíduos de 2,4-D, se faz necessário elucidar as consequências do processo de secagem na concentração final.

2.4 Conclusões

Os valores de meia-vida encontrados para o herbicida 2,4-D, estão de acordo com a literatura e as diferenças observadas entre os tratamentos devem-se principalmente às condições climáticas.

A aplicação do herbicida 2,4-D em jato dirigido resultou em concentrações acima do limite recomendado pelo Coresta e deve ser desencorajada.

São necessários estudos visando elucidar o efeito do processo de secagem na diluição ou concentração do herbicida 2,4-D em folhas de fumo contaminadas.

3 Capítulo II – Contaminação de plantas de fumo pelo herbicida 2,4-D em função da distância da faixa de aplicação

3.1 Introdução

O cultivo do fumo (*Nicotiana tabacum* L.) representa uma das principais atividades agrícolas do Brasil. No ano de 2016, mais de 380 mil hectares foram ao destinados à fumicultura, produzindo mais de 375 milhões de toneladas (IBGE, 2017), números que colocam o Brasil como o segundo maior produtor de fumo em folha do mundo. Além disso, o fumo nacional é de elevada qualidade e possui preços competitivos, características que fazem do Brasil o maior exportador mundial (BARRETO; NOVAIS, 2016). A produção nacional está concentrada na região sul e principalmente no estado do Rio Grande do Sul, onde é produzido cerca de 45% do fumo brasileiro (IBGE, 2017). O fumo nacional é produzido principalmente em pequenas propriedades (menores que 15 hectares) e envolve mão de obra familiar. Nestas propriedades, a área destinada ao fumo é pequena, mas representa, muitas vezes, a principal fonte de renda da mesma (AREND, 2014).

Por se tratar de uma cultura não alimentícia, não foram determinados Limites Máximos de Resíduos e tampouco período de carência para os agrotóxicos registrados para uso em fumo. A presença de agrotóxicos no fumo pode resultar na contaminação dos consumidores e pessoas expostas à fumaça do cigarro (RAHMAN et al., 2012) além de interferir nas características organolépticas do cigarro, que é o principal produto do fumo. Essas possibilidades despertaram a atenção das empresas fumageiras, o que levou o *Cooperation Centre for Scientific Research Relative to Tobacco* (CORESTA) a estabelecer limites de referência para 106 compostos em folhas curadas de fumo (CORESTA, 2016), muitos dos quais não são utilizados na

cultura mas podem ser transportados de outros locais através de deriva e volatilização das aplicações.

Recentemente foi aprovada no Brasil a tecnologia Enlist, cujos efeitos esperados incluem o aumento da quantidade de 2,4-D utilizado e a extensão da janela de aplicação, pois será possível aplicar o ingrediente ativo em culturas tolerantes. O impacto destas mudanças sobre a contaminação do fumo pelo herbicida é desconhecido. Desta forma, o objetivo do trabalho foi determinar a distância requerida entre locais de produção de fumo e aplicações do herbicida 2,4-D.

3.2 Materiais e métodos

Para realização deste estudo um ensaio a campo foi conduzido na cidade de Santa Cruz do Sul, nas dependências da empresa Japan Tobacco International. O ensaio foi conduzido nos dias 22 e 23 de fevereiro de 2015 e replicado nos dias 23 e 24 de fevereiro de 2016, e consistiu de uma pulverização tratorizada do herbicida 2,4-D na direção perpendicular à direção do vento, com plantas de fumo dispostas em diferentes pontos na zona de deriva, além de amostragem ativa do ar.

Para a aplicação, utilizou-se pulverizador acoplado ao trator com dez metros de largura de barra e equipado com bicos jato plano (Teejet XR110.02), espaçados entre si a 0,5m. A altura da barra foi mantida em torno de 1,3m do solo, de modo que a distância entre a barra e o topo das plantas de fumo fosse de 50cm. O equipamento foi calibrado para depositar $150\text{L}\cdot\text{ha}^{-1}$ de calda, utilizando-se velocidade de deslocamento de $4,1\text{km}\cdot\text{h}^{-1}$ e pressão de trabalho de 1,5bar. O produto utilizado foi o DMA[®] 806 BR, aplicado na dose de $1,5\text{L}\cdot\text{ha}^{-1}$ ($1005\text{g}\cdot\text{ha}^{-1}$ de 2,4-D) + óleo mineral Assist[®] na concentração de 0,5% v/v.

A área do ensaio apresentava dimensões de 50m x 500m e foi disposta no campo de forma que o seu comprimento coincidiu com a direção predominante do vento. Em seguida demarcou-se a faixa de aplicação, e a partir dela, os pontos de amostragem ao longo da zona de deriva: -50; 0; 12,5; 25; 50; 75; 100; 150; 200; 300 e 400 metros da faixa.

As plantas de fumo utilizadas no ensaio foram cultivadas individualmente em vasos plásticos de 40L de capacidade, preenchidos com substrato comercial. As plantas foram divididas em três grupos de 33 plantas, e a diferença entre eles foi o

seu período de permanência no local do ensaio: o grupo A foi levado ao campo antes da aplicação e amostrado após 30 minutos; o grupo B também foi levado antes da aplicação, mas amostrado somente após 24 horas; e o grupo C foi levado 30 minutos após aplicação e amostrado 24 horas depois (figura 6). Cada planta deu origem à uma amostra composta por três folhas que foram coletadas contemplando o terço apical, mediano e basal das plantas e dispostas em sacos de papel para secagem em estufa.

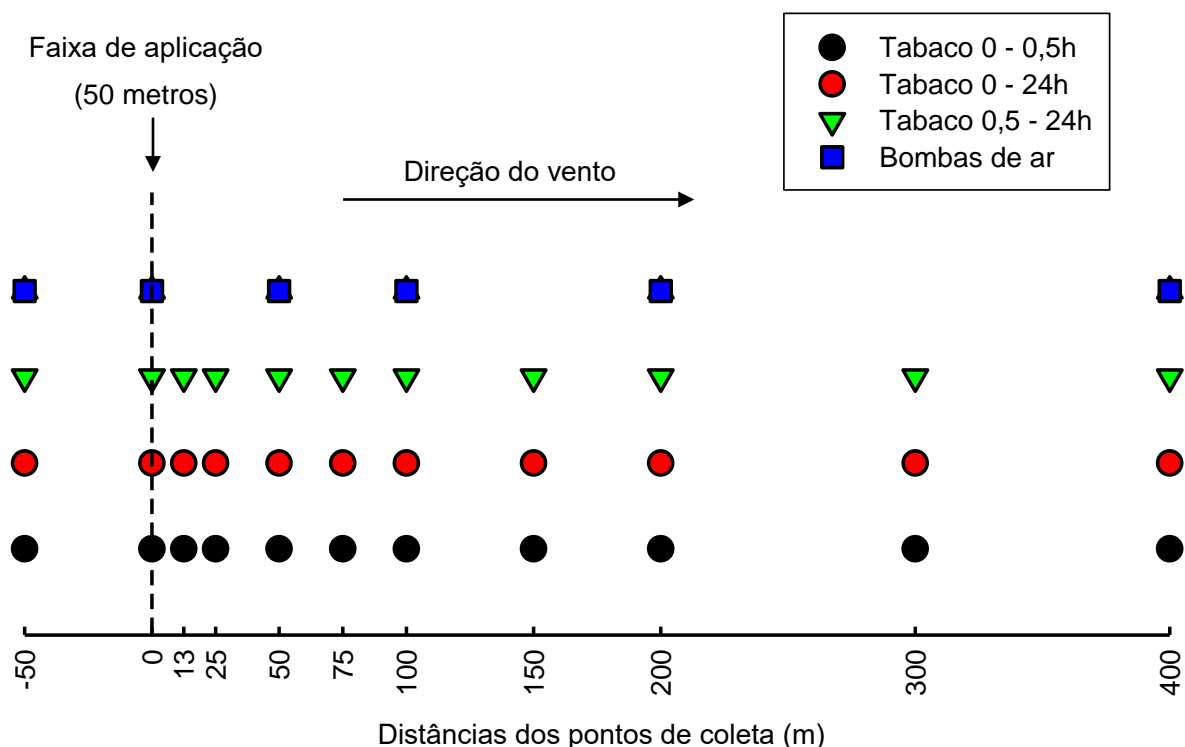


Figura 6 - Representação da disposição dos grupos de plantas e das bombas de ar ao longo da zona de deriva. Capão do Leão, 2017.

A amostragem ativa do ar foi realizada através de cartuchos (SKC, modelo XAD-2 OVS) acoplados à bombas de ar (SKC, modelo PCXR8) reguladas para vazão de $2,25\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ (figura 7). A regulação das bombas foi realizada com o auxílio de um calibrador de vazão (MesaLabs, modelo Defender 510). As bombas foram ligadas 15 minutos após aplicação, permanecendo ativas durante 24 horas nos espaçamentos de -50, 0, 50, 100, 200 e 400 metros da faixa de aplicação. Cada bomba suporta um cartucho, e o mesmo representou uma amostra. Nas 24 horas anteriores à execução do ensaio, três bombas foram utilizadas visando determinar possível contaminação prévia do ar pelo herbicida. Após o término do período de amostragem, os tubos foram vedados e armazenados em geladeira até seu envio para análise.



Figura 7 - Bomba de vácuo SKC utilizada na amostragem ativa do ar. Capão do Leão, 2017.

As condições climáticas durante a condução do ensaio foram monitoradas através de uma estação meteorológica instalada nas dependências da Empresa.

A análise dos resíduos de 2,4-D nas folhas de fumo e nos cartuchos de OVS foi executada pela empresa Eurofins (Hamburgo, Alemanha). O detalhamento do método de extração, identificação e quantificação do composto encontra-se descrito no Capítulo I.

Para comparação entre as médias de concentração de 2,4-D nas amostras de folha, utilizou-se a técnica de bootstrapping (EFRON; TIBSHIRANI, 1986) no cálculo dos intervalos de confiança (IC) das mesmas. O método utilizado foi o *Bias-corrected and accelerated*, uma vez que este é o que melhor lida com conjunto de dados pequenos e tolera desvios de normalidade (MANGIAFICO, 2016). Os IC foram calculados com 500 reamostragens, a 95% de probabilidade, com o auxílio do software *R* (R CORE TEAM, 2017) e o pacote *Rcompanion* (versão 1.10.1). A sobreposição dos intervalos de confiança entre as médias representa igualdade estatística entre as mesmas. Já os dados de concentração de 2,4-D nos cartuchos OVS foram avaliados através de estatística descritiva.

3.3 Resultados e discussão

Os dados de concentração de 2,4-D em folhas de fumo para plantas do grupo A encontram-se ilustrados na figura 8. Podemos observar que em ambos os anos, a concentração diminui à medida que aumenta a distância entre os pontos de amostragem e a faixa de aplicação. Ainda que em alguns pontos não seja possível diferenciar estatisticamente a concentração de 2,4-D em plantas de 2015 e 2016, os dados sugerem que houve menos deriva e volatilização no segundo ano. Essa hipótese fica evidente ao compararmos a distância requerida para que a concentração de 2,4-D atinja 0,2 ppm, valor de referência definido pelo Coresta (2016) e representado na figura 8 pela linha vermelha. Para o ano de 2015, a distância recomendada estaria situada entre 75 e 100 metros; já para 2016, a distância ficaria entre 25 e 50 metros.

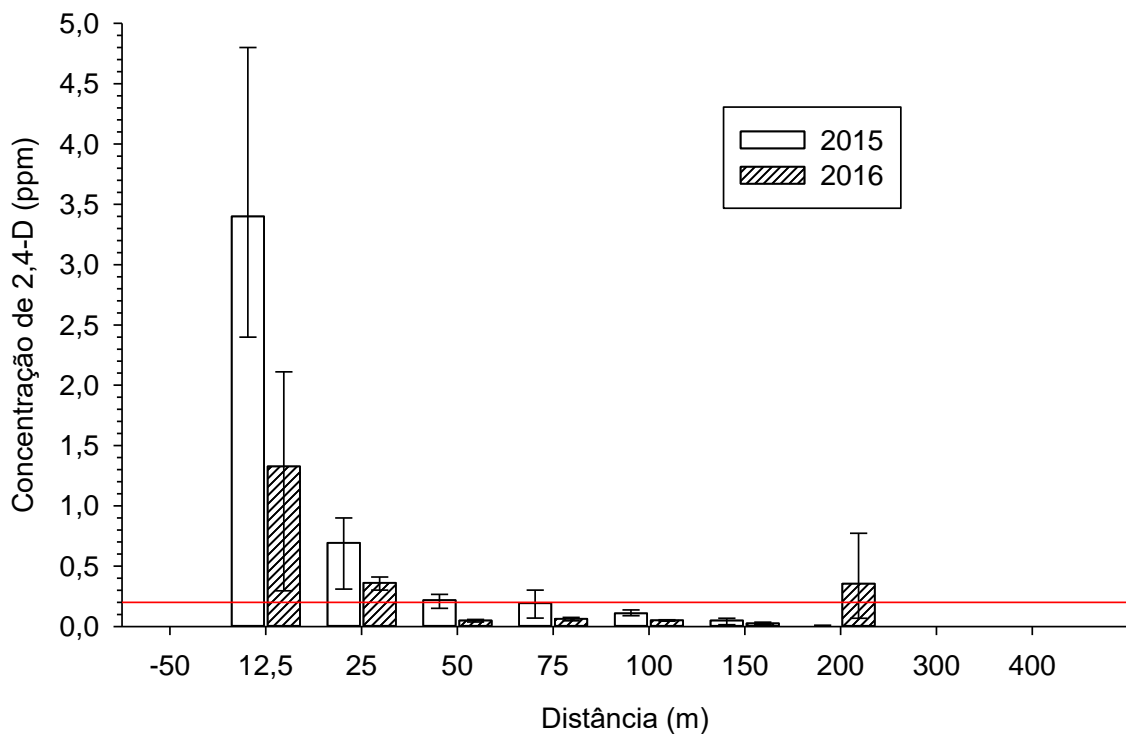


Figura 8 - Concentração de 2,4-D em folhas de fumo em função da distância da faixa de aplicação, para plantas levadas ao campo antes da aplicação e coletadas após 30 minutos. Capão do Leão, 2017.

Ainda sobre a figura 8, a não detecção do herbicida no ponto -50m sugere que não houve mudança notória na direção do vento. Além disso, inesperadamente houve um aumento na concentração do 2,4-D aos 200m da faixa de aplicação, no ano de 2016. Não há motivos evidentes que expliquem o acontecido, e é provável que o fato seja decorrente de erro humano durante alguma das etapas do ensaio.

A concentração de 2,4-D em plantas do grupo B está ilustrada na figura 9, onde podemos observar a mesma tendência de redução da concentração ao longo da zona de deriva. A distância requerida para atender os limites tolerados pelo Coresta permaneceu inalterada para o ano de 2016 e diminuiu no ano de 2015, ficando de 50 a 75 metros da aplicação.

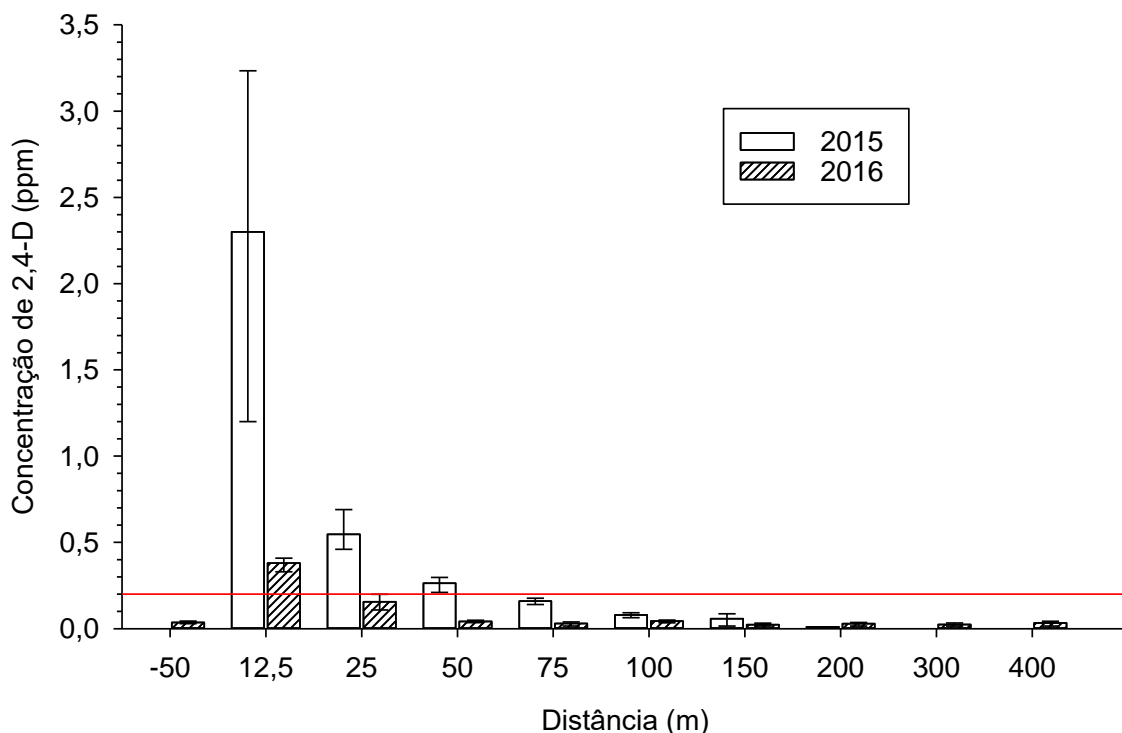


Figura 9 - Concentração de 2,4-D em folhas de fumo em função da distância da faixa de aplicação, para plantas levadas ao campo antes da aplicação e coletadas após 24 horas. Capão do Leão, 2017.

