

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO**

LÍVIA DE MELLO PEREIRA

**FITOTOXICIDADE DO HERBICIDA 2,4-D EM PLANTAS USADAS NA
ADUBAÇÃO VERDE**

São Carlos, SP

2023

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO

Fitotoxicidade do herbicida 2,4-D em plantas usadas na adubação verde

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia Ambiental, da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Engenheira Ambiental.

Aluna: Lívia de Mello Pereira

Orientador: Dr. Allan Pretti Ogura

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos
2023

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO,
POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS
DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da
EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

P436f Pereira, Livia de Mello
 Fitotoxicidade do herbicida 2,4-D em plantas usadas
na adubação verde / Livia de Mello Pereira; orientador
Allan Pretti Ogura . São Carlos, 2023.

 Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) --
Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de
São Paulo, 2023.

 1. Agrotóxicos. 2. Ecotoxicologia. 3.
Fitotoxicidade. I. Título.

Eduardo Graziosi Silva - CRB - 8/8907

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato(a): **Livia de Mello Pereira**

Data da Defesa: 14/11/2023

Comissão Julgadora:

Resultado:

Allan Pretti Ogura (Orientador(a))

Aprovada

Jéssica Pelinsom Marques

Aprovada

Mayara Caroline Felipe

Aprovada



Prof. Dr. Marcelo Zaiat

Coordenador da Disciplina 1800091- Trabalho de Graduação

*Dedico este trabalho a todos que me
apoiaram durante a graduação*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha família, que possibilitou que eu concluísse a graduação, apoiando minha trajetória nesses 6 anos psicológica e financeiramente.

Ao Allan, que me orientou durante todo o processo envolvido neste trabalho.

Ao professor Evaldo Espíndola, pelo suporte e por disponibilizar a estrutura do laboratório do Núcleo de Ecotoxicologia e Ecologia Aplicada (NEEA).

Ao Programa Unificado de Bolsas da Universidade de São Paulo (PUB-USP), pela bolsa de iniciação científica concedida (Edital 2018/19).

Aos meus amigos, em especial Nely, Kauane, Thaís, Erika e Erick, pela companhia e apoio desde o primeiro semestre.

E, por fim, a todos que, de alguma forma, cruzaram o meu caminho e contribuíram para que essa etapa fosse concluída com sucesso.

“Somente quando for cortada a última árvore, pescado o último peixe, poluído o último rio, que as pessoas vão perceber que não podem comer dinheiro.”

Provérbio indígena

RESUMO

PEREIRA, L. M. **Fitotoxicidade do herbicida 2,4-D em plantas usadas na adubação verde.** 2023. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2023.

Os agrotóxicos são amplamente utilizados em diversos cultivos, como na cana-de-açúcar, e estão associados a diferentes impactos ambientais. O herbicida 2,4-D, por exemplo, pode causar fitotoxicidade em diferentes espécies vegetais, incluindo plantas leguminosas que podem ser utilizadas para a adubação verde. Nesse contexto, a presente pesquisa teve como objetivo identificar a fitotoxicidade do 2,4-D durante o crescimento inicial de seis espécies de plantas terrestres, incluindo *Cajanus cajan*, *Canavalia ensiformis*, *Crotalaria juncea*, *Dolichos lablab*, *Lupinus albus* e *Mucuna pruriens*. Para isso, as plantas foram expostas a 6 concentrações de 2,4-D (0; 0,8; 1,6; 2,4; 3,2 e 4,0 mg i.a. kg⁻¹), considerando 4 réplicas e duração de 14 dias após a germinação do controle. Os *endpoints* foram a porcentagem de germinação, o crescimento da parte aérea e da raiz, além da biomassa fresca e seca. Os resultados de biomassa fresca e seca foram analisados por meio do Índice de Tolerância (IT) e as concentrações de efeito de inibição de 50% do crescimento foram calculadas para germinação e crescimento da parte aérea e da raiz. A germinação da maioria das espécies foi alta (acima de 87,5%), com exceção apenas de *C. cajan* e *L. albus* nas maiores concentrações. O crescimento de todas as espécies foi prejudicado diante da exposição ao 2,4-D, sendo que o aumento das concentrações do herbicida provocou o decréscimo do comprimento da parte aérea e das raízes. Os efeitos foram mais evidentes para a inibição do crescimento de *L. albus*, *C. juncea*, *D. lablab* e *C. cajan* em comparação com *C. ensiformis* e *M. pruriens*. Dentre os sintomas qualitativos de fitotoxicidade que foram observados, destacam-se as raízes inchadas e o amarelamento das folhas. Portanto, observa-se a fitotoxicidade do herbicida 2,4-D mesmo em doses inferiores às utilizadas no cultivo de cana-de-açúcar. A espécie *M. pruriens* foi a planta mais resistente, com IT superior a 60% em todos os tratamentos, destacando-se como a espécie com maior potencial para para adubação verde de cultivos de cana-de-açúcar no período entressafra.

Palavras-chave: Agrotóxicos. Ecotoxicologia. Leguminosas.

ABSTRACT

PEREIRA, L. M. **Phytotoxicity of the herbicide 2,4-D on green manure plant species.** 2023. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2023.

Pesticides are widely used in various crops, such as sugarcane, and are associated with various environmental impacts. The herbicide 2,4-D, for example, can cause phytotoxicity in different plant species, including leguminous plants that can be used for green manure. In this context, the present research aimed to identify the phytotoxicity of 2,4-D during the initial growth of six terrestrial plant species, including *Cajanus cajan*, *Canavalia ensiformis*, *Crotalaria juncea*, *Dolichos lablab*, *Lupinus albus* e *Mucuna pruriens*. The studied plants were exposed to six concentrations of 2,4-D (0, 0.8, 1.6, 2.4, 3.2, and 4.0 mg a.i kg⁻¹), with four replicates and a duration of 14 days after control germination. The endpoints were the germination percentage, the shoot and root growth, and fresh and dry biomass. The results of fresh and dry biomass were interpreted in terms of Tolerance Index (TI), and the concentrations of 50% growth inhibition effect were calculated for germination and shoot and root growth. The germination of most species was high, except for *C. cajan* and *L. albus* in the highest concentrations. The growth of all species was impaired when exposed to 2,4-D, with an increase in herbicide concentrations leading to a decrease in shoot and root length. The effects were more pronounced for the growth inhibition of *L. albus*, *C. juncea*, *D. lablab*, and *C. cajan* compared to *C. ensiformis* and *M. pruriens*. Swollen roots and yellowing of leaves stood out among the qualitative symptoms of phytotoxicity. Therefore, phytotoxicity of the herbicide 2,4-D is observed even at lower doses than those used in sugarcane cultivation. The species *M. pruriens* was the most resistant plant, with a TI greater than 60% in all treatments, standing out as the species with the greatest potential for green manure in sugarcane crops during the offseason.

Keywords: Pesticides. Ecotoxicology. Legumes.

LISTA DE SÍMBOLOS E SIGLAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

AIA – Ácido Indolacético

ABA – Ácido Abscísico

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

IT – Índice de Tolerância

MOS – Matéria Orgânica do Solo

et al. – Do latim “et alii”, significa “e outros”

i.a. – Ingrediente Ativo

i.e – Isto é

g – Grama

mg – Miligrama

kg – Quilograma

µg – Micrograma

°C – graus Celsius

Koc – Constante de sorção normalizado para o teor de carbono orgânico

h – Hora

ha – Hectare

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura molecular do 2,4-D.....	22
Figura 2: Ensaio de fitotoxicidade, com destaque para a disposição dos experimentos (a), plantação das sementes (b), plântulas desenvolvidas para desbaste (c) e visão geral das réplicas de uma espécie (d).....	27
Figura 3: Crescimento da parte aérea e da raiz das espécies <i>C. cajan</i> (a), <i>C. ensiformis</i> (b), <i>C. juncea</i> (c), <i>D. lablab</i> (d), <i>L. albus</i> (e) e <i>M. pruriens</i> (f).....	31
Figura 4: Inibição do crescimento da parte aérea e da raiz das espécies <i>C. cajan</i> (a), <i>C. ensiformis</i> (b), <i>C. juncea</i> (c), <i>D. lablab</i> (d), <i>L. albus</i> (e) e <i>M. pruriens</i> (f).....	33
Figura 5: Exemplar da espécie <i>D. lablab</i> em cada tratamento (a) e destaque para as raízes inchadas (b).....	34
Figura 6: Biomassa da parte aérea e raiz das espécies <i>C. cajan</i> (a), <i>C. ensiformis</i> (b), <i>C. juncea</i> (c), <i>D. lablab</i> (d), <i>L. albus</i> (e) e <i>M. pruriens</i> (f).....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas do 2,4-D.....	20
Tabela 2 – Caracterização do solo de estudo.....	25
Tabela 3 – Informações sobre as sementes obtidas da Pirai Sementes®.....	26
Tabela 4 – Concentração de 2,4-D para cada tratamento utilizado.....	27
Tabela 5 – Porcentagem de germinação para cada espécie estudada.....	29
Tabela 6 – Estimativa de produção de biomassa para as espécies estudadas (em t ha ⁻¹).....	36
Tabela 7 – Concentração de efeito para 50% da população.....	37

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	17
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1 Ácido diclorofenoxiacético (2,4-D)	18
3.2 Ecotoxicidade	22
4. METODOLOGIA	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1 Germinação	29
5.2 Crescimento	30
5.3 Biomassa	34
5.4 Concentração de efeito	37
5.5 Considerações finais	38
6. CONCLUSÕES	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

1. INTRODUÇÃO

A relação entre o homem e a natureza sofreu alterações ao longo do tempo, sendo que, durante toda a época de extrativismo, as atividades antrópicas implicaram em poucas alterações sobre o meio. Após essa fase, o homem passou a explorar os ecossistemas às suas necessidades e a agricultura se tornou uma das primeiras atividades econômicas da humanidade (MATTOS E SILVA, 1999). O desenvolvimento da agricultura culminou na emergência da monocultura como o sistema com maior possibilidade de ampliação da produtividade. Entretanto, esse sistema modificou as relações ecossistêmicas naturais, que perderam sua complexidade, biodiversidade e estabilidade, abrindo espaço para o surgimento de novas interações, cujo desequilíbrio transformou em pragas os seres que anteriormente conviviam em harmonia (MATTOS E SILVA, 1999). Contudo, o termo “agronegócio” surgiu apenas em 1957, descrito por John Davis e Ray Goldberg a partir da percepção de uma cadeia produtiva integrada, considerando todas as etapas envolvidas na preparação, produção, processamento, distribuição e comercialização, que passavam pelo processo de modernização. O agronegócio tem sido reconhecido como um vetor crucial do crescimento econômico brasileiro. Em 2020, a soma de bens e serviços gerados pelo agronegócio chegou a quase R\$2 trilhões ou 26,6% do PIB brasileiro (Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil, 2021).

