

**Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Retenção e degradação de  $^{14}\text{C}$ -glifosato e remobilização dos seus resíduos  
ligados em diferentes classes de solos**

**Sayonara Andrade do Couto Moreno Arantes**

Tese apresentada para obtenção do título de  
Doutor em Agronomia. Área de concentração:  
Solos e Nutrição de Plantas

**Piracicaba  
2007**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**Sayonara Andrade do Couto Moreno Arantes**  
**Engenheiro Agrônomo**

**Retenção e degradação de  $^{14}\text{C}$ -glifosato e remobilização dos seus resíduos ligados em diferentes classes de solos**

Orientador:  
Prof. Dr. **ARQUIMEDES LAVORENTI**

Tese apresentada para obtenção do título de  
Doutor em Agronomia. Área de concentração:  
Solos e Nutrição de Plantas

**Piracicaba**  
**2007**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Arantes, Sayonara Andrade do Couto Moreno  
Retenção e degradação de <sup>14</sup>C-glifosato e remobilização dos seus resíduos  
ligados em diferentes classes de solos / Sayonara Andrade do Couto Moreno  
Arantes. - - Piracicaba, 2007.  
121 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007.  
Bibliografia.

1. Herbicidas 2. Latossolos 3. Neossolos 4. Poluição do solo I. Título

CDD 632.954

**"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"**

**À DEUS;**

*Por cada dia concedido a minha existência e  
por me dar forças para percorrer os caminhos  
da vida.*

*Aos meus queridos pais, Alípio e Maria Helena, não  
somente pelo exemplo de dignidade, mas pelo amor  
e apoio dedicados a mim em todos os momentos da vida.*

*A minha irmã Janaina e ao meu sobrinho  
João Vítor, por ser a luz da nossa família.*

**ofereço.**

*Ao meu marido Kelte, por dedicar a mim todo amor, carinho e incentivo necessários para o  
cumprimento de mais essa etapa; e por ser determinado em seus objetivos, afim de nos  
proporcionar uma vida melhor.*

**dedico.**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas que me ajudaram, me incentivaram e me apoiaram durante a realização desse trabalho, em especial:

Ao Prof. Dr. Arquimedes Lavorenti não somente pela orientação e ensinamentos que contribuíram para minha formação, mas também pela confiança, cordialidade e excelente convivência durante todo o período de realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Valdemar Luiz Tornisielo pela oportunidade de desenvolvimento dos experimentos no CENA, pelos conhecimentos compartilhados e principalmente pela amizade, confiança e apoio.

Aos professores Dr. Arnaldo Antônio Rodella, Dr. Marcelo Eduardo Alves e Dr. Carlos Eduardo Pellegrini Cerri, pelas sugestões apresentadas na qualificação.

A professora Dra. Célia Regina Montês e ao professor Dr. Pablo Vidal Torrado, pelas sugestões e disponibilidade.

A todas as pessoas do laboratório de Ecotoxicologia do CENA/USP pela amizade, ajuda nos experimentos e por terem contribuído para que este período fosse bastante agradável, em especial aos técnicos Rosângela e Dorelli, as amigas Ana Chaves, Giuliane, Graziela, Cidinha, Luciana e a aluna de graduação Patrícia, pela essencial ajuda.

À todos os funcionários e professores do Departamento Ciências Exatas, área de Química, em especial a Ana, Felipe e Rita, pela ajuda.

Aos funcionários do Departamento de Solos e Nutrição de Plantas, em especial a Nancy, Marta, Luís e com grande carinho a Beth, do laboratório de Mineralogia.

Aos funcionários do NUPEGEL, pela disponibilidade.

A todos os colegas do curso de pós-graduação em Solos e Nutrição de Plantas e as queridas amigas: Isabeli, Alessandra e Mara.

Ao departamento de Solos e Nutrição de Plantas, pela oportunidade de realização deste trabalho, a CAPES pela concessão da bolsa e à FAPESP pelo apoio financeiro.

E a todas as pessoas que tive oportunidade de conviver neste período,

*Muito Obrigada!*

## SUMÁRIO

RESUMO .....	7
ABSTRACT .....	8
1 INTRODUÇÃO.....	9
1.1 Considerações sobre pesticidas no ambiente.....	11
1.2 O herbicida glifosato .....	12
1.3 Comportamento do herbicida glifosato em solos .....	19
1.3.1 Retenção e transporte do glifosato em solos .....	19
1.3.2 Aspectos relacionados a degradação do glifosato em solos .....	28
Referências .....	34
2 SORÇÃO E DESSORÇÃO DE <sup>14</sup> C-GLIFOSATO EM DUAS CLASSES DE SOLOS ANTES E APÓS A REMOÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA, ÓXIDOS DE FERRO E GIBBSITA ....	41
Resumo .....	41
Abstract.....	42
2.1 Introdução.....	43
2.2 Desenvolvimento .....	45
2.2.1 Material e Métodos.....	45
2.2.1.1 Coleta, preparo e caracterização das amostras de solos .....	45
2.2.1.2 Separação seqüencial dos constituintes dos solos .....	48
2.2.1.3 Ensaios de sorção e dessorção .....	49
2.2.1.4 Delineamento experimental e análise dos dados .....	52
2.2.2 Resultados e Discussão.....	52
2.3 Conclusões.....	60
Referências .....	61
3 INFLUÊNCIA DA CALAGEM NA RETENÇÃO, ATIVIDADE MICROBIANA E NA MINERALIZAÇÃO DE <sup>14</sup> C-GLIFOSATO EM DIFERENTES CLASSES DE SOLOS .....	64
Resumo .....	64
Abstract.....	65
3.1 Introdução.....	66
3.2 Desenvolvimento .....	69

3.2.1 Material e Métodos.....	69
3.2.1.1 Coleta e caracterização das amostras de solos.....	69
3.2.1.2 Incubação dos solos com calcário .....	70
3.2.1.3 Ensaios de sorção e dessorção .....	71
3.2.1.4 Atividade microbiana .....	73
3.2.1.5 Ensaio de Mineralização.....	75
3.2.1.5.1 Extração do glifosato das amostras de solos .....	77
3.2.1.5.2 Oxidação das amostras de solos .....	77
3.2.1.6 Delineamento experimental e análise dos dados .....	78
3.2.2 Resultados e Discussão.....	78
3.2.2.1 Sorção e dessorção .....	78
3.2.2.2 Atividade microbiana .....	83
3.2.2.3 Mineralização .....	88
3.3 Conclusões.....	93
Referências .....	95
4 EFEITO DA CALAGEM NA REMOBILIZAÇÃO DOS RESÍDUOS LIGADOS DE <sup>14</sup> C- GLIFOSATO EM SOLOS .....	100
Resumo .....	100
Abstract.....	101
4.1 Introdução.....	102
4.2 Desenvolvimento.....	106
4.2.1 Material e Métodos.....	106
4.2.1.1 Coleta e caracterização das amostras de solos.....	106
4.2.1.2 Incubação dos solos com calcário .....	107
4.2.1.3 Formação dos resíduos ligados de <sup>14</sup> C-glifosato .....	107
4.2.1.4 Estudo de remobilização e atividade microbiana .....	109
4.2.2 Resultados e Discussão.....	112
4.3 Conclusões.....	118
Referências .....	119



## RESUMO

### **Retenção e degradação de $^{14}\text{C}$ -glifosato e remobilização dos seus resíduos ligados em diferentes classes de solos**

O glifosato é um dos herbicidas mais consumidos no Brasil e com perspectivas de aumento deste consumo, diante da expansão do plantio direto e do plantio de culturas geneticamente modificadas com resistência a esse herbicida. Porém, pesquisas com esta molécula são ainda incipientes em solos de clima tropical. Nesse contexto, esta pesquisa objetivou gerar dados para uma melhor compreensão do comportamento ambiental desta molécula. Com este intuito, foram realizados ensaios laboratoriais com um Latossolo Vermelho (LE) e um Neossolo Quartzarênico (RQ) que permitiram o desenvolvimento dos capítulos descritos. Os ensaios foram realizados no laboratório de Ecotoxicologia do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), com glifosato radiomarcado no carbono fosfometil. Na parte inicial da tese, foi realizada uma breve revisão do comportamento ambiental do glifosato. No segundo capítulo, procurou-se determinar os principais constituintes dos solos responsáveis pela sorção do herbicida. Para isso, foram realizadas extrações sequenciais dos principais componentes dos solos, com métodos adequados, e em seguida, realizados os ensaios de sorção e dessorção nas amostras. No terceiro capítulo, foi estudado o efeito da calagem, prática comum na agricultura brasileira, nos processos de retenção e mineralização do glifosato, além de avaliar o efeito da calagem e do glifosato na atividade microbiana dos solos estudados. No quarto capítulo foi avaliado a remobilização dos resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato nos solos, na presença ou não de calagem. Os dados obtidos permitiram verificar que, dentre as frações avaliadas no segundo capítulo, os óxidos de ferro foram os principais responsáveis pela sorção do glifosato nos dois solos estudados e a dessorção do herbicida foi baixa em todas as condições. Nos resultados obtidos com os ensaios do terceiro capítulo, foi possível observar que a calagem não influenciou significativamente a sorção e a dessorção do glifosato, tanto no LE quanto no RQ. A atividade da microbiota de ambos os solos foi afetada pela calagem e pelo glifosato. Com relação ao ensaio de mineralização, a calagem aumentou significativamente a mineralização do glifosato no LE e no RQ. Este mesmo efeito da calagem foi observado na remobilização dos resíduos ligados deste herbicida nos solos. Em todos os ensaios foi possível observar a elevada capacidade que o glifosato possui em formar resíduo ligado nos solos, sendo a principal fração formada deste herbicida. Diante dos resultados obtidos foi possível notar a necessidade de mais pesquisas sobre o comportamento do glifosato em solos de clima tropical, sob diferentes condições.

Palavras-chave: Latossolo Vermelho; Neossolo Quartzarênico; Contaminação

## ABSTRACT

### **Retention and degradation of $^{14}\text{C}$ -glyphosate and remobilization of its bound residues in two tropical soils**

Nowadays, glyphosate is one of the most used herbicides in the Brazilian agriculture being expected an increase in its employment due to both the expansion of no-tillage cropped areas and the cultivation of transgenic plants resistant to this molecule. Considering that research related to glyphosate behaviour in tropical soils remains incipient, the present study aimed at to get more detailed information on the dynamics of this molecule in two different Brazilian soils. Laboratory experiments were carried out with both a Red Latosol (LE) and a Quartzarenic Neosol (RQ) at the Ecotoxicology Laboratory from Nuclear Energy in Agriculture Center (CENA/USP) by using  $^{14}\text{C}$ -glyphosate (C labelled at phosphonomethyl group). In the first part of the thesis, it is presented a brief review of the environmental behaviour of glyphosate. The second chapter describes an experiment carried out to identify the main soil component responsible for the glyphosate sorption. To attend this, the sequential removals of organic matter, iron oxides and gibbsite was done being each one followed by glyphosate sorption and desorption batch experiments. In the third chapter it was studied the soil liming effects on both retention and mineralization of glyphosate and also the mutual effect of liming and glyphosate on the soil microbial activity. In the fourth chapter it was evaluated the remobilization of glyphosate bound residues in soil with or without liming. The results presented in the second chapter indicated that the iron oxides are the main components responsible for the glyphosate sorption in both studied soils and that the desorption was low in all studied conditions. The results of the third chapter showed that liming influences neither glyphosate sorption nor its desorption in the two soils and that its mineralization increased in both of them due to the lime application. Similar effects were observed in the fourth chapter, where, for all experiments, liming increased the remobilization of bound residues of glyphosate.

Keywords: Red Latosol; Quartzarenic Neosol; Contamination

## 1 INTRODUÇÃO

O uso de pesticidas iniciou na década de 40 e com o passar do tempo, devido a sua eficiência no controle de pragas, doenças e plantas daninhas, seu uso foi intensificado. No começo de sua utilização, não havia preocupação com os possíveis impactos dessas moléculas sobre o ambiente e seres vivos. No entanto, a partir da década de 60, a atenção foi atraída para assuntos relevantes, tais como a toxicidade aguda e crônica dos pesticidas; sua fitotoxicidade; o surgimento de espécies resistentes de pragas; a persistência no solo e na água e seu potencial de transporte. Por isso, pesquisas por moléculas com baixo potencial de contaminação ambiental e baixa toxicidade a organismos não alvos são de grande interesse.

Os pesticidas são muito utilizados na agricultura, principalmente na exploração de monoculturas, onde ocorre homogeneização do ambiente, o que leva a transformação de predadores naturais em pragas. O Brasil é um dos maiores consumidores mundiais de pesticidas, sendo a soja a principal cultura consumidora de defensivos, tendo sido responsável em 2006 por 38,5% no valor das vendas, seguida da cana-de-açúcar (SINDICATO NACIONAL DAS INDÚSTRIAS DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS – SINDAG, 2007).

Mesmo com os inúmeros benefícios advindos do uso adequado dos pesticidas, torna-se fundamental, o conhecimento do seu comportamento, principalmente no solo, que é o destino final dessas moléculas, na maioria das vezes.

O comportamento de um pesticida no solo depende de três fatores principais: i) estrutura química e propriedades do composto; ii) características físicas, químicas e biológicas do solo e iii) condições ambientais. Dependendo da interação desses três fatores, os pesticidas podem sofrer escoamento superficial, serem lixiviados para camadas mais profundas do solo, volatilizados ou serem absorvidos pelas plantas, sendo essas diferentes rotas, influenciadas pelo processo de retenção e degradação do produto. Dessa forma, estudos de sorção e degradação de pesticidas em solos são a base para se prever o comportamento destas moléculas no solo.

Um importante aspecto a ser considerado no comportamento de pesticidas em solos é a influência de práticas agrícolas, tal como a calagem. A calagem é considerada uma prática essencial para o cultivo na maioria dos solos agrícolas brasileiros, alterando diversos atributos físicos, químicos e biológicos dos solos e, portanto, a dinâmica de pesticidas.