Vale lembrar que as referidas plantas foram levadas ao campo antes da aplicação e permaneceram no local por 24 horas. Desta forma, não seria condenável imaginar-se que a concentração nas plantas do grupo B seria maior que as do grupo A, pois haveria a contribuição da volatilização do herbicida. Porém, esta hipótese não foi confirmada: em ambos os anos, a concentração nas amostras que permaneceram por mais tempo no campo foi menor, sendo esta redução ainda mais notável em 2016. Existem duas razões para explicar o ocorrido: a perda por volatilização do herbicida na superfície foliar, e especificamente no segundo ano, a ocorrência de chuva leve (1,2mm) uma hora após a aplicação.

A diferença entre a taxa de volatilização do 2,4-D do solo e da superfície foliar tem embasamento científico (BEDOS et al., 2002) e se deve por três motivos principais: (a) o maior efeito do vento no dossel; (b) a maior evaporação de água na superfície foliar, em decorrência da maior temperatura; e principalmente (c) a maior afinidade do herbicida pelo solo do que pela superfície foliar. Para exemplificar, Jensen, Spliid e Svensmark (2007) verificaram volatilização de 40% da pendimetalina aplicada sobre folhas de repolho, enquanto que a aplicação sobre o solo não resultou em perdas do herbicida. Já quando o mesmo herbicida foi depositado sobre lâminas de microscopia de vidro, que é praticamente inerte e não interage com as moléculas, a volatilização observada foi de 68% (CARLSEN; SPLIID; SVENSMARK, 2006a). Desta forma, a volatilização não causou aumento da concentração de 2,4-D nas folhas de fumo; pelo contrário, foi responsável pela diminuição da mesma.

Conforme citado anteriormente, ocorreu na área do ensaio uma leve chuva cerca de uma hora após a aplicação, no ano de 2016. A chuva pode ter influenciado os resultados de duas formas: a primeira já foi citada e refere-se à redução da concentração nos amostras pelo efeito de “lavagem”, ainda que a intensidade da chuva tenha sido baixa e parte das gotas tenha permanecido sobre as folhas. O segundo efeito é a deposição via úmida do herbicida que encontrava-se em suspensão na atmosfera (GOEL; MCCONNELL; TORRENTS, 2005; WAITE et al., 2005). Isso justificaria a presença do herbicida em todos os pontos de coleta do ensaio, desde -50 até 400 metros.

Na figura 10 estão ilustrados os dados de concentração referente ao grupo C. Pelo fato deste conjunto de plantas ter sido levado ao campo 30 minutos após a aplicação, pode-se dizer que os valores encontrados advém exclusivamente da deposição via úmida ou seca do herbicida que se encontrava na atmosfera. As médias das amostras dispostas na faixa de aplicação foram mantidas para fins de comparação com os resultados do experimento descrito no Capítulo I, onde a aplicação de 2,4-D nas entrelinhas da cultura resultou em altos níveis de contaminação (média de 3ppm para folhas baixas e 0,6ppm para folhas pontes, semelhante ao encontrado neste ensaio para o ano de 2015). Fica assim evidenciado que a aplicação de 2,4-D em pós emergência da cultura do fumo deve ser evitada.

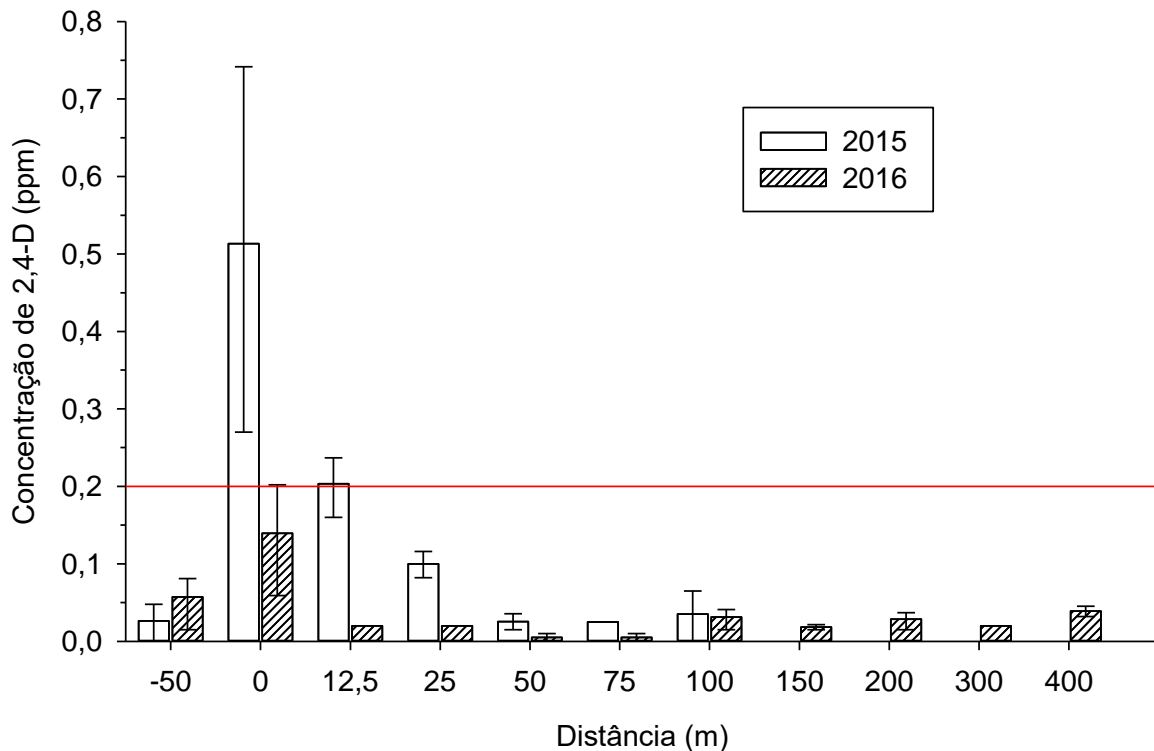


Figura 10 - Concentração de 2,4-D em folhas de fumo em função da distância da faixa de aplicação, para plantas levadas ao campo após 30 minutos da aplicação e coletadas após 24 horas. Capão do Leão, 2017.

Por fim, na tabela 4 estão descritas as concentrações de 2,4-D encontradas nos cartuchos OVS após o período de amostragem ativa do ar. No primeiro ano o herbicida foi detectado mas a concentração estava abaixo do limite de quantificação, com exceção do ponto “0”, referente à bomba situada na faixa de aplicação. Já no segundo ano o herbicida não foi detectado em nenhum dos pontos de amostragem. Estes resultados de certa forma confirmam as hipóteses levantadas até o momento, onde viu-se que no primeiro ano a taxa de volatilização foi maior, e que o herbicida encontrado nas amostras vegetais do segundo ano foi proveniente de deposição úmida.

Tabela 4 - Concentração de 2,4-D em cartuchos OVS após 24 horas de amostragem ativa de ar

Ponto de coleta	Concentração 2,4-D (ug.cartucho ⁻¹)	
	2015	2016
Amostragem prévia	Traços < 0,03	não detectado
-50	Traços < 0,03	não detectado
0	0,296	não detectado
50	Traços < 0,03	não detectado
100	Traços < 0,03	não detectado
200	Traços < 0,03	não detectado
400	Traços < 0,03	não detectado

A baixa concentração do herbicida nos cartuchos pode ter sido causada pela falta de afinidade dos sorbentes pelo 2,4-D, pelo pequeno volume de ar amostrado, ou ambos. Os cartuchos OVS são constituídos de resina polimérica XAD-2 e espuma de poliuretano, e foram originalmente designados para monitoramento de inseticidas organofosforados (OSHA, 1986). Embora alguns autores utilizem estes sorbentes para monitoramento de moléculas polares, como a atrazina e o s-metolaclo-ro (RICE; NOCHETTO; ZARA, 2002; SCHUMMER et al., 2012), sua melhor eficiência é observada no monitoramento de moléculas lipofílicas (GOUIN et al., 2008). Neste caso, o aumento no fluxo de ar durante a amostragem ativa poderia solucionar o problema, mesmo que o valor utilizado neste experimento esteja de acordo com outros trabalhos, onde foram utilizadas vazões de 2 L.min⁻¹ (FERRARI et al., 2005) a 6 L.min⁻¹ (BEDOS et al., 2006).

A dinâmica de herbicidas está intimamente relacionada com as condições ambientais do local. Por isso, a coleta das variáveis meteorológicas é de suma importância para o entendimento dos resultados obtidos neste ensaio. Os dados encontram-se ilustrados na tabela 5.

Tabela 5 - Valores médios para as variáveis meteorológicas durante e após a aplicação do herbicida 2,4-D, nos dois anos de condução do experimento

Variável	Durante a aplicação		24h após a aplicação	
	2015	2016	2015	2016
Velocidade do vento (Km.h ⁻¹)	9,72	5,40	7,04	4,10
Temperatura do ar (°C)	29,5	28,8	26,1	28,1
Umidade relativa do ar (%)	68,0	75,1	77,7	79,0

Podemos observar na tabela 5 que houve diferença entre os dois anos do ensaio nas variáveis monitoradas. No ano de 2015 havia maior temperatura e velocidade do vento, e menor umidade relativa do ar (UR). O modo com que estas variáveis influenciam o potencial de deriva de uma aplicação encontram descrito nos próximos parágrafos.

A pulverização é uma técnica de aplicação que consiste em utilizar pressão para forçar a saída de um líquido por um pequeno orifício (a ponta de pulverização); por conta do atrito com o ar, o líquido desfaz-se em inúmeras gotas de diferentes tamanhos. Segundo Al Heidary et al. (2014), o espectro de gotas é definido pela pressão de trabalho, tipo de ponta de pulverização e propriedades físico-químicas da calda. Durante sua trajetória até o alvo a gota tende a evaporar e por consequência, ficar mais leve. Em alguns casos a gota pode evaporar totalmente, restando o ingrediente ativo cristalizado em suspensão no ar. A velocidade com que isso ocorre é afetada pela UR: quanto maior a UR, mais lentamente ocorrerá a evaporação. Gotas leves são facilmente carregadas por ação do vento ou correntes convectivas, sendo que atribui-se às gotas menores que 100µm maior susceptibilidade à deriva (FELSOT et al., 2011). As gotas maiores possuem maior massa e são menos suscetíveis à deriva. Mesmo gotas que já foram depositadas sobre a superfície foliar estão sujeitas à evaporação. Neste caso pode haver cristalização do ingrediente ativo (o que restringe sua absorção, em se tratando de uma superfície vegetal) e arraste da molécula por ação do vento.

Altas temperaturas também favorecem a volatilização, pois a pressão de vapor, que é a principal característica físico-química referente à volatilização, é dependente da temperatura (BEDOS et al., 2002). É por este motivo que a pressão de vapor dos herbicidas vem sempre acompanhada da temperatura de determinação, geralmente 25°C (SENSEMAN, 2007). Quanto maior for a temperatura, maior será tendência das moléculas a passarem para a fase vapor, fenômeno que pode ser confirmado através dos resultados do presente experimento.

O vento também exerce papel essencial para a deriva e volatilização, pois é o responsável pelo transporte propriamente dito das moléculas, seja na forma de cristal ou dissolvidas nas gotas. De acordo com Arvidsson, Bergström e Kreuger (2011), para cada aumento de 3,6Km.h⁻¹ na velocidade do vento, haverá aumento de 0,98% de

deriva. Sob condições inadequadas de vento, mesmo gotas grandes podem ser deslocadas.

Em vista do exposto e considerando que as características referentes à tecnologia de aplicação e propriedades da calda não foram modificadas nos dois anos de realização do ensaio, podemos afirmar que as condições meteorológicas foram as responsáveis pela diferença nos valores de concentração de 2,4-D, tanto nas amostras vegetais quando nos tubos OVS.

Convém ressaltar que alguns detalhes do experimento podem ter favorecido a ocorrência de deriva. Em primeiro lugar, a altura da barra foi determinada de modo que houvesse uma distância de 0,5m entre o ápice das plantas e a barra. No entanto, a área ocupada pelas plantas ao longo da faixa de aplicação era pequena, o que de certa forma significa aplicar a uma altura de 1,3m do alvo, o que não se recomenda. A altura da barra de pulverização é importante por dois motivos: a velocidade do vento aumenta com a altura em relação à superfície da Terra, e quanto maior for distância entre o bico e a superfície alvo maior será a possibilidade de evaporação da gota e seu transporte para fora da área. Estas hipóteses são confirmadas por Nuyttens et al. (2007), que verificou que, em relação à deriva causada por uma aplicação a 0,5m de altura, houve 40% de redução e 50% de aumento ao fixar a barra a 0,3m e 0,7m da superfície alvo, respectivamente. Em segundo lugar, em uma situação real as plantas das margens da lavoura serviriam como filtros para deriva, interceptando o herbicida e reduzindo a quantidade “disponível” para transporte. No entanto estas características não invalidam o trabalho, considerando que muitas vezes o produtor rural não possui conhecimento sobre o uso correto e seguro de agrotóxicos (MARQUES; NEVES; VENTURA, 2010; DE SOUSA et al., 2016).

Ainda que não intencionalmente, observou-se o efeito de deposição via úmida decorrente da chuva após a contaminação atmosférica. Seriam necessários mais pontos de amostragem para entender a dimensão deste problema, mas foi demonstrado que há chance de transporte a longas distâncias. O fenômeno já havia sido relatado anteriormente por Hill et al. (2002), em áreas rurais, urbanas e remotas da cidade de Alberta, no Canadá.

3.4 Conclusões

As condições ambientais são fatores determinantes para a ocorrência e dimensão da deriva e volatilização de aplicações.

Em uma situação real com condições meteorológicas semelhantes às que ocorreram no ensaio, uma faixa de segurança de até 50 metros seria necessária para que a concentração de 2,4-D no fumo curado esteja de acordo com as especificações do Coresta.

O balanço entre volatilização do herbicida do solo e das plantas resultou na diminuição da concentração do mesmo nas amostras vegetais.

A presença do herbicida em todos os pontos de amostragem nas plantas que foram ao campo após a aplicação, no ano de 2016, provavelmente deve-se à deposição úmida

A amostragem ativa do ar não foi efetiva na quantificação do herbicida volatilizado.

4 Capítulo III – Seleção de espécies bioindicadoras da ocorrência de deriva do herbicida 2,4-D

4.1 Introdução

No contexto da aplicação de agrotóxicos, entende-se por deriva o fenômeno não intencional de transporte onde uma fração do ingrediente ativo difunde-se no ambiente, não atingindo o alvo desejado (FELSOT et al., 2011). Um dos resultados mais evidentes da ocorrência de deriva é a redução da eficácia da aplicação, em decorrência da menor quantidade de ingrediente ativo interceptado pela superfície-alvo. Além disso, em se tratando de herbicidas, a deposição de um ingrediente ativo sobre espécies sensíveis ao mesmo pode causar perdas na produtividade das culturas (SILVA et al., 2016) e alterações na composição da flora e fauna local (BOUTIN et al., 2014; EGAN et al., 2014).