A cana-de-açúcar foi a primeira cultura a ser implementada no território brasileiro, marcando o primeiro ciclo econômico do país; esse cultivo ainda continua ocupando posição de destaque nas exportações nacionais, visto que o Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar (NACHILUK, 2021). De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), a produção de cana-de-açúcar deverá aumentar 4,4% na safra 2023/2024 graças a melhorias na produtividade das lavouras e à ampliação da área de cultivo, que deve chegar a 8,4 milhões de hectares, com rendimento médio de 75.751 quilos por hectare (CONAB, 2023). Para atingir tais posições de destaque, tanto em relação à cana-de-açúcar quanto ao agronegócio em geral, as ferramentas da Revolução Verde foram amplamente utilizadas com intuito de aumentar a produtividade. O modelo agrícola implantado com a Revolução Verde, embora tenha contribuído para os sucessivos recordes de produtividade agrícola e redução da pressão do desmatamento em áreas nativas, não se traduziu num modelo sustentável (PRIMAVESI, 2001).

Cerca de 300 mil toneladas de agrotóxicos são consumidas anualmente no Brasil, dado que representa um aumento de 700% nos últimos 40 anos; a cana-de-açúcar, por sua vez, é uma das culturas que mais utilizam esses produtos, ocupando o quarto lugar do ranking que avalia o consumo em termos de ingrediente ativo (SPADOTTO, 2021). A maioria dos herbicidas utilizados na cultura da cana-de-açúcar é recomendada para aplicação em pré-emergência e/ou pós-emergência inicial da cultura e das plantas daninhas e, portanto, o solo é o principal destino desses produtos (CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2008). O Brasil é considerado o maior consumidor de agrotóxicos do mundo e segue flexibilizando a legislação para liberar o registro de cada vez mais ingredientes ativos e produtos comerciais, mesmo diante do aumento das restrições ao uso dessas substâncias em países desenvolvidos. Além da diversidade de agrotóxicos, o Brasil também é permissivo na quantidade utilizada. Por exemplo, para o ácido 2,4-diclorofenoxiacético, conhecido como 2,4-D e segundo agrotóxico mais vendido no Brasil, o Limite Máximo de Resíduo permitido na água potável brasileira é de 30 µg/L, equivalente a 300 vezes o estabelecido para a União Europeia (BOMBARDI, 2017).

A exposição aos agrotóxicos pode ocorrer por três formas: i) ocupacional, referente à contaminação dos trabalhadores rurais, que usam esses produtos em suas atividades cotidianas; ii) alimentar, quando ocorre a ingestão de alimentos contaminados; e iii) ambiental, que pode ocorrer por meio do uso intensivo dos agrotóxicos ou por derramamentos acidentais (DUTRA e SOUZA, 2017). Os efeitos dos agrotóxicos sobre a saúde podem ser de dois tipos: efeitos agudos, que são aqueles mais visíveis e que aparecem durante ou após o contato com o produto, e efeitos crônicos, que podem aparecer semanas, meses, anos, ou até mesmo gerações após o período de uso ou contato com o produto contaminado, com efeitos carcinogênicos tanto para moradores do campo como da cidade (ARAÚJO; OLIVEIRA, 2017).

O solo é o destino final da maioria das substâncias utilizadas nos sistemas agrícolas, sendo que a relação entre o solo e os pesticidas, no geral, é bastante dinâmica, passando por diversos processos físico-químicos (ENGELBERG, 2020). Embora o tempo de permanência do 2,4-D em solos seja relativamente curto, não excedendo quatro semanas em solos argilosos, os efeitos fitotóxicos do 2,4-D, em combinação com o picloram, foram observados em até 150 dias após sua aplicação (D'ANTONINO et al., 2009). Como os agrotóxicos são frequentemente usados em conjunto nas lavouras, a persistência do 2,4-D pode se estender por períodos mais longos e causar intoxicação em culturas subsequentes.

A sucessão de diferentes cultivos contribui para a manutenção do equilíbrio dos nutrientes no solo e para o aumento da sua fertilidade, além de permitir uma melhor utilização dos insumos agrícolas (DELARMELINDA, E. A. et al., 2010). A adubação verde é uma técnica milenar que utiliza espécies vegetais para cobertura ou incorporação ao solo com intuito de melhorar a sua qualidade química, física e biológica (MORAIS, L.A.S; BARBOSA, A.G, 2012). Os adubos verdes aportam uma grande variedade de substâncias orgânicas ao solo, como exsudatos de raízes, biomassa radicular e foliar, ácidos orgânicos e diversas substâncias elaboradas, como aminoácidos, fitormônios, entre outras. A adição regular de resíduos de adubos verdes aos vários solos e ambientes tropicais melhora a estrutura do solo, que favorece a aeração e a infiltração de água, permitindo uma maior penetração das raízes (DELARMELINDA, E. A. et al., 2010). As plantas de cobertura, utilizadas como adubo verde formam uma barreira física para as plantas invasoras, competindo por água, luz e nutrientes e, quando manejadas adequadamente, podem diminuir o número de capinas manuais e evitar a utilização de herbicidas (FONTANÉTTI, A. et al., 2004).

De acordo com a teoria da trofobiose, os agrotóxicos e outros insumos sintéticos tornam as plantas suscetíveis às pragas e doenças e a adubação verde favorece a proteossíntese (formação de proteína a partir de aminoácidos), tornando as plantas mais resistentes às pragas e às doenças (WACHEKOWSKI et al., 2021). As leguminosas, plantas da família *Fabaceae*, são as mais usadas para adubação verde devido a sua capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico em função da simbiose com bactérias presentes em suas raízes (ALCÂNTARA et al., 2000). O cultivo de cana-de-açúcar possibilita a adoção de plantas de cobertura para reciclagem de nutrientes e preservação do solo, pois, durante a renovação do canavial, que ocorre geralmente após o quarto ou quinto corte, o solo fica desprovido de vegetação por vários meses (DUARTE JR; COELHO, 2008).

As espécies utilizadas neste trabalho podem ser cultivadas no período de entressafra da cana-de-açúcar (entre dezembro e abril), portanto pode-se pensar na utilização das mesmas para adubação verde do solo das áreas de cultivo com intuito de tornar a próxima safra mais resistente a pragas e doenças e reduzir a necessidade de insumos químicos, diminuindo os riscos de acidentes ocupacionais e contaminações ambientais, animais e humanas. Nesse contexto, a presente pesquisa visou à determinação dos efeitos do agrotóxico 2,4-D por meio da observação da fitotoxicidade em seis espécies de adubação verde.

2. OBJETIVOS

O objetivo geral do presente trabalho foi avaliar os efeitos da fitotoxicidade do herbicida 2,4-D em seis espécies de plantas utilizadas para adubação verde, incluindo *Cajanus cajan* (i.e., feijão guandu-forrageiro), *Canavalia ensiformis* (i.e., feijão-de-porco), *Crotalaria juncea*, *Dolichos lablab* (i.e., feijão lablab), *Lupinus albus* (i.e., tremoço) e *Mucuna pruriens* (i.e., mucuna cinza). Dessa forma, foram definidos dois objetivos específicos, incluindo:

- i) Analisar o crescimento inicial das plantas expostas a diferentes concentrações de 2,4-D, comparando as espécies por meio do Índice de Tolerância (IT) e das concentrações de efeito;
- ii) Discutir possíveis aplicações de plantas de adubação verde no cultivo de cana-de-açúcar, considerando os efeitos da exposição a resíduos de 2,4-D em solos contaminados;

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Ácido diclorofenoxiacético (2,4-D)

O 2,4-D foi o primeiro herbicida seletivo, desenvolvido ainda nos anos 1940, e é amplamente utilizado para aplicação em plantas daninhas nos cultivos de trigo, soja, milho, arroz, cana-de-açúcar e pastagens (NETO et al., 2012). O 2,4-D é classificado, devido ao seu funcionamento, como um mimetizador de auxina, que é o hormônio responsável pelo crescimento das plantas. Os herbicidas auxínicos também são conhecidos como reguladores de crescimento, auxinas sintéticas ou herbicidas hormonais por possuírem similaridade estrutural com a auxina natural das plantas (OLIVEIRA JUNIOR et al., 2011). Esse tipo de herbicida persiste por longos períodos dentro da planta, devido à sua estabilidade e, por isso, são mais eficazes que as auxinas naturais. Enquanto as auxinas naturais possuem concentrações e efeitos controlados, os herbicidas auxínicos ultrapassam os mecanismos regulatórios das plantas e causam uma resposta descontrolada de crescimento (MARCATO et al., 2017). A principal auxina natural na maioria das plantas é o ácido indolacético (AIA) e as auxinas sintéticas possuem uma ação importante no equilíbrio das auxinas endógenas, inibindo seu transporte e promovendo sua oxidação ou competindo por substrato, reduzindo os complexos auxínicos necessários ao crescimento regular das plantas (PAZMIÑO et al., 2012).

Os compostos auxínicos sintéticos alteram a estrutura do citoesqueleto e reduzem a ação dos peroxissomos, diminuindo a ação antioxidante, que protege as células (COSTA, 2019). Altos níveis de auxina nas plantas induzem a biossíntese de etileno e do ácido abscísico (ABA), que leva ao fechamento dos estômatos, tendo como consequência a redução da fixação do carbono pela fotossíntese. Na presença de luz, o ABA combinado desencadeia um acúmulo de peróxido de hidrogênio, levando a danos oxidativos que contribuem para a fitotoxicidade (COSTA, 2019). Além disso, esses compostos também causam a superprodução de espécies reativas de oxigênio, que levam à reorganização da parede celular e à perda de sua estrutura original. Dessa forma, esses radicais livres interagem com os fosfolípidios da membrana plasmática, causando seu rompimento e vazamento do citosol e consequente morte celular (COSTA, 2019). A toxicidade do 2,4-D pode se manifestar de várias formas, como na epinastia das folhas, interrupção do crescimento e formação de necroses e raízes secundárias (SILVA et al., 2011).

O modo de ação de herbicidas auxínicos é dependente da dose e o seu efeito também depende da sensibilidade dos tecidos e espécies (PAZMIÑO et al, 2012). Os efeitos do 2,4-D no crescimento das plantas pode ser observado mesmo em baixas concentrações, por isso o uso de pulverizadores mal higienizados ou a ocorrência de deriva pode causar sérios prejuízos em culturas sensíveis (OLIVEIRA JUNIOR, 2011). Ao entrar em contato com o solo, uma parte do herbicida é absorvida pelas plantas e outra parte pode sofrer diversos processos, sendo estes agrupados em três categorias: sorção, transformação ou degradação e transporte. O principal produto de degradação do 2,4-D é o 2,4-diclorofenol (2,4-DCF), que possui uma menor solubilidade em água, quando comparado com o 2,4-D e é classificado pela União Europeia como uma substância de desregulação endócrina ou potencial de desregulação endócrina comprovada (FEITOSA et al., 2023). O processo de sorção se refere à retenção de herbicidas pela fase sólida do solo, independente dos mecanismos químicos envolvidos, já a transformação ocorre quando há alteração de sua estrutura molecular por meios bióticos e abióticos e por fim o transporte é definido como a movimentação do herbicida no solo, podendo ocorrer por lixiviação, escoamento superficial e volatilização (CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2008).