Um pesticida com grande destaque na agricultura brasileira e mundial é o glifosato [n-(fosfometil)glicina]. O glifosato é um herbicida não seletivo que tem sido amplamente utilizado no Brasil para o controle de um largo espectro de plantas daninhas, em culturas de arroz irrigado, cana-de-açúcar, café, citros, maçã, milho, pastagens, fumo, uva, soqueira de cana-de-açúcar e soja, além de outras. A soja transgênica possui seletividade induzida ao glifosato, o qual pode ser aplicado sobre as plantas durante sua fase de desenvolvimento vegetativo, sem causar injúrias. Outras culturas também sofreram modificação genética e possuem resistência ao glifosato, tais como a canola, o milho e o algodão.

Em função do uso intensivo do glifosato e perspectivas de aumento deste consumo, devido ao maior plantio de culturas resistentes a este herbicida, existe uma grande preocupação por parte de pesquisadores, sobre o comportamento desta molécula no solo e no ambiente. Porém, estudos com o glifosato em condições tropicais são ainda incipientes, necessitando uma melhor compreensão da sua dinâmica em solos brasileiros.

É relatado na literatura a elevada capacidade de sorção do glifosato em solos, porém a contribuição das partículas minerais e orgânicas presentes em solos de carga variável não é inteiramente esclarecida.

A molécula de glifosato, quando alcança o solo, também fica sujeita aos processos de transformação biológica e não biológica, apesar da biodegradação ser considerada o mecanismo principal de degradação deste herbicida. Quanto mais rápido uma molécula for degradada, menor a sua persistência no ambiente, portanto o estudo deste processo é considerado de grande relevância.

Na interação do glifosato com as partículas dos solos ocorre a formação de resíduo ligado, que são definidos como aqueles que não são sujeitos a extração por métodos que não alterem a natureza do resíduo e a matriz do solo. No entanto, esses resíduos podem em algum momento, por algum motivo, serem remobilizados. Estudos sobre a biodisponibilidade de resíduos ligados de glifosato em solos é desconhecida, não sendo relatado este tipo de estudo na literatura. Do ponto de vista ambiental, necessita-se saber se estes resíduos tem potencial para serem bioliberados e representar contaminação a longo prazo.

## 1.1 Considerações sobre pesticidas no ambiente

Os pesticidas são inseridos ao ambiente principalmente quando utilizados na agricultura, onde podem ser aplicados de diferentes formas, dependendo do tipo do organismo alvo e o local de ataque que se deseja combater.

Quando se objetiva o controle de plantas daninhas, insetos e microrganismos que atacam a parte aérea das plantas utiliza-se a pulverização via foliar; quando se tem por objetivo o controle de certas pragas e doenças que atacam o sistema radicular das plantas, ou mesmo plantas daninhas em pré-emergência, faz-se aplicações de pesticidas diretamente no solo.

Independentemente da forma como os pesticidas são aplicados no ambiente, eles alcançam o solo. No solo, essas moléculas podem sofrer vários processos de interação. Elas podem ser retidas às partículas minerais e orgânicas ou podem permanecer na solução do solo, e então ficam disponíveis para a transformação biótica ou abiótica, para a absorção pelas plantas e para serem transportadas para outros locais. Todas essas interações podem ocorrer simultaneamente, em intensidades diferentes (PRATA, 2002), dependendo das propriedades físico-químicas do pesticida e do solo, das condições ambientais e das práticas de manejo utilizadas.

Especial interesse no destino de pesticidas no ambiente é com relação aos processos de transporte. Esses processos contribuem para a saída dos pesticidas da área de aplicação para outros compartimentos do ambiente, a exemplo dos ecossistemas aquáticos superficiais e subsuperficiais. O transporte de pesticidas no ambiente pode ocorrer por meio da sua movimentação vertical no perfil do solo, processo conhecido como lixiviação, através da volatilização da molécula ou pelo escoamento superficial ou “Runoff” (ENFIELD; YATES, 1990).

Um importante aspecto a ser considerado são os custos ambientais e sociais decorrentes da aplicação de pesticidas no ambiente. Esses custos foram estimados por Pimentel et al. (1993) pelo uso de pesticidas nos Estados Unidos e chegaram a um valor de aproximadamente 8 bilhões de dólares/ano. Considerando que os autores utilizaram para essa estimativa somente alguns dos diversos efeitos indiretos do uso de pesticidas, como possíveis impactos sobre a saúde pública, contaminação de águas subsuperficiais, morte de pássaros etc, pode-se sugerir que se os custos totais pudessem ser inteiramente avaliados, o valor encontrado seria significativamente superior.

Segundo Rodrigues (2001), a causa de muitos dos problemas de poluição por pesticidas é devido ao seu uso intensivo por muitos anos consecutivos e de forma não controlada, resultando na detecção de seus resíduos na água, incluindo a destinada ao consumo humano (abastecimento público, poços etc.).

O monitoramento da qualidade da água no Brasil, no que diz respeito à contaminação com pesticidas, não é uma prática comum. Porém, em países com agricultura altamente tecnificada, estudos dessa natureza são freqüentes (GUILHERME et al., 2000). No que diz respeito ao glifosato, em condições brasileiras, o limite de concentração máxima permitido é de 500 ppb (SILVA; PERALBA; MATTOS, 2003).

Os solos reduzem a mobilidade de produtos químicos orgânicos de duas maneiras: pela retenção ou pela degradação biológica ou química. Conseqüentemente, a base para se predizer o comportamento de pesticidas no solo e para se avaliar o risco de um produto químico ser lixiviado para o lençol freático ou ser transportado na água por escoamento superficial, depende da compreensão da natureza e da extensão dos processos de retenção e degradação (GUILHERME et al., 2000).

## 1.2 O herbicida glifosato

O glifosato ácido,  $C_3H_8NO_5P$  (Figura 1.1), é um herbicida pertencente ao grupo químico das glicinas substituídas, o qual foi sintetizado a partir da substituição de um hidrogênio amínico do aminoácido glicina, pelo radical metilfosfônico. Essa molécula participa como ingrediente ativo de diversas formulações e elas são fabricadas e vendidas aos agricultores sob diversas marcas, sendo o mais consumido o Roundup<sup>®</sup> da MONSANTO.

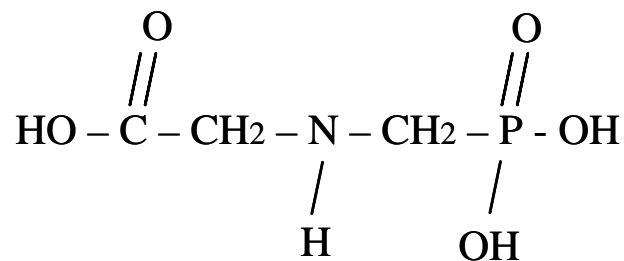


Figura 1.1 - Estrutura química do glifosato (N - (fosfonometil) glicina)

O glifosato se caracteriza por ser um herbicida de amplo espectro, não seletivo e utilizado contra uma grande variedade de plantas daninhas anuais, bianuais e perenes, arbustos de folhas largas e lenhosas (SILVA; PERALBA; MATTOS, 2003). Ele é utilizado em culturas de arroz irrigado, cana-de-açúcar, café, citros, maçã, milho, pastagens, soja, fumo, uva e soqueira em cana-de-açúcar. É indicado ainda para culturas de ameixa, banana, cacau, nectarina, pêra, pêssego, seringueira e outras (AMARANTE JÚNIOR et al., 2002).

A expansão do plantio direto e, mais recentemente, os avanços biotecnológicos que permitiram a comercialização de variedades geneticamente modificadas, tolerantes a este herbicida, causaram o aumento do uso de herbicidas à base de glifosato nos agrossistemas, elevando assim, a presença dessa molécula no ambiente, especialmente no solo (SIQUEIRA et al., 2004).

A soja é a cultura mais conhecida com resistência ao glifosato. A sua adoção tem sido rápida principalmente nos Estados Unidos, Argentina e Brasil, conforme relatado por Cerdeira e Duke (2006). Ainda segundo esses autores, outras culturas também foram geneticamente modificadas para apresentar resistência ao glifosato, tais como a canola, o milho, a alfafa e a cana-de-açúcar e outras estão em desenvolvimento. Mamy e Barriuso (2005) citam que as vantagens do plantio das plantas geneticamente modificadas é a redução da quantidade de herbicidas aplicado, pois há redução do número de ingrediente ativo usado refletindo em um menor custo de produção.

Atualmente no Brasil, o plantio da soja geneticamente modificada (GM) é legalizado e segundo Batista (2007), o produtor de soja GM vem obtendo rentabilidade maior do que com grão convencional, em todas as regiões do país. A esse benefício se deve a expansão do plantio da soja GM no Brasil, que hoje ocupa área de aproximadamente 11,4 milhões de hectares (CRISTINA, 2007) e com perspectivas de crescimento nos próximos anos. Segundo estimativas da associação dos produtores de sementes de Mato Grosso, o maior estado produtor de soja do Brasil, os transgênicos que representaram na safra 2006/07 cerca de 25% da área total de soja (5,1 milhão de hectares) devem avançar para 35% na safra 2007/08. Paralelamente ao aumento do plantio de soja GM no Brasil, há o aumento de aplicações do herbicida glifosato no ambiente e neste aspecto se justifica a realização de trabalhos envolvendo esta molécula.

O glifosato é um herbicida eficiente, pois em contato com as plantas daninhas, ele é rapidamente absorvido principalmente pela região clorofilada das plantas (folhas e tecidos

verdes) e translocado, preferencialmente pelo floema, para os tecidos meristemáticos. O glifosato atua como um potente inibidor da atividade da enzima 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), que é catalisadora das reações de síntese dos aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano (RODRIGUES, 1994). A inibição da síntese desses três aminoácidos essenciais compromete a produção de clorofila e carotenóides, causando danos celulares irreversíveis (SILVA; PERALBA; MATTOS, 2003). As plantas tratadas com glifosato morrem lentamente, em poucos dias ou semanas, e devido ao seu transporte por todo o sistema, nenhuma parte da planta sobrevive.

Em condições ambientais, o glifosato é muito solúvel em água ( $12 \text{ g L}^{-1}$  a  $25^\circ\text{C}$ ) e quase insolúvel em solventes orgânicos comuns, tais como acetona e etanol. Ele funde a  $200^\circ\text{C}$ , possui densidade de  $0,5 \text{ g cm}^{-3}$  e se apresenta bastante estável em presença de luz, inclusive em temperaturas superiores a  $60^\circ\text{C}$ . Possui isotermas de sorção no solo lineares, chegando a apresentar valores de coeficiente de distribuição ( $K_d$ ) da ordem de  $1.188 \text{ L kg}^{-1}$  (CHEAH; KIRKWOOD; LUM, 1997). A meia vida de mineralização do glifosato pode chegar a aproximadamente 23 anos, como relatado por Nomura e Hilton (1977) em solos vulcânicos. Apresenta uma massa molar de  $169,1 \text{ g}$  e pressão de vapor praticamente nula (AMARANTE JÚNIOR et al., 2002).

A molécula de glifosato apresenta comportamento zwitteriônico, ou seja, possui a capacidade de apresentar cargas positiva e negativa ao mesmo tempo devido ao seu caráter de anfótero, o qual faz com que ele possa atuar como ácido fraco e base fraca ao mesmo tempo, o que pode ser visto na Figura 1.2. Conforme Amarante Júnior et al. (2002), de acordo com as dissociações previstas do glifosato, podemos observar que em pH abaixo de 0,8, a maior parte do glifosato se apresenta com uma protonação no sítio da amina. Em pH igual a 0,8, valor da primeira constante, tem-se 50% das moléculas possuindo esta protonação e as demais moléculas com uma dissociação no grupo fosfato. A partir deste valor até pH 2,2, tem-se predominância da forma molecular com uma dissociação ( $\text{PO}_2\text{H}$ ) e uma protonação ( $\text{NH}_2^+$ ), sendo que, em pH 2,2, 50% do composto já possuirá duas dissociações, embora mantenha a protonação no grupamento amina. Entre pH 2,2 e 5,4, o herbicida se mostra com predominância da forma com duas dissociações, tendo, do mesmo modo, 50% das moléculas com três dissociações em pH 5,4. A partir de pH 5,4 até 10,2, têm-se três dissociações. Neste pH ocorrem as formas com três e quatro dissociações e, então, o glifosato se apresenta totalmente dissociado em pH acima de 11.



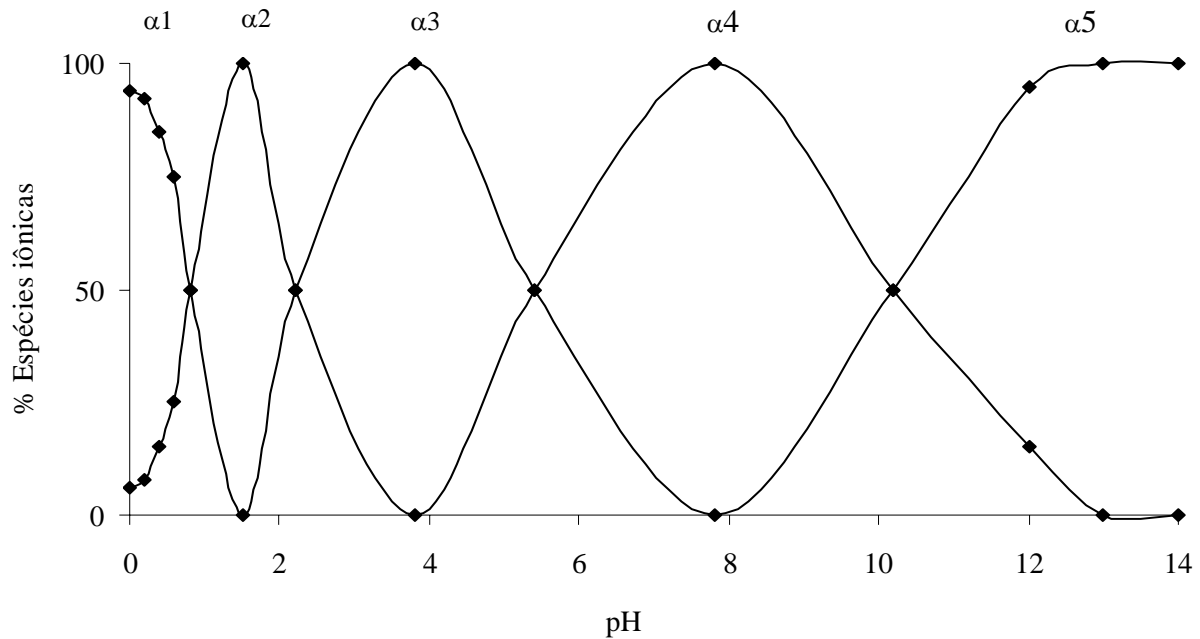


Figura 1.2 - Representação gráfica da ionização do glifosato construído a partir dos valores das constantes de dissociação ( $\alpha_1$ , molécula com uma protonação;  $\alpha_2$ , molécula com uma protonação e uma dissociação;  $\alpha_3$ , molécula com uma protonação e duas dissociações;  $\alpha_4$ , molécula com uma protonação e três dissociações e  $\alpha_5$ , molécula totalmente dissociada)

A toxicidade aguda do glifosato é considerada baixa. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (WHO), a dose letal 50 ( $DL_{50}$ ) oral do glifosato puro em ratos é de  $4.230 \text{ mg kg}^{-1}$ . Segundo Amarante Júnior et al. (2002), a baixa toxicidade desta molécula pode ser devida à sua modalidade bioquímica de ação em um caminho metabólico nas plantas, chamado mecanismo do ácido chiquímico, similar ao existente em alguns microrganismos, não existindo, entretanto, em animais. Porém, o glifosato pode impedir a ação de funções enzimáticas nos animais.