Por vezes, no entanto, este fenômeno resulta em impactos menos visíveis, como ocorre na contaminação de alimentos e de diferentes estratos do meio ambiente, como os cursos hídricos e o ar (AKTAR; SENGUPTA; CHOWDHURY, 2009; DAMALAS; ELEFTHEROHORINOS, 2011). Nestes casos, a menos que o monitoramento seja feito ou que a contaminação acabe resultando em efeitos tóxicos agudos em humanos ou na fauna local, a contaminação tende a passar despercebida, e sua fonte, desconhecida.

O monitoramento ambiental pode ser feito de diversas formas, dentre as quais destacam-se: (a) coletas e análises periódicas de amostras do estrato que se deseja analisar (ar, água, solo ou alimento) (GRÜTZMACHER et al., 2008); (b) uso de amostradores ativos (WAITE et al., 1999); (c) uso de amostradores passivos (RAEPPPEL et al., 2015), e (d) utilização de bioindicadores (ou biomonitoramento).

Cada uma destas apresenta seus prós e contras, e a eficiência do método está relacionada com o contaminante que se deseja monitorar, a matriz em estudo e as condições ambientais do local, entre outros fatores. De modo geral, o alto custo e complexidade das metodologias que envolvem a identificação e quantificação de compostos podem ser restritivos à sua aplicação, havendo a necessidade de optar-se por métodos alternativos como o biomonitoramento.

O biomonitoramento é definido como uma metodologia de avaliação da qualidade ambiental baseada na utilização de organismos vivos como indicadores (PARMAR; RAWTANI; AGRAWAL, 2016). É aplicável a diversas situações, como por exemplo, na detecção de altas concentrações de flúor (MALAYERI; NOORI; JAFARI, 2012), ozônio (SMITH, 2012) e metais pesados (CARDOSO-GUSTAVSON et al., 2016) no ar.

Também é possível explorar a sensibilidade de plantas a certos herbicidas, visando o desenvolvimento de bioindicadores da ocorrência de deriva. Os estudos de Al-Khatib et al. (1993) e Felsot et al. (1996) relatam o monitoramento a campo da ocorrência de herbicidas no ar, através da avaliação visual de fitotoxicidade em espécies sensíveis, chamadas de “plantas sentinelas”. Ao observar diferenças na expressão de sintomas visuais e na massa seca de plantas expostas ao herbicida clomazone volatilizado, Schreiber et al. (2013) concluíram que o sorgo foi a mais sensível dentre as espécies testadas. A partir de metodologias mais complexas, Kelley et al. (2006) sugeriram que o aumento na expressão do gene *GH3* pode ser utilizado para detectar a exposição de plantas de soja à herbicidas auxínicos, e Schrübbers et al. (2014) verificaram que o acúmulo de ácido chiquímico foi um bom indicador da deriva de glifosato em plantas de café.

A seleção de uma espécie bioindicadora e da variável que será analisada, passa pela observação de alguns pontos: a espécie deve responder a baixas doses do ingrediente ativo e os sintomas causados pela exposição devem ser característicos, a fim de evitar falhas no diagnóstico (AL-KHATIB et al., 1993). Além disso, de acordo com Nunes e Vidal (2009), é preferível que a espécie apresente elevada taxa de crescimento (que permite a rápida visualização dos sintomas), ampla distribuição geográfica (para que o monitoramento possa ser realizado em diversas localidades) e homogeneidade genética (para diminuir a variabilidade nos resultados). Deve-se ter em mente que esta abordagem não provê informações exatas da

identidade e quantidade do composto interceptado, mas tem como principais benefícios a simplicidade, baixo custo e eficiência.

Apesar de não se tratar de um assunto recente, o uso de plantas bioindicadoras da presença de herbicidas no ar ainda é pouco explorado, e os trabalhos citados anteriormente representam alguns dos poucos exemplos disponíveis na literatura. Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes espécies olerícolas quanto à sua aplicabilidade como planta sentinela para o herbicida 2,4-D (ou ácido 2,4-diclorofenoxiacético). A escolha do herbicida foi baseada em quatro critérios: a) sua ampla utilização para manejo de plantas daninhas de difícil controle; b) a recente aprovação da tecnologia Enlist, que possivelmente aumentará a utilização deste ingrediente ativo; c) sintomatologia de fácil identificação, e d) escassez de trabalhos de monitoramento, seja ativa ou passivamente.

4.2 Materiais e métodos

Inicialmente, foi conduzido ensaio exploratório de deriva simulada com diversas espécies olerícolas, a fim de observar diferenças expressivas de sensibilidade a subdoses do herbicida 2,4-D (Experimento I). Posteriormente, após a identificação das espécies com maior capacidade de expressar sintomas, objetivou-se a comparação da sensibilidade das mesmas ao 2,4-D através de experimento de curvas dose-resposta (Experimento II). Ambos ensaios foram conduzidos em casa de vegetação, pertencente ao Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), no município de Capão do Leão - RS.

Experimento I – Avaliação preliminar da sensibilidade de espécies olerícolas a subdoses do herbicida 2,4-D

O primeiro experimento foi conduzido nos meses de setembro a novembro de 2015, em esquema bifatorial (15 x 10) e delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. O fator A foi representado pelas espécies, e o fator B, pelas doses do herbicida 2,4-D, conforme apresentado na tabela 6. Em todos os tratamentos, com

exceção da testemunha sem aplicação, foi adicionado óleo mineral na concentração de 0,5% v/v.

Tabela 6 - Descrição dos tratamentos utilizados (Fator A: espécies e Fator B: doses de 2,4-D) no experimento I

Espécie	Fator A		Fator B	
	Nome popular	Cultivar ²	Dose (g ea.ha ⁻¹)	Dose (%) ¹
<i>Beta vulgaris</i>	Beterraba	Maravilha	40.20	4
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>	Couve	Quatro estações	30.15	3
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>	Repolho	Coração de boi gigante	20.10	2
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>	Brócolis	Ramoso santana	10.05	1
<i>Citrullus lanatus</i>	Melancia	Crimson sweet	5.025	0.5
<i>Cucumis melo</i>	Melão	Amarelo	2.5125	0.25
<i>Cucumis sativus</i>	Pepino	Verde comprido	1.2563	0.125
<i>Cucurbita moschata</i>	Abóbora	Menina brasileira	0.6281	0.0625
<i>Cucurbita maxima</i>	Moranga	Exposição	0.3141	0.03125
<i>Cucurbita pepo</i>	Abobrinha	Caserta italiana	0.1570	0.015625
<i>Daucus carota</i>	Cenoura	Nantes calibrada média	0.0785	0.0078125
<i>Lactuca sativa</i>	Alface	Regina	0	0
<i>Petroselinum crispum</i>	Salsa	Lisa	-	-
<i>Raphanus sativus</i>	Rabanete	Vip crimson	-	-
<i>Solanum lycopersicum</i>	Tomate	Gaúcho	-	-

¹ Porcentagem calculada em relação à dose comercialmente utilizada de 1005 g ea.ha⁻¹

² Sementes produzidas pela empresa Feltrin Sementes

As espécies foram escolhidas de acordo com a sensibilidade esperada ao herbicida, a facilidade de obtenção de sementes e mudas e devido a possibilidade de plantio em várias épocas do ano. Estes fatores justificam, por exemplo, a ausência de gramíneas (pois o 2,4-D é um latifolicida, e portanto, seletivo à plantas de folha estreita) e a presença de espécies como salsa, repolho e alface (que podem ser cultivadas durante o ano todo).

Em torno de dez sementes foram semeadas diretamente em copos plásticos de 700mL capacidade, contendo uma mistura de solo e substrato comercial (S-10 Beifort, Garibaldi/RS), na proporção de 3:1. O solo utilizado no experimento foi coletado do horizonte A de uma área do Centro Agropecuário da Palma pertencente à FAEM/UFPel, e apresentava as seguintes características, de acordo com análise realizada pelo Laboratório de Análise de Solos da UFPel: pH água (1:1) = 5,7; CTC pH7 = 7,0cmolc.dm⁻³; matéria orgânica = 1,93%; argila = 14%; textura = 4; Ca = 3,1cmolc.dm⁻³; Mg = 1,2cmolc.dm⁻³; Al trocável = 0,1cmolc.dm⁻³; P-Mehlich = 23,3mg.dm⁻³; K trocável = 51mg.dm⁻³.

Após o estabelecimento das plântulas efetuou-se o desbaste das mesmas, padronizando-se o número de plantas por vaso em torno de três a quatro. Cada vaso com as respectivas plantas foi considerado como uma unidade experimental. Quando as plantas apresentavam em torno de três a quatro folhas verdadeiras, a aplicação dos tratamentos foi realizada com o auxílio de um equipamento costal pressurizado a CO₂ e equipado com pontas do tipo leque (Teejet XR 110.015) espaçadas entre si a 50cm, calibrado para depositar 150L.ha⁻¹. Por ocasião da aplicação, as condições meteorológicas eram: umidade relativa do ar = 79%; temperatura = 19,7°C e velocidade do vento = 2,7 km.h⁻¹.

Foram efetuadas avaliações visuais de fitotoxicidade aos 7, 14, 21 e 28 dias após a aplicação (DAA), utilizando-se escala de 0 a 100%, onde zero corresponde à ausência de sintomas e 100%, à morte das plantas (FRANS et al., 1986). A escolha das espécies para o experimento II foi baseada na observação da menor dose causadora de sintomas de fitotoxicidade (~15%) após sete dias da aplicação, conforme descrito na tabela 7.

Tabela 7 - Relação das espécies e respectivas doses que causaram os primeiros sintomas diagnosticáveis de toxicidade aos sete dias após aplicação, em resposta à aplicação de sub-doses do herbicida 2,4-D

Espécie	Nome popular	Dose (%)
<i>Beta vulgaris</i>	Beterraba	0.0625
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>	Repolho	0.0625
<i>Cucurbita moschata</i>	Abóbora	0.0625
<i>Daucus carota</i>	Cenoura	0.0625
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>	Brócolis	0.125
<i>Solanum lycopersicum</i>	Tomate	0.125
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>	Couve	0.25
<i>Lactuca sativa</i>	Alface	0.25
<i>Petroselinum crispum</i>	Salsa	0.25
<i>Raphanus sativus</i>	Rabanete	0.25
<i>Citrullus lanatus</i>	Melancia	1
<i>Cucumis melo</i>	Melão	1
<i>Cucumis sativus</i>	Pepino	1
<i>Cucurbita maxima</i>	Moranga	1
<i>Cucurbita pepo</i>	Abobrinha	1

As espécies cujos sintomas apareceram na dose correspondente a 0,5% ou menos, foram selecionadas para o experimento II.

Experimento II – Sensibilidade de diferentes espécies olerícolas ao herbicida 2,4-D

O segundo experimento foi conduzido nos meses de julho a setembro de 2017, em esquema bifatorial (10 X 10) e delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. A descrição dos tratamentos encontra-se na tabela 8. À calda de todos os tratamentos aplicados, com exceção da testemunha, foi adicionado óleo vegetal na concentração de 0,5% v/v.

Tabela 8 - Descrição dos tratamentos utilizados (Fator A: espécie, Fator B: dose) no experimento II

Fator A			Fator B	
Espécie	Nome popular	Cultivar	Dose (g ea.ha ⁻¹)	Dose (%)
<i>Beta vulgaris</i>	Beterraba	Maravilha	1005	100
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>	Couve	Quatro estações	502.50	50
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>	Repolho	Coração de boi gigante	251.25	25
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>	Brócolis	Ramoso santana	125.63	12.5
<i>Cucurbita moschata</i>	Abóbora	Menina brasileira	62.813	6.25
<i>Daucus carota</i>	Cenoura	Nantes calibrada média	31.406	3.125
<i>Lactuca sativa</i>	Alface	Regina	15.703	1.5625
<i>Petroselinum crispum</i>	Salsa	Lisa	7.852	0.78125
<i>Raphanus sativus</i>	Rabanete	Vip crimson	3.926	0.39063
<i>Solanum lycopersicum</i>	Tomate	Gaúcho	0	0

Para obtenção das plantas utilizadas no ensaio, as espécies foram semeadas em bandejas de isopor de 100 células preenchidas com substrato comercial e irrigadas com o auxílio de regador a cada dois dias, até o transplante das mudas que ocorreu cerca de 40 dias após a semeadura. Cada muda foi transplantada individualmente para vasos plásticos de 1L de capacidade, preenchidos com 1,1kg de uma mistura de solo e substrato comercial, na proporção de 3:1. Cada vaso contendo uma planta foi considerado uma unidade experimental. O solo utilizado no experimento foi coletado na mesma localidade do solo coletado para o experimento anterior; as características químicas apresentadas, portanto, são equivalentes.

Quando as plantas apresentavam de quatro a cinco folhas verdadeiras, realizou-se a aplicação dos tratamentos com o equipamento costal já previamente descrito. Na ocasião, a umidade relativa do ar era 92%, a temperatura era 7,7°C e a velocidade do vento foi de 1,8 km.h⁻¹.

As variáveis analisadas foram fitotoxicidade, através de avaliações visuais aos 7, 14, 21 e 28 dias após aplicação (DAA), e massa seca da parte aérea (MSPA). Utilizou-se escala de 0 a 100% nas avaliações visuais de fitotoxicidade, onde 0% corresponde à ausência de sintomas e 100% à morte da planta (FRANS et al., 1986). Aos 28 DAA as plantas foram seccionadas rente ao solo e acondicionadas individualmente em sacos de papel, e em seguida, levadas à estufa com circulação forçada de ar a 60°C. As amostras foram mantidas na estufa até que atingissem peso constante, quando efetuou-se a pesagem das mesmas.

Os dados de fitotoxicidade aos sete dias após aplicação (Fito7DAA) e MSPA foram ajustados ao modelo de regressão não-linear do tipo log-logístico de quatro parâmetros (RITZ; STREIBIG, 2005), utilizando-se o software R (R CORE TEAM, 2017) e o pacote *drc* (versão 2.5-12), conforme equação abaixo:

$$y = c + \frac{d - c}{1 + \exp b \{[\log(x) - \log(e)]\}}$$

Onde: y = variável resposta; b = declividade da curva em torno de “ e ”; c = limite inferior da curva; d = limite superior da curva; e = valor de x que causa 50% de redução na variável resposta (I_{50}).

O ajuste dos dados ao modelo foi avaliado através do teste de falta de ajuste (*Lack-of-fit test*, função *modelFit*) e da significância estatística dos parâmetros estimados. Além disso, observou-se graficamente a homocedasticidade e normalidade da distribuição dos resíduos. Em caso de falta de ajuste, utilizou-se a função *mselect* para verificar a possibilidade de utilização de um modelo alternativo. Nos casos onde o ajuste foi satisfatório, utilizou-se a função *ED* para estimar a C_{25} (dose necessária para causar 25% de fitotoxicidade) e $MSPA_{25}$ (dose necessária para reduzir a MSPA em 25%), com os respectivos intervalos de confiança (IC) a 5% de probabilidade de erro. A comparação entre espécies foi realizada observando-se a sobreposição dos intervalos de confiança dos parâmetros.

4.3 Resultados e discussão

Todas as plantas apresentaram sintomatologia característica de exposição a herbicidas auxínicos, que já foi descrita em trabalhos como o de Cobb e Reade (2010) e Sciumbiato et al. (2004). Alguns dos sintomas observados, em escala crescente de fitotoxicidade, foram: leves ondulações e retorcimentos nas margens das folhas, engrossamento do caule, epinastia nos pecíolos, epinastia no caule, paralisação do crescimento, perda de turgidez, necrose, senescência de tecidos e morte da planta (figura 11).



Figura 11 - Exemplos de sintomas característicos de herbicidas auxínicos, observados em plantas de (A) alfaca, (B) repolho, (C) salsa, (D) tomate, (E) beterraba. Capão do Leão, 2017.

Embora a fitotoxicidade tenha sido avaliada em quatro oportunidades, somente a avaliação de 7DAA será discutida, haja visto que em um cenário real de monitoramento, a rápida visualização dos sintomas aumentaria a possibilidade de identificação da fonte de contaminação e da tomada de medidas mitigatórias, quando o fosse necessário.

Para as variáveis Fito7DAA e MSPA, respectivamente oito e três espécies apresentaram dados com ajuste aceitável ao modelo proposto (tabela 9). Para a variável Fito7DAA da espécie tomate, foi proposto um modelo alternativo: o Weibull1 de três parâmetros. Este modelo é similar ao Log-logístico utilizado anteriormente, porém o valor de “C” (limite inferior) é fixado em 0; os demais parâmetros permanecem inalterados.