A sorção no solo impede que esses contaminantes alcancem o lençol freático via percolação, influenciada por propriedades como a persistência do produto e coeficiente de sorção à matéria orgânica do solo, os quais são intimamente ligados e determinam a interação entre os agrotóxicos e o solo (DELLAMATRICE; MONTEIRO, 2014). Estudos realizados anteriormente demonstraram que o coeficiente de sorção normalizado para carbono orgânico do solo (K_{oc}) do 2,4-D está entre 20 e 60 mL g⁻¹. Além disso, mais de 90% da sua sorção ocorre dentro de 2 h em condições de laboratório (SPADOTTO, 2003). Uma das principais características que influencia o processo de sorção dos agrotóxicos é a matéria orgânica do solo (MOS), que favorece a sorção de moléculas orgânicas, especialmente, as hidrofóbicas. A ligação entre o herbicida e a MOS é, geralmente, mais estável que sua ligação aos componentes minerais. Portanto, o tempo para que ocorra a dessorção é maior e a quantidade de moléculas que retornam à solução do solo é menor (CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2008).

Entretanto, herbicidas de alta solubilidade podem não ficar sorvidos no solo, mas serem lixiviados, sobretudo se utilizados em períodos de alta precipitação. A solubilidade dos agrotóxicos está diretamente relacionada ao seu K_{ow} (Tabela 1), ou seja, ao Coeficiente de Partição Octanol/Água, que representa a afinidade pelo 1-octanol, indicando a maior ou menor

lipofilicidade. De modo geral, os valores de Kow apresentam relação inversa com a solubilidade em água e direta com a persistência do produto no ambiente, ou seja, quanto maior o Kow, menor a solubilidade e maior a sorção. Por outro lado, quanto menor o Kow, maior o potencial de lixiviação do herbicida, o que pode resultar em menor efeito residual no solo (CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2008).

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas do 2,4-D.

Fórmula molecular	$C_8H_6O_3Cl_2$
Peso molecular	221 g/mol
Solubilidade em água	0,07 g/100 mL a 25°C
Kow	2,81
pKa	2,73
Densidade relativa	1,563 a 20°C (sólido)
Ponto de fusão	136 a 140°C
Ponto de ebulição	Decompõe

Fonte: adaptado de CETESB e Hähnke, V.D. et al. (2018)

Outro fator que influencia na lixiviação é a densidade do solo, que pode ser utilizada como um dos indicadores de tendência de lixiviação de pesticidas, quando se tratar do mesmo tipo de solo, pois quanto maior a densidade menor será a quantidade de poros, que são os espaços que poderão ser preenchidos por água (MARTINS, 2006). O processo de lixiviação é a principal forma de transporte no solo das moléculas não voláteis e solúveis em água e quando as moléculas são carregadas para camadas muito profundas do solo podem atingir e contaminar lençóis freáticos (MONQUERO et al., 2010). A lixiviação dos herbicidas aumenta seu potencial de fitotoxicidade para a cultura, pois reduz a seletividade de posicionamento no solo, principalmente em solos arenosos (CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2008).

Os fatores que regem o comportamento dos herbicidas são: i) os atributos do solo, incluindo a textura, a estrutura, o teor de matéria orgânica, o pH, a capacidade de troca catiônica (CTC), o conteúdo de água, o relevo, a comunidade microbiana e o equilíbrio nutricional; ii) as condições ambientais, incluindo a umidade relativa do ar, a temperatura, a luminosidade, o vento e as chuvas; iii) as propriedades físico-químicas das moléculas de herbicidas, a interação destes fatores, as

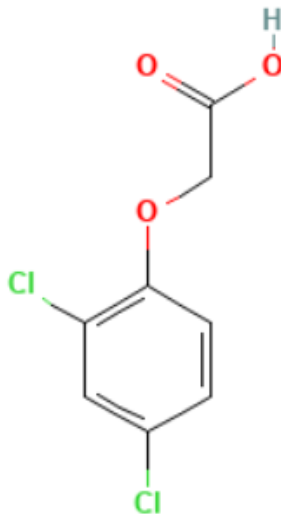
formas de manejo da cultura, a tecnologia de aplicação dos herbicidas e a presença ou ausência de plantas (CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2008). Além desses fatores, as variáveis ambientais como o tipo de solo, a declividade, a presença de cobertura vegetal e o clima afetam o transporte dos pesticidas no meio ambiente (DELLAMATRICE; MONTEIRO, 2014).

O 2,4-D é uma substância Classe I de acordo com o IBAMA, que em animais refere-se à DL_{50} (dose estimada que causa efeito letal a 50% de uma população) por via oral entre 0-50 mg mg i.a. kg^{-1} e por via dérmica entre 0-200 mg kg^{-1} e CL_{50} (concentração estimada que causa efeito letal a 50% de uma população exposta) por via respiratória entre 0-0,2 mg L^{-1} e irritação para pele e olhos classificada como severa (NETO et al., 2012). Em mamíferos, o 2,4-D pode atacar o fígado, o sistema nervoso central e o coração, sendo que, nos humanos, uma inalação prolongada pode gerar efeitos tóxicos agudos como tonturas, tosse, fraqueza e até perda temporária de coordenação muscular, já que os efeitos principais e mais recorrentes decorrem da manipulação inadequada do produto, que pode gerar irritação na pele e nos olhos (NETO et al., 2012).

A ocorrência do 2,4-D em solos arenosos foi verificada por um estudo realizado por Feitosa et al. (2023) nas áreas de pastagens e após a aplicação nas áreas de cultivo de cana-de-açúcar. No solo arenoso, o 2,4-D foi monitorado por aproximadamente 1 ano e os resultados da quantificação química encontraram concentrações de 2,4-D de 1,5 a 7,9 $\mu g kg^{-1}$ para as áreas de pastagens e de 2,2 a 13,4 $\mu g kg^{-1}$ nas áreas de cana-de-açúcar após a aplicação, sendo que após 8 meses da aplicação as concentrações atingiram níveis inferiores ao limite de quantificação do método (0,75 $\mu g kg^{-1}$).

É relevante destacar que um dos produtos comerciais mais utilizados contendo 2,4-D é o DMA®806 BR, produzido pela Dow AgroSciences Industrial Ltda. Este produto é frequentemente aplicado no cultivo de cana-de-açúcar, seguindo as recomendações para a aplicação na pré-emergência das plantas infestantes *Amaranthus viridis* (caruru-de-mancha), *Bidens pilosa* (picão-preto), *Emilia sonchifolia* (falsa-serralha), *Galinsoga parviflora* (picão-branco) e *Portulaca oleracea* (beldroega) (OGURA, 2022b). A estrutura molecular do 2,4-D, princípio ativo desse produto, pode ser observada na Figura 1.

Figura 1: Estrutura molecular do 2,4-D



Fonte: Hähnke, V.D. et al. (2018)

3.2 Ecotoxicidade

O termo “Ecotoxicologia” foi proposto pelo toxicologista francês René Truhaut em 1969, definido como o ramo da toxicologia preocupado com o estudo dos efeitos tóxicos causados por poluentes naturais ou sintéticos aos constituintes dos ecossistemas animais (incluindo humanos), vegetais e microbianos, em um contexto integral (OLIVEIRA; BALDAN, 2022). A ecotoxicidade é uma importante ferramenta complementar no monitoramento ambiental para a avaliação de interações sinérgicas e antagônicas de substâncias naturais ou sintéticas em ambientes receptores (terrestres, aquáticos ou aéreos), e sobre organismos, populações ou comunidades animais e vegetais que os habitam (SERAFINI; SOARES; SEGAT, 2018). Dessa forma, os estudos ecotoxicológicos têm desempenhado um papel fundamental na expansão do entendimento científico e tecnológico, bem como no desenvolvimento das leis ambientais, com o objetivo de mitigar os danos causados pelas ações humanas ao meio ambiente. Eles representam uma ferramenta valiosa para a identificação de agentes tóxicos provenientes de diversas atividades econômicas, que podem ameaçar a integridade dos ecossistemas e a diversidade da vida em todas as suas formas (SILVA, 2021).

Enquanto as análises químicas identificam e quantificam as concentrações das substâncias tóxicas, os testes de toxicidade avaliam o efeito dessas substâncias sobre sistemas biológicos, de forma que as análises químicas e os testes de toxicidade se complementam (COSTA et al., 2008).

De forma prática, a Ecotoxicologia envolve a aplicação de ensaios como uma das estratégias mais comuns para a avaliação do modo de ação de substâncias tóxicas no ambiente (BIANCHI, 2013). Para isso, são realizados estudos utilizando diferentes organismos e diferentes níveis de contaminação, que podem demonstrar a toxicidade da substância analisada e contribuir para as decisões legislativas sobre o uso da mesma substância.

A fitotoxicidade, por sua vez, é um dano ocasionado nas plantas devido ao uso de substâncias químicas, sobretudo em grandes quantidades. Esta pode ser vista como um efeito colateral, que pode ser reversível, temporário ou irreversível e ter como sintomas a inibição de crescimento dos brotos, morte e amarelecimento das folhas e morte de culturas não alvo (ALENCAR, 2022). Os bioensaios de fitotoxicidade avaliam a intoxicação de espécies vegetais quando expostas a substâncias potencialmente tóxicas, que podem inibir sua germinação e desenvolvimento. Silva et al. (2011) avaliaram os efeitos fitotóxicos do 2,4-D para *Glycine max L.*, com aplicação do herbicida em solos de texturas distintas em diferentes períodos antes da semeadura, por meio de pulverização com duas dosagens (502,5 e 1005 g i.a ha⁻¹) e em ambas foram observados como sintomas de fitointoxicação o encarquilhamento das folhas e a epinastia dos pecíolos.

Reis et al. (2010) utilizaram quatro concentrações de 2,4-D (0; 1,5; 2 e 3 L ha⁻¹) aplicadas em dois momentos: no dia do plantio e 21 dias após o plantio de *Zea mays*. Após 42 dias da segunda aplicação, avaliaram a fitotoxicidade, que apresentou comportamento de dose-resposta, verificada pelo decréscimo da matéria seca da parte aérea com o aumento das doses. Boteon (2022) realizou experimentos com *Arachis hypogaea*, *Gossypium hirsutum* e *Phaseolus vulgaris*, usando 8 doses de 2,4-D. Para o *Gossypium hirsutum*, as duas maiores doses (dose comercial de 670 g i.a. ha⁻¹ e 335 g i.a. ha⁻¹) atingiram 95% de fitotoxicidade e levaram à morte das plantas, enquanto até a quarta maior dose (83,75 g i.a. ha⁻¹) chegou a 80%. A fitotoxicidade ainda pôde ser observada até a quinta maior dose (41,87 g i.a. ha⁻¹), atingindo 50%. Dabéss et al (2018) realizaram experimentos com o *Zea mays*, com concentrações variando de 0 a 153,6 ppm e observaram efeitos de fitotoxicidade nas avaliações aos 7, 14 e 21 dias após aplicação do 2,4-D. Nesse estudo, os principais sintomas foram encarquilhamento das folhas, amarelamento e redução do crescimento.