Amarante Júnior et al. (2002), citam que em humanos, absorvido via oral ou dérmica, o herbicida é excretado principalmente pela urina. Irritante dérmico e ocular pode causar danos hepáticos e renais, quando ingerido em altas doses. Entre os efeitos agudos e crônicos em seres humanos encontram-se dermatite de contato e síndrome tóxica, após ingestão de altas doses, epigastralgia (ulceração ou lesão de mucosa gástrica), hipertermia, anúria, oligúria, hipotensão, conjuntivite, edema orbital, choque cardiogênico, arritmias cardíacas, edema pulmonar não-cardiogênico, pneumonite, necrose tubular aguda, elevação de enzimas hepáticas, acidose metabólica e hipercalemia.

A dose diária aceitável (ADI) por massa corpórea deste composto é baixa ( $0,05 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) (AMARANTE JÚNIOR et al., 2002). Conforme Cox (1995), a exposição mais frequente das pessoas ao glifosato ocorre pelo trabalho (pessoas que usam este herbicida nas suas atividades), ingestão de alimentos contaminados, exposição causada pela deriva e contato com o solo ou águas de consumo e recreação. Costa et al. (2003) relatam em seus estudos sobre parkinsonismo, o caso de um homem, que após deixar derramar acidentalmente o herbicida glifosato sobre seu corpo, desenvolveu a doença pouco tempo após.

Recentemente, pesquisadores apontam que os surfactantes adicionados a formulações do herbicida são mais tóxicos do que o próprio glifosato (AMARANTE JÚNIOR et al., 2002). O uso de surfactante nas formulações tem a finalidade de impedir no momento da pulverização, o alcance de áreas além das folhas e auxiliar a penetração da molécula no tecido celular das plantas. Os tipos mais extensivamente usados em formulações de glifosato são as etilaminas. Os compostos deste grupo de surfactantes são significativamente mais tóxicos do que o glifosato, causando sérias irritações nos olhos, sistema respiratório e pele.

O uso intensivo e consecutivo de um herbicida em uma mesma área pode provocar a seleção de espécies daninhas tolerantes ou resistentes a essas moléculas. A planta é sensível a um herbicida quando seu crescimento e desenvolvimento são alterados pela ação do produto, sendo a resposta final a morte ou a completa supressão. Já a tolerância é a capacidade que algumas espécies possuem em sobreviver e se reproduzir após o tratamento com o herbicida, mesmo sofrendo injúrias. Existe algumas espécies de plantas daninhas tanto tolerantes quanto resistentes ao herbicida glifosato. São exemplos de espécies tolerantes ao glifosato a poaia (*Richardia brasiliensis*), a corriola (*Ipomoea* sp.) e a trapoeraba (*Commelina benghalensis*). Por outro lado, a resistência é a capacidade adquirida por uma planta em sobreviver a determinada dose de um herbicida que, em condições normais, controla os demais integrantes da mesma população. O azevém (*Lolium multiflorum*) e a buva (*Conyza bonariensis*), são exemplos de plantas resistentes ao glifosato, já que inicialmente toda a população de azevém e buva era sensível a este herbicida (VARGAS; RIZZARDI; BIANCHI, 2007).

São vários os possíveis mecanismos que podem explicar a tolerância e/ou a resistência de uma planta daninha a um herbicida, no entanto Monquero et al. (2004) relatam que a maioria dos casos observados de resistência e tolerância ao glifosato não teve ainda seus mecanismos completamente elucidados.

É relatado na literatura que alguns herbicidas são capazes de serem exsudados pelo sistema radicular de plantas daninhas e de culturas agrícolas, a exemplo o glifosato, e causar injúrias em plantas não alvos.

Rodrigues; Worsham e Corbin (1982), investigaram a exsudação radicular do glifosato em dois solos arenosos e comprovaram a exsudação por plantas de trigo tratadas com este herbicida. No mesmo experimento, os autores observaram a absorção do glifosato pelas raízes de milho cultivadas ao lado das plantas de trigo, o herbicida absorvido foi translocado para todas as partes da planta, apesar de as maiores concentrações serem encontradas nas raízes.

No entanto, Tuffi-Santos et al. (2005) avaliaram a exsudação radicular do glifosato por *Brachiaria decumbens* e seus efeitos sobre plantas de eucalipto cultivadas ao lado, em condições de solo e em solução nutritiva. Os autores concluíram que não houve sintomas de toxidez nas plantas de eucalipto cultivadas tanto no sistema hidropônico quanto no solo, indicando que se houve exsudação radicular do glifosato pela braquiária, a mesma ocorreu em concentrações inferiores às necessárias para provocar injúrias no eucalipto.

É amplamente relatado na literatura que herbicidas quando aplicados continuamente podem ter algum efeito sobre as doenças de plantas. Segundo Rizzardi et al. (2003) os efeitos dos herbicidas no desenvolvimento de doenças geralmente resultam de interações do seu efeito direto no patógeno e de efeitos indiretos em respostas mediadas pelas plantas.

Rizzardi et al. (2003) relatam que a infecção com patógenos provoca mudanças bioquímicas na planta hospedeira, incluindo ativação de respostas de defesa, as quais interferem na severidade da doença causada pelo patógeno. Muitas dessas respostas requerem ativação transcricional de genes por enzimas que produzem uma forma de barreira físico-química (lignina) ou por enzimas que funcionam como uma parte da rota biossintética que conduz a síntese de compostos de defesa (fitoalexinas), sendo esta última considerada um dos principais mecanismos de defesa das plantas.

O efeito de subdoses de glifosato na severidade de patógenos pode ocorrer devido a redução do acúmulo de fitoalexinas e na redução da produção de lignina. Johal e Rahe (1990) estudaram o efeito do glifosato no desenvolvimento do patógeno *Colletotrichum lindemuthianum*, causador da antracnose na cultura do feijão e observaram que o herbicida é capaz de reduzir o acúmulo de fitoalexinas, deixando o feijão mais susceptível a doença. Salveit (1988) verificou efeito do glifosato na redução da produção de lignina em aspargus.

Em palestra realizada por Rahe (2007), o mesmo relatou a influência do glifosato no aumento da colonização de plantas de feijão por *Pythium* e explicou esse comportamento como sendo o resultado da interferência de mecanismos de defesa relacionados com a lignina e do aumento da exsudação radicular provocada pela aplicação foliar do glifosato, o que aumenta a colonização das raízes por esse fungo.

Segundo Rizzardi et al. (2003) até o momento, pesquisas que avaliem o impacto do uso continuado de herbicidas a base de glifosato na severidade de doenças são reduzidas e com resultados divergentes.

Outra grande preocupação em relação ao uso do glifosato é seu efeito sobre a microbiota do solo. Malty; Siqueira e Moreira (2006) relatam que o uso prolongado e continuado desta molécula pode afetar os componentes bióticos do ecossistema, especialmente a microbiota do solo. Vários estudos foram realizados objetivando estudar o efeito do glifosato sobre os microrganismos dos solos.

Paula Júnior e Zambolim (1994), estudaram o efeito de fungicidas e herbicidas sobre a micorrização de *Eucalyptus grandis* por *Glomus etunicatum* e verificaram que o herbicida glifosato foi capaz de reduzir a colonização das raízes de eucalipto por micorrizas. Malty; Siqueira e Moreira (2006) realizaram trabalho com o intuito de determinar o efeito do glifosato em diferentes espécies de fungos micorrízicos arbusculares e em diferentes estirpes de *Bradyrhizobium* spp. Os autores verificaram que as espécies de fungos micorrízicos arbusculares se mostraram diferentemente afetadas pelo herbicida e que o mesmo inibiu o crescimento de *Bradyrhizobium* em concentração muito superior a utilizada em condições reais de campo e que seu efeito foi em função da estirpe analisada.

Santos e Flores (1995) estudaram o efeito do glifosato na fixação de nitrogênio por diferentes espécies de bactérias de vida livre e observaram que os efeitos variaram muito em função das espécies estudadas. Bellaloui et al. (2006) investigaram o efeito do glifosato na assimilação de nitrato e na fixação do nitrogênio em diferentes estágios de desenvolvimento de uma cultivar de soja transgênica. Eles observaram uma forte redução na assimilação de nitrato e no potencial de fixação de nitrogênio, principalmente nos estágios iniciais de desenvolvimento vegetativo.

Castro Júnior; Selbach e Záchiaayub (2006) estudaram o efeito do glifosato na microbiota de um Argissolo Vermelho distrófico arênico, para isso realizaram ensaios para determinar a

capacidade de utilização do herbicida como substrato e a concentração máxima inibitória para as cepas de *Fusarium*. Os autores não observaram efeito inibitório do glifosato na microbiota do solo e dentre as cepas utilizadas, nenhuma foi inibida pela presença do herbicida, mesmo em altas concentrações, sendo as mesmas capazes de utilizar o herbicida como fonte de nutriente.

Cabe ressaltar que o uso de qualquer pesticida deve ser evitado quando possível, especialmente o uso prolongado de produtos do mesmo princípio ativo ou com mecanismos de ação semelhantes. Pois segundo Moreira e Siqueira (2002) isto pode exercer efeito diferenciado sobre a comunidade microbiana, causando modificações qualitativas as quais podem gerar desequilíbrios microbiológicos, com possíveis prejuízos para as atividades agrícolas.

### **1.3 Comportamento do herbicida glifosato em solos**

#### **1.3.1 Retenção e transporte do glifosato em solos**

Quando uma molécula de pesticida alcança o solo, ela pode ser retida nas suas partículas. O processo de retenção retarda e até mesmo impede o movimento das moléculas no perfil do solo.

Define-se adsorção como sendo o fenômeno de atração e retenção das moléculas e/ou íons na superfície dos sólidos. A distinção entre a adsorção, em que há formação de monocamada de moléculas na superfície das partículas do solo, a precipitação (formação de camadas múltiplas) e a absorção por organismos do solo, embora seja conceitualmente clara, em termos práticos, na maioria dos experimentos, não é feita. Desse modo, o termo sorção é empregado para se referir ao processo de retenção em geral, sem distinção entre os processos específicos (KOSKINEN; HARPER, 1990).

A sorção reduz a concentração de pesticidas na solução do solo, removendo parte de sua ação potencial. O resultado é observado pelo decréscimo da disponibilidade biológica, na redução da velocidade de degradação química, ou, simplesmente, num retardamento da lixiviação. Num processo dinâmico, a fração de moléculas sorvidas pode retornar a solução do solo, sendo esse processo conhecido como dessorção.

São vários os fatores que afetam a sorção de pesticidas em solos, entre eles destacam-se as características relacionadas ao próprio pesticida, aos solos e às condições ambientais. Em relação às propriedades físico-químicas dos pesticidas relacionadas à sorção, podemos destacar a

solubilidade em água ( $S_w$ ), a qual normalmente possui relação inversa com a sorção do pesticida no solo, no entanto, uma exceção a essa relação é o herbicida glifosato, o qual apesar de possuir alta  $S_w$  ( $12\text{g L}^{-1}$  a  $25^\circ\text{C}$ ) é altamente sorvido. Outras características igualmente importantes são as constantes de ionização ácido/base ( $K_a$  ou  $K_b$ ). O glifosato por possuir quatro constantes de ionização, pode-se apresentar carga líquida positiva e/ou negativa, dependendo do pH do meio.

Em relação às características dos solos que afetam a sorção de moléculas orgânicas, pode-se destacar o teor de matéria orgânica, o pH, a textura e a constituição mineralógica dos solos. A matéria orgânica é considerada fator chave no comportamento de pesticidas no solo por influenciar a bioatividade, a persistência e a biodegradação da molécula. A matéria orgânica presente principalmente nas camadas superficiais dos solos, segundo Stevenson (1982) influencia marcadamente as propriedades de sorção. Ela é considerada a principal fração do solo responsável pela retenção de moléculas orgânicas.

Vários estudos avaliaram o efeito da matéria orgânica na sorção do glifosato. Gerritse; Beltran e Hernandez (1996) estudaram a adsorção de herbicidas, entre eles o glifosato, em cinco solos arenosos australianos com diferentes propriedades, inclusive com diferentes conteúdos de carbono orgânico, avaliados pela oxidação com dicromato. Foi observado pelos autores que a adsorção do glifosato foi maior nos solos que possuíam menores teores de carbono orgânico e relacionaram este comportamento a competição da matéria orgânica com o glifosato pelos sítios de sorção.

Piccolo; Celano e Conte (1996) estudaram a adsorção do glifosato em quatro ácidos húmicos obtidos pela extração de quatro diferentes solos. As substâncias húmicas obtidas possuíam diferentes características químicas e físico-químicas, as quais influenciaram a retenção do glifosato. A adsorção do herbicida foi dependente da estrutura e do tamanho molecular das substâncias húmicas, os materiais húmicos que menos adsorveram o herbicida foram os que possuíam mais estruturas aromáticas e com menores dimensões moleculares. Os autores também concluíram que os ácidos húmicos estudados possuíam capacidade de adsorção do glifosato comparável, senão mais alta que a observada em minerais de argila.