Tabela 9 - Parâmetros estimados e significância (valor de p) para o teste de falta de ajuste, para as diferentes curvas ajustadas ao modelo log-logístico

Espécie	Variável Fito7DAA				
	b	C	D	e	p
Abóbora ¹	-0,851	-1,372	64,418	157,778	0,020
Alface	-1,476	0,705	90,252	23,492	0,495
Beterraba	-0,785	-0,861	95,843	102,719	0,685
Brócolis	-1,373	-2,725	76,637	61,300	0,065
Cenoura	-1,188	-1,730	88,776	44,174	0,150
Couve	-0,799	-2,522	56,531	102,160	0,438
Rabanete	-1,034	-2,586	90,240	82,841	0,418
Repolho	-0,989	0,321	95,762	72,300	0,995
Salsa	-0,842	-1,940	85,052	75,780	0,653
Tomate ³	-0,373	-	112,252	43,552	0,061
Variável MSPA					
Alface	1,323	0,427	4,810	3,741	1,000
Beterraba ²	1,498	0,730	2,401	12,868	0,877
Brócolis ²	0,463	-0,234	7,121	120,297	0,738
Cenoura	2,909	0,737	3,700	13,765	0,909
Couve ²	1,117	3,108	9,285	26,542	0,308
Rabanete ²	1,108	2,311	9,626	10,322	0,921
Repolho ²	1,890	1,397	5,215	17,919	0,505
Salsa ²	0,265	-0,635	1,276	119,135	0,356
Tomate	0,915	3,712	10,884	13,529	0,149

1 teste para falta de ajuste significativo ($p < 0,05$)

2 parâmetros estatisticamente iguais a zero ($p > 0,05$)

3 ajustado ao modelo Weibull 1 de três parâmetros

A falta de ajuste pode ter ocorrido devido à baixa toxicidade proporcionada mesmo pela dose mais alta testada e também pelo aumento pouco pronunciado dos sintomas em resposta às doses, decorrente da própria natureza do ensaio (com predominância de doses sub letais). De acordo com Streibig e Green (2017) a I_{50} é a estimativa de maior acurácia da sensibilidade de um indivíduo, pois encontra-se na região da curva onde os menores intervalos de confiança são observados: a zona de resposta linear, situada entre os dois limites da curva sigmoide. O parâmetro “b” corresponde à inclinação desta reta. Quando a variável analisada responde suavemente à variável independente, ou os limites superior e inferior da curva estão muito próximos, os valores estimados de “b” são baixos e a I_{50} tem sua acurácia

diminuída, podendo resultar na falta de ajuste. Além disso, o próprio mecanismo de ação do 2,4-D pode ter contribuído para a falta de ajuste, uma vez que doses subletais de herbicidas auxínicos podem estimular a divisão celular ao invés de inibi-la.

Tendo em vista que as doses de 2,4-D usualmente utilizadas a campo situam-se na faixa de 670 a 1340g ea.ha⁻¹, e que o maior valor de I₅₀ estimado foi de apenas 102,7g ea.ha⁻¹ para as espécies com ajuste, é possível supor que estas plantas seriam facilmente controladas por uma aplicação do herbicida. De fato, passados 28DAA, todas as espécies apresentaram níveis de fitotoxicidade próximos de 100% nas doses mais elevadas (dados não apresentados).

Entretanto, mais importante do que tratar a respeito da efetividade de uma suposta aplicação do herbicida nestas espécies, é a capacidade de expressão de sintomas nas doses mais baixas. Neste sentido, a comparação entre as C₂₅ traz dois principais benefícios: a predição da fitotoxicidade em doses mais próximas do que ocorre nos eventos de deriva, e a observação de sintomas não tão singelos como os observados em concentrações ainda mais baixas. Os valores estimados de C₂₅ e MSPA₂₅, com os respectivos IC a nível de 95% de probabilidade, estão ilustrados na figura 12.

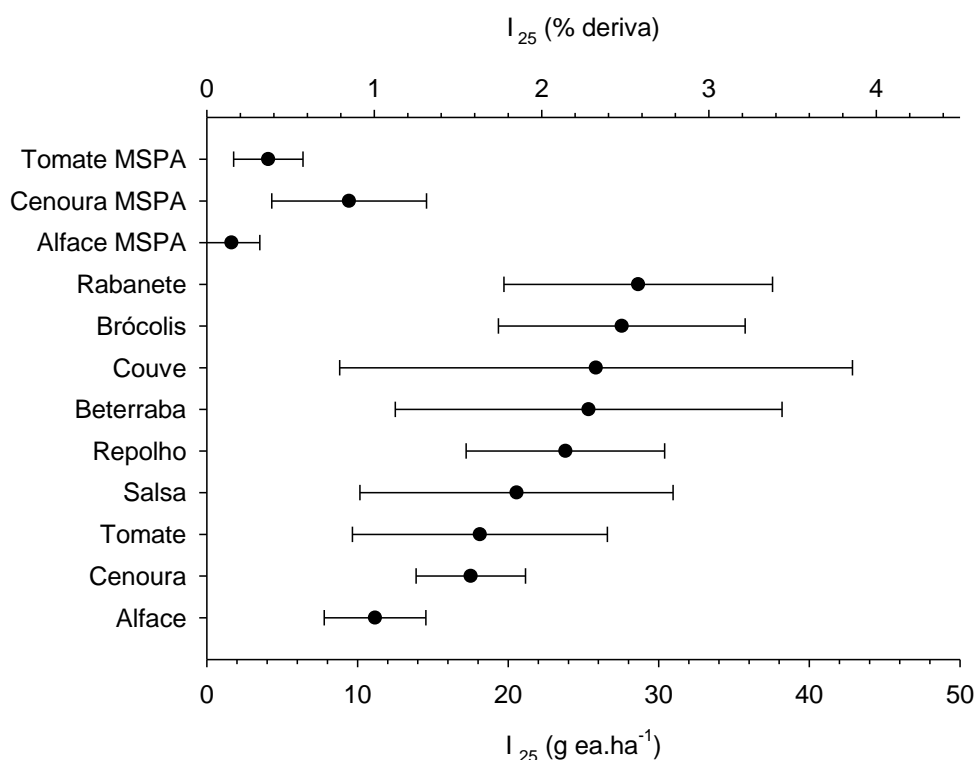


Figura 12 - Valores de I₂₅ estimados para as variáveis Massa Seca da Parte Aérea e Fitotoxicidade aos sete dias após aplicação, com as correspondentes porcentagens em relação à dose cheia (1005 g ea.ha⁻¹). Capão do Leão, 2017.

Podemos notar que, considerando os intervalos de confiança, os valores de I₂₅ situaram-se na faixa de 7,8 a 42,9 g ea.ha⁻¹ para a variável Fito7DAA, e de 1,77 a 14,6 g ea.ha⁻¹ para a variável MSPA (figura 12). Na espécie alface, embora o ajuste tenha sido aceitável, o IC do parâmetro MSPA₂₅ englobou o valor “zero” e portanto não é significativo. Nota-se que a ordem de sensibilidade para as espécies alface, cenoura e tomate foi alterada de acordo com a variável analisada, apesar de que as estimativas de C₂₅ e MSPA₂₅ tenham sido próximas. Para a espécie cenoura, não houve diferença estatística entre estes dois parâmetros. Knezevic, Streibig e Ritz (2007) sustentam que os parâmetros podem ser influenciados tanto pela variável analisada quanto pela época de avaliação. Dessa forma, as diferenças constatadas entre os valores de C₂₅ e MSPA₂₅ nas espécies alface e tomate podem ser consideradas normais.

Em termos percentuais, os valores estimados de C₂₅ correspondem a 0,8 e 4,3% de uma aplicação na dose de 1005g ea.ha⁻¹, comumente utilizada. Grover, Maybank e Yoshida (1972) encontraram valores de deriva na faixa de 3 a 4% do aplicado para o mesmo ingrediente ativo, em condições de campo. Já Carlsen, Spliid e Svensmark (2006b) encontraram perdas de até 0,7% do aplicado a mais de 5m de distância da faixa da aplicação, mesmo com o uso de bicos anti-deriva. Em ambos os casos, espécies utilizadas neste trabalho poderiam indicar a presença do herbicida com danos significativos. Ainda que tenha havido predomínio na transposição dos intervalos de confiança dos parâmetros, algumas diferenças podem ser notadas, como a alface diferindo do repolho, couve e rabanete.

Conforme atestado anteriormente, poucos trabalhos visam identificar plantas sentinelas para este herbicida. Porém, há abundância de relatos a respeito do efeito do 2,4-D em organismos não-alvo. Wall (1996), por exemplo, avaliou o efeito da deriva simulada sobre a produtividade e percentual de injúria em cinco diferentes espécies, onde verificou-se a seguinte ordem decrescente de sensibilidade: girassol > lentilha = canola > trigo sarraceno > ervilha. A maior dose testada (241,2g ea.ha⁻¹) causou morte das plantas de girassol mas apenas danos leves (24%) nas plantas de ervilha, sem prejuízos à produtividade. Hemphill e Montgomery (1981) afirmam que, em alface, sintomas foliares não foram evidentes nas aplicações menores que 208g ea.ha⁻¹, o

que vai contra o presente estudo onde a alface mostrou-se uma das mais sensíveis ao 2,4-D. Ainda de acordo com os autores, a produtividade de plantas de brócolis e couve após aplicação de 104g ea.ha⁻¹ não foi alterada significativamente, e o rendimento de plantas de repolho só foi suprimido por doses maiores ou iguais a 208g ea.ha⁻¹. Estas diferenças podem estar relacionadas com o estágio de desenvolvimento por ocasião da aplicação, pela condução à campo dos experimentos ou por possíveis diferenças na sensibilidade entre cultivares da mesma espécie.

Embora o foco até o momento tenha sido a comparação entre doses que causam determinado nível de injúria nas espécies (C₂₅), pode-se também levar em consideração características morfológicas das plantas, pois as mesmas estão diretamente relacionadas com a facilidade na observação dos sintomas. Por exemplo, embora a sensibilidade da cenoura tenha se assemelhado com a do tomate, os sintomas em um mesmo nível de dano são mais facilmente percebidos nas plantas de tomate. O caule das plantas de cenoura é pouco perceptível e situa-se logo acima da superfície do solo; já nas plantas de tomate, o caule é ereto e visível, permitindo a fácil identificação de sintomas nestes órgãos. As plantas de alface apresentam caule mais pronunciado do que as plantas de cenoura, porém é densamente coberto pelas folhas. Estas características não impedem sua utilização como bioindicadoras, mas requerem uma maior atenção para análise dos sintomas.

Por fim, é necessário ressaltar que embora os sintomas causados pelo herbicida 2,4-D sejam característicos, a distinção do mesmo entre os demais herbicidas auxínicos não é possível de ser realizada visualmente. Em uma situação real de monitoramento, somente através de métodos mais sofisticados seria possível confirmar a identidade do composto. Todavia, para o que se espera do biomonitoramento (simplicidade e baixo custo), pode-se considerar que as espécies aqui estudadas seriam eficientes na detecção da presença do herbicida 2,4-D, mesmo em doses reduzidas como as que ocorrem nos eventos de deriva.

4.4 Conclusões

Todas as espécies estudadas expressaram sintomas característicos de herbicidas mimetizadores da auxina.

Somente uma pequena variação nos valores de C_{25} foi observada, de modo geral, indicando sensibilidade similar entre as espécies.

A ocorrência de deriva do herbicida 2,4-D poderia ser diagnosticada por todas as espécies estudadas em maior ou menor grau, porém as plantas de tomate representam a melhor alternativa, aliando sensibilidade à características morfológicas que permitem a fácil visualização dos sintomas.

5 Capítulo IV – Desenvolvimento de coletor passivo para monitoramento da ocorrência do herbicida 2,4-D no ar

5.1 Introdução

No âmbito da dinâmica de herbicidas, o termo “dissipação” pode ser definido como o desaparecimento de um composto no ambiente resultante do efeito combinado entre processos de transporte (lixiviação, volatilização, escoamento superficial, etc.) e degradação (degradação microbiana, fotólise, hidrólise, etc.) (DÍEZ; BARRADO, 2010). Dentre estes, a volatilização corresponde à principal forma de contaminação do ar atmosférico e é definida como o processo físico-químico através do qual um composto é transferido à fase gasosa, resultado da evaporação da fase líquida ou sublimação da fase sólida (BEDOS et al., 2002). Além disso, a presença de agrotóxicos no ar pode ser resultado da evaporação de gotas antes que as mesmas sejam interceptadas pelas plantas ou solo (o que chamamos de deriva) (BEDOS et al. 2002), ou pelo arraste por ação do vento de partículas do solo que contenham agrotóxicos sorvidos (FORERO et al., 2017).

Uma vez na atmosfera, o agrotóxico tende a ser transportado a longas distâncias até que seja depositado sobre ou interceptado por alguma superfície. O ar contaminado representa uma importante via de exposição de seres humanos e animais aos agrotóxicos, e a água da chuva pode ser contaminada pelas moléculas em suspensão. Diversos problemas ocasionados pela ocorrência de agrotóxicos no ar já foram relatados, conforme descrito nas revisões de Aktar, Sengupta e Chodhury (2009) e Pimentel (1995). Independentemente de sua origem, a presença de herbicidas no ar representa um risco à saúde humana e à biodiversidade e deve ser investigada.

A concentração dos agrotóxicos no ar é variável ao longo do tempo e geralmente muito baixa, por isso técnicas adequadas de amostragem e pré-concentração são necessárias para que a sensibilidade dos instrumentos analíticos utilizados nas análises seja alcançada (YUSA et al., 2009). As principais técnicas podem ser agrupadas em duas categorias: uso de coletores ativos ou passivos.

De acordo com Woolfenden (2010), a amostragem ativa é caracterizada pela utilização de cartuchos (contendo um ou mais materiais sorbentes) acoplados à uma bomba de sucção, que força a passagem de ar pelo cartucho a um fluxo constante. A possibilidade de uso de mais de um tipo de sorbente dentro do cartucho aliado ao fluxo constante de ar pelo mesmo propicia elevada versatilidade para o método, porém a necessidade de energia elétrica para funcionamento das bombas é um entrave para sua utilização (principalmente para prolongados períodos de monitoramento ou em regiões de difícil acesso), assim como o alto custo dos equipamentos.

Já os amostradores passivos são dispositivos que coletam substâncias químicas da atmosfera sem a necessidade de uma bomba (por isso são também chamados de amostradores difusivos), e contém um meio (material sorbente) com alta afinidade e capacidade de retenção pelos analitos que se deseja estudar (ZABIEGALA et al., 2010). Na literatura é possível encontrar vários modelos de coletor passivo com diferentes propósitos descritos. Por exemplo, Harner et al. (2003) e Jaward et al. (2004) desenvolveram dois coletores de desenho semelhante (figura 13), mas utilizando polímero EVA e espuma de poliuretano como sorbentes, respectivamente. Já Wania et al. (2003) desenvolveram coletor a base da resina XAD-2 disposta no interior de um tubo de metal finamente perfurado, para monitoramento da presença de poluentes orgânicos persistentes no ar. Algumas desvantagens da amostragem passiva são o difícil estabelecimento da correlação entre a concentração no coletor e no ar, a avaliação da influência das condições ambientais na sorção dos compostos monitorados (KLÁNOVÁ et al., 2008; FRANCISCO; HARNER; ENG, 2017) e da degradação dos compostos sorvidos ao longo do tempo (MELYMUK et al., 2017). No entanto, por serem baratos, simples e possíveis de serem utilizados durante longos períodos de tempo, os coletores passivos são consideradas excelentes ferramentas para o monitoramento ambiental de compostos químicos, como os agrotóxicos.

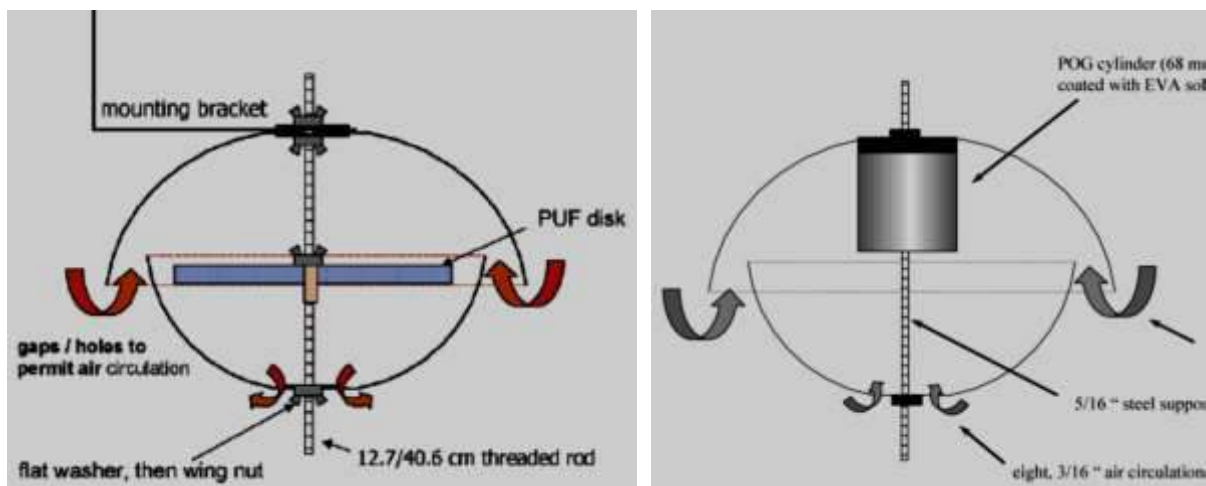


Figura 13 - Amostradores passivos propostos por Harner et al. (2003) e Jaward et al. (2004).