Fontana (2021) observou que, no *Phaseolus vulgaris*, o 2,4-D causou encarquilhamento foliar, epinastia dos ramos e pecíolos, necrose e aborto das flores, descoloração e assimetria das

nervuras foliares, pecíolos quebradiços e redução do tamanho de vagens. O mesmo estudo, que utilizou concentrações entre 0 e 36,48 g i.a. ha⁻¹, encontrou resultados similares para a *Glycine max* e o *Solanum lycopersicum*, sendo este último o mais sensível. Soligo (2019) realizou experimentos em campo com diferentes doses de 2,4-D (de 0 a 1396 g i.a. ha⁻¹) aplicadas em diferentes etapas de desenvolvimento do *Triticum aestivum*. Seus resultados demonstraram que o 2,4-D causou fitotoxicidade em 5% a 15% após 7 dias de aplicação, sendo esta menor para doses baixas e maior para doses altas e com aplicações antes do perfilhamento.

O 2,4-D presente na água de irrigação também pode afetar o crescimento de espécies vegetais. Ogura et al. (2022a) utilizaram amostras de água coletadas em mesocosmos contaminados com 447 µg L⁻¹ de 2,4-D para irrigar a espécie de leguminosa *Phaseolus vulgaris*. Os autores observaram uma maior inibição da parte aérea e das raízes na presença do 2,4-D (17% e 45%, respectivamente). Além disso, o 2,4-D também afetou o crescimento inicial da espécie de planta *Z. mays*, uma monocotiledônea não-alvo, com uma inibição de crescimento radicular de até 17%. Esses autores também identificaram que a presença de 2,4-D na água de irrigação promoveu a inibição da germinação e do crescimento de plântulas de *Eruca sativa* mesmo em baixas concentrações (0,2 µg L⁻¹ de 2,4-D).

4. METODOLOGIA

O solo utilizado no presente estudo foi coletado nas dependências do Centro de Recursos Hídricos e Estudos Ambientais da Universidade de São Paulo (CRHEA/USP), localizado no município de Itirapina (SP). O local de coleta não apresenta histórico de contaminação e o solo já foi utilizado e caracterizado em estudos anteriores (OGURA et al., 2023). O solo foi peneirado manualmente com uma peneira metálica de abertura de 4 mm para remoção de pedregulhos e padronização da granulometria e em seguida foi levado à estufa por 24 h a 60°C para desfaunagem e retirada de umidade. Em estudo anterior, Ogura (2022b) apresentou a caracterização do solo, que foi feita no Laboratório de Geotecnia da EESC – USP (Tabela 2).

Tabela 2 – Caracterização do solo de estudo

Granulometria			
Argila [$< 0,002$ mm] (%)	31,9	Areia fina [0,06 – 0,2 mm] (%)	24,8
Silte [0,002 – 0,06 mm] (%)	21,7	Areia média [0,2 – 0,6 mm] (%)	20,2
Areia [0,06 – 2,0 mm] (%)	46,4	Areia grossa [0,6 – 2,0 mm] (%)	1,4
Parâmetros físicos e químicos			
pH (H ₂ O)	5,2	Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	50,1
Potencial de oxirredução [Eh] (mV)	+228,8	Capacidade de troca catiônica ($\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$)	3,47
Densidade (g cm^3)	1,48	Índice de vazios	1,05
Umidade média (%)	14,6	Porosidade (%)	55
Massa específica aparente (g cm^3)	1,28	Massa específica real (g cm^3)	2,83
Grau de saturação (%)	31	Matéria orgânica (%)	11,4

Fonte: adaptado de OGURA (2022b)

Para os ensaios de fitotoxicidade, seis espécies que são utilizadas para adubação verde foram selecionadas, incluindo *Cajanus cajan*, *Canavalia ensiformis*, *Crotalaria juncea*, *Dolichos Lablab*, *Lupinus albus* e *Mucuna pruriens*. As sementes de todas essas espécies foram fornecidas pela empresa Pirai Sementes® (Piracicaba, São Paulo, Brasil) e as informações técnicas foram sintetizadas na Tabela 3.

Tabela 3 – Informações sobre as sementes obtidas da Pirai Sementes®

Espécies de plantas	Família	Germinação – pureza (%)	Profundidade ideal (cm)	Época ideal de plantio	Produção de biomassa (t ha ⁻¹)	Produção de nitrogênio (kg ha ⁻¹)
<i>C. cajan</i>	Fabaceae (Leguminosa)	70 – 98	2 – 3	Outubro a novembro	20 – 30	100 – 180
<i>C. ensiformis</i>	Fabaceae (Leguminosa)	75 – 98	2 – 5	Outubro a novembro	20 – 40	80 – 160
<i>C. juncea</i>	Fabaceae (Leguminosa)	60 – 98	2 – 3	Outubro a novembro	40 – 60	300 – 450
<i>D. lablab</i>	Fabaceae (Leguminosa)	70 – 98	2 – 3	Outubro a novembro	15 – 30	80 – 160
<i>L. albus</i>	Fabaceae (Leguminosa)	75 – 98	2 – 3	Abril a maio	20 – 30	60 – 90
<i>M. pruriens</i>	Fabaceae (Leguminosa)	70 – 98	2 – 4	Outubro a novembro	40 – 50	180 – 220

Fonte: Pirai Sementes®

Os testes de fitotoxicidade com as espécies citadas foram feitos com quatro réplicas para cada concentração, conforme a NBR 11269-2:2014 (ABNT, 2014). O produto utilizado é da formulação comercial DMA®806 BR (Dow AgroSciences Industrial Ltda). A dosagem de 2,4-D foi definida a partir do uso estimado no cultivo de cana-de-açúcar, que é de 3,5 L ha⁻¹, equivalente a 7 µL kg⁻¹ solo, resultando em uma concentração de 4,7 mg i.a. kg⁻¹ por kg de solo seco. Dessa forma, foram utilizados 6 tratamentos, cujas concentrações variaram entre 0 e 4 mg i.a. kg⁻¹ (Tabela 4), pois em estudos preliminares com maiores concentrações a toxicidade levou à morte das plantas de todas as espécies escolhidas. Os resultados foram expressos em termos de concentração nominal de 2,4-D, conforme a dosagem estimada com base no rótulo do fabricante.

A preparação do solo para o desenvolvimento dos testes foi feita com intuito de se obter 20% de umidade. Em potes plásticos (poliestireno) atóxicos de 400 mL, foram adicionados 300 g do solo referente ao respectivo tratamento. As sementes utilizadas passaram por avaliação visual a fim de selecionar apenas as que estivessem em bom estado, descartando aquelas com deformidades. Ao todo, 10 sementes foram plantadas em cada réplica, aproximadamente 2 cm abaixo da superfície do solo. Devido ao tamanho das sementes de *C. ensiformis* e *M. pruriens*, apenas 7 sementes foram plantadas em cada pote.

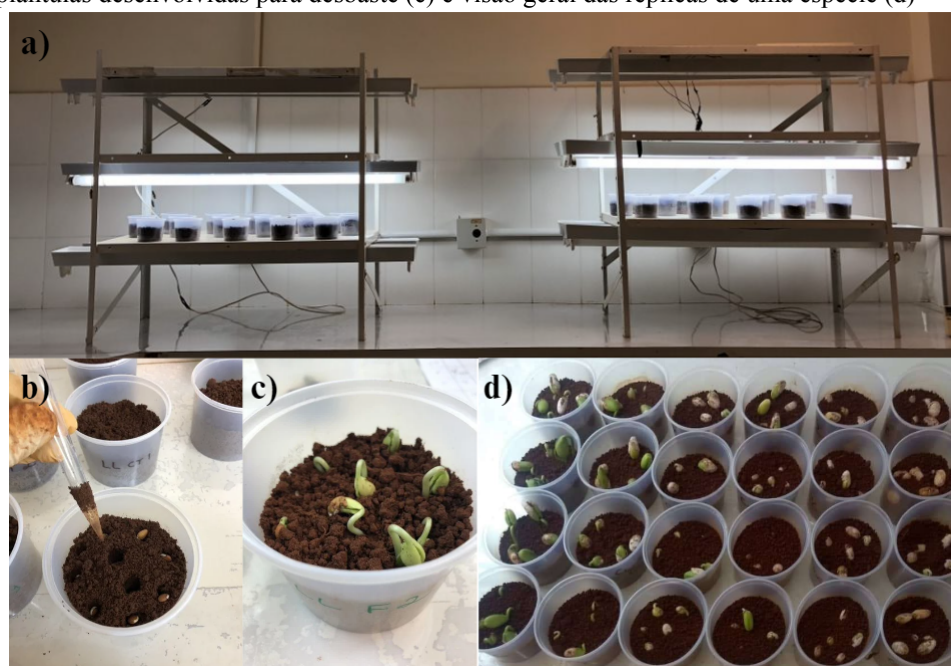
Tabela 4 – Concentração de 2,4-D para cada tratamento utilizado

Tratamento	Concentração nominal de 2,4-D (mg i.a. kg ⁻¹)
C0	0,0
C1	0,8
C2	1,6
C3	2,4
C4	3,2
C5	4,0

Fonte: Elaboração Própria (2023)

Os ensaios (Figura 2), adaptados da NBR 11269-2:2014 (ABNT, 2014), foram desenvolvidos em condições controladas de temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), luminosidade artificial (4500 lx) e fotoperíodo 12:12h. A umidade do solo foi mantida em aproximadamente 20% por meio de irrigação manual com a frequência de 3 vezes por semana, utilizando de 20 a 30 mL de água destilada, de acordo com a necessidade de cada réplica. Os experimentos foram mantidos por 14 dias após a germinação de 5 plântulas nas amostras controle, sendo que os organismos excedentes foram removidos na etapa de desbaste. Os *endpoints* foram: porcentagem de germinação, crescimento da parte aérea (comprimento entre o meristema apical e a folha mais alta) e da raiz, biomassa fresca e seca (da parte aérea e da raiz).

Figura 2: Ensaio de fitotoxicidade, com destaque para a disposição dos experimentos (a), plantação das sementes (b), plântulas desenvolvidas para desbaste (c) e visão geral das réplicas de uma espécie (d)



Fonte: Elaboração Própria (2023)

As análises estatísticas foram feitas utilizando o *software Statistica 7*. A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade pelo teste de Levene. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida do teste *post-hoc* de Tukey para avaliar se os tratamentos apresentaram diferenças estatísticas significativas no crescimento das plantas ($p < 0,05$). Os efeitos de fitotoxicidade para as espécies expostas ao 2,4-D também foram determinados com base na porcentagem de inibição de crescimento da parte aérea e da raiz.

A porcentagem de germinação foi calculada a partir da diferença entre a quantidade de sementes plantadas e a quantidade de plântulas desenvolvidas em cada pote. Já o Índice de Tolerância, também expresso em porcentagem, foi obtido pela razão entre a biomassa de determinado tratamento e a biomassa no controle, sendo que nesse caso as réplicas formaram uma amostra composto, de modo que não houve cálculo do desvio padrão. A estimativa de produção de biomassa para as espécies estudadas (em $t\ ha^{-1}$) foi feita proporcionalmente com base nas informações fornecidas pelo fornecedor das sementes (Tabela 3), comparando o crescimento das plantas expostas a cada tratamento em relação ao crescimento esperado no controle. As concentrações de efeito (CE_{50}) foram determinadas para a germinação, crescimento da parte aérea e crescimento da raiz. As estimativas foram feitas com base em modelos de regressão não-linear pelo modelo da curva logística, com intervalo de confiança de 95%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Germinação

Os valores médios e o desvio-padrão dos resultados das 4 réplicas de cada tratamento estão apresentados na Tabela 4. Comparando com os dados disponibilizados pela fornecedora das sementes, todas as espécies deveriam ter uma porcentagem de germinação maior que 60%. Na prática, a maioria das espécies obteve porcentagens entre 87,5 e 100%, mesmo nos tratamentos com doses mais altas. Porém, para a espécie *C. cajan* a germinação diminuiu consideravelmente logo na primeira dose (0,8 mg i.a. kg⁻¹) e para a espécie *L. albus* essa diminuição foi observada a partir do C3 (2,4 mg i.a. kg⁻¹).