Prata et al. (2000b) verificaram a influência da matéria orgânica na sorção do glifosato em um Nitossolo Vermelho Eutroférico, um Latossolo Amarelo ácrico e em um Gleissolo, os quais possuíam diferentes atributos mineralógicos. A matéria orgânica dos solos foi eliminada através da sua oxidação com água oxigenada. Os autores verificaram que independentemente da presença

da matéria orgânica nos solos, o glifosato foi altamente sorvido e que a mesma também não influenciou a dessorção da molécula.

À partir dos trabalhos relatados anteriormente, pode-se verificar que o papel da matéria orgânica na sorção do glifosato não é completamente esclarecido, necessitando melhores avaliações. No entanto, algumas considerações podem ser feitas, a primeira é que não somente o teor de matéria orgânica presente nos solos é importante, mas também a qualidade da mesma e que a influência da matéria orgânica na sorção é dependente do arranjo mineralógico dos solos. Segundo Toni; Santana e Zaia (2006) em alguns casos, a matéria orgânica pode assumir um papel importante na retenção deste herbicida, quando em altas concentrações.

Muitas das propriedades físicas e químicas da fração mineral dos solos dependem da sua textura. A textura, juntamente com a estrutura do solo, representam os dois principais atributos físicos relacionados ao movimento de solutos no solo. A textura do solo possui um importante papel na retenção de moléculas orgânicas, pois solos mais argilosos possuem maior capacidade de retenção de moléculas, quando comparado a solos de textura mais arenosa.

Sprankle; Meggit e Penner (1975) estudaram a sorção do glifosato em solos com diferentes conteúdos de argila, sendo um classificado como arenoso e outro como argiloso. A sorção foi maior no solo argiloso do que no arenoso. Glass (1987) investigou a capacidade sorvida do glifosato em três solos agrícolas com diferentes texturas e observou alta sorção do glifosato em todos os solos estudados e a mesma se correlacionou com o conteúdo de argila.

No entanto, quando se compara solos de mesma textura, a mineralogia dos solos assume grande relevância na sorção de moléculas orgânicas. O tipo de argilomineral presente no solo é importante para se predizer a retenção de moléculas orgânicas. Em estudos com glifosato, vários autores relatam que a sua sorção nos solos é devida principalmente a fração inorgânica.

Sprankle; Meggit e Penner (1975) em trabalho pioneiro sobre a retenção de glifosato em solos, verificaram a contribuição de diversos minerais na sorção desta molécula. Observaram que a sorção do herbicida seguiu a seguinte ordem: caulinita > ilita > goethita > bentonita saturada com sódio = gibbsita. Os autores sugeriram que a ligação entre a caulinita e o glifosato se dá nas bordas do mineral. Posteriormente, Glass (1987) observou que entre os minerais avaliados em seu estudo (montmorilonita, ilita e caulinita), a caulinita foi o que apresentou a mais baixa capacidade de sorção do glifosato. Este mesmo autor ressalta em sua discussão que a diferença de sorção do

glifosato no mineral caulinita no seu trabalho comparado ao de Sprankle; Meggit e Penner (1975), provavelmente se deve a variação na pureza e origem das amostras de caulinita avaliadas.

McConnell e Hossner (1985) estudaram a sorção do glifosato em caulinita, hematita e goethita e observaram que a mesma é dependente do pH em todos os minerais avaliados. E que em condições de baixos valores de pH, a goethita sorve mais o herbicida que a hematita e isso é devido segundo os autores, a superfície mais reativa da goethita e a sua maior área superficial específica.

Na literatura, vários autores sugerem relação direta existente entre o conteúdo de óxidos, hidróxidos e oxihidróxidos de ferro e alumínio nos solos e a sorção do glifosato (GERRITSE; BELTRAN; HERNANDEZ, 1996; MILES; MOYE, 1988; NOMURA; HILTON, 1977; PICCOLO; CELANO; CONTE, 1996).

Gimsing; Borggaard e Bang (2004) relatam que em estudos desenvolvidos por eles, a sorção do glifosato foi muito maior em óxidos de ferro e alumínio puros do que em silicatos de argila puros. Em condições tropicais, Prata et al. (2000b), sugerem que os óxidos de ferro e alumínio sejam os principais responsáveis pela sorção do glifosato, e que essa é praticamente irreversível, permanecendo o pesticida na forma de resíduo ligado (não disponível).

O pH do solo é um dos fatores químicos que afetam a sorção dos herbicidas e depende, em grande parte, das características do próprio herbicida. A acidez do solo pode influenciar de diferentes formas os processos de retenção e transformação de herbicidas, podendo afetar simultaneamente o adsorvato (molécula do pesticida) e o adsorvente (matéria orgânica e minerais de argila).

O pH do solo é importante na sorção do glifosato, isso porque esse herbicida possui caráter zwitteriônico, com constantes de dissociação em função do pH do solo. Nomura e Hilton (1977) estudaram a sorção do glifosato em cinco solos havaianos e concluíram que a sorção desta molécula nos solos variou inversamente com o pH. McConnel e Hossner (1985) verificaram que a retenção do glifosato nos minerais goethita, hematita e caulinita foi dependente do pH, pois o pH determinou a carga líquida não somente do glifosato, mas também dos minerais. Resultados semelhantes foram encontrados por outros autores (GIMSING; BOGGAARD; BANG, 2004; JONGE; JONGE, 1999; MILES; MOYE, 1988; NICHOLLS; EVANS, 1991).

Dentre as condições ambientais, a temperatura e a umidade são as que mais influenciam a sorção de moléculas orgânicas em solos. Geralmente, a umidade do solo tem relação inversa com



a sorção de moléculas orgânicas, no entanto, a temperatura pode tanto aumentar quanto reduzir a sorção. Cheah; Kirkwood e Lum (1997), estudaram o efeito da temperatura (20 e 30°C) na sorção do glifosato em dois solos e observaram que a mesma não foi afetada pela temperatura. Eberbach (1998) estudou a influência da temperatura no comportamento do glifosato em solos. Segundo o autor, a temperatura tem um papel vital no comportamento do glifosato, afetando a quantidade sorvida, dessorvida e a taxa de degradação. No estudo, o autor comparou o comportamento do glifosato em quatro solos com diferentes valores de pH, sob duas condições de temperatura (10 e 25°C). Verificou que em solos com pH mais elevado, o glifosato foi menos fortemente sorvido em condição de baixa temperatura (10°C), favorecendo a dessorção do herbicida, o qual ficou mais disponível para a degradação. Porém, para os solos ácidos, este comportamento foi verificado a temperatura de 25°C. Santana et al. (2006) estudaram o efeito de altas temperaturas, baseado nas queimadas que ocorrem no estado do Paraná, na sorção do glifosato em solos desse estado. Para isso, os materiais foram aquecidos por 15 minutos a 280 e a 650°C em mufla e em seguida avaliada a sorção do herbicida. Os autores não observaram interação das amostras de solos com glifosato após o aquecimento a 280 ou a 650°C, devido principalmente a mudanças na estrutura dos minerais presentes nos solos.

Existe uma estreita relação entre a sorção do glifosato e a capacidade dos solos em adsorver fosfato. A aparente similaridade nos mecanismos de adsorção sugere que o glifosato e o fosfato são provavelmente adsorvidos nos mesmos sítios no solo e que eles competem entre si pelos sítios de adsorção. Esse assunto vem sendo alvo de interesse por parte dos pesquisadores a vários anos.

Sprankle; Meggit e Penner (1975) estudaram o efeito da presença de fosfato na retenção do glifosato em solos e verificaram que a sorção do glifosato está ligada a seu grupamento metilfosfônico e que houve competição entre o fosfato e o glifosato pelos sítios de sorção. Jonge et al. (2001), estudaram a adsorção competitiva entre o glifosato e o fósforo em diferentes solos com elevados teores de óxidos e de fósforo e observaram redução na sorção do glifosato nos tratamentos que possuíram os maiores níveis de fósforo. Gimsing; Boggaard e Estoft (2004) estudaram a adsorção do glifosato e fosfato e observaram competição pelos sítios de sorção.

Devido a essa competição, o glifosato pode ficar mais biodisponível na solução do solo e causar prejuízos aos agricultores. Cornish (1992) observou injúrias em plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), quando as mesmas foram transplantadas para um solo arenoso

previamente tratado com glifosato e fósforo, causando uma redução significativa na produtividade.

Gimsing; Szilas e Borggaard (2007) estudaram a sorção do glifosato e fosfato em solos tropicais da Tanzânia, onde o herbicida e o fosfato foram adicionados juntos e separadamente. Os autores concluíram que a ordem da adição do fosfato e glifosato afetou a sorção. Assim, adição inicial do glifosato resultou principalmente em sorção aditiva do próprio glifosato e do fosfato e quando o fosfato foi pré sorvido, ele suprimiu a sorção do glifosato, devido ao fosfato sorvido aumentar a carga negativa da superfície. Dessa forma, foi observada sorção tanto aditiva quanto competitiva com o glifosato e o fosfato em solos de carga variável.

Prata et al. (2003) tiveram como objetivo verificar o efeito do fósforo na sorção e dessorção do glifosato em um Latossolo Amarelo ácrico, um Nitossolo Vermelho eutroférico e em um Gleissolo e concluíram que em todos os solos, houve competição entre o glifosato e o fósforo pelos sítios de sorção, mas essa competição somente foi importante quando os níveis de fósforo nos solos atingiram valores muito elevados (aproximadamente  $1000 \text{ mg dm}^{-3}$ ).

Gimsing; Borggaard e Bang (2004) fazem menções sobre a influência do fosfato na mobilidade do glifosato em solos, devido a competição pelos sítios de adsorção. No entanto, Jonge; Jonge e Jacobsen (2000) estudaram a lixiviação do glifosato em colunas de solos arenosos e argilosos e não observaram efeito do fosfato na lixiviação do glifosato.

São propostos na literatura diversos mecanismos de ligação entre o glifosato e os constituintes dos solos. Piccolo; Celano e Conte (1996) relatam que o principal mecanismo de ligação existente entre as substâncias húmicas e o glifosato é a ligação de hidrogênio. Neste caso, a molécula de glifosato possui átomos eletronegativos, os quais podem agir como doador ou acceptor de hidrogênio da matéria orgânica. McConnell e Hossner (1985) sugerem que os minerais caulinita, hematita e goethita adsorvem o glifosato através da ligação eletrostática, onde as cargas negativas superficiais do herbicida são atraídas pelas cargas positivas existentes na superfície dos minerais, dependendo do pH do meio. No entanto, em condições de solos oxídicos, a ligação covalente entre um oxigênio do grupo metilfosfônico do glifosato e o átomo metálico dos óxidos tem sido sugerido como o mecanismo predominante (CHEAH; KIRKWOOD; LUM, 1997; JONGE et al., 2001; PRATA et al., 2000b).

A retenção do glifosato pelas partículas dos solos apresenta elevada energia de ligação e por isso o glifosato é pouco extraído dos solos. No entanto, alguns autores relatam que a

dessorção do glifosato pode ocorrer. Cheah; Kirkwood e Lum (1997) observaram alta sorção do glifosato em dois solos africanos, um arenoso e outro orgânico, e verificaram dessorção nos dois casos estudados. Evidência de dessorção também foi encontrada por Jonge et al. (2001).

Com base nas evidências de que, em determinadas condições, o glifosato é passível de ser desorvido das partículas dos solos, pesquisadores realizaram trabalhos que tiveram como foco o processo de lixiviação deste herbicida. Dousset et al. (2004) estudaram a transferência do glifosato em colunas de solos arenosos indeformadas e observaram que o glifosato apresentou baixa mobilidade nos três solos, entretanto, sua presença foi encontrada em duas colunas de solos, assim como o seu metabólito AMPA, sugerindo que os dois compostos apresentaram potencial para lixiviação em solos arenosos.

Candela et al. (2007) tiveram como objetivo avaliar a sorção e a lixiviação do glifosato em duas amostras de solos deformadas coletadas na região de Barcelona, Espanha. Os autores observaram baixa lixiviação do glifosato e atribuíram esse comportamento a elevada e irreversível sorção às partículas dos solos. Souza et al. (1999) estudaram a lixiviação do glifosato em duas amostras deformadas de solos coletadas no estado de Minas Gerais e observaram baixa mobilidade do herbicida. O resultado destes dois estudos pode não representar a realidade, uma vez que a estrutura do solo, que é de grande importância para estudos que envolvem lixiviação de moléculas, não foi avaliada.

Vereecken (2005) em revisão sobre mobilidade e lixiviação de glifosato em solos, relata que os estudos de lixiviação do glifosato confirmam que o mesmo só pode ser transportado para camadas mais profundas dos solos através da combinação de uma chuva de alta intensidade, logo após a sua aplicação, nos macroporos dos solos através do fluxo preferencial. Porém, sem essa combinação de fatores, a lixiviação do glifosato para o lençol freático não ocorre a concentrações de importância ambiental.

Um outro aspecto importante a ser avaliado no comportamento de moléculas orgânicas em solos é que as mesmas sorvidas às partículas minerais e orgânicas dos solos podem ser arrastadas por escoamento superficial até os corpos d'água, onde pode persistir e exercer impacto na qualidade da água e na vida aquática, entrando na cadeia alimentar. O glifosato por ser um herbicida altamente sorvido aos solos, pode ser arrastado por escoamento superficial e chegar a águas superficiais. Segundo Vereecken (2005), um estudo realizado pelo Instituto Ambiental da

França em 2001 e 2002, detectaram o glifosato presente em 37% das águas superficiais analisadas.

Brito et al. (2001) avaliaram o risco de contaminação de águas superficiais e subterrâneas de pesticidas aplicados em plantações de eucaliptos e coqueiros do Nordeste brasileiro, entre eles o herbicida glifosato. Para tanto, utilizaram os critérios sugeridos pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, o índice GUS e o método GOSS. O primeiro avalia o potencial do composto em ser lixiviado e o segundo o potencial de sofrer escoamento superficial. Através dos resultados os autores classificaram o glifosato como uma molécula com baixo potencial de lixiviação e alto potencial de transporte associado ao sedimento. No entanto, é importante ressaltar que esses critérios utilizados para a avaliação da mobilidade de moléculas em solos, são empíricos.