O monitoramento ambiental através do uso de coletores requer que métodos eficientes de extração sejam determinados, para que a molécula em estudo possa ser quantificada após o período de sorção. A extração geralmente consiste no uso de solventes orgânicos e diferentes técnicas que variam em custo e eficiência (RAYNIE, 2006). O método de Soxhlet é um dos mais utilizados pela sua simplicidade e baixo custo, porém tem como desvantagens a elevada quantidade de solvente utilizado e o tempo de extração, que pode chegar até 24 horas (YUSA et al., 2009). Métodos como o uso de ultrassom (LAMMEL et al., 2007) ou a simples imersão em solvente (HARNER et al., 2003) podem ser alternativas viáveis.

Uma característica comum a amostradores passivos e ativos é a classe de compostos monitorados por estes dispositivos. Embora existam exceções, a maioria dos estudos de monitoramento envolvem poluentes orgânicos persistentes como as dioxinas, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, bifenilas policloradas, difenil éteres polibromados e agrotóxicos organoclorados (NAMIEŚNIK et al., 2005; COSCOLLÀ; YUSÀ, 2016). Essas moléculas apresentam características em comum que facilitam seu monitoramento, dentre elas a elevada apolaridade, fazendo com que qualquer material apolar seja um potencial candidato a sorbente. De fato, existem amostradores passivos cujos materiais sorbentes são lipídeos: a tristearina, utilizada por Müller et al. (2000), e a trioleína, utilizado por Huckins, Tubergen e Manaweera (1990). Por este motivo, a maior parte dos coletores passivos já desenvolvidos até o momento não se aplica ao monitoramento de moléculas de caráter mais hidrofílico, como são a maioria dos agrotóxicos atualmente utilizados.

No Brasil uma mudança no cenário da utilização de herbicidas está em vias de ocorrer e os possíveis impactos negativos são ainda desconhecidos. O baixo custo dos herbicidas a base de 2,4-D aliado ao elevado controle que estes proporcionam o faz um dos ingredientes ativos mais importantes no atual manejo integrado de plantas daninhas. Além disso, recentemente foi aprovada no país a tecnologia Enlist, que consiste de cultivares de soja, algodão e milho tolerantes ao 2,4-D, assim como uma nova formulação deste herbicida. Em um primeiro momento, podem ser esperadas duas consequências: o aumento na utilização deste herbicida, e principalmente a extensão do período de aplicação do mesmo, uma vez que este poderá ser aplicado em pós-emergência das culturas. A aplicação desta nova formulação poderá ocorrer em períodos de maior temperatura e menor umidade relativa do ar, condições estas que podem favorecer as perdas durante e após a aplicação e resultar no transporte do ingrediente ativo para a atmosfera. Deste forma, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um coletor passivo para monitoramento do herbicida 2,4-D no ar.

5.2 Materiais e métodos

Para a realização deste estudo, foram realizados três experimentos no Laboratório de Dinâmica Ambiental de Herbicidas, pertencente ao Centro de Herbologia (CEHERB), da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/Universidade Federal de Pelotas. Em um primeiro momento, testou-se diferentes materiais sorbentes quanto sua afinidade com o herbicida, em soluções aquosas de concentração conhecida. Posteriormente, testou-se diferentes métodos de extração e solventes para a retirada do 2,4-D sorvido. Além disso, testes da eficiência de extração foram conduzidos. Por último, propôs-se um protótipo do coletor passivo a ser posteriormente validado.

Experimento 1 – Sorção do herbicida 2,4-D em diferentes materiais sorbentes

O experimento foi conduzido em setembro de 2016, no delineamento inteiramente casualizado. Foram testados quanto à eficiência de sorção do herbicida 2,4-D em uma solução aquosa diferentes materiais sorbentes, sendo estes considerados os tratamentos do ensaio. Os materiais incluíram quatro sorbentes

comerciais utilizados para extração em fase sólida (C18, Strata X-A, Alumina, Carvão Ativado) e quatro bioadsorbentes preparados a partir de frutos de Jerivá (*Syagrus romanzoffiana*). Os bioadsorbentes foram fornecidos pelo Prof. Dr. Fernando Machado Machado (Engenharia de Materiais – UFPel), e consistiram das fibras ou do endocarpo de frutos de Jerivá, secos e triturados em moinho de facas, e passados ou não em peneira 32mesh.

Inicialmente, preparou-se solução de 2,4-D em água destilada, na concentração inicial de 2ppm. Foram colocados 50mL desta solução em tubos Falcon de poliprepileno, e adicionados 125mg de material sorbente, sendo que cada tubo recebeu somente um tipo de material. Considerou-se como unidade experimental um Falcon contendo a solução de 2,4-D mais 125mg de sorbente. Os tratamentos foram compostos por três repetições. Os tubos foram tampados e agitados por 24 horas a 240rpm (agitador orbital Kline NT 150, Weberlab), mantidos à temperatura ambiente.

Após o período de agitação, retirou-se uma alíquota para quantificação do herbicida remanescente na solução. As alíquotas foram filtradas com filtro de seringa PTFE 0,2um e colocadas em vials previamente identificados, permanecendo refrigeradas até o momento da análise.

As análises foram realizadas no Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas (LaCEM), pertencente ao Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos (DCTA – FAEM/UFPel). Para a identificação e quantificação do herbicida 2,4-D foi utilizado cromatógrafo líquido (UFLC, Shimadzu, Japão) acoplado a espectrômetro de massas de alta resolução do tipo quadrupolo-tempo de vôo (Maxis Impact, Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). Para a separação cromatográfica foi utilizada a coluna HyperClone ODS 3µm (C18, 150mm×2mm, Phenomenex). As fases móveis utilizadas foram água ultrapura (A) e acetonitrila (B), ambas acidificadas com 0,1% de ácido fórmico (HILDLE, 2015). O gradiente de eluição utilizado foi de 5% de B até 3 min, 100% de 3 a 9 min e 5% B de 9 a 15 min. O fluxo foi de 0,2 mL.min⁻¹ e a temperatura da coluna foi mantida a 30°C. O espectrômetro de massas foi operado no modo ESI negativo, com espectros adquiridos ao longo de uma faixa de massa de m/z 50 a 700. Os parâmetros de aquisição foram: voltagem do capilar em 4 kV, pressão do gás de nebulização (N₂) de 2 bar, gás de secagem em 8 L.min⁻¹, temperatura da fonte de 180°C, colisão de RF de 150 Vpp; transfer 70 mS e armazenamento pré-pulso de 5 mS. O equipamento foi calibrado com formiato de

sódio 10mM, cobrindo toda a faixa de aquisição (de m/z 50 até 700). Além disso, experimentos automáticos de MS/MS foram realizados ajustando os valores de energia de colisão como se segue: m/z 100, 15 eV; m/z 500, 35 eV; m/z 1000, 50 eV e usando nitrogênio como gás de colisão. As soluções estoque para preparo da curva de calibração foram feitas em acetonitrila na faixa linear de concentração de 0,03 a 4,0 ug.mL⁻¹, sendo que a curva apresentou R² = 0,998. O limite de detecção e quantificação do método foram de 0,0052 e 0,0159 ug.mL⁻¹, respectivamente.

De posse dos dados de concentração final do 2,4-D, calculou-se a eficiência de sorção dos materiais através da seguinte fórmula:

$$\text{Sorção (\%)} = \frac{C_0 - C_1}{C_0} \times 100$$

Onde: C₀ e C₁ correspondem à concentração inicial e final de 2,4-D, respectivamente, em ppm.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e os resíduos foram avaliados graficamente quanto à homocedasticidade e normalidade da distribuição. Uma vez que os pressupostos da ANOVA não foram atendidos, a comparação entre os tratamentos foi realizada com base nos intervalos de confiança (IC) de suas médias. Para o cálculo dos IC, utilizou-se a técnica de *bootstrapping* descrita por Efron e Tibshirani (1986). O método escolhido foi o *Bias-corrected and accelerated*, uma vez que este é o que melhor lida com conjunto de dados pequenos e tolera desvios de normalidade (MANGIAFICO, 2016). Os IC foram calculados com 500 reamostragens, a 95% de probabilidade, com o auxílio do software *R* (R CORE TEAM, 2017) e o pacote *Rcompanion* (versão 1.10.1). A sobreposição dos intervalos de confiança entre as médias representa igualdade estatística entre as mesmas.

Os sorbentes mais eficientes foram selecionados para os experimentos posteriores.

Experimento 2 – Métodos para extração do herbicida 2,4-D sorvido

Visando determinar o método mais efetivo para extração do 2,4-D sorvido, realizou-se experimento em maio de 2017. A primeira etapa deste experimento consistiu da replicação do experimento anterior visando a obtenção do sorbente

contendo o herbicida, porém, desta vez somente um material foi utilizado (Strata X-A, Phenomenex).

Após o período de agitação, as amostras foram filtradas individualmente com o auxílio de um sistema a vácuo e filtros de fibra de vidro para recuperação do sorbente em suspensão. Os filtros contendo Strata X-A recuperado foram secos em estufa a 35°C e alíquotas de 100mg foram pesadas e transferidas para tubos Falcon. A estas alíquotas foram aplicados os tratamentos.

O experimento foi conduzido em DIC no esquema bifatorial (2x3), onde o fator A foi representado pelos métodos de extração e o fator B, pelos solventes. Os métodos testados foram agitação (agitador Kline, NT 150 – Weberlab, 240rpm) ou sonicação (banho de limpeza ultrassom, Q3355D – Quimis, 40KHz), ambos durante dez minutos. O solventes foram: água destilada, acetonitrila (Synth) ou metanol (Synth), todos no volume de 10mL. Considerou-se como unidade experimental um Falcon contendo 100mg de Strata X-A com 2,4-D sorvido + 10mL de solvente. A escolha dos solventes e métodos foi baseada na facilidade de utilização/obtenção e por estes serem usualmente utilizados quando a quantificação do extrato é realizada em HPLC (HARPER, 2000).

Passados os dez minutos estabelecidos para extração do 2,4-D, uma alíquota de cada amostra foi transferida para vial após filtragem com filtro de seringa PTFE. As mesmas foram armazenadas em refrigerador até que fossem analisadas.

A quantificação do 2,4-D extraído foi realizada pelo Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas, da Universidade Federal de Santa Maria (LARP/UFSM). O equipamento utilizado foi cromatógrafo líquido Varian 320-MS equipado com detector do tipo triplo quadrupolo (TQ) *Mass Spectrometer* com fonte API, utilizando o modo de ionização por eletronebulização (Varian, EUA). Para separação cromatográfica utilizou-se a coluna analítica Pursuit XRs Ultra C18 100 × 2.0 mm (d. i.) e 2.8 µm tamanho de partícula. A fase móvel foi composta por (A) solução aquosa de formiato de amônio 5 mM e (B) metanol, com vazão de 0,15 mL.min⁻¹. O gradiente de eluição utilizado foi de 90% (A) de 0 a 3 min; alterando até 50% (A) em 4 min; 5%(A) até 8 min; 2%(A) até 11 min; 2% (A) em 11 min até 13 min; alterando até 90% (A) em 14 min, 90% (A) até 15 min. O volume de injeção foi de 10 µL e o espectrômetro de massas foi operado no modo ESI negativo, com relação m/z para íon precursor de 219 e íon produto de 160,5. O tempo de retenção foi de 8,7 minutos.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e os resíduos foram avaliados graficamente quanto à homocedasticidade e normalidade da distribuição. Uma vez que os pressupostos da ANOVA não foram atendidos, a comparação entre os tratamentos foi realizada com base nos intervalos de confiança (IC) de suas médias. Para o cálculo dos IC, utilizou-se a técnica de *bootstrapping* descrita por Efron e Tibshirani (1986). O método escolhido foi o *Bias-corrected and accelerated*, o que melhor lida com conjunto de dados pequenos e tolera desvios de normalidade (MANGIAFICO, 2016). Os IC foram calculados com 500 reamostragens, a 95% de probabilidade, com auxílio do software *R* (R CORE TEAM, 2017) e pacote *Rcompanion* (versão 1.10.1). A sobreposição dos intervalos de confiança entre as médias representa igualdade estatística entre as mesmas.

A combinação entre método e solvente capaz de extrair a maior quantidade do 2,4-D sorvido foi selecionado para o próximo experimento.

Experimento 3 – Eficiência de extração do herbicida 2,4-D sorvido

Com o objetivo de verificar se a quantidade extraída do herbicida está relacionada com a quantidade retida pelo sorbente, realizou-se em agosto de 2017 um experimento no delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos, que foram representados pelas concentrações iniciais das soluções de 2,4-D: 0,1; 0,5; 1; 2; 4 e 8ppm.

Cada unidade experimental foi representada por um tubo Falcon contendo 50mL de solução de 2,4-D em água destilada + 125mg do sorbente Strata X-A (Phenomenex), e cada tratamento teve três repetições. Após 24 horas de agitação, o sorbente foi recuperado através de filtragem e seco em estufa, conforme relatado anteriormente. Para extração do 2,4-D, utilizou-se o método mais efetivo de acordo com o resultado do experimento 2 (metanol + sonicação). Desta vez, porém, utilizou-se 30 minutos ao invés de 10. Feito isso, alíquotas das amostras foram transferidas para vials HPLC previamente identificados, e os mesmos foram armazenados em geladeira até envio para análise.

Além dos extratos de metanol e com o intuito de realizar o balanço de massa entre o herbicida sorvido e extraído, foram coletadas amostras das soluções de 2,4-D antes e depois da sorção. Estes dados foram importantes pois, sabendo-se a

quantidade do herbicida que encontrava-se retido no sorbente (através da diferença entre a concentração inicial e final nas soluções), foi possível calcular a eficiência de extração do método.

A quantificação do herbicida 2,4-D nos extratos de metanol e nas amostras das soluções foram realizadas no LARP/UFSM, conforme descrito anteriormente.

Os dados de concentração de 2,4-D nos extratos de metanol foram convertidos em porcentagem de extração, e submetidos à análise de regressão linear. Como a regressão não foi significativa, optou-se por demonstrar graficamente os dados e procedeu-se o cálculo do intervalo de confiança a partir de todo conjunto de dados (n=16). Já os dados de concentração inicial e final em amostras de água destilada foram analisados através de estatística descritiva.

5.3 Resultados e discussão

Experimento 1 – Sorção do herbicida 2,4-D em diferentes materiais sorbentes

As médias dos valores de sorção e os respectivos ICs encontram-se ilustrados na figura 14. Primeiramente, podemos observar que os bioadsorbentes tiveram os piores desempenhos do experimento, juntamente com a Alumina, que não diferenciou-se da Fibra de Jerivá passada em peneira 32mesh. Ainda, é possível notar que os compostos Carvão Ativado e Strata X-A foram extremamente eficientes, retirando o 2,4-D da solução em quase que sua totalidade.

A baixa eficiência dos bioadsorbentes pode ser explicada pela pequena superfície de contato dos mesmos, uma vez que foram utilizados in natura e sem passar por qualquer processo de ativação. Okumus et al. (2015) também testaram bioadsorbentes para retirada de 2,4-D de soluções aquosas, porém obtiveram êxito. Naquela ocasião, todavia, os autores utilizaram materiais de granulometria bem mais fina, com partículas de três a seis vezes menor que a testada no presente ensaio.