Tabela 5 – Porcentagem de germinação para cada espécie estudada.

Tratamento	Germinação (%)					
	C0	C1	C2	C3	C4	C5
<i>C. cajan</i>	72,59 ± 22,17	37,5 ± 5	30 ± 0	25 ± 5,77	22,5 ± 5	20 ± 0
<i>C. ensiformis</i>	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
<i>C. juncea</i>	97,5 ± 5	97,5 ± 5	92,5 ± 9,57	97,5 ± 5	92,5 ± 9,57	87,5 ± 9,57
<i>D. lablab</i>	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
<i>L. albus</i>	100 ± 0	97,5 ± 5	100 ± 0	35 ± 5,77	47,5 ± 15	27,5 ± 5
<i>M. pruriens</i>	96,5 ± 7,14	100 ± 0	96,5 ± 7,14	96,5 ± 7,14	100 ± 0	100 ± 0

Fonte: Elaboração Própria (2023)

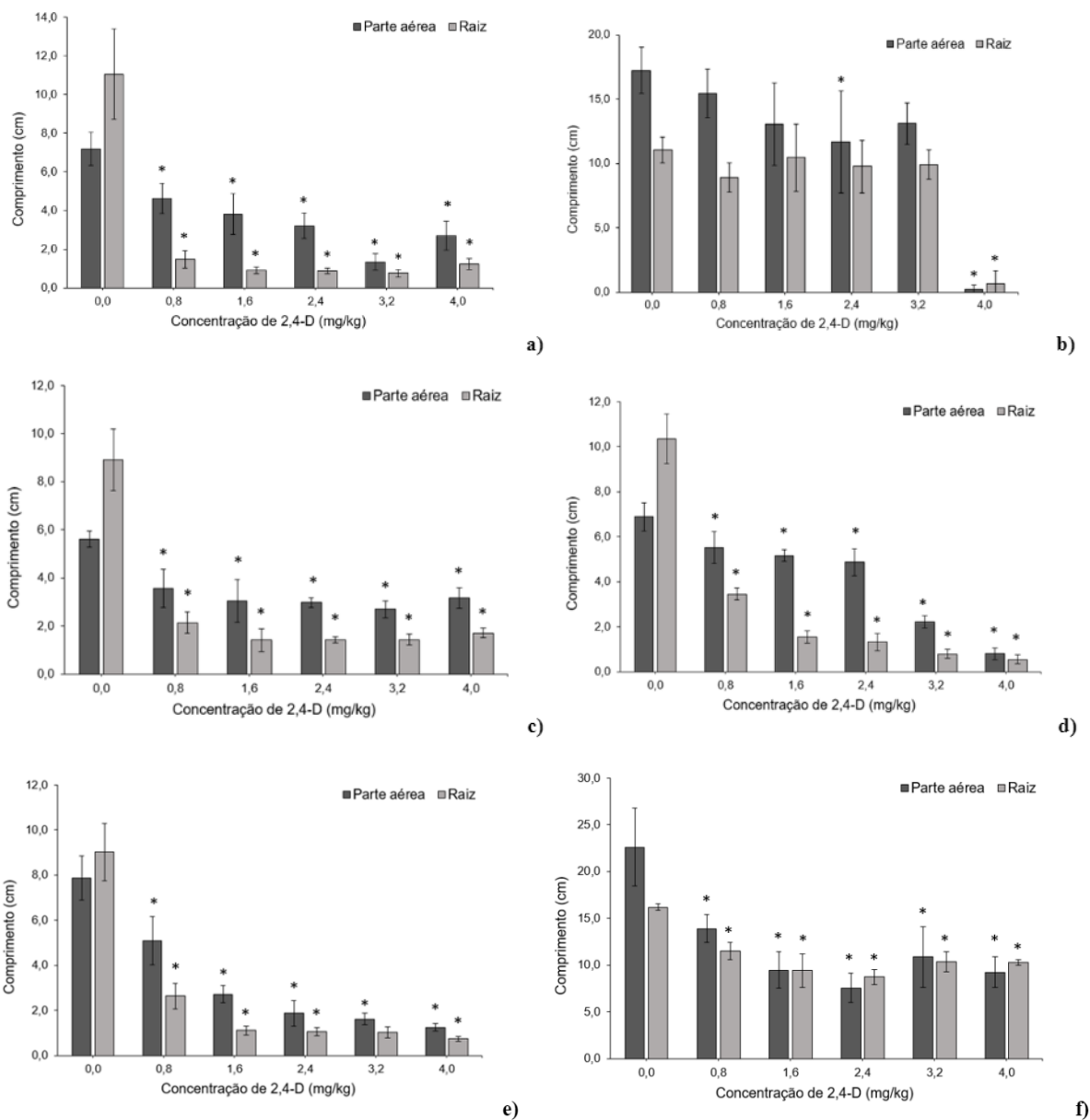
A germinação das plantas é controlada por diversos fatores, como a disponibilidade de água, temperatura, luminosidade e equilíbrio hormonal (SILVA et al., 2018). Em teste de germinação de sementes de soja com 2,4-D realizado por Silva et al. (2018) foi observado que o herbicida causou impacto negativo, reduzindo o vigor e a qualidade fisiológica das sementes em função das alterações hormonais. No presente estudo, apenas as espécies *C. cajan* e *L. albus* apresentaram redução significativa da germinação ($p < 0,05$), podendo indicar perda da qualidade fisiológica. Porém, as dosagens utilizadas por Silva et al (2018) foram maiores, sendo que o primeiro tratamento possuía concentração de 5,16 g i.a kg⁻¹, já que o ensaio foi realizado em campo, com aplicação por pulverização, que pode aumentar a dispersão do herbicida.

5.2 Crescimento

A espécie *C. cajan* registrou decréscimo médio de 2,6 cm no crescimento da parte aérea e 9,5 cm no crescimento da raiz ao ser exposta à primeira concentração de 2,4-D (0,8 mg i.a. kg⁻¹). Entretanto, a diferença entre os valores dos tratamentos contaminados não se mostrou tão expressiva quanto a observada em relação ao controle, evidenciando uma diferença inferior a 1 cm, tanto para a parte aérea quanto para a raiz, com a exceção do C3, que apresentou os menores crescimentos. Já a espécie *C. ensiformis* apresentou pequenas variações no crescimento do controle e dos tratamentos C1, C2, C3 e C4, porém no C5 o crescimento sofreu uma redução abrupta e desproporcional, diminuindo 12,9 cm na parte aérea e 9,2 cm na raiz. A leguminosa *C. juncea* obteve comportamento semelhante à *C. cajan*, porém o crescimento dessa espécie no controle foi ligeiramente inferior, com uma redução de 1,6 cm na parte aérea e 2,1 cm nas raízes. Ademais, destaca-se que, ao contrário da *C. cajan*, a *C. juncea* não apresentou exceções na proporção da diminuição do crescimento.

O adubo verde *D. lablab* apresentou reduções significativas no crescimento em comparação ao controle no tratamento C1 (1,4 cm na parte aérea e 6,9 cm na raiz) e no tratamento C4 em relação ao C3 (2,7 cm na parte aérea e 0,5 cm na raiz), sendo que os demais tratamentos obtiveram diminuições semelhantes entre si. A espécie *L. albus* apresentou uma redução expressiva no crescimento no primeiro tratamento (2,8 cm na parte aérea e 6,4 cm na raiz) e reduções gradualmente proporcionais nos tratamentos subsequentes. Por último, a espécie *M. pruriens* obteve reduções significativas (acima de 1 cm) entre todos os tratamentos, embora tenha se destacado com os maiores valores de crescimento. A concentração que mais afetou essa espécie foi a de 2,4 mg i.a. kg⁻¹, sendo que na concentração seguinte (3,2 mg i.a. kg⁻¹) aumentou para reduzir novamente na maior concentração utilizada (4 mg i.a. kg⁻¹).

Figura 3: Crescimento da parte aérea e da raiz das espécies *C. cajan* (a), *C. ensiformis* (b), *C. juncea* (c), *D. lablab* (d), *L. albus* (e) e *M. pruriens* (f)



Fonte: Elaboração Própria (2023)

Nota: as barras representam o desvio padrão e os asteriscos representam os tratamentos que foram estatisticamente diferentes do controle

Portanto, o crescimento médio da parte aérea e da raiz das plantas expostas ao 2,4-D estão apresentados na Figura 3. O crescimento de todas as espécies sofreu algum nível de alteração nos tratamentos com 2,4-D, sendo que o aumento das concentrações do herbicida provocou o decréscimo do comprimento tanto da parte aérea quanto da raiz, indicando que houve fitotoxicidade com relação dose-resposta. Os ensaios com *L. albus* (e), *C. juncea* (c), *D. lablab* (d) e *C. cajan* (a)

apresentaram os efeitos do 2,4-D de forma mais evidente em comparação com *C. ensiformis* (b) e *M. pruriens* (f). Para *L. albus* (e), *C. juncea* (c), *D. lablab* (d), *C. cajan* (a) e *M. pruriens* (f) todos os tratamentos foram estatisticamente diferentes do controle (ANOVA seguida de post hoc de Tukey, $p < 0,05$). Porém, para *C. ensiformis* (b) diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) foram observadas apenas no C3 para parte aérea e no C5 para parte aérea e raiz. Nesse contexto, a espécie que obteve menor alteração no crescimento foi *C. ensiformis* (b), que também apresentou, junto com *M. pruriens* (f), um dos melhores crescimentos.

Em estudo semelhante, Ogura (2022b) também observou redução do crescimento da parte aérea e da raiz das espécies *C. cajan*, *C. ensiformis*, *C. juncea*, *D. lablab*, *L. albus* e *M. pruriens* na concentração de 4,7 mg i.a. kg⁻¹. Portanto, no presente trabalho, o crescimento da parte aérea de *C. juncea*, *D. lablab* e *M. pruriens* foi maior que o registrado por Ogura (2022b). O crescimento de *L. albus* foi semelhante e o de *C. cajan* e *C. ensiformis* foi menor. No que diz respeito ao crescimento das raízes, as espécies *C. juncea* e *L. albus* apresentaram um comportamento consistente em relação à análise anterior, enquanto *D. lablab* teve valores próximos de crescimento em ambos os estudos. Por fim, *C. ensiformis* e *M. pruriens* tiveram o maior crescimento no estudo com maior concentração. Dessa forma, pode-se verificar a relação dose-resposta da fitotoxicidade do 2,4-D para a maioria dos crescimentos comparados com o trabalho de Ogura (2022b). Como é possível observar na Figura 3, *C. ensiformis* apresentou um aumento demasiado e desproporcional na inibição do seu crescimento na concentração de 4 mg i.a. kg⁻¹, tanto para a parte aérea quanto para a raiz. Na mesma figura, pode-se averiguar que as espécies *M. pruriens* e *C. cajan* também demonstraram desvios no padrão de aumento da inibição com o aumento da concentração.