Silva; Peralba e Mattos (2003) investigaram a presença do glifosato em amostras de água de diferentes pontos da microbacia hidrográfica arroio Passo do Pilão, localizada no município de Pelotas, RS. As análises revelaram a presença do herbicida e do seu metabólito, ácido aminometilfosfônico (AMPA) nas águas superficiais dessa microbacia, no entanto, as concentrações do herbicida foram menores que 500 e 700 ppb, que são os limites máximos de concentração permitidas para o glifosato pela legislação brasileira e pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, respectivamente. Os autores relatam que a presença dessa molécula nas águas é devido, possivelmente, ao processo de escoamento superficial.

Estudos complementares sobre o escoamento superficial do glifosato é de grande relevância, pois moléculas liberadas através de práticas agrícolas para águas superficiais representam risco para a saúde humana e ambiental, além de geração de custos para a mitigação do impacto.

De forma geral, a sorção do glifosato nas partículas dos solos apresenta elevada energia de ligação, formando o chamado resíduo ligado. Resíduo ligado segundo Gevaio; Semple e Jones (2000) é definido como espécies químicas originadas de pesticidas, que não são passíveis de serem extraídas por métodos que não mudem a natureza química desses resíduos e Führ et al. (1998) acrescentam que resíduo ligado abrange compostos que persistem não somente em solos, mas em plantas e animais e que o método de extração não deve alterar também a estrutura da matriz.

A maioria das moléculas orgânicas formam resíduos ligados nos solos, dessa forma, Prata e Lavorenti (2000) ressaltam a importância da melhor compreensão dos resíduos ligados, pois estes podem ser acumulados devido a menor degradação quando comparados às moléculas livres na solução do solo, em alguns casos até bloqueando a sua transformação. Gevaio; Semple e Jones (2000) relatam que existe dois pontos de vista opostos na formação de resíduo ligado em solos, o primeiro é que, uma vez formado o resíduo ligado de pesticidas em solos, o mesmo pode ser novamente liberado com o tempo e exercer efeitos biológicos e ecológicos. A visão mais otimista é que a formação do resíduo ligado representa o mais efetivo e seguro método de descontaminação dos solos por inativar as moléculas orgânicas por um prazo indeterminado.

Se por alguma razão, o resíduo ligado do pesticida for submetido à futura mobilização, o nome remobilização é utilizado para explicar este comportamento. O estudo da remobilização de diferentes pesticidas em solos tem sido alvo de interesse para diversos pesquisadores em todo o mundo. No entanto, estudos de remobilização com o herbicida glifosato ainda não está disponível na literatura, apesar de serem de grande importância, considerando que dentre as interações do glifosato com o solo, a formação de resíduo ligado constitui a fração principal.

O glifosato, por possuir três grupos funcionais (amônio, carboxílico e fosfato) pode formar ligações com metais para formar complexos. A formação desses complexos tanto na água quanto no solo possuem diversas implicações. Subramaniam e Hoggard (1988) verificaram que complexos insolúveis de glifosato com os íons ferro, cobre, cálcio e magnésio são formados em pH próximo a neutralidade, dessa forma, os autores sugerem que esse pode ser um mecanismo de inativação do glifosato em águas contaminadas.

Tsui; Wang e Chu (2005) mostraram que o glifosato e sua formulação herbicida (Roundup<sup>®</sup>) pode formar complexos com diferentes metais pesados e assim o herbicida pode controlar a toxicidade e biodisponibilidade de metais pesados para organismos aquáticos, após sua aplicação direta na superfície de águas contaminadas com metais. O resultado da formação do complexo é a perda do efeito herbicida do glifosato e mudança na biodisponibilidade de metais pesados a organismos aquáticos.

Na literatura é relatada a influência da coorção de metais influenciando a sorção do glifosato nas partículas dos solos. Maqueda; Morillo e Undabeytia (2002) estudaram a coorção do glifosato e do cobre na goethita e verificaram que na presença do cobre, a retenção do glifosato no mineral aumentou ao redor de 9% e o contrário também ocorreu. Zhou et al. (2004) avaliaram a

adsorção e dessorção do cádmio e do glifosato em dois solos com diferentes características e observaram que a presença do cádmio aumentou a adsorção do glifosato nos dois solos. Os autores ressaltaram que o cádmio funciona como uma ponte entre os sítios de adsorção e o glifosato nos solos.

Morillo; Undabeytia e Maqueda (1997) avaliaram a sorção e a dessorção do glifosato na montmorilonita na presença ou não do  $\text{Cu}^{2+}$  e observaram que ao contrário de prévios estudos, a sorção do glifosato na presença do  $\text{Cu}^{2+}$  foi reduzida, devido a formação de complexos glifosato- $\text{Cu}^{2+}$ . Estes complexos, conforme os autores, possuem menor tendência a serem sorvidos, além de maior dessorção da montmorilonita comparado ao glifosato livre.

### **1.3.2 Aspectos relacionados a degradação do glifosato em solos**

As transformações sofridas pelos pesticidas em solos vão da simples remoção de um átomo até a completa mineralização da molécula. As principais formas de degradação que ocorrem com os pesticidas nos solos são a degradação abiótica, biodegradação e a mineralização. A degradação abiótica ocorre sem a participação dos microrganismos ou de suas enzimas e a biodegradação, se dá através de processos bioquímicos mediados pelos microrganismos. A mineralização é a degradação completa da molécula a formas inorgânicas como  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{PO}_4^{-3}$  e outros, realizada pelos microrganismos. Segundo Moreira e Siqueira (2002) a mineralização e a biodegradação são processos distintos, pois a biodegradação não necessariamente inclui a mineralização, dessa forma, a biodegradação de moléculas orgânicas pode dar origem a metabólitos tão tóxicos quanto a molécula original.

A degradação de moléculas em compostos mais simples como água,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$  etc., pela microbiota do solo (fungos, bactérias e outros microrganismos) tem sido o principal fator a determinar a persistência dessas moléculas. No processo de biodegradação, os microrganismos secretam enzimas que, ao entrarem em contato com as moléculas de pesticidas, desencadeiam uma série de reações como oxidação, redução, hidrólise, dealquilação, descarboxilação, hidroxilação, metilação etc. Parte dos produtos degradados são usados pela própria microbiota como fonte de carbono e outros nutrientes necessários às suas reações biossintéticas (Lavorenti, 1996). O herbicida glifosato é uma molécula que possui em sua estrutura carbono, nitrogênio,

fósforo, oxigênio e hidrogênio, o que a torna fonte de nutrientes e energia para a microbiota do solo, conforme relatado por Araújo; Monteiro e Abakerli (2003).

A contribuição relativa de cada processo na degradação de pesticidas, depende das propriedades do composto e das condições químicas do solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002). Segundo Rueppel et al. (1977) a degradação do glifosato tanto no solo quanto na água, ocorre principalmente via microrganismos (biodegradação ou mineralização), sendo a degradação química pouco importante na transformação desse composto.

No geral, pode-se dizer que, do ponto de vista do transporte de pesticidas, a degradação pela microbiota do solo é normalmente benéfica, já que, em boa parte, a mesma irá determinar a persistência do pesticida na solução do solo e, conseqüentemente, a quantidade passível de ser transportada por lixiviação. Entretanto, a degradação torna-se prejudicial quando ocorre antes da peste alvo ser controlada. Do ponto de vista ambiental, Nóbrega (2004) relata que o pesticida ideal deveria apresentar disponibilidade e persistência suficientes apenas para exercer sua função agrônômica. É importante destacar que a biodegradação de uma molécula, não quer dizer necessariamente que seja um processo positivo, uma vez que, dependendo do composto, pode originar metabólitos tóxicos.

Vários fatores afetam a degradação de pesticidas pela microbiota do solo (fungos, bactérias e protozoários), como exemplo, a sorção e dessorção, o pH, o teor de matéria orgânica e nutrientes, a umidade do solo etc. (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002). De forma geral, tem sido verificado que a adição de compostos que contribuem para a melhoria das condições de fertilidade do solo, acelera a degradação de compostos orgânicos. Prata et al. (2000a) avaliaram o efeito da vinhaça na degradação do herbicida diuron em dois solos e observaram que a vinhaça, por aumentar a atividade e biomassa microbiana, aumentou a mineralização da molécula em um dos solos estudados.

Um importante aspecto a se considerar nos estudos de degradação de compostos orgânicos em solos é a atividade microbiana. Normalmente, solos com maior atividade microbiana possuem maior capacidade de degradar compostos orgânicos. Prata et al. (2005) compararam a mineralização do glifosato em um Latossolo sob sistema de plantio direto e convencional e observaram maior degradação da molécula no plantio direto. Os autores explicaram o resultado com base na maior atividade microbiana encontrada para esta condição de manejo do solo.

A calagem, por elevar o pH e melhorar a disponibilidade de nutrientes do solo, pode afetar a atividade microbiana e a mineralização do glifosato. Heinonen-Tanski (1989) avaliou o efeito da temperatura e da calagem na degradação do glifosato em dois solos florestais árticos. O autor concluiu que a degradação do herbicida foi dependente da temperatura, sendo que em temperaturas mais elevadas, a mineralização aumentou nos dois solos estudados. A calagem aumentou a degradação do herbicida em um dos solos, porém no outro, o efeito da calagem não foi significativo. O autor sugere que este resultado foi devido ao forte poder de tamponamento dos solos árticos estudados.

A degradação do glifosato pode seguir duas rotas, conforme relatam Amarante Júnior et al. (2002). A primeira consiste na transformação do glifosato em sarcosina por ação da bactéria *Agrobacterium radiobacter* ou da *Enterobacter aeroneges* (enzima C-P liase). Esta rota, no entanto, é pouco citada na literatura. A segunda rota é considerada a principal via de biodegradação do glifosato, a qual envolve a clivagem da molécula, produzindo o ácido aminometilfosfônico, AMPA (Figura 1.3). A transformação do glifosato para AMPA é feita pela ação da bactéria *Anthrobacter atrocyaneus* *Flavobacterium* sp.

Como relatado por Silva; Peralba e Mattos (2003), o glifosato ao ser biodegradado pelos microrganismos dos solos, restam os metabólitos, produtos da metabolização cujo comportamento ambiental e efeitos tóxicos são ainda pouco conhecidos.

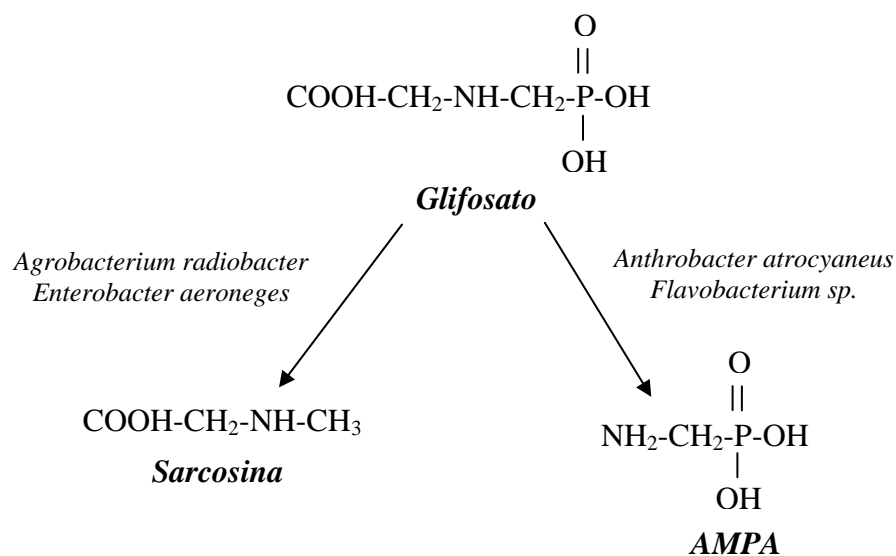


Figura 1.3 - Rotas de biodegradação do glifosato por bactérias do solo, com a produção dos metabólitos sarcosina e ácido aminometilfosfônico (AMPA)



Normalmente, a degradação inicial do glifosato é rápida, seguida por uma fase prolongada e mais lenta. Isto pode refletir o metabolismo rápido do glifosato livre, seguido por uma degradação mais lenta do glifosato ligado às partículas dos solos, ou pode indicar cometabolismo. Alguns fatores têm efeitos diferenciados na degradação do glifosato, conforme Carlisle e Trevors (1988) a adição de fósforo pode estimular a degradação em alguns, mas não em todos solos e o pH tem pouco efeito. A adição de cátions tais como o ferro, o alumínio podem inibir a degradação microbiana, uma vez que esses cátions aumentam a retenção do glifosato em solos.

Cheah; Kirkwood e Lum (1998) estudaram a taxa e os produtos de degradação do glifosato em um solo arenoso e em um solo orgânico da Malásia e observaram que a taxa de degradação do herbicida foi dependente do seu grau de adsorção no solo. A degradação foi rápida no início seguida por uma fase lenta e os autores atribuíram a fase inicial a ação microbiana sobre o glifosato livre e a fase lenta, ao ataque sobre o glifosato adsorvido. O metabólito obtido da degradação do glifosato foi o ácido aminometilfosfônico (AMPA). No estudo, a cinética de degradação do glifosato foi a de primeira ordem e a meia-vida do herbicida (tempo necessário para que a concentração inicial do glifosato seja reduzida a metade) foi de 19,2 dias para o solo arenoso e de 309,7 dias para o solo orgânico.

Sorensen et al. (2006) estudaram a mineralização do glifosato em amostras superficiais e subsuperficiais de um solo agrícola arenoso e um solo argiloso não agrícola e observaram maior mineralização da molécula na camada subsuperficial do solo argiloso. No entanto, a mineralização na camada subsuperficial do solo arenoso foi baixa, porém a sorção foi elevada. Os autores explicaram estes resultados sugerindo que a população microbiana capaz de degradar este herbicida é onipresente no ambiente, porém, em condições onde o glifosato fica menos biodisponível, como por exemplo quando está sorvido às partículas dos solos, a mineralização da molécula é reduzida. Assim, a sorção do glifosato aos solos é fator determinante na sua mineralização.