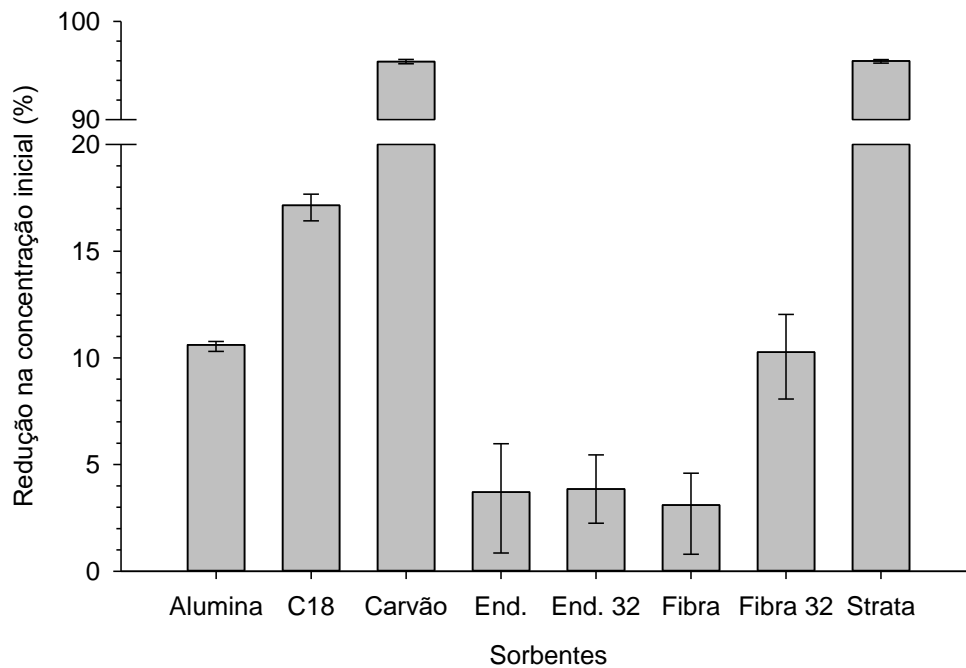


Figura 14 - Médias de porcentagem de sorção para os materiais testados; as barras verticais representam os intervalos de confiança a nível de 95% de probabilidade. Capão do Leão, 2017.

No entanto, sorbentes de elevada superfície específica como a Alumina e o C18 também obtiveram um baixo desempenho, indicando que o tamanho da partícula não é o único fator determinante para sorção. As características físico-químicas do 2,4-D indicam que esta molécula apresenta grande afinidade pela água, e conseqüentemente, fraca afinidade por compostos apolares (como o C18, por exemplo). A situação torna-se ainda mais clara se considerarmos o pH da solução. Por tratar-se de um ácido fraco, a protonação das moléculas de 2,4-D é influenciada pelo pH do meio. Uma vez que o pH da solução era maior que o pKa do herbicida (pH 6 > pKa 2,4), o mesmo encontrava-se principalmente na forma dissociada, que é mais polar, e portanto, interagiu fracamente com as porções apolares em suspensão (figura 15).

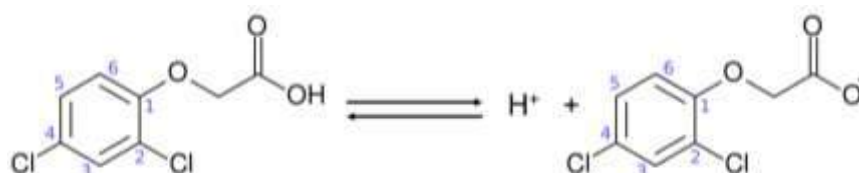


Figura 15 - Ilustração da dissociação reversível do herbicida 2,4-D; em meios ácidos há maior concentração de prótons (H⁺) no meio, que desloca a reação para a esquerda, deixando a molécula na forma protonada. Capão do Leão, 2017.

Os carvões são reconhecidamente excelentes materiais sorbentes e possuem aplicação na área médica (LEVY, 1982), industrial (IQBAL; ASHIQ, 2007) e ambiental (SANTOS et al., 2014). São capazes de reter fortemente grandes quantidades de uma ampla gama de compostos, e as principais propriedades que conferem aos carvões esta eficiência são a elevada superfície específica e reatividade de superfície, assim como a estrutura dos poros (MOHAMMAD-KHAH; ANSARI, 2009; NIELSEN et al., 2014). No entanto, a alta afinidade dos carvões com seus adsorbatos pode representar um aspecto negativo do ponto de vista do monitoramento ambiental, uma vez que técnicas complexas, caras ou que envolvem o uso de solventes tóxicos sejam necessárias para a extração dos compostos.

O sorbente Strata X-A também foi altamente eficiente na retirada do 2,4-D da solução. Este material é comercializado pela empresa Phenomenex, originalmente designado para extração em fase sólida de diferentes analitos, principalmente ácidos fracos. Como pode ser observado na figura 16, o Strata X-A possui carga positiva oriunda da amina quaternária, que interage com as cargas dos ácidos fracos dissociados (que são ânions, possuem carga negativa) e é a principal responsável pela retenção destes analitos, embora mecanismos como partição hidrofóbica e ligações π - π também podem existir.

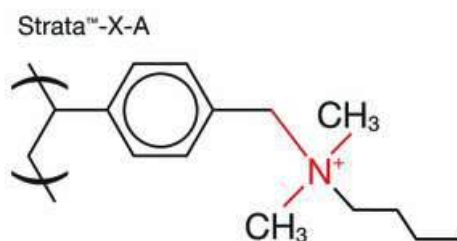


Figura 16 - Polímero Strata X-A com a amina quaternária (responsável pela carga positiva do sorbente) destacada em vermelho. Fonte: Phenomenex.

Embora a efetividade do carvão ativado tenha sido equivalente à do sorbente Strata X-A, optou-se pela escolha do segundo para o prosseguir do projeto. A decisão foi tomada com base em três pontos: (a) a possibilidade de utilizar o sorbente para monitoramento de outros agrotóxicos, pois a eficiência de retenção está relacionada com o caráter ácido-fraco do composto, e muitos herbicidas apresentam esta característica; (b) a falta de metodologias para extração de adsorbatos do carvão ativado aliado à maior chance de encontrar métodos eficientes de extração para o

Strata X-A, uma vez que este é utilizado para extração em fase sólida; (c) por questões de disponibilidade de material.

Experimento 2 – Métodos para extração do herbicida 2,4-D sorvido

A concentração de 2,4-D nos diferentes extratos encontra-se na tabela 10. Podemos observar que somente a combinação entre sonicação e metanol foi capaz de extrair o 2,4-D retido no sorbente Strata X-A.

Tabela 10 - Concentração de 2,4-D após extração por diferentes métodos e solventes

Método	Solvente	Concentração de 2,4-D (ppm)		
		Média	IC (95%)	
Agitação	Acetonitrila	0	-	-
	Água destilada	0	-	-
	Metanol	0	-	-
Sonicação	Acetonitrila	0	-	-
	Água destilada	0	-	-
	Metanol	0,034	0,016	0,048

A técnica de extração assistida por ultrassom pode ser considerada uma “tecnologia verde”, pois pode evitar ou reduzir o uso de solventes tóxicos (como clorofórmio e dissulfeto de carbono) e diminuir a quantidade de resíduos gerados. Apesar de ser amplamente utilizada em outras áreas da ciência (PICÓ, 2013; CHEMAT et al., 2017), poucos trabalhos de monitoramento ambiental de agrotóxicos tem utilizado desta técnica. O mecanismo por trás da extração ultrassônica é o fenômeno de cavitação acústica, que define-se como a formação e colapso de bolhas de ar em meio aquoso causado por ação das ondas (TIWARI, 2015). Embora este seja um fenômeno físico, pode haver influência sobre reações e ligações químicas (MARTINES; DAVOLOS; JAFELICCI JÚNIOR, 2000), como as responsáveis pela sorção do 2,4-D pelo Strata X-A. Isso justificaria a melhora na recuperação do 2,4-D em comparação ao método de agitação.

Como foi o único método capaz de recuperar o 2,4-D, a utilização de metanol e sonicação foi utilizada nos demais experimentos.

Experimento 3 – Eficiência de extração do herbicida 2,4-D sorvido

Os dados de concentração de 2,4-D nas amostras da solução, antes e após o período de sorção com Strata X-A encontram-se na tabela 11. Podemos ver que, novamente, o sorbente foi capaz de alcançar elevados níveis de retenção do herbicida. Além disso, podemos inferir que a capacidade de sorção não foi esgotada, nem mesmo utilizando concentrações altas, comprovando a aplicabilidade deste sorbente para monitoramento ambiental.

Tabela 11 – Concentração inicial e final de soluções aquosas de 2,4-D, após 24 horas de agitação com o sorbente Strata X-A

Tratamento	Concentração 2,4-D na solução			
	Inicial (ppm)		Final (ppm)	
1	0,126 ¹	(0,019) ²	-	-
2	0,63	(0,195)	-	-
3	1,39	(0,015)	-	-
4	2,64	(0,016)	-	-
5	4,90	(0,013)	0,0028 ³	(0,0005) ²
6	5,07	(0,063)	-	-

¹n = 2

²desvio padrão da média

³n = 3

Os dados de recuperação do 2,4-D sorvido pelo método de extração escolhido anteriormente estão ilustrados na figura 17. Como pode ser observado, a regressão linear não foi significativa para o conjunto de dados, então somente as médias com os respectivos desvios padrão estão apresentados.

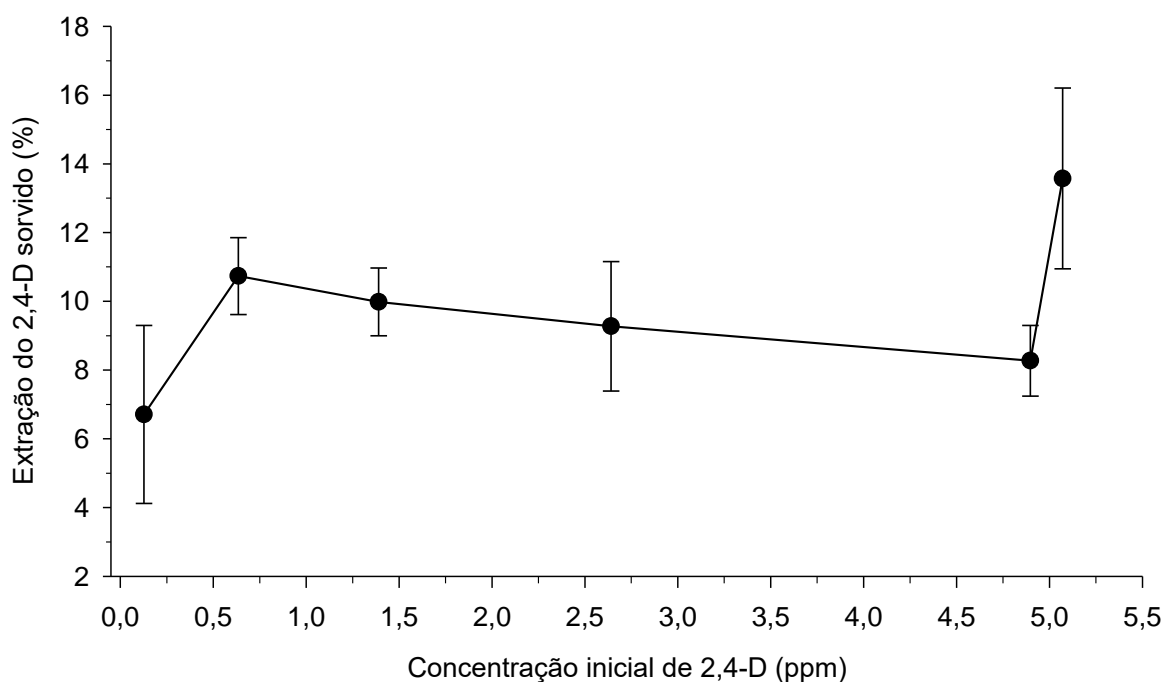


Figura 17 - Porcentagem de extração do 2,4-D em função da concentração inicial da solução aquosa; os pontos representam as médias e as barras representam os desvios padrão da média. Capão do Leão, 2017.

O fato de o método ter apresentado baixo desempenho na extração é amenizado pela relativa constância nos valores encontrados. A média geral do ensaio foi de $9,5\% \pm 1,3\%$ de extração (1,3% corresponde ao intervalo de confiança a 95% de probabilidade). Considerando que houve baixa variação nos resultados, pode-se utilizar este valor como fator de correção. Desta forma, após o período de monitoramento, a concentração encontrada no extrato seria equivalente a cerca de 9,5% da concentração real.

Convém lembrar que a metodologia utilizada na extração é extremamente simples (utiliza equipamentos e solventes disponíveis na maioria dos laboratórios), de baixo custo e com baixo gasto de solvente. O próprio equipamento utilizado para gerar o ultrassom foi adaptado, pois o mesmo destinava-se à limpeza de materiais de laboratório e não foi inicialmente designado para processos de extração. O uso de técnicas mais requintadas (como extração assistida por micro-ondas, extração por fluido supercrítico ou dessorção térmica) pode aumentar esta eficiência.

Além disso, é possível que a simples acidificação do solvente possa aumentar a eficiência de extração, tendo em vista que a forma predominante do herbicida será a protonada e a atração pela carga positiva do solvente será reduzida. Resta saber se nesse caso a partição hidrofóbica entre sorbente e sorbato não será responsável por manter a elevada afinidade entre as moléculas.

Próximos etapas de desenvolvimento do coletor passivo

O projeto de desenvolvimento do coletor passivo para monitoramento do herbicida 2,4-D no ar não será finalizado até a conclusão desta dissertação, porém, crê-se que os resultados obtidos até o momento indicam uma evolução satisfatória para alcançar o objetivo final. Os próximos passos serão: seleção do material adesivo que possibilite a adesão do sorbente à uma superfície; construção do coletor propriamente dito; validação sob condições controladas (laboratório e casa de vegetação); e validação à campo.

Como material adesivo, a ideia inicial é utilizar fitas dupla-face para adesão do sorbente. O benefício da utilização de fita em detrimento de um tipo de cola está na necessidade de manter boa parte da superfície do sorbente exposta, de modo que sua capacidade de retenção não seja afetada. Ao utilizar colas (epóxi, branca lavável, etc.), o material sorbente pode acabar ficando totalmente submerso na mesma, inutilizando o material.

Em um segundo momento, a fita contendo material sorbente seria aderida à uma superfície circular (por exemplo, no exterior de um tubo Falcon), permitindo que o vento seja interceptado pelo coletor em todas as direções. Neste sentido, a utilização de superfícies planas impediria o contato do sorbente com várias direções do vento, o que seria prejudicial, considerando a turbulência e variação na direção do vento normalmente ocorrentes.

O dispositivo contendo a fita (e contendo o sorbente) será protegido da incidência direta da chuva e de radiação solar (visando evitar a degradação dos compostos sorvidos e a possível perda de sorbente em decorrência das chuvas), e disposto no campo para o monitoramento (figura 18). A porção do coletor na qual será aderida a fita será destacável, de modo que a estrutura do coletor poderá permanecer no campo permanentemente, e somente o dispositivo necessitará ser trocado/retirado para quantificação do herbicida.

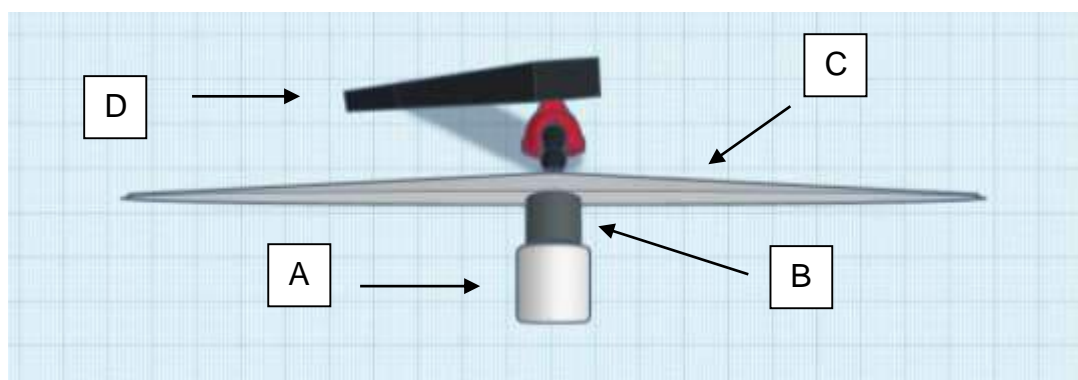


Figura 18 - Vista lateral do coletor passivo para monitoramento do herbicida 2,4-D; (A) fita contendo o Strata X-A, (B) dispositivo em formato circular, destacável, onde será aderida a fita, (C) proteção contra radiação solar e incidência direta de água das chuvas, (D) porção superior da estrutura do coletor passivo; a figura não encontra-se em escala. Capão do Leão, 2017. Fonte: Gomes, 2017

A estrutura do coletor será construída em metal, de modo que resista às intempéries climáticas e tenha vida útil prolongada (figuras 19 e 20). Obviamente, o

protótipo pode ainda sofrer alterações de acordo com o andamento nas pesquisas, mas a concepção inicial para o coletor passivo é esta.