Triques et al. (2022) realizaram bioensaios com *Raphanus sativus*, utilizando solos contaminados com 2,4-D em concentrações de 0 a 2 mg i.a. kg⁻¹, nos quais a redução do crescimento foi observada a partir da primeira dose (0,13 mg i.a. kg⁻¹), sendo que todos os tratamentos diferiram estatisticamente do controle. No presente estudo, todas as espécies testadas também tiveram seu crescimento reduzido desde o primeiro tratamento, porém o comportamento gráfico em ambos os estudos se assemelha ao observado na Figura 3 para *C. cajan*, *C. juncea*, *D. lablab* e *L. albus*. Como as concentrações usadas por Triques et al. (2022) foram inferiores às utilizadas neste estudo, os efeitos fitotóxicos do 2,4-D parecem ser mais intensos para *Raphanus sativus* em comparação com as espécies de adubação verde.

Figura 4: Porcentagem de inibição do crescimento da parte aérea e da raiz das espécies *C. cajan* (a), *C. ensiformis* (b), *C. juncea* (c), *D. lablab* (d), *L. albus* (e) e *M. pruriens* (f)

Inibição (%)			Inibição (%)		
Concentração	P. aérea	Raiz	Concentração	P. aérea	Raiz
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,8	35,8	86,7	0,8	10,4	19,3
1,6	46,9	91,7	1,6	24,3	5,2
2,4	55,4	92,0	2,4	32,1	11,6
3,2	81,5	93,1	3,2	24,0	10,3
4,0	62,6	88,9	4,0	98,8	93,7

a) b)

Inibição (%)			Inibição (%)		
Concentração	P. aérea	Raiz	Concentração	P. aérea	Raiz
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,8	36,5	76,0	0,8	19,8	66,6
1,6	46,0	84,1	1,6	24,9	85,0
2,4	47,0	83,9	2,4	29,3	87,2
3,2	52,1	83,9	3,2	67,7	92,3
4,0	43,8	80,8	4,0	88,2	94,7

c) d)

Inibição (%)			Inibição (%)		
Concentração	P. aérea	Raiz	Concentração	P. aérea	Raiz
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,8	35,4	70,7	0,8	38,5	29,0
1,6	65,4	87,6	1,6	58,2	41,9
2,4	76,3	88,3	2,4	66,5	46,1
3,2	79,5	88,7	3,2	51,9	36,1
4,0	84,1	91,8	4,0	59,1	36,6

e) f)

Menor inibição

Maior inibição

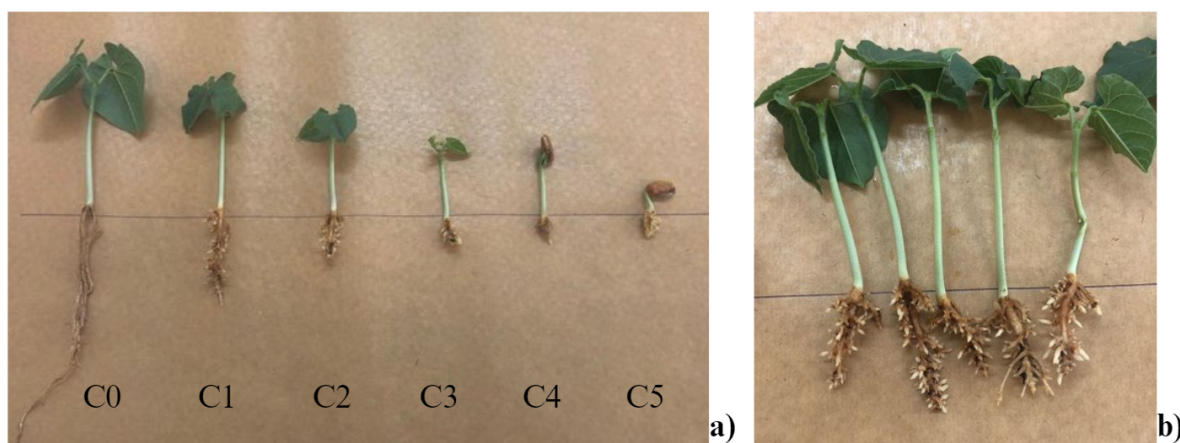
Fonte: Elaboração Própria (2023)

A inibição foi calculada a partir da razão entre a média de crescimento de determinado tratamento e a média de crescimento do controle. Na maioria das espécies, a inibição do crescimento afetou mais a raiz do que a parte aérea, com a exceção de *C. ensiformis* e de *M. pruriens*. Essas duas espécies são as que apresentaram menor alteração no crescimento, de forma geral, sendo que *C. ensiformis* não exibiu diferenças estatísticas em certos tratamentos. No entanto, a maior inibição, que foi de 98,8%, ocorreu no crescimento da parte aérea de *C. ensiformis*. Em relação às concentrações, observou-se que na menor dose utilizada (0,8 mg i.a. kg⁻¹) a maior inibição para a raiz foi de 86,7% no *C. cajan* e para a parte aérea, de 38,5% na *M. pruriens*.

Alguns estudos também avaliaram a fitotoxicidade de agrotóxicos a partir da percepção visual das plantas ao final do experimento. Constantin et al. (2007) realizaram experimentos com algodão, aplicando 2,4-D em dosagens entre 0,84 e 26,88 g i.a. ha⁻¹ e observaram sintomas de

encarquilhamento das folhas mais novas, arroxejamento de folhas e caules e epinastia dos pecíolos do algodão a partir de 3 dias após a aplicação e, após 14 dias, amarelecimento e necrose de botões florais, rachaduras no caule, engrossamento da raiz principal e da base do caule. Fontana (2021) observou encarquilhamento foliar, epinastia dos ramos e pecíolos, necrose e aborto das flores, descoloração e assimetria das nervuras foliares, pecíolos quebradiços e redução do tamanho de vagens no feijoeiro, após 28 dias da aplicação de 2,4-D em doses entre 4,56 e 36,48 g i.a. ha⁻¹. Porém, neste estudo, ao final dos testes, todas as espécies avaliadas sofreram algum sintoma de fitotoxicidade, sobretudo nas raízes, que apresentaram inchaço mesmo em concentrações mais baixas e tiveram seu crescimento interrompido ou irregular nas concentrações mais altas, como pode ser observado na Figura 5. Também foram observados o encarquilhamento e amarelamento das folhas.

Figura 5: Exemplar da espécie *D. lablab* em cada tratamento (a) e destaque para as raízes inchadas (b)



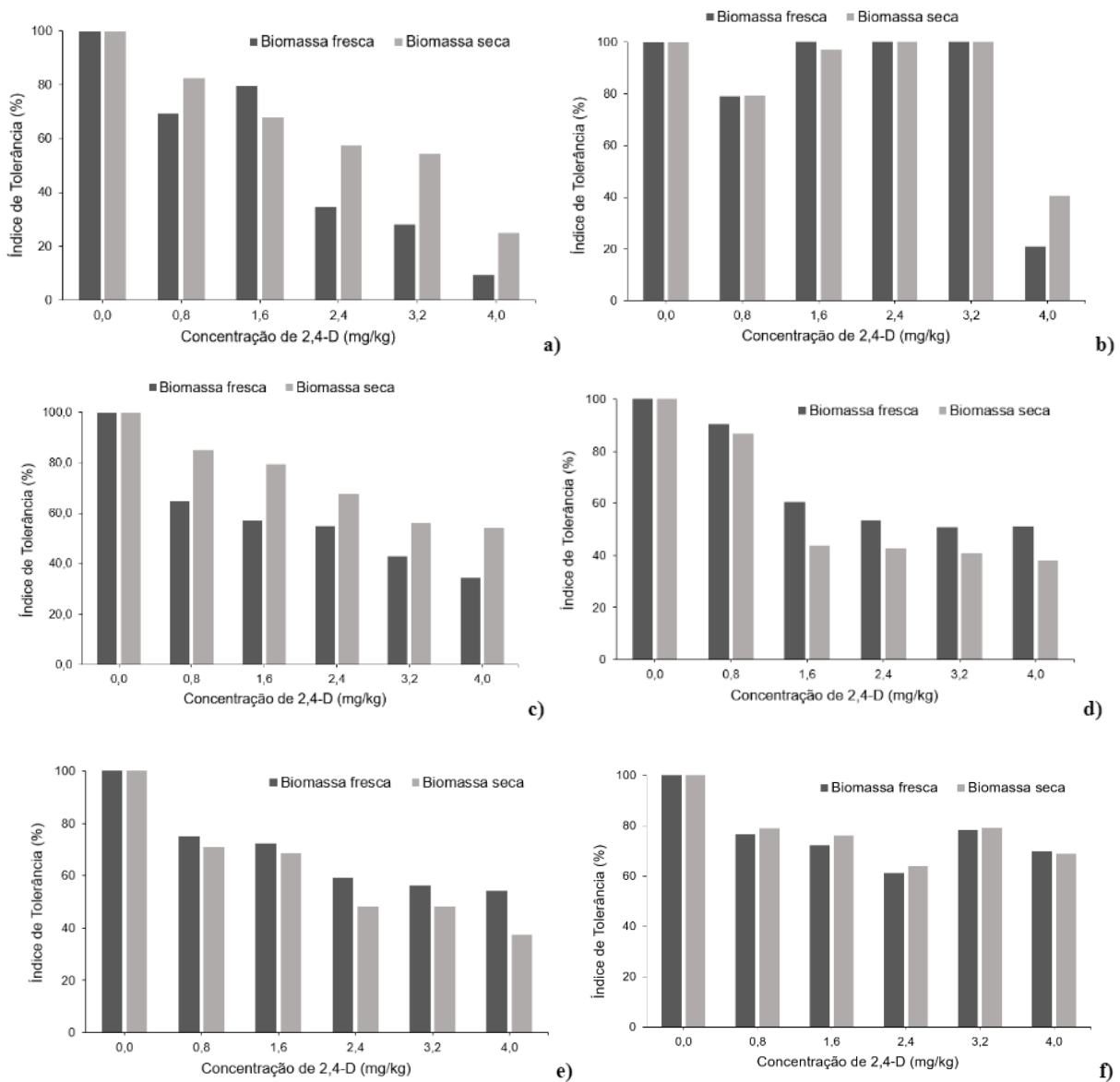
Fonte: Elaboração Própria (2023)

5.3 Biomassa

Os resultados obtidos para as biomassas fresca e seca foram interpretados em termos de Índice de Tolerância (IT), que representa a resistência da espécie às diferentes concentrações de 2,4-D de acordo com o controle. Dessa forma, a espécie que se mostrou mais resistente foi a *M. pruriens* (f), com IT de mais de 60% em todos os tratamentos, tanto para biomassa fresca quanto para biomassa seca. Para determinação da espécie menos resistente foi realizada uma média entre os valores de IT para cada biomassa (desconsiderando os controles) e foram encontradas espécies diferentes, sendo que a menor porcentagem para biomassa fresca foi de *C. cajan* (44,16%) e para biomassa seca foi de *D. lablab* (50,42%). No estudo de Ogura (2022b), na concentração de 4,7 mg

i.a. kg⁻¹ a espécie mais resistente também foi a *M. pruriens*, com IT médio de 64,45% para biomassa fresca e de 41,9% para biomassa seca, valores inferiores aos registrados no C5, de 69,75% para biomassa fresca e 68,81% para biomassa seca, conforme Figura 6 (f). O IT para *C. cajan* esteve entre os menores valores, mas as porcentagens médias no trabalho de Ogura (2022b) foram consideravelmente mais baixas, atingindo 8,5% para biomassa fresca e 20,85% para biomassa seca.