É relatado na literatura que em áreas onde ocorre repetidas aplicações de um determinado pesticida, pode haver seleção de populações de microrganismos hábeis para utilizar a molécula, processo chamado de degradação acelerada. A degradação acelerada foi sugerida por alguns autores na degradação de vários pesticidas, entre eles do fungicida metalaxil (SOLANGE; MERCEDES, 2001) e do carbendazim (COUTINHO et al., 2006). Araújo et al. (2003) estudaram a biodegradação do glifosato em um Latossolo e em um Argissolo com e sem histórico de uso do

herbicida. Os autores verificaram que a degradação foi maior no Argissolo com histórico de uso do glifosato do que no sem histórico, indicando que os microrganismos estavam mais adaptados ao glifosato. No entanto, Andréa et al. (2003) estudando a biodegradação do glifosato em solos com aplicações de repetidas doses do pesticida, verificaram que a sua meia-vida aumentou de 2,2 para 3,4 meses com o aumento do número de aplicações, indicando efeito do glifosato na atividade microbiana do solo.

Um termo bastante utilizado na literatura no estudo de comportamento de pesticidas em solos é dissipação. Esse termo refere-se a fração do pesticida que é mineralizada, biodegradada, que forma resíduo ligado, que é absorvida e a que é transportada para outros compartimentos do ambiente. Assim, o índice meia-vida ( $t_{1/2}$ ) expressa o tempo em que 50% da concentração total aplicada encontra-se dissipada no solo (PRATA et al., 2005). A persistência de um pesticida no ambiente é determinado pelo tempo de meia-vida. No entanto, muitas vezes, por envolver os vários processos de dissipação, a meia-vida pode ser interpretada erroneamente como ambientalmente benéfica. Isso porque vários pesticidas quando biodegradados podem dar origem a compostos tão ou mais tóxicos que o original. Um índice que reflete o desaparecimento real do produto do solo é a meia-vida de mineralização ( $t_{1/2}$  min.), a qual representa o tempo em que 50% da concentração total aplicada foi mineralizada no solo.

Nomura e Hilton (1977) avaliaram a  $t_{1/2}$  min. do herbicida glifosato em solos vulcânicos e encontraram valores elevados de 22,7 anos. Prata et al. (2005) avaliaram a degradação do glifosato em um Latossolo Vermelho distroférico sob plantio direto e convencional e observaram valores de meia-vida de dissipação variando de 19,3 a 25,8 dias e de meia-vida de mineralização de 440,0 a 782,1 dias. Estes resultados evidenciam a diferença existente entre a meia-vida de dissipação e a de mineralização para o glifosato, fato devido principalmente, a alta sorção dessa molécula às partículas dos solos. Dessa forma, considerando que a sorção pode ser reversível, a avaliação da meia-vida de dissipação deste herbicida pode não ser adequada para determinar a persistência deste herbicida no solo.

Com base em todos os aspectos relacionados ao comportamento do glifosato em solos e com o objetivo de contribuir para uma melhor compreensão da dinâmica deste herbicida em solos tropicais, foram realizados estudos laboratoriais, os quais analisaram: i) a sorção e dessorção do glifosato em um Latossolo Vermelho e em um Neossolo Quartzarênico, bem como em seus

diferentes constituintes; ii) o efeito da calagem na retenção, atividade microbiana e remobilização de resíduos ligados do glifosato, nas duas classes de solos analisadas.

## Referências

- AMARANTE JÚNIOR, O. P.; SANTOS, T. C. R.; BRITO, N. M.; RIBEIRO, M. L. Glifosato: Propriedades, toxicidade, uso e legislação. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 4, p. 589-593, 2002.
- ANDRÉA, M. M. de; PEREZ, T. B.; LUCHINI, L. C.; BAZARIN, S.; PAPINI, S.; MATALLO, M. B.; SAVOY, V. L. T. Influence of repeated applications of glyphosate on its persistence and soil bioactivity. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 11, p. 1329-1335, 2003.
- ARAÚJO, A. S. F. de; MONTEIRO, R. T. R.; ABAKERLI, R. B. Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils. **Chemosphere**, Oxford, v. 52, p. 799-804, 2003.
- ARAÚJO, A. S. F. de; MONTEIRO, R. T. R.; ABAKERLI, R. B.; SOUZA, L. S. de. Biodegradação de glifosato em dois solos brasileiros. **Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 13, p. 157-164, jan./dez. 2003.
- BATISTA, F. Produtor de soja tem lucro 27% maior com variedades transgênicas. **Gazeta Mercantil**, São Paulo, 22 jun. 2007. Caderno C, p. 7.
- BELLALOU, N.; REDDY, K. N.; ZABLOTOWCZ, R. M.; MENGISTU, A. Simulated Glyphosate drift influences nitrate assimilation and nitrogen fixation in non-glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 54, p. 3357-3364, 2006.
- BRITO, N. M.; AMARANTE JÚNIOR, O. P.; ABAKERLI, R.; DOS SANTOS, T. C. R. Risco de contaminação de águas por pesticidas aplicados em plantações de eucaliptos e coqueiros: análise preliminar. **Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 11, p. 93-104, 2001.
- CANDELA, L.; ÁLVAREZ-BENEDÍ, J.; CONDESSO DE MELO, M. T.; RAO, P. S. C. Laboratory studies on glyphosate transport in soils of the Maresme area near Barcelona, Spain: Transport model parameter estimation. **Chemosphere**, Oxford, v. 140, p. 8-16, 2007.
- CARLISLE, S. M.; TREVORS, J. T. Glyphosate in the environment. **Water, Air and Soil Pollution**, Amsterdam, v. 39, p. 409-420, 1988.
- CASTRO JÚNIOR, J. V. de; SELBACH, P. A.; ZÁCHIAAYUB, M. A. Avaliação do efeito do herbicida glifosato na microbiota do solo. **Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 16, p. 21 - 30, 2006.
- CERDEIRA, A. L.; DUKE, S. O. The current status and environmental impacts of glyphosate – resistant crops: a review. **Journal Environmental Quality**, Madison, v. 35, p. 1633-1658, 2006.
- CHEAH, U. B.; KIRKWOOD, R. C.; LUM, K. Y. Adsorption, desorption and mobility of four commonly used pesticides in Malaysian agricultural soils. **Pesticide Science**, London, v. 50, p. 53-63, 1997.

CHEAH, U. B.; KIRKWOOD, R. C.; LUM, K. Y. Degradation of four commonly used pesticides in Malaysian agricultural soils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n. 3, p. 1217-1223, 1998.

CORNISH, P. Glyphosate residues in a sandy soil affect tomato transplants. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Collingwood, v. 32, p. 395-399, 1992.

COSTA, M. D. L.; GONÇALVES, L. R.; BARBOSA, E. R.; BACHESCHI, L. A. Alterações de neuroimagem no parkinsonismo: estudo de cinco casos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 61, n. 2, p. 381 - 386, 2003.

COUTINHO, C. F. B.; GALLI, A.; MAZO, L. H; MACHADO, S. A. S. Carbendazim e o meio ambiente: degradação e toxidez. **Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 16, p. 63-70, 2006.

COX, C. Glyphosate – human exposure and ecological effects. **Journal of Pesticide Reforme**, Eugene, v. 15, p. 14-20, 1995.

CRISTINA, L. Cresce área plantada com transgênicos no Brasil, aponta relatório. **Agência Brasil**, Brasília, 18 jan. 2007. Disponível em: <<http://www.agenciabrasil.gov.br>>. Acesso em: 19 jul. 2007.

DOUSSET, S.; CHAUVIN, C.; DURLET, P.; THÉVENOT, M. Transfer of hexazinone and glyphosate through undisturbed soil columns in soil under Christmas tree cultivation. **Chemosphere**, Oxford, v. 57, p. 265-272, 2004.

EBERBACH, P. Applying non-steady-state compartmental analysis to investigate the simultaneous degradation of soluble and sorbed glyphosate (N-(Phosphonomethyl)glycine) in four soils. **Pesticides Science**, London, v. 52, p. 229-240, 1998.

ENFIELD, C. G.; YATES, S. R. Organic chemical transport to groundwater. In: CHENG, H. H. et al. (Ed.). **Pesticides in the soil environment: processes, impacts, and modeling**. Madison: Soil Science Society of America, 1990. chap. 8, p. 271-302.

FÜHR, F.; OPHOFF, H.; BURAUER, P.; WANNER, U.; HAIDER, K.; Modification of definition of bound residues. In: FÜHR, F.; OPHOFF, H. **Pesticide bound residues in soil**. Weinheim: Wiley-VCH, 1998. p. 175-176.

GERRITSE, R. G.; BELTRAN, J.; HERNANDEZ, F. Adsorption of atrazine, simazine and glyphosate in soils of the Gwangara Mound. **Australian Journal of Soil Research**, Collingwood, v. 34, p. 599-607, 1996.

GEVAO, B.; SEMPLE, K. T.; JONES, K. C. Bound pesticide residues in soil: a review. **Environmental pollution**, Barking, v. 108, p. 3-14, 2000.

- GIMSING, A. L.; SZILAS, C.; BORGGAARD, O. K. Sorption of glyphosate and phosphate by variable-charge tropical soils from Tanzania. **Geoderma**, Amsterdam, v. 138, p. 127-132, 2007.
- GIMSING, A.; BORGGAARD, O.; ESTOFT, P. Modeling the kinetics of the competitive adsorption and desorption of glyphosate and phosphate on goethite and gibbsite and in soils. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 38, p. 1718-1722, 2004.
- GIMSING, A. L.; BORGGAARD, O. K.; BANG, M. Influence of soil composition on adsorption of glyphosate and phosphate by contrasting Danish soils. **European Journal Soil Science**, Oxford, v. 55, p. 183–199, 2004.
- GLASS, R. L. Adsorption of glyphosate by soils and clay minerals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 35, p. 497-500, 1987.
- GUILHERME, L. R.; SILVA, M. L. N.; LIMA, J. M.; RIGITANO, R. L. de O. Contaminação de microbacia hidrográfica pelo uso de pesticidas. Belo Horizonte: **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 21, n. 207, p. 40-54, nov./dez. 2000.
- HEINONEN-TANSKI, H. The effect of temperature and liming on the degradation of glyphosate in two arctic forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 21, p. 313-317, 1989.
- JOHAL, G. S.; RAHE, J. E. Role of phytoalexins in the suppression of resistance of *Phaseolus vulgaris* to *Colletotrichum lindemuthianum* by glyphosate. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v.12, n. 3, p. 225-348, 1990.
- JONGE, H. de; JONGE, L. W. de; JACOBSEN, O. H.; YAMAGUSHI, T.; MOLDRUP, P. Glyphosate sorption in soils of different pH and phosphorus content. **Soil Science**, Baltimore, v. 166, p. 230 – 238, 2001.
- JONGE, H. de; JONGE, L. W. de; JACOBSEN, O.H. (<sup>14</sup>C) Glyphosate transport in undisturbed topsoil columns. **Pest Management Science**, Hoboken, v.56, p. 909 – 915, 2000.
- JONGE, H.de; JONGE, L. W. de. Influence of pH and solution composition on the sorption of glyphosate and prochloraz to a sandy loam soil. **Chemosphere**, Oxford, v. 39, n. 5, p. 753-763, 1999.
- KOSKINEN, W.C.; HARPER, S. The retention process: mechanisms. In: CHENG, H.H. et al. (Ed.). **Pesticides in the soil environment: processes, impacts, and modeling**. Madison: Soil Science Society of America, 1990. chap. 3, p. 51-78.
- LAVORENTI, A. Comportamento de herbicidas no meio ambiente. In: WORKSHOP SOBRE BIODEGRADAÇÃO, 1986, Campinas. **Anais...** Campinas: EMBRAPA-CNPMA, 1996. p.81-115.

MALTY, J. S.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Efeitos do glifosato sobre microrganismos simbiotróficos de soja, em meio de cultura e casa de vegetação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, p. 285-291, fev.2006.

MAMY, L.; BARRIUSO, E. Glyphosate adsorption in soils compared to herbicides replaced with the introduction of glyphosate resistant crops. **Chemosphere**, Oxford, v. 61, p. 844-855, 2005.

MAQUEDA, C., MORILLO, E., UNDABEYTIA, T., Cosorption of glyphosate and copper(II) on goethite. **Soil Science**, Baltimore, v. 167, n. 10, p. 659-665, 2002.

McCONNEL, J. S.; HOSSNER, L. R. pH-Dependent adsorption isotherms of glyphosate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 33, p. 1075-1078, 1985.

MILES, C. J.; MOYE, H. A. Extraction of glyphosate herbicide from soil and clay minerals and determination of residues in soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 36, p. 486-491, 1988.

MONQUERO, P. A.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; OSUNA, M. D.; DE PRADO, R. A. Absorção, translocação e metabolismo do glyphosate por plantas tolerantes e susceptíveis a este herbicida. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 22, n. 3, p. 445-451, 2004.

MOREIRA, F. M. S. de; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. Lavras: UFLA, 2002. 626 p.

MORILLO, E.; UNDABEYTIA, T.; MAQUEDA, C. Adsorption of glyphosate on the clay mineral montmorillonite: Effect of Cu(II) in solution and adsorbed on the mineral. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 31, n. 12, p. 3588-3592, 1997.

NICHOLLS, P. H.; EVANS, A. A. Sorption of ionisable organic compounds by field soils. Part 2: cations, bases and zwitterions. **Pesticides Science**, London, v.3, p.331-345, 1991.

NÓBREGA, J. C. A. **Calagem e fosfatagem na retenção e mobilidade do fungicida triadimenol em amostras de latossolos**. 2004. 96 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

NOMURA, N. S.; HILTON, H. W. The adsorption and degradation of glyphosate in five Hawaiian sugarcane soils. **Weed Research**, Oxford, v. 17, p. 113-121, 1977.

PAULA JUNIOR, T. Z.; ZAMBOLIM, L. Efeito de fungicidas e de herbicidas sobre a micorrização de *Eucalyptus grandis* por *Glomus etunicatum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 2, p. 173-177, 1994.