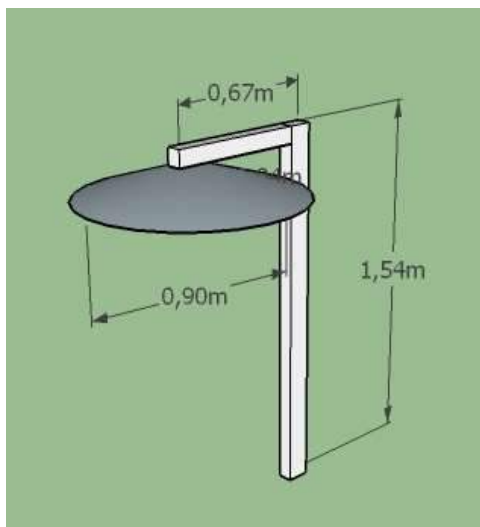


Figura 19 - Vista superior da estrutura do coletor passivo para monitoramento do herbicida 2,4-D; (a) estrutura metálica que será fixada nos locais de monitoramento, (b) proteção contra radiação solar e incidência direta de água das chuvas, mostrado na figura anterior; a figura não encontra-se em escala. Capão do Leão, 2017. Fonte: Gomes, 2017

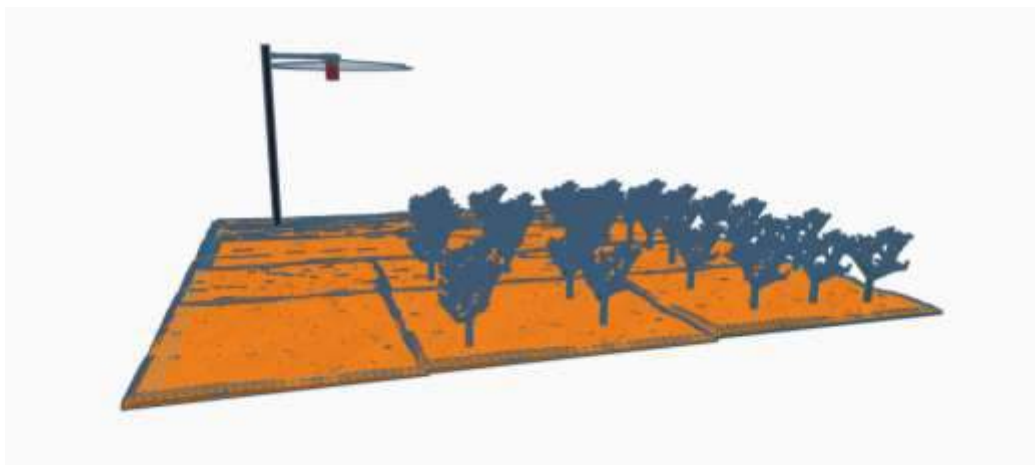


Figura 20 - Representação do coletor passivo para monitoramento do herbicida 2,4-D instalado à campo; a porção destacada em vermelho corresponde ao dispositivo contendo o sorbente; a figura não encontra-se em escala. Capão do Leão, 2017. Fonte: Gomes, 2017

5.4 Conclusões

Os sorbentes Carvão Ativado e Strata X-A apresentam alta afinidade pelo herbicida 2,4-D, sendo este último escolhido para o prosseguimento do projeto.

Dentre os métodos estudados, o único capaz de extrair o 2,4-D retido pelo Strata X-A é a combinação entre sonicação e metanol.

A eficiência de extração do método é pouco afetada pela quantidade de 2,4-D sorvido.

Um protótipo para o coletor passivo foi apresentado, necessitando de aprimoramentos e experimentos adicionais.

6 Conclusões gerais

O herbicida 2,4-D, assim como qualquer outro insumo na agricultura, tem a capacidade de causar prejuízos econômicos e ambientais se utilizado de maneira inadequada. A aplicação em jato dirigido da cultura do fumo não deve ser realizada, não somente pela falta de registro para este fim como também pela possibilidade de contaminação do produto colhido. O 2,4-D pode ser transportado a longas distâncias, através dos processos de deriva e volatilização. Plantas de tomate são bons indicadores da ocorrência de 2,4-D na atmosfera. O coletor passivo em desenvolvimento neste trabalho apresenta potencial para determinação da ocorrência de 2,4-D por longos períodos, podendo ser utilizados como ferramenta para monitoramento da qualidade do ar. Porém, ajustes no processo de extração devem ser feitos.

7 Referências

AKTAR, M. W.; SENGUPTA, D.; CHOWDHURY, A. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. **Interdisciplinary Toxicology**, v. 2, n. 1, p. 1-12, 2009.

AL-KHATIB, K.; GAYLORD, I. M.; GUY, R.; PARKER, R.; HALVOR, W.; LAMB, B. Development of a Biologically-Based System for Detection and Tracking of Airborne Herbicides. **Weed Technology**, v. 7, n. 2, p. 404-410, 1993.

AL HEIDARY, M.; DOUZALS, J. P.; SINFORT, C.; VALLET, A. Influence of spray characteristics on potential spray drift of field crop sprayers: A literature review. **Crop Protection**, v. 63, p. 120-130, 2014.

ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S. J.; ŠTAJNBAHER, D.; SCHENCK, F. J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC International**, v. 86, n. 2, p. 412-431, 2003.

AREND, S. C. Famílias Fumicultoras no Sul do Brasil: Situação Econômica dos Associados à Associação dos Fumicultores do Brasil (AFUBRA). **Redes**, v. 19, n. 2014, p. 118-138, 2014.

ARVIDSSON, T.; BERGSTRÖM, L.; KREUGER, J. Spray drift as influenced by meteorological and technical factors. **Pest Management Science**, v. 67, n. 5, p. 586-598, 2011.

BAJWA, U.; SANDHU, K. S. Effect of handling and processing on pesticide residues in food- a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 2, p. 201-220, 2014.

BARRETO, R. C. S.; NOVAIS, J. M. S. A competitividade internacional do tabaco do sul do Brasil: 1997-2014. **Economia & Região**, v. 4, n. 1, p. 121-138, 2016.

BAUMGARTNER, D.; SOUZA, E. G. D.; COELHO, S. R. M.; MAGGI, M. F. Correlation between 2, 4-D herbicide residues and soil attributes in southern of Brazil. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 48, n. 3, p. 428-437, 2017.

BEDOS, C.; CELLIER, P.; CALVET, R.; BARRIUSO, E.; GABRIELLE, B. Mass transfer of pesticides into the atmosphere by volatilization from soils and plants: overview. **Agronomie**, v. 22, n. 1, p. 21-33, 2002.

BEDOS, C.; ROUSSEAU-DJABRI, M. F.; GABRIELLE, B.; FLURA, D.; DURAND, B.; BARRIUSO, E.; CELLIER, P. Measurement of trifluralin volatilization in the field: Relation to soil residue and effect of soil incorporation. **Environmental Pollution**, v. 144, n. 3, p. 958-966, 2006.

BEKBÖLET, M.; YENIGÜN, O.; YÜCEL, I. Sorption Studies of 2,4-D on Selected Soils. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 111, n. 1, p. 75-88, 1999.

BOUSEBA, B.; ZERTAL, A.; BEGUET, J.; ROUARD, N.; DEVERS, M.; MARTIN, C.; MARTIN-LAURENT, F. Evidence for 2, 4-D mineralisation in Mediterranean soils: impact of moisture content and temperature. **Pest Management Science**, v. 65, n. 9, p. 1021-1029, 2009.

BOUTIN, C.; STRANDBERG, B.; CARPENTER, D.; MATHIASSEN, S. K.; THOMAS, P. J. Herbicide impact on non-target plant reproduction: What are the toxicological and ecological implications? **Environmental Pollution**, v. 185, p. 295-306, 2014.

CARDOSO-GUSTAVSON, P.; FERNANDES, F. F.; ALVES, E. S.; VICTORIO, M. P.; MOURA, B. B.; DOMINGOS, M.; RODRIGUES, C. A.; RIBEIRO, A. P.; NIEVOLA, C. C.; FIGUEIREDO, A. M. G. Tillandsia usneoides: a successful alternative for biomonitoring changes in air quality due to a new highway in São Paulo, Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 2, p. 1779-1788, 2016.

CARLSEN, S. C.; SPLIID, N. H.; SVENSMARK, B. Drift of 10 herbicides after tractor spray application. 1. Secondary drift (evaporation). **Chemosphere**, v. 64, n. 5, p. 787-94, 2006a.

CARLSEN, S. C.; SPLIID, N. H.; SVENSMARK, B. Drift of 10 herbicides after tractor spray application. 2. Primary drift (droplet drift). **Chemosphere**, v. 64, n. 5, p. 778-86, 2006b.

CHAPLAIN, V.; MAMY, L.; VIEUBLÉ-GONOD, L.; MOUGIN, C.; BENOIT, P.; BARRIUSO, E.; NÉLIEU, S. Fate of Pesticides in Soils: Toward an Integrated Approach of Influential Factors. In: STOYTCHIEVA, M. (Ed.). **Pesticides in the Modern World - Risks and Benefits**. InTech, 2011. p.535-560.

CHAUHAN, R.; KUMARI, B.; RANA, M. Effect of fruit and vegetable processing on reduction of synthetic pyrethroid residues. In: (Ed.). **Reviews of environmental contamination and toxicology**: Springer, 2014. p.89-110.

CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A.-G.; MEULLEMIESTRE, A.; FABIANO-TIXIER, A.-S.; ABERT-VIAN, M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, n. Supplement C, p. 540-560, 2017.

COBB, A. H.; READE, J. P. Auxin-type herbicides. In: COBB, A. H. e READE, J. P. (Ed.). **Herbicides and Plant Physiology**. 2nd ed. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2010. p.133-156.

CORESTA. **Guide No. 1 - The Concept and Implementation of CPA Guidance Residue Levels.** Disponível em: https://www.coresta.org/sites/default/files/technical_documents/main/Guide-No01-GRLs4th-Issue-July16.pdf.

COSCOLLÀ, C.; YUSÀ, V. Chapter 17 - Pesticides and Agricultural Air Quality. In: DE LA GUARDIA, M. e ARMENTA, S. (Ed.). **Comprehensive Analytical Chemistry**: Elsevier, v.73, 2016. p.423-490. ISBN 0166-526X.

CRESPÍN, M. A.; GALLEGO, M.; VALCÁRCEL, M.; GONZÁLEZ, J. L. Study of the Degradation of the Herbicides 2,4-D and MCPA at Different Depths in Contaminated Agricultural Soil. **Environmental Science & Technology**, v. 35, n. 21, p. 4265-4270, 2001.

DA SILVEIRA, R. L. L. A cultura do tabaco na Região Sul do Brasil: dinâmica de produção, organização espacial e características socioeconômicas. **Geografia Ensino & Pesquisa**, v. 19, n. 2, p. 23-40, 2015.

DAMALAS, C. A.; ELEFTHEROHORINOS, I. G. Pesticide Exposure, Safety Issues, and Risk Assessment Indicators. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 8, n. 5, p. 1402, 2011.

DE SOUSA, J. A.; DE OLIVEIRA FEITOSA, H.; DE CARVALHO, C. M.; PEREIRA, C. F.; DE OLIVEIRA FEITOSA, S.; DA SILVA, S. L. Percepção dos Produtores Rurais Quanto ao Uso de Agrotóxicos. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 10, n. 5, p. 976-989, 2016.

DÍEZ, C.; BARRADO, E. Soil-dissipation kinetics of twelve herbicides used on a rain-fed barley crop in Spain. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 397, n. 4, p. 1617-1626, 2010.

DONNARUMMA, L.; POMPI, V.; FARACI, A.; CONTE, E. Dieldrin uptake by vegetable crops grown in contaminated soils. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 44, n. 5, p. 449-454, 2009.

EFRON, B.; TIBSHIRANI, R. Bootstrap Methods for Standard Errors, Confidence Intervals, and Other Measures of Statistical Accuracy. **Statistical Science**, v. 1, n. 1, p. 54-75, 1986.

EGAN, J. F.; BOHNENBLUST, E.; GOSLEE, S.; MORTENSEN, D.; TOOKER, J. Herbicide drift can affect plant and arthropod communities. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 185, p. 77-87, 2014.

FELSOT, A. S.; BHATTI, M. A.; MINK, G. I.; REISENAUER, G. Biomonitoring with sentinel plants to assess exposure of nontarget crops to atmospheric deposition of

herbicide residues. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 15, n. 4, p. 452-459, 1996.

FELSOT, A. S.; UNSWORTH, J. B.; LINDERS, J. B.; ROBERTS, G.; RAUTMAN, D.; HARRIS, C.; CARAZO, E. Agrochemical spray drift; assessment and mitigation--a review. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 46, n. 1, p. 1-23, 2011.

FERRARI, F.; KARPOUZAS, D. G.; TREVISAN, M.; CAPRI, E. Measuring and Predicting Environmental Concentrations of Pesticides in Air after Application to Paddy Water Systems. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 9, p. 2968-2975, 2005.

FORERO, L. G.; LIMAY-RIOS, V.; XUE, Y.; SCHAAFSMA, A. Concentration and movement of neonicotinoids as particulate matter downwind during agricultural practices using air samplers in southwestern Ontario, Canada. **Chemosphere**, v. 188, p. 130-138, 2017.

FRANCISCO, A. P.; HARNER, T.; ENG, A. Measurement of polyurethane foam-air partition coefficients for semivolatile organic compounds as a function of temperature: Application to passive air sampler monitoring. **Chemosphere**, v. 174, p. 638-642, 2017.

FRANS, R.; TALBERT, R.; MARX, D.; CROWLEY, H. Experimental design and techniques for measuring and analysing plant responses to weed control practices. In: CAMPER, E. (Ed.). **Research methods in weed science**. 3rd ed. Champaign: Southern Weed Science Society, 1986. p.29-46.

GAVRILESCU, M. Fate of Pesticides in the Environment and its Bioremediation. **Engineering in Life Sciences**, v. 5, n. 6, p. 497-526, 2005.

GILREATH, J. P.; SANTOS, B. M.; CHASE, C. A.; LOCASCIO, S. J. Influence of soil fumigation on 2, 4-D and dicamba carryover in fresh market tomato. **Crop Protection**, v. 25, n. 10, p. 1095-1100, 2006.

GOEL, A.; MCCONNELL, L. L.; TORRENTS, A. Wet Deposition of Current Use Pesticides at a Rural Location on the Delmarva Peninsula: Impact of Rainfall Patterns and Agricultural Activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 20, p. 7915-7924, 2005.

GOMES, J.P.S. Arquivo pessoal. 2017

GOUIN, T.; WANIA, F.; RUEPERT, C.; CASTILLO, L. Field testing passive air samplers for current use pesticides in a tropical environment. **Environmental Science & Technology**, v. 42, n. 17, p. 6625-6630, 2008.

GROVER, R.; MAYBANK, J.; YOSHIDA, K. Droplet and Vapor Drift from Butyl Ester and Dimethylamine Salt of 2,4-D. **Weed Science**, v. 20, n. 4, p. 320-324, 1972.

GRÜTZMACHER, D. D.; GRÜTZMACHER, A. D.; AGOSTINETTO, D.; LOECK, A. E.; ROMAN, R.; PEIXOTO, S. C.; ZANELLA, R. Monitoramento de agrotóxicos em dois mananciais hídricos no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 12, p. 632-637, 2008.

HAN, S. O.; NEW, P. B. Effect of water availability on degradation of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D) by soil microorganisms. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 26, n. 12, p. 1689-1697, 1994.

HARNER, T.; FARRAR, N. J.; SHOEIB, M.; JONES, K. C.; GOBAS, F. A. Characterization of polymer-coated glass as a passive air sampler for persistent organic pollutants. **Environmental Science & Technology**, v. 37, n. 11, p. 2486-2493, 2003.

HARPER, M. Sorbent trapping of volatile organic compounds from air. **Journal of Chromatography A**, v. 885, n. 1, p. 129-151, 2000.

HEMPHILL, D. D.; MONTGOMERY, M. L. Response of vegetable crops to sublethal application of 2, 4-D. **Weed Science**, v. 29, n. 6, p. 632-635, 1981.