Figura 6: Biomassa da parte aérea e raiz das espécies *C. cajan* (a), *C. ensiformis* (b), *C. juncea* (c), *D. lablab* (d), *L. albus* (e) e *M. pruriens* (f)



Fonte: Elaboração Própria (2023)

A espécie vegetal a ser empregada na adubação verde deve ser, preferencialmente, grande produtora de matéria seca (CACERES, 1994). Portanto, a produção de biomassa das espécies estudadas foi estimada a partir dos Índices de Tolerância e dos dados fornecidos pela Pirai Sementes®, para as diferentes concentrações de 2,4-D. Duarte Júnior e Coelho (2008) realizaram experimentos com *C. ensiformis*, *C. juncea* e *M. aterrima* em área de cultivo de cana-de-açúcar cujo solo foi adubado e não contaminado, sendo que nessas condições a maior produção de biomassa, avaliada pela biomassa seca, foi da *C. juncea*. Pela Tabela 6, a *C. juncea* foi a segunda espécie com maior produção de biomassa, o que reforça a sua indicação de utilização na adubação verde, mesmo em solos contaminados. Porém, este estudo avaliou também a *M. pruriens*, que apresentou valores significativamente superiores à *C. juncea*, sobretudo nas maiores concentrações de 2,4-D, devido à sua maior resistência, podendo ser uma melhor alternativa para a adubação verde no caso de solos contaminados com esse agrotóxico.

Tabela 6 – Estimativa de produção de biomassa para as espécies estudadas (em t ha⁻¹)

Concentração de 2,4-D	<i>C. cajan</i>	<i>C. ensiformis</i>	<i>C. juncea</i>	<i>D. lablab</i>	<i>L. albus</i>	<i>M. pruriens</i>
0 mg kg ⁻¹	20 – 30	20 – 40	40 – 60	15 – 30	20 – 30	40 – 50
0,8 mg kg ⁻¹	13,9 – 20,85	15,8 – 31,6	25,96 – 38,95	13,54 – 27,07	15,02 – 22,53	30,72 – 38,4
1,6 mg kg ⁻¹	15,91 – 23,87	20,01 – 40,02	22,86 – 34,29	9,09 – 18,2	14,74 – 21,71	28,88 – 36,1
2,4 mg kg ⁻¹	6,91 – 10,36	21,79 – 43,58	22 – 33	8,02 – 16,04	11,86 – 17,78	24,47 – 30,59
3,2 mg kg ⁻¹	5,61 – 8,41	20,59 – 41,18	17,13 – 25,7	7,63 – 15,26	11,23 – 16,84	31,31 – 39,14
4 mg kg ⁻¹	1,83 – 2,74	4,19 – 8,39	13,74 – 20,6	7,66 – 15,33	10,85 – 16,28	27,9 – 34,87

Fonte: Elaboração Própria (2023)

Gaspar et al. (2017) realizaram experimentos com *Lactuca sativa* com subdoses de diversos agrotóxicos. Para o 2,4-D as concentrações variaram de 0 a 900 g i.a. ha⁻¹ e a redução de biomassa foi superior a 60% em todos os tratamentos utilizados, após 10 dias da aplicação, porcentagem maior que a observada nos tratamentos com concentrações mais baixas para todas as espécies deste estudo. Porém, para a concentração mais alta a redução neste estudo obteve porcentagens próximas, variando de 62 a 75%, com exceção da *M. pruriens*, cuja maior porcentagem de redução foi 38,82%. No mesmo estudo, Gaspar et al. (2017) observou redução de biomassa maior que 60% para o agrotóxico amicarbazone. Em relação à produção de nitrogênio, um estudo realizado por Ambrosano et al (2010) a partir da marcação isotópica do nitrogênio na *C. juncea* e na

cana-de-açúcar, com o isótopo natural e estável nitrogênio-15, concluiu que a adubação verde com a *C. jucea* foi suficiente para suprir a demanda de nitrogênio da cana-de-açúcar.

5.4 Concentração de efeito

Com base nos resultados de germinação, crescimento da parte aérea e da raiz, foram calculadas as CE_{50} para as espécies utilizadas neste estudo (Tabela 7). Em geral, as concentrações de efeito foram significativamente menores para a raiz em relação à parte aérea das espécies estudadas, com exceção da *M. pruriens* e da *C. ensiformis*, que apresentaram valores maiores que $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$, sendo que a maior CE_{50} foi da *C. ensiformis*. Ao comparar com os resultados descritos na Seção 5.2, é evidente que a *C. ensiformis* demonstrou um crescimento notável, sofrendo as menores inibições e exibindo os melhores Índices de Tolerância até a concentração de $3,2 \text{ mg kg}^{-1}$, como indicado na Seção 5.3. Na maior concentração, contudo, a CE_{50} dessa espécie foi superior a $4,0 \text{ mg kg}^{-1}$ e a inibição de seu crescimento atinge mais de 90% tanto para a raiz quanto para a parte aérea, que possui CE_{50} menor e, portanto, sofre maior inibição.

Tabela 7 – Concentração de efeito para 50% da população

Espécies de plantas	Concentração de efeito - CE_{50} (mg kg^{-1})		
	Germinação	Parte aérea	Raiz
<i>C. cajan</i>	0,91	1,59	0,001
<i>C. ensiformis</i>	> 4,00	3,49	3,70
<i>C. juncea</i>	> 4,00	4,51	0,004
<i>D. lablab</i>	> 4,00	2,99	0,46
<i>L. albus</i>	2,64	1,14	0,31
<i>M. pruriens</i>	> 4,00	1,35	1,56

Fonte: Elaboração Própria (2023)

Em relação à germinação, os valores de CE_{50} foram maiores e relativamente uniformes entre as espécies estudadas, com exceção de *C. cajan* e *L. albus*. Esse resultado está em conformidade com o que foi discutido na Seção 5.1, uma vez que essas duas espécies foram as que apresentaram as menores porcentagens de germinação. As CE_{50} dessas mesmas espécies para a raiz também estão entre as mais baixas e pode-se verificar no item 5.2 que as inibições atingiram mais de 70% em todas as concentrações e chegaram a superar os 90% em alguns tratamentos. A *C. juncea* também apresentou baixa CE_{50} para a raiz e na Seção 5.2 é possível observar que esta sofre inibição acima de 70% mesmo na concentração mais baixa.

Para a parte aérea, todas as espécies apresentaram CE_{50} maior que 1 mg kg^{-1} . A *C. juncea* foi a que apresentou o maior valor e, embora não tenha apresentado as menores inibições (Figura 4), foi a única espécie que manteve porcentagens relativamente próximas em todas as concentrações, não ultrapassando os 52%. Ogura et al. (2023) identificaram valores de CE_{50} de $0,34 \text{ mg kg}^{-1}$ para parte aérea de *C. ensiformis* e *D. lablab*, enquanto $0,68 \text{ mg kg}^{-1}$ para *L. albus*. Nesse estudo, os autores identificaram os valores de CE_{50} para crescimento da raiz de 0,98, 0,05 e $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$. Esses resultados indicam que, assim como no presente estudo, os efeitos da exposição ao 2,4-D foram mais evidentes para a raiz em relação à parte aérea para *D. lablab* e *L. albus*, mas o mesmo padrão não foi observado para *C. ensiformis*.

5.5 Considerações finais

A partir dos resultados obtidos, pode-se confirmar que todas as espécies estudadas possuem potencial para aplicação na adubação verde, mas algumas sofreram mais com os efeitos de fitotoxicidade causados pelo 2,4-D. Assim, este estudo pode auxiliar na escolha de espécies de plantas para utilização no cultivo de cana-de-açúcar a fim de selecionar a opção mais vantajosa para a melhoria da qualidade do solo e conseqüentemente da produtividade da cultura.

Porém, existem algumas limitações nesta pesquisa que devem ser consideradas, como as condições climáticas nas quais os experimentos se desenvolveram, que foram controladas em laboratório e não abarcam as variações naturais do ambiente. Além disso, este trabalho não realizou quantificação química do 2,4-D nas plantas, que pode trazer informações sobre o transporte e a bioacumulação dessa substância.

Portanto, a realização de futuros estudos em campo podem trazer resultados mais próximos da aplicação prática da adubação verde no cultivo de cana-de-açúcar. O período dos experimentos também pode ser aumentado para avaliar a variação dos efeitos de fitotoxicidade ao longo do tempo. Outra complementação seria a quantificação química, que pode ser feita tanto para o agrotóxico quanto para os nutrientes (nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, entre outros) presentes nas plantas.

6. CONCLUSÕES

A fitotoxicidade do 2,4-D, mesmo em doses inferiores às comercialmente usadas no cultivo de cana-de-açúcar, foi verificada por meio da inibição do crescimento tanto da parte aérea quanto da raiz das espécies *C. cajan*, *C. ensiformis*, *C. juncea*, *M. pruriens*, *L. albus* e *D. lablab*. A germinação foi afetada apenas nas espécies *C. cajan* e *L. albus*, que apresentaram porcentagens de germinação inferiores às fornecidas pela empresa Pirai Sementes® nas maiores concentrações utilizadas. Em relação ao Índice de Tolerância, a espécie mais resistente foi a *M. pruriens*, que apresentou IT maior que 60% em todos os tratamentos e em relação às duas análises de biomassa. Foi considerada como espécie menos resistente o *C. cajan*, que apresentou Índices de Tolerância médios de 44,16% (biomassa fresca) e 57,5% (biomassa seca), respectivamente. Além disso, a *M. pruriens*, foi a espécie com maior produção de biomassa estimada, o que é fundamental para a utilização na adubação verde. A concentração de efeito para 50% da população obteve resultados coerentes com os apresentados para germinação, crescimento e Índice de Tolerância.

Nesse contexto, a *M. pruriens* destaca-se como a espécie com o maior potencial de utilização, visto que demonstrou maior tolerância ao 2,4-D e maior estimativa de produção de biomassa, portanto provavelmente sofrerá menos com os resíduos remanescentes do agrotóxico após a colheita da cana-de-açúcar e terá bom desempenho. Outra espécie que se sobressai é a *C. ensiformis*, que apresentou o segundo maior crescimento e Índices de Tolerância superiores aos da *M. pruriens* até o tratamento C3, apesar de ter sofrido mais intensamente os efeitos tóxicos do 2,4-D na concentração de 4 mg i.a. kg⁻¹, que inibiu mais de 90% do seu crescimento e conseqüentemente afetou o Índices de Tolerância.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: Qualidade do solo — Determinação dos efeitos de poluentes na flora terrestre - Parte 2: Efeitos do solo contaminado na emergência e no crescimento inicial de vegetais superiores. 2014.