PICCOLO, A.; CELANO, G.; CONTE, P. Adsorption glyphosate by humic substances. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 44, p. 2442-2446, 1996.

PIMENTEL, D.; MACLAUGHLIN, L.; ZEPP, A.; LAKITAN, B.; KRAUS, T.; KLEINMEN, P.; VANCINI, F.; ROACH, W. J.; GRAAP, E.; KEETON, W. S.; SELIG, G. Environmental and economic effects of reducing pesticide use in agriculture. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, Amsterdam, v. 46, p. 273-288, 1993.

PRATA, F. **Comportamento do glifosato no solo e deslocamento miscível de atrazina**. 2002. 149 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas)-Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

PRATA, F.; CARDINALI, V. C. B.; LAVORENTI, A.; TORNISIELO, V. L.; REGITANO, J. B. Glyphosate sorption and desorption in soils with distinct phosphorus levels. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 60, n. 1, p. 175-180, 2003.

PRATA, F.; LAVORENTI, A. Comportamento de herbicidas no solo: influência da matéria orgânica. *Revista Biociências*, Taubaté, v. 6, p. 17-22, 2000.

PRATA, F.; LAVORENTI, A.; REGITANO, J. B.; TORNISIELO, V. L. Degradação e adsorção de diuron em solos tratados com vinhaça. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 24, p. 217-223, 2000a.

PRATA, F.; LAVORENTI, A.; REGITANO, J. B.; TORNISIELO, V. L. Influência da matéria orgânica na sorção e desorção do glifosato em solos com diferentes atributos mineralógicos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 24, p. 947-951, 2000b.

PRATA, F.; LAVORENTI, A.; REGITANO, J. B.; VEREECKEN, H.; TORNISIELO, V. L.; PELISSARI, A. Glyphosate behavior in a Rhodic Oxisol under no-till and conventional agricultural systems. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 29, n. 1, p. 61-69, 2005.

RAHE, J. E. **O herbicida glifosato – como ele mata as plantas?** In: INFORMAÇÕES RECENTES PARA OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO AGRÍCOLA, 117., 2007, Piracicaba. Piracicaba: IPNI, 2007. Palestra.

RIZZARDI, M.A.; FLECK, N.G.; AGOSTINETTO, D.; BALBINOT JR., A. A. Ação de herbicidas sobre mecanismos de defesa das plantas aos patógenos. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 33, n. 5, p. 957-965, 2003.

RODRIGUES, J. D. **Absorção, translocação e modo de ação de defensivos (glifosato e alachlor)**. Botucatu: UNESP, 1994. 10 p.

RODRIGUES, J. J. V.; WORSHAM, D.; CORBIN, F. T. Exudation of glyphosate from wheat (*Triticum aestivum*) plants and its effects on interplanted corn (*Zea mays*) and soybeans (*Glycine max*). *Weed Science*, Oxford, v. 30, n. 2, p. 316-320, 1982.

RODRIGUES, R. de S. O. **Avaliação do nível de resíduos de atrazine e simazine em água, em áreas de cultivo intensivo de milho no Brasil**. 2001. 63 p. Tese (Doutorado em Ecologia) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.



RUEPPEL, M. L.; BRIGHTWELL, B. B.; SCHAEFER, J.; MARVEL, J. T. Metabolism and degradation of glyphosate in soil and water. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 25, n. 3, p. 517-528, 1977.

SALVEIT, M. E. Post harvest glyphosate application reduces toughening, fiber content and lignification of stored asparagus spears. **Journal America of Society Horticulture Science**, Alexandria, v. 113, p. 569-572, 1988.

SANTANA, H. de; TONI, L. R. M.; BENETOLI, L. O. de B.; ZAIA, C. T. B. V.; ROSA JÚNIOR, M.; ZAIA, D. A. M. Effect in glyphosate adsorption on clays and soils heated and characterization by FT-IR spectroscopy. **Geoderma**, Amsterdam, v.136, p. 738-750, 2006.

SANTOS, A.; FLORES, M. Effects of glyphosate on nitrogen fixation of free-living heterotrophic bacteria. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 20, p. 349-352, 1995.

SILVA, M. D. da; PERALBA, M.C.R.; MATTOS, M. L. T. Determinação de glifosato e ácido aminometilfosfônico em águas superficiais do Arroio Passo do Pilão. **Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 13, p. 19-28, 2003.

SINDICATO NACIONAL DAS INDÚSTRIAS DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS. Disponível em : <[http:// www.sindag.com.br/upload/consumo-mundial.xls](http://www.sindag.com.br/upload/consumo-mundial.xls)>. Acesso em: 18 abr. 2007.

SIQUEIRA, J. O.; TRANNIN, I. C. de B.; RAMALHO, M. A. P.; FONTES, E. M. G. Interferências no agrossistema e riscos ambientais de culturas transgênicas tolerantes a herbicidas e protegidas contra insetos. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, Brasília, v. 21, p. 11-81, 2004.

SOLANGE, P.; MERCEDES, M. de. Enhanced degradation of metalaxyl in agricultural soils of São Paulo state, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 1, p. 01-05, 2001.

SORENSEN, S.R.; SCHULTZ, A.; JACOBSEN, O. S.; AAMAND, J. Sorption, desorption and mineralisation of the herbicides glyphosate and MCPA in samples from two Danish soil and subsurface profiles. **Environmental Pollution**, Barking, v. 141, p. 184 – 194, 2006.

SOUZA, A. P.; PRATES, H. T.; FERREIRA, F. A.; REIS, E. L.; JORDÃO, C. P. Lixiviação do glyphosate e do imazapyr em solos com diferentes texturas e composição química. II. Método Analítico. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 17, p. 245–262, 1999.

SPRANKLE, P.; MEGGIT, W. F.; PENNER, D. Adsorption, mobility and microbial degradation of glyphosate in the soil. **Weed Science**, Oxford, v. 23, p. 229-234, 1975.

STEVENSON, F. J. **Humus chemistry**. New York: John Wiley, 1982. 443 p.

SUBRAMANIAM, V.; HOGGARD, P. Metal complexes of glyphosate. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 36, p. 1326–1329, 1988.

TONI, L. R. M.; SANTANA, H. de; ZAIA, D. A. M. Adsorção de glifosato sobre solos e minerais. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 829-833, 2006.

TSUI, M. T. K.; WANG, W. X.; CHU, L. M. Influence of glyphosate and its formulation (Roundup<sup>®</sup>) on the toxicity and bioavailability of metals to *Ceriodaphnia dubia*. **Environmental Pollution**, Barking, v. 138, p. 59-68, 2005.

TUFFI-SANTOS, L. D.; FERREIRA, F. A.; BARROS, N. F.; SIQUEIRA, C. H.; SANTOS, I. C.; MACHADO, A.F.L. Exsudação radicular do glyphosate por *Brachiaria decumbens* e seus efeitos em plantas de eucalipto e na respiração microbiana do solo. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 23, n. 1, p. 143-152, 2005.

VARGAS, L.; RIZZARDI, M.; BIANCHI, M. A. Manejo e controle de espécies tolerantes ou resistentes ao glifosato. **Revista Plantio Direto**, Ponta Grossa, v. 16, n. 98, p. 30-33, 2007.

VERECKEN, H. Mobility and leaching of glyphosate: a review. **Pesticides Management Science**, Hoboken, v. 61, p. 1139–1151, 2005.

ZHOU, D. M.; WANG, Y. J.; CANG, L.; HAO, X. Z.; LUO, X. S. Adsorption and cosorption of cadmium and glyphosate on two soils with different characteristics. **Chemosphere**, Oxford, v. 54, p. 1237-1244, 2004.

## **2 SORÇÃO E DESSORÇÃO DE <sup>14</sup>C-GLIFOSATO EM DUAS CLASSES DE SOLOS ANTES E APÓS A REMOÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA, ÓXIDOS DE FERRO E GIBBSITA**

### **Sorção e dessorção de <sup>14</sup>C-glifosato em duas classes de solos antes e após a remoção de seus diferentes constituintes**

#### **Resumo**

O glifosato é um dos herbicidas mais utilizados na agricultura brasileira para o controle de plantas daninhas, em diversas culturas. Esta molécula possui grande capacidade de ser sorvida às partículas orgânicas e minerais dos solos, dessa forma, é necessário conhecer os principais responsáveis por essa retenção em solos de clima tropical. Diante desses aspectos, o objetivo da pesquisa foi avaliar a participação dos principais constituintes dos solos tropicais na sorção e dessorção do glifosato. Para isso, foram realizados tratamentos para a remoção da matéria orgânica, dos óxidos de ferro e de alumínio em um Latossolo Vermelho (LE) e em um Neossolo Quartzarênico (RQ), coletados na região de Piracicaba/SP, na camada de 0-20 cm. A matéria orgânica foi oxidada pelo uso de peróxido de hidrogênio a 30%; os óxidos de ferro foram removidos pelo método do ditionito citrato bicarbonato (DCB) e a gibbsita por tratamento térmico a 350°C, somente no LE. Após esses tratamentos, foi realizado estudos de sorção pelo método “batch”, utilizando para isso o glifosato radiomarcado no carbono fosfometil em diferentes concentrações (0,24; 0,48; 0,96; 1,92 e 3,84 mg i.a L<sup>-1</sup>). Após a sorção foi realizado o ensaio de dessorção na concentração de 0,48 mg i.a L<sup>-1</sup>, por representar a dose recomendada no campo. As metodologias utilizadas para a separação dos constituintes dos solos se mostraram adequadas para os dois solos. A isoterma de sorção para todas as condições estudadas foi linear. Os solos LE e RQ totais apresentaram elevada sorção do glifosato e a ausência da matéria orgânica somente reduziu a sorção no LE. A remoção dos óxidos de ferro reduziu significativamente a sorção do glifosato tanto no LE quanto no RQ, no entanto, a gibbsita não influenciou a sorção no LE. Conforme observado pelos resultados obtidos, os óxidos de ferro foram os principais responsáveis pela sorção do glifosato nos dois solos estudados e os demais constituintes possuíram efeito secundário na retenção. Em relação a dessorção, essa foi baixa em todos os tratamentos, sugerindo que o glifosato é uma molécula que possui alta energia de ligação com todos os constituintes dos solos, permanecendo-o principalmente na forma de resíduo ligado.

Palavras-chave: Herbicida; Contaminação; Preparo de amostras

## **Sorption and desorption of $^{14}\text{C}$ -glyphosate in two Brazilian soils before and after sequential removal of organic matter, iron oxides and gibbsite**

### **Abstract**

Glyphosate is one of the most used herbicide in the Brazilian agriculture and can be sorbed on both organic and mineral surfaces of soils. This research was carried out to evaluate the impact of the main constituents of two tropical soils on the sorption and desorption of glyphosate. For this, organic matter, iron oxides and gibbsite were sequentially removed from surface samples (0-20 cm) of a Red Latosol (LE) and a Quartzarenic Neosol (RQ) and batch  $^{14}\text{C}$ -glyphosate sorption and desorption experiments were carried out after each removal stage. The organic matter was oxidized by hydrogen peroxide (30%); the iron oxides were removed by selective dissolution with sodium dithionite-citrate-bicarbonate (DCB) method whereas gibbsite was removed only from LE by heating (350°C). After these treatments, batch sorption studies were carried out by using radiolabelled glyphosate (C labelled at phosphonomethyl group) under different concentrations (0.24; 0.48; 0.96; 1.92; and 3.84 mg a.i. L<sup>-1</sup>). After the sorption experiments, desorption was done only in the samples treated with 0.48 mg a.i. L<sup>-1</sup>, concentration equivalent to the recommended field dose. X-ray diffraction (XRD) patterns collected before and after the removal procedures evidenced that the applied treatments did not cause structural changes in the main soil minerals. The sorption isotherm was linear for all studied conditions. The whole soils presented high sorption for glyphosate, which was diminished after the organic matter removal only for the LE. The iron oxide removal caused an expressive reduction in the glyphosate sorption in both soils. The presence of gibbsite did not influence the sorption in LE soil. From the results it was possible to conclude that iron oxides are the main constituents responsible for the glyphosate sorption in the studied soils. Desorption was very low in all treatments which suggests that glyphosate presents very high bound energy with soil constituents forming very easily bound residues after its application in the soil.

**Keywords:** Herbicide; Contamination; Sample preparation

## 2.1 Introdução

O glifosato é o principal herbicida usado no mundo, sendo responsável por 30% de todos os pesticidas usados no Brasil. Hoje o mercado de glifosato usado no Brasil é cerca de 80 milhões de litros/ano, sendo que a indústria nacional participa com 15 milhões. Atualmente, é usado em quase todas as culturas, sendo responsável pelo impulso e viabilidade do sistema de plantio direto (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS DEFENSIVOS GENÉRICOS – AENDA, 2007). Segundo Cole (1984), o glifosato é um herbicida não seletivo que age na inibição enzimática das plantas, através da enzima 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), que é responsável pela síntese dos aminoácidos aromáticos essenciais (fenilalanina, tirosina e triptofano), os quais são precursores de outros produtos, como lignina, alcalóides, flavonóides, ácidos benzóicos e vitamina K.

A exposição ambiental pelo glifosato é alta, devido as grandes quantidades usadas desse herbicida em todo o mundo. Amarante Júnior et al. (2002) relatam que em estudos realizados no ambiente, as concentrações mais altas tanto do glifosato, quanto do seu principal metabólito, o ácido aminometilfosfônico (AMPA), foram encontradas nos solos.

O glifosato é um herbicida aplicado em condição de pós-emergência nas plantas daninhas, seguido a essa aplicação, uma grande proporção do glifosato pode chegar ao solo. No solo, a molécula perde sua atividade herbicida, devido a sua sorção nas partículas dos solos. Esse comportamento do glifosato no solo foi verificado há vários anos em trabalhos pioneiros como os de Sprankle; Meggit e Penner (1975) e de Hensley; Beuerman e Carpenter (1978).