HILL, B. D.; HARKER, K.; HASSELBACK, P.; INABA, D. A. N. J.; BYERS, S. D.; MOYER, J. I. M. R. Herbicides in Alberta Rainfall as Affected by Location, Use and Season: 1999 to 2000. **Water Quality Research Journal of Canada**, v. 37, n. 3, p. 515-542, 2002.

HUCKINS, J. N.; TUBERGEN, M. W.; MANUWEERA, G. K. Semipermeable membrane devices containing model lipid: A new approach to monitoring the bioavailability of lipophilic contaminants and estimating their bioconcentration potential. **Chemosphere**, v. 20, n. 5, p. 533-552, 1990.

IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola - Set 2007**. Rio de Janeiro: IBGE, 2017. Disponível em: <
https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/6/lspa_pesq_2017_set.pdf>.

INACIO, E. M. **Impactos da deriva do herbicida 2,4-D em culturas sensíveis**. 2016. 93p (Doutorado). Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba.

IQBAL, M. J.; ASHIQ, M. N. Adsorption of dyes from aqueous solutions on activated charcoal. **Journal of Hazardous Materials**, v. 139, n. 1, p. 57-66, 2007.

JAWARD, F. M.; FARRAR, N. J.; HARNER, T.; SWEETMAN, A. J.; JONES, K. C. Passive Air Sampling of PCBs, PBDEs, and Organochlorine Pesticides Across Europe. **Environmental Science & Technology**, v. 38, n. 1, p. 34-41, 2004.

JENSEN, A. R.; SPLIID, N. H.; SVENSMARK, B. Determination of volatilization (dissipation) and secondary deposition of pesticides in a field study using passive dosimeters. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 87, n. 13-14, p. 913-926, 2007.

JOHNSON, W. G.; TERRY, L. L.; GBUR, E. E. Sorption, Mobility and Degradation of Triclopyr and 2,4-D on Four Soils. **Weed Science**, v. 43, n. 4, p. 678-684, 1995.

KAUSHIK, G.; SATYA, S.; NAIK, S. Food processing a tool to pesticide residue dissipation—A review. **Food Research International**, v. 42, n. 1, p. 26-40, 2009.

KELLEY, K. B.; ZHANG, Q.; LAMBERT, K. N.; RIECHERS, D. E. Evaluation of Auxin-Responsive Genes in Soybean for Detection of Off-Target Plant Growth Regulator Herbicides. **Weed Science**, v. 54, n. 2, p. 220-229, 2006.

KLÁNOVÁ, J.; ÈUPR, P.; KOHOUTEK, J.; HARNER, T. Assessing the Influence of Meteorological Parameters on the Performance of Polyurethane Foam-Based Passive Air Samplers. **Environmental Science & Technology**, v. 42, n. 2, p. 550-555, 2008.

KNEZEVIC, S. Z.; STREIBIG, J. C.; RITZ, C. Utilizing R software package for dose-response studies: the concept and data analysis. **Weed Technology**, v. 21, n. 3, p. 840-848, 2007.

LAMMEL, G.; GHIM, Y.-S.; GRADOS, A.; GAO, H.; HÜHNERFUSS, H.; LOHMANN, R. Levels of persistent organic pollutants in air in China and over the Yellow Sea. **Atmospheric Environment**, v. 41, n. 3, p. 452-464, 2007.

LEVY, G. Gastrointestinal Clearance of Drugs with Activated Charcoal. **New England Journal of Medicine**, v. 307, n. 11, p. 676-678, 1982.

LIU, C.; LI, L.; WANG, S.; YOU, X.; JIANG, S.; LIU, F. Dissipation and residue of 2,4-D isooctyl ester in wheat and soil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, n. 7, p. 4247-4251, 2012.

LUO, C.; LIU, C.; WANG, Y.; LIU, X.; LI, F.; ZHANG, G.; LI, X. Heavy metal contamination in soils and vegetables near an e-waste processing site, south China. **Journal of Hazardous Materials**, v. 186, n. 1, p. 481-490, 2011.

MACUR, R. E.; WHEELER, J. T.; BURR, M. D.; INSKEEP, W. P. Impacts of 2,4-D application on soil microbial community structure and on populations associated with 2,4-D degradation. **Microbiological Research**, v. 162, n. 1, p. 37-45, 2007.

MALAYERI, B. E.; NOORI, M.; JAFARI, M. Using the Pollen Viability and Morphology for Fluoride Pollution Biomonitoring. **Biological Trace Element Research**, v. 147, n. 1, p. 315-319, 2012.

MANGIAFICO, S. **Summary and Analysis of Extension Program Evaluation in R, version 1.9.0**. New Brunswick, NJ: Rutgers Cooperative Extension, 2016. 560p.

MARQUES, C. R. G.; NEVES, P. M. O. J.; VENTURA, M. U. Diagnóstico do conhecimento de informações básicas para o uso de agrotóxicos por produtores de hortaliças da Região de Londrina. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, 2010.

MARTINES, M. A. U.; DAVOLOS, M. R.; JAFELICCI JÚNIOR, M. O efeito do ultrassom em reações químicas. **Química Nova**, p. 251-256, 2000.

MELYMUK, L.; BOHLIN-NIZZETTO, P.; PROKEŠ, R.; KUKUČKA, P.; PŘIBYLOVÁ, P.; VOJTA, Š.; KOHOUTEK, J.; LAMMEL, G.; KLÁNOVÁ, J. Uncertainties in monitoring of SVOCs in air caused by within-sampler degradation during active and passive air sampling. **Atmospheric Environment**, v. 167, p. 553-565, 2017.

MOHAMMAD-KHAH, A.; ANSARI, R. Activated Charcoal: Preparation, Characterization and Applications: a Review Article. **International Journal of ChemTech Research**, v. 1, n. 4, p. 859-864, 2009.

MÜLLER, J. F.; HAWKER, D. W.; CONNELL, D. W.; KÖMP, P.; MCLACHLAN, M. S. Passive sampling of atmospheric SOCs using tristearin-coated fibreglass sheets. **Atmospheric Environment**, v. 34, n. 21, p. 3525-3534, 2000.

NAMIEŚNIK, J.; ZABIEGAŁA, B.; KOT-WASIK, A.; PARTYKA, M.; WASIK, A. Passive sampling and/or extraction techniques in environmental analysis: a review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 381, n. 2, p. 279-301, 2005.

NELSON, M. R. **The Effect of Spray Parameters on the Application of Enlist Duo**. 2017. 115p (Master's thesis). University of Nebraska, Lincoln, NE.

NIELSEN, L.; BIGGS, M. J.; SKINNER, W.; BANDOSZ, T. J. The Effects of Activated Carbon Surface Features on the Reactive Adsorption of Carbamazepine and Sulfamethoxazole. **Carbon**, v. 80, p. 419-432, 2014.

NUNES, A. L.; VIDAL, R. A. Seleção de plantas quantificadoras de herbicidas residuais. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 19, p. 19-28, 2009.

NUYTTENS, D.; DE SCHAMPHELEIRE, M.; BAETENS, K.; SONCK, B. The Influence of Operator-Controlled Variables on Spray Drift from Field Crop Sprayers. **Transactions of the ASABE**, v. 50, n. 4, p. 1129, 2007.

OKUMUŞ, V.; ÇELİK, K. S.; ÖZDEMİR, S.; DÜNDAR, A.; KILINÇ, E. Biosorption of chlorophenoxy acid herbicides from aqueous solution by using low-cost agricultural wastes. **Desalination and Water Treatment**, v. 56, n. 7, p. 1898-1907, 2015.

OSHA. **OSHA method 62, Chlorpyrifos (Dursban), DDVP (Dichlorvos), Diazinon, Malathion, Parathion by GC/ECD**. Disponível em: <https://www.osha.gov/dts/sltc/methods/organic/org062/org062.html>.

PARMAR, T. K.; RAWTANI, D.; AGRAWAL, Y. K. Bioindicators: the natural indicator of environmental pollution. **Frontiers in Life Science**, v. 9, n. 2, p. 110-118, 2016.

PICÓ, Y. Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 43, n. Supplement C, p. 84-99, 2013.

PIMENTEL, D. Amounts of pesticides reaching target pests: Environmental impacts and ethics. **Journal of Agricultural and Environmental Ethics**, v. 8, n. 1, p. 17-29, 1995.

R CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing.** Version 3.4.2. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2017. <https://www.R-project.org/>

RAEPPPEL, C.; FABRITIUS, M.; NIEF, M.; APPENZELLER, B. M.; BRIAND, O.; TUDURI, L.; MILLET, M. Analysis of airborne pesticides from different chemical classes adsorbed on Radiello(R) Tenax(R) passive tubes by thermal-desorption-GC/MS. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 4, p. 2726-2734, 2015.

RAHMAN, M. A.; CHOWDHURY, A. Z.; MONIRUZZAMAN, M.; GAN, S. H.; ISLAM, M. N.; FARDOUS, Z.; ALAM, M. K. Pesticide Residues in Tobacco Leaves from the Kushtia District in Bangladesh. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 89, n. 3, p. 658-663, 2012.

RAYNIE, D. E. Modern Extraction Techniques. **Analytical Chemistry**, v. 78, n. 12, p. 3997-4004, 2006.

RICE, C. P.; NOCHETTO, C. B.; ZARA, P. Volatilization of Trifluralin, Atrazine, Metolachlor, Chlorpyrifos, α -Endosulfan, and β -Endosulfan from Freshly Tilled Soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 14, p. 4009-4017, 2002.

RITZ, C.; STREIBIG, J. C. Bioassay analysis using R. **Journal of Statistical Software**, v. 12, n. 5, p. 1-22, 2005.

SANDMANN, E. R. I. C.; LOOS, M. A.; VAN DYK, L. P. The Microbial Degradation of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid in Soil. In: WARE, G. W. (Ed.). **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**. New York, NY: Springer New York, 1988. p.1-53.

SANTOS, N. M. D.; ACCIOLY, A. M. D. A.; NASCIMENTO, C. W. A. D.; SANTOS, J. A. G.; SILVA, I. R. Ácidos húmicos e carvão vegetal ativado como amenizantes em solo contaminado por chumbo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, p. 345-351, 2014.

SCHREIBER, F.; AVILA, L. A. D.; SCHERNER, A.; MOURA, D. D. S.; HELGUEIRA, D. B. Plantas indicadoras de clomazone na fase vapor. **Ciência Rural**, v. 43, p. 1817-1823, 2013.

SCHRÜBBERS, L. C.; VALVERDE, B. E.; SØRENSEN, J. C.; CEDERGREEN, N. Glyphosate spray drift in Coffea arabica—Sensitivity of coffee plants and possible use of shikimic acid as a biomarker for glyphosate exposure. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 115, p. 15-22, 2014.

SCHUMMER, C.; TUDURI, L.; BRIAND, O.; APPENZELLER, B. M.; MILLET, M. Application of XAD-2 resin-based passive samplers and SPME–GC–MS/MS analysis for the monitoring of spatial and temporal variations of atmospheric pesticides in Luxembourg. **Environmental Pollution**, v. 170, n. Supplement C, p. 88-94, 2012.

SCIUMBATO, A. S.; CHANDLER, J. M.; SENSEMAN, S. A.; BOVEY, R. W.; SMITH, K. L. Determining exposure to auxin-like herbicides. I. Quantifying injury to cotton and soybean. **Weed Technology**, v. 18, n. 4, p. 1125-1134, 2004.

SENSEMAN, S. A. **Herbicide Handbook**. Ninth ed. Lawrence, KS: Weed Science Society of America, 2007. 458 pp.

SHAHSAVARI, A. A.; KHODAEI, K.; ASADIAN, F.; AHMADI, F.; ZAMANZADEH, S. M. Groundwater pesticides residue in the southwest of Iran-Shushtar plain. **Environmental Earth Sciences**, v. 65, n. 1, p. 231-239, 2012.

SILVA, F. B.; VITAL, R. G.; BATISTA, P. F.; COSTA, A. C.; JAKELAITIS, A. Deriva da aplicação de herbicidas sobre plantas cultivadas e nativas: uma revisão. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 15, n. 1, 2016.

SMITH, G. Ambient ozone injury to forest plants in Northeast and North Central USA: 16 years of biomonitoring. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, n. 7, p. 4049-4065, 2012.

SOSNOSKIE, L. M.; CULPEPPER, A. S.; BRAXTON, L. B.; RICHBURG, J. S. Evaluating the Volatility of Three Formulations of 2,4-D When Applied in the Field. **Weed Technology**, v. 29, n. 02, p. 177-184, 2015.

STREIBIG, J. C.; GREEN, J. M. Dose, Drift, and Non-Target Organisms. In: DUKE, S. O.; KUDSK, P., *et al* (Ed.). **Pesticide Dose: Effects on the Environment and Target and Non-Target Organisms**: American Chemical Society, v.1249, 2017. cap. 3, p.25-45. (ACS Symposium Series). ISBN 0-8412-3211-3.

THOMPSON, M. A.; STECKEL, L. E.; ELLIS, A. T.; MUELLER, T. C. Soybean tolerance to early preplant applications of 2, 4-D ester, 2, 4-D amine, and dicamba. **Weed Technology**, v. 21, n. 4, p. 882-885, 2007.

TIWARI, B. K. Ultrasound: A clean, green extraction technology. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 100-109, 2015.

TROYER, J. R. In the beginning: the multiple discovery of the first hormone herbicides. **Weed Science**, v. 49, n. 2, p. 290-297, 2001. Acesso em: 2017/09/13.

VOOS, G.; GROFFMAN, P. Dissipation of 2, 4-D and dicamba in a heterogeneous landscape. **Applied Soil Ecology**, v. 5, n. 2, p. 181-187, 1997.

WAITE, D. T.; BAILEY, P.; SPROULL, J. F.; QUIRING, D. V.; CHAU, D. F.; BAILEY, J.; CESSNA, A. J. Atmospheric concentrations and dry and wet deposits of some herbicides currently used on the Canadian Prairies. **Chemosphere**, v. 58, n. 6, p. 693-703, 2005.

WAITE, D. T.; CESSNA, A. J.; GURPRASAD, N. P.; BANNER, J. A new sampler for collecting separate dry and wet atmospheric depositions of trace organic chemicals. **Atmospheric Environment**, v. 33, n. 10, p. 1513-1523, 1999.

WALL, D. A. Effect of sublethal dosages of 2,4-D on annual broadleaf crops. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 76, n. 1, p. 179-185, 1996.

WANIA, F.; SHEN, L.; LEI, Y. D.; TEIXEIRA, C.; MUIR, D. C. G. Development and Calibration of a Resin-Based Passive Sampling System for Monitoring Persistent Organic Pollutants in the Atmosphere. **Environmental Science & Technology**, v. 37, n. 7, p. 1352-1359, 2003.

WAUCHOPE, R.; BUTTLER, T.; HORNSBY, A.; AUGUSTIJN-BECKERS, P.; BURT, J. The SCS/ARS/CES pesticide properties database for environmental decision-making. In: (Ed.). **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**: Springer, 1992. p.1-155.

WILSON, R. D.; GERONIMO, J.; ARMBRUSTER, J. A. 2, 4-D dissipation in field soils after applications of 2, 4-D dimethylamine salt and 2, 4-D 2-ethylhexyl ester. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 16, n. 6, p. 1239-1246, 1997.

WOOLFENDEN, E. Sorbent-based sampling methods for volatile and semi-volatile organic compounds in air Part 1: Sorbent-based air monitoring options. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2674-2684, 2010.

WRIGHT, T. R.; SHAN, G.; WALSH, T. A.; LIRA, J. M.; CUI, C.; SONG, P.; ZHUANG, M.; ARNOLD, N. L.; LIN, G.; YAU, K.; RUSSELL, S. M.; CICCHILLO, R. M.; PETERSON, M. A.; SIMPSON, D. M.; ZHOU, N.; PONSAMUEL, J.; ZHANG, Z. Robust crop resistance to broadleaf and grass herbicides provided by aryloxyalkanoate dioxygenase transgenes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 47, p. 20240-20245, 2010.

YUSA, V.; COSCOLLA, C.; MELLOUKI, W.; PASTOR, A.; DE LA GUARDIA, M. Sampling and analysis of pesticides in ambient air. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 15, p. 2972-2983, 2009.

ZABIEGALA, B.; KOT-WASIK, A.; URBANOWICZ, M.; NAMIESNIK, J. Passive sampling as a tool for obtaining reliable analytical information in environmental quality monitoring. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 396, n. 1, p. 273-296, 2010.