AMBROSANO, E. J. *et al.* Adubação verde melhorando o ambiente de produção da cana-de-açúcar. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 7, n. 1, 2010. Disponível em: <https://www.agricultura.sp.gov.br/documents/1007647/0/11.ADUBA%C3%87%C3%83O%20VERDE%20MELHORANDO%20O%20AMBIENTE%20DE%20PRODU%C3%87%C3%83O%20PARA%20CANA-DE-A%C3%87UCAR.pdf/6a3faf46-e5c4-b9da-18b6-e25ae6946376>

ARAÚJO, I. M.; OLIVEIRA, A. G. Agronegócio e agrotóxicos: Impactos à saúde dos trabalhadores agrícolas no nordeste brasileiro. **Trabalho, Educação e Saúde**, v. 15, p.117-129, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/1981-7746-sol00043>

ALCÂNTARA, F. A. *et al.* Adubação verde na recuperação da fertilidade de um Latossolo Vermelho-Escuro degradado. **Revista Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 2, p. 723-732. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2000000200006>

ALENCAR, L. P. **Análise da fitotoxicidade do glifosato (Round up) em sementes de alface elba (*Lactuca sativa*)**. 2022. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Universidade Federal de Mato Grosso, Várzea Grande, 2022. Disponível em: https://bdm.ufmt.br/bitstream/1/2442/1/TCC_2022_L%C3%ADvia%20Pereira%20de_Alencar.pdf

BIANCHI, M. O. **Ensaio ecotoxicológicos como ferramenta para avaliação do impacto ambiental de resíduos de mineração sobre o solo**. 2013. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2013. Disponível em: <https://tede.ufrj.br/jspui/bitstream/jspui/2004/4/2013%20-%20Miriam%20de%20Oliveira%20Bianchi.pdf>

BOMBARDI, L. M. **Geografia do uso de agrotóxicos no Brasil e conexões com a União Europeia**. 1. ed. São Paulo: FFLCH - USP, 2017.

BOTEON, B. F. **Sensibilidade de plantas cultivadas ao dicamba e 2,4-D aplicados em doses comerciais e subdoses**. 2022. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/16968/TFG%20Beatriz%20Fogolari%20Boteon%20%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental – Ficha de Informação de Produto Químico. Disponível em: https://sistemasinter.cetesb.sp.gov.br/produtos/ficha_completa1.asp?consulta=%C3%81CIDO%20,4%20-%20DICLOROFENOXIAC%C3%89TICO

CHRISTOFFOLETI, P. J.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F. **Comportamento dos herbicidas aplicados ao solo na cultura de cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP 2, 2008. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/3825040/mod_resource/content/1/Livro%20Herbicidas%20no%20Solo.pdf. Acesso em: 5 out. 2023.

CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL. PIB do Agronegócio alcança participação de 26,6% no PIB brasileiro em 2020. Disponível em: <https://www.cnabrazil.org.br/publicacoes/pib-do-agronegocio-alcanca-participacao-de-26-6-no-pib-brasileiro-em-2020#:~:text=Em%20valores%20monet%C3%A1rios%2C%20o%20PIB,a%20quase%20R%24%20%20trilh%C3%B5es.>

CONSTANTIN, J. Efeito de subdoses de 2,4-D na produtividade do algodão e suscetibilidade da cultura em função de seu estágio de desenvolvimento. **Engenharia Agrícola**, v. 27, p. 24-29, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-69162007000200004>

COSTA, C. R. *et al.* A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000700038>

COSTA, E. M. **Deriva simulada de dicamba e 2,4-d: efeitos sobre a produtividade e qualidade fisiológica das sementes de soja recém colhidas e armazenadas**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias-Agronomia, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Rio Verde, 2019. Disponível em: https://repositorio.ifgoiano.edu.br/bitstream/prefix/592/3/dissertacao_Estevam_Matheus_Costa.pdf

D'ANTONINO, L. *et al.* Efeitos de culturas na persistência de herbicidas auxínicos no solo. **Planta Daninha**, v. 27, n.2, p. 371-378, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582009000200021>

DELLAMATRICE, P. M.; MONTEIRO, R. T. R. Principais aspectos da poluição de rios brasileiros por pesticidas. **Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental**, v. 18, n. 12, p. 1296-1301, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v18n12p1296-1301>

DUARTE JUNIOR, J. B.; COELHO, F. C. Adubos verdes e seus efeitos no rendimento da cana-de-açúcar em sistema de plantio direto. **Bragantia**, v. 67, n. 3, p. 723-732, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0006-87052008000300022>

ENGELBERG, P. A. G. **Dissipação do 2,4-D em solo do Cerrado**. 2020. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Universidade Federal de Rondonópolis, Rondonópolis, 2020. Disponível em: https://bdm.ufmt.br/bitstream/1/1778/1/TCC_2019_Pedro%20Alberto%20Giovane%20Engelberg.pdf

FEITOSA, I. R. S. *et al.* Ocorrência de pesticidas em solos argilosos. **Química Nova**, v. 46, n. 5, p. 414-424, 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20230025>

FONTANA, N. **Efeitos da deriva simulada de 2,4-D sobre feijão, soja, tomateiro e videira**. 2021. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2021. Disponível em: <https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/27221/1/deriva24dfeijaosojatomeirovideira.pdf>

GASPAR, N. *et al.* Efeitos fitotóxicos sobre a cultura do alface ocasionados pela deriva simulada de herbicidas utilizados no milho. **Revista Ensaios Pioneiros**, v. 1. n. 1, p. 1-13, 2017. DOI: <https://doi.org/10.24933/rep.v1i1.21>

HÄHNKE, V.D. *et al.* PubChem chemical structure standardization. **J Cheminform** 10, 36 (2018). <https://doi.org/10.1186/s13321-018-0293-8>

LUZ, A.; FOCHEZATTO, A. O transbordamento do PIB do Agronegócio do Brasil: uma análise da importância setorial via Matrizes de Insumo-Produto. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v 61. DOI: <https://doi.org/10.1590/1806-9479.2021.253226>

MATTOS, L. M.; SILVA, E. F. Influência das propriedades de solos e de pesticidas no potencial de contaminação de solos e águas subterrâneas. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 9, p. 103-124, 1999. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/pes.v9i0.39642>

MARCATO, A. C.; SOUZA, C. P.; FONTANETTI, C. S. Herbicide 2,4-D: A Review of Toxicity on Non-Target Organisms. **Water Air Soil Pollut** 228, 120, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11270-017-3301-0>

MARTINS, E. L. **Previsão da lixiviação de pesticidas utilizados na cultura de algodão em Mato Grosso**. 2006. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2006.

MONQUERO, P. A. *et al.* Lixiviação e persistência dos herbicidas sulfentrazone e imazapic. **Planta Daninha**, v. 28, n. 1, p. 185-195, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582010000100022>

NACHILUK, K. Alta na Produção e Exportações de Açúcar Marcam a Safra 2020/21 de Cana. **Análises e Indicadores do Agronegócio**, São Paulo, v. 16, n. 6, jun. 2021, p. 1-5. Disponível em: <http://www.iea.sp.gov.br/out/TerTexto.php?codTexto=15925#:~:text=O%20Brasil%20%C3%A9%20o%20maior,de%20litros%20de%20etanoll>

NETO, D. M. *et al.* Avaliação do transporte do ácido 2,4-diclorofenoxiacético através de um lisímetro. **Química Nova**, v. 35, p. 1809-1813. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000900020>

OGURA, A. P. *et al.* Irrigation with water contaminated by sugarcane pesticides and vinasse can inhibit seed germination and crops initial growth. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 1, p. 12, 9 fev. 2022a. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00244-022-00914-x>

OGURA, A. P. **Fitotoxicidade e fitorremediação de água e solos contaminados com os agrotóxicos 2,4-D e fipronil aplicados no cultivo de cana-de-açúcar**. 2022b. 171 p. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2022b. DOI: <https://doi.org/10.11606/T.18.2022.tde-08122022-102023>

OGURA, A. P. *et al.* Phytotoxicity of 2,4-D and fipronil mixtures to three green manure species. **Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 58, p. 262-272, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1080/03601234.2023.2178789>

OLIVEIRA, F. G.; BALDAN, L. T. **Fundamentos de Ecotoxicologia: princípios e aplicações**. Palotina: UFPR, 2022. Disponível em: <https://palotina.ufpr.br/wp-content/uploads/2022/10/Ecotoxicologia-Oliveira-e-Baldan.pdf>

OLIVEIRA JR, R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas**. Curitiba: Omnipax, 2011. Disponível em:

https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5262092/mod_resource/content/2/4%20-%20mecanismo%20de%20acao%20capitulo%20livro%20rubem.pdf

PAZMIÑO, D. M. Insights into the toxicity mechanism of and cell response to the herbicide 2,4-D in plants. **Plant Signaling & Behavior**, 7:3, 425-427, 2012. DOI: <https://doi.org/10.4161/psb.19124>

PRIMAVESI, A. A alimentação no século XXI. In: **Congresso Brasileiro de Horticultura Orgânica, Natural, Ecológica e Biodinâmica**, 1, Piracicaba, 2001. Anais Botucatu, Livraria e Editora Agroecológica, 2001. p. 7-12.

REIS, T. C. *et al.* Efeitos de fitotoxicidade do herbicida 2,4-D no milho em aplicações pré e pós-emergência. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 10, n. 1, 25-33, 2010. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/500/50016930002.pdf>

SERAFINI, S.; SOARES, J. G.; SEGAT, J. C. O que é o que faz a ecotoxicologia terrestre? **Caderno Rural**, ed 212, ano 10, 2018. Disponível em: https://www.udesc.br/arquivos/ceo/id_cpmenu/1043/rural_212_15271751549553_1043.pdf

SILVA, F. M. *et al.* Atividade residual de 2,4-D sobre a emergência de soja em solos com texturas distintas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.10, p.29-36, 2011. Disponível em: <https://www.rbherbicidas.com.br/index.php/rbh/article/view/85/pdf>

SILVA, D. R. *et al.* Deriva de 2,4-D e dicamba aplicado em estágio vegetativo e reprodutivo da soja. **Ciência Rural**, v. 48, n. 8, e20180179, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180179>

SOLIGO, V. **Doses e épocas de aplicação de 2,4-D em trigo**. 2019. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) - Universidade Federal da Fronteira Sul, 2019. Disponível em: <https://rd.uffs.edu.br/bitstream/prefix/3197/1/SOLIGO%20.pdf>

SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. Agrotóxicos no Brasil. **EMBRAPA**, 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/agricultura-e-meio-ambiente/qualidade/dinamica/agrotoxicos-no-brasil>. Acesso em: 4 out. 2023.

TRIQUES, M. C. The Ecotoxicity of Sugarcane Pesticides to Non-target Soil Organisms as a Function of Soil Properties and Moisture Conditions. **International Journal of Environmental Research**, 16:61, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s41742-022-00433-6>

WACHEKOWSKI, G. *et al.* Agrotóxicos, Revolução Verde e seus impactos na sociedade: Revisão Narrativa de Literatura. **Salão do Conhecimento - Unijuí**, 2021.