Devido à elevada capacidade de sorção do glifosato nas partículas dos solos, muitos são os estudos que explicam os mecanismos de ligação entre o glifosato e o solo. Os mecanismos propostos mais comuns são a ligação covalente entre o glifosato e os óxidos de ferro e alumínio dos solos (CHEAH; KIRKWOOD; LUM, 1997; PRATA et al., 2000) e a ligação de hidrogênio formada entre o glifosato e as substâncias húmicas presentes nos solos (PICCOLO; CELANO; CONTE, 1996).

O solo é constituído de três fases: sólida, líquida e gasosa. A fase sólida do solo é constituída da fração mineral e da fração orgânica. Quando um composto orgânico chega ao solo, ele pode ser sorvido à fase mineral e/ou a fase orgânica. Sendo a contribuição dessas duas fases na sorção, dependente das características do próprio composto. A sorção de molécula orgânicas

na fase sólida do solo reduz a quantidade destas na fase líquida, ou seja, na solução do solo, diminuindo a sua degradação pelos microrganismos, o seu transporte para outros compartimentos do ambiente e sua absorção pelas plantas. Em relação ao glifosato, há relatos na literatura do mesmo se sorver tanto às partículas orgânicas (PICCOLO; CELANO; CONTE, 1996), quanto à fase mineral (GIMSING; BORGGAARD; BANG, 2004).

Em condições tropicais, Prata et al. (2000) concluíram que a matéria orgânica não é a principal responsável pela retenção do glifosato em solos, desempenhando papel secundário. Assim, a sorção do glifosato em solos é devida principalmente a fração inorgânica (VERECKEN, 2005). Toni; Santana e Zaia (2006) em suas revisões sobre adsorção do glifosato em solos e minerais relatam que os dados obtidos por diversos pesquisadores mostram que não há uma concordância sobre qual o fator relacionado a fração mineral (quantidade e tipo de argilas e de óxidos, CTC etc.) é o mais importante na adsorção do glifosato em solos.

Diante do uso intensivo desta molécula, estudos do seu comportamento em solos foram previamente conduzidos em diferentes partes do mundo, porém poucos são relatados em solos tropicais. A contribuição das partículas minerais e orgânicas presentes em solos de carga variável com relação à sorção do glifosato não é inteiramente esclarecida. Portanto, o estudo da retenção do glifosato precisa ser melhor caracterizado para os solos brasileiros, sendo o conhecimento da natureza dos constituintes sólidos do solo essencial para se entender os processos de sorção.

É importante destacar que vários foram os estudos em que utilizaram materiais puros para o estudo de retenção do glifosato. Piccolo; Celano e Conte (1996) utilizaram quatro ácidos húmicos, obtidos pela extração de diferentes solos. Gimsing; Borggaard e Bang (2004); Glass (1987); McConnel e Hossner (1985); Sprankle; Meggit e Penner (1975) e vários outros estudaram a influência de minerais puros (caulinita, hematita, goethita, ilita, bentonita etc.) na sorção do glifosato. No entanto, neste trabalho pretendeu-se avaliar o efeito dos componentes dos solos na condição mais real possível, retirando de forma gradativa as frações mais importantes dos solos tropicais, com o intuito de determinar com segurança, os principais responsáveis pela sorção do glifosato em solos.

A hipótese formulada para este trabalho foi de que, dentre os constituintes da fase sólida dos solos, os óxidos de ferro e alumínio sejam os principais responsáveis pela sorção do glifosato e que os solos sem a presença dessa fração, retenha a molécula mais fracamente.

O objetivo deste trabalho foi estudar a sorção e a dessorção do herbicida glifosato em um Neossolo Quartzarênico (RQ) e em um Latossolo Vermelho (LE), bem como em seus diferentes componentes, utilizando fracionamento sequencial dos componentes da fase sólida dos solos.

## 2.2 Desenvolvimento

### 2.2.1 Material e Métodos

#### 2.2.1.1 Coleta, preparo e caracterização das amostras de solos

As amostras de solos utilizadas foram de um Latossolo Vermelho (LE) e de um Neossolo Quartzarênico (RQ), sob vegetação nativa, localizadas no município de Piracicaba, SP e coletadas na profundidade de 0-20 cm. Estas classes de solos foram escolhidas por serem contrastantes com relação às suas características químicas, físicas e mineralógicas.

Após a coleta, as amostras de solos foram secas ao ar, passadas em peneira de malha de 2 mm, obtendo-se a terra fina seca ao ar (TFSA). Dessas amostras, derivaram subamostras para a caracterização física, química e mineralógica dos solos, realizadas nos laboratórios do Departamento de Ciência do Solo e no Núcleo de Pesquisa em Geologia (NUPEGEL) da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - ESALQ/USP.

Para a caracterização física dos solos, foram determinados os teores de areia, silte e argila pelo método do densímetro (CAMARGO et al., 1986). A areia total foi fracionada em conjunto de peneiras, obtendo-se a areia muito grossa, areia grossa, areia média, areia fina e areia muito fina (Tabela 2.1).

Tabela 2.1 - Caracterização física das amostras do Latossolo Vermelho (LE) e do Neossolo Quartzarênico (RQ)

Solo	Argila	Silte	Areia					Classe Textural
			Muito Grossa	Grossa	Média	Fina	Muito Fina	
-----g kg <sup>-1</sup> -----								
LE	669	77	1	32	50	130	41	Muito argilosa
RQ	100	20	6	260	332	255	27	Arenosa

Para a caracterização química, foram utilizadas as metodologias propostas em Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA (1997). Foram obtidos os teores de fósforo (P), cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) e magnésio ( $\text{Mg}^{2+}$ ) pela extração com resina trocadora de íons. O potássio ( $\text{K}^+$ ) foi determinado pela extração com Melich 1 e o  $\text{Al}^{3+}$  trocável por meio de extração com  $\text{KCl}$  1 mol  $\text{L}^{-1}$ . O enxofre (S) e o nitrogênio (N) foram determinados pelo analisador elementar da marca Thermo. Também foram obtidos os valores de pH em água e em cloreto de potássio dos solos, os quais foram utilizados para calcular os valores de  $\Delta\text{pH}$  (MEKARU; UEHARA, 1972) (Tabela 2.2).

A matéria orgânica foi determinada pela sua oxidação com dicromato de potássio em presença do ácido sulfúrico e titulação do excesso de dicromato com sulfato ferroso amoniacal (Tabela 2.3).

Os teores dos óxidos de ferro, alumínio, titânio e manganês foram obtidos pelo ataque sulfúrico e a determinação da concentração de silício, na forma de óxidos, pelo ataque alcalino (EMBRAPA, 1997). À partir dos resultados analíticos foram calculados os índices de intemperismo  $K_i$  e  $K_r$  (Tabela 2.4).

Tabela 2.2 – Caracterização química das amostras do Latossolo Vermelho (LE) e do Neossolo Quartzarênico (RQ)

Solo	$\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$	$\text{pH}_{\text{KCl}}$	$\Delta\text{pH}$	P	$\text{K}^+$	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{Mg}^{2+}$	$\text{Al}^{3+}$	S	N
				$\text{mg dm}^{-3}$	----- $\text{mmolc dm}^{-3}$ -----				----%----	
LE	4,26	3,77	-0,49	4,20	2,07	1,00	2,00	21,80	0,02	0,22
RQ	4,32	3,85	-0,47	3,70	0,84	1,00	1,00	7,10	0,00	0,06

Tabela 2.3 - Caracterização química das amostras do Latossolo Vermelho (LE) e do Neossolo Quartzarênico (RQ)

Solo	$\text{S}^{(1)}$	$t^{(2)}$	$\text{T}^{(3)}$	H+Al	$\text{V}^{(4)}$	$\text{M}^{(5)}$	$\text{CO}^{(6)}$
	----- $\text{mmolc dm}^{-3}$ -----				-----%-----		$\text{g kg}^{-1}$
LE	5,07	26,87	140,07	135,00	3,62	81,13	23,30
RQ	2,84	9,94	50,44	47,60	5,63	71,43	12,90

<sup>(1)</sup>S = soma de bases trocáveis; <sup>(2)</sup>t = CTC efetiva; <sup>(3)</sup>T = CTC a pH 7,0; <sup>(4)</sup>V = índice de saturação de bases; <sup>(5)</sup>m = índice de saturação de alumínio; <sup>(6)</sup>CO = carbono orgânico



Tabela 2.4 - Teores de óxidos e índices de intemperismo (Kr e Ki) das amostras do Latossolo Vermelho (LE) e do Neossolo Quartzarênico (RQ)

<b>Solo</b>	<b>SiO<sub>2</sub></b>	<b>Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	<b>Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	<b>MnO</b>	<b>TiO<sub>2</sub></b>	<b>Ki</b>	<b>Kr</b>
-----g kg <sup>-1</sup> -----							
LE	122,50	195,05	81,70	0,30	11,60	1,07	0,84
RQ	14,00	23,40	5,50	0,10	0,85	1,02	0,88

A caracterização mineralógica dos solos foi feita por difratometria de raios-X (DRX). Para isso, foram realizados os seguintes tratamentos nas amostras, conforme metodologia proposta por Camargo et al. (1986) e Jackson (1969): i) remoção da matéria orgânica com peróxido de hidrogênio a 30%; ii) remoção dos óxidos de ferro, com citrato bicarbonato e ditionito de sódio em pó; iii) separação das frações areia, silte e argila, pelo método da centrifugação e iv) saturação da fração argila com potássio e magnésio. Após a saturação da fração argila dos solos com potássio, foram realizados aquecimentos nas amostras a 350°C e a 550°C e nas amostras saturadas com magnésio, foi usado etileno-glicol. Esses tratamentos foram realizados com objetivo de identificar e separar minerais do tipo 2:1. Após esses tratamentos, foram realizadas as análises em DRX. Quantificações dos minerais caulinita e gibbsita em amostras desferrificadas dos solos foram feitas pela Análise Térmica Diferencial (ATD) (Tabela 2.5).

Tabela 2.5 – Mineralogia e proporção de caulinita e gibbsita das amostras do Latossolo Vermelho (LE) e do Neossolo Quartzarênico (RQ)

<b>Solo</b>	<b>Fração</b>			<b>Caulinita</b>	<b>Gibbsita</b>
	<b>Areia</b>	<b>Silte</b>	<b>Argila</b>		
LE	Qz <sup>(1)</sup>	Qz, Ct <sup>(2)</sup>	Ct, Gb <sup>(3)</sup> , Gt <sup>(4)</sup> , Hm <sup>(5)</sup> , VHE <sup>(6)</sup>	+++++( <sup>(7)</sup> )	++
RQ	Qz	Qz	Ct, Gt, VHE	+	

<sup>(1)</sup>Quartzo; <sup>(2)</sup>Caulinita; <sup>(3)</sup>Gibbsita; <sup>(4)</sup>Goethita; <sup>(5)</sup>Hematita; <sup>(6)</sup>Vermiculita com hidróxi-alumínio entrecamadas; <sup>(7)</sup>Proporção do mineral

Antes da realização do ensaio de retenção do glifosato, as amostras de solos foram submetidas a diferentes tratamentos, os quais são descritos no próximo item. Estes tratamentos foram realizados com o objetivo de separar os constituintes dos solos, possibilitando o estudo de retenção do glifosato nos seus diferentes componentes. Assim, este estudo teve diferentes tratamentos: amostra completa (objetivando estudar o comportamento do glifosato quando houver a interação de todos os componentes do solo); amostra sem matéria orgânica (estudo da

influência da matéria orgânica); amostra sem matéria orgânica e sem óxidos de ferro (influência dos óxidos de ferro) e amostra sem matéria orgânica, sem óxidos de ferro e sem hidróxido de alumínio (influência da gibbsita).

### **2.2.1.2 Separação seqüencial dos constituintes dos solos**

Os procedimentos abaixo relacionados foram realizados no laboratório de Mineralogia do Departamento de Ciência do Solo da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP.

#### **a. Remoção da matéria orgânica**

Com o objetivo de avaliar a influência da matéria orgânica na retenção do glifosato, os dois solos tiveram sua fração orgânica destruída. Este procedimento foi realizado utilizando o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) a 30%, com aquecimento em placa aquecedora a 75°C. Após foi utilizado acetato de sódio (NaOAc) e a amostra foi centrifugada a 700 rpm por 3 minutos, com posterior lavagem com etanol, conforme metodologia proposta por Jackson (1969).

#### **b. Remoção dos óxidos de ferro**

A remoção dos óxidos de ferro das amostras foi realizada com o intuito de verificar a importância dos óxidos na sorção e dessorção do glifosato em solos.

Nas amostras de solos sem a matéria orgânica, os óxidos de ferro foram removidos pelo tratamento com ditionito citrato bicarbonato (DCB). Para isso foi utilizado solução de citrato de sódio e bicarbonato de sódio e aquecida em banho-maria. Após cinco minutos, foi adicionado ditionito de sódio em pó, como agente redutor (Jackson, 1969). A remoção dos óxidos de ferro permite a concentração dos silicatos da amostra.

Com o objetivo de verificar a eficiência da metodologia utilizada, foi realizada análise em difração de raios-X (DRX) em cada amostra, após a remoção.

### c. Remoção do hidróxido de alumínio (gibbsita)

Com o objetivo de determinar a influência da gibbsita na retenção do glifosato em solos, foi realizada a remoção deste mineral, utilizando tratamento térmico a 350°C. Para isso, parte das amostras dos dois solos sem matéria orgânica e sem óxidos de ferro, foram colocadas em mufla regulada a temperatura necessária. Segundo Wilson (1994) na temperatura de 350°C, o mineral gibbsita sofre uma reação de desidroxilação, que é uma reação endotérmica causando a destruição da estrutura deste mineral. Este tratamento somente foi realizado no LE, por somente este solo possuir a gibbsita em sua composição mineralógica.

Após esse tratamento, foram feitas análises em DRX para verificar se somente a gibbsita foi removida e se houve alguma alteração significativa na estrutura dos minerais restantes.

#### 2.2.1.3 Ensaios de sorção e dessorção

Nas amostras naturais e nas que sofreram os tratamentos descritos anteriormente foram realizadas o estudo de retenção do glifosato. Os ensaios de sorção e dessorção foram realizados no Laboratório de Ecotoxicologia do CENA/USP. O ensaio foi realizado em tubos de centrífuga de vidro, pois, em estudo preliminar, tubos de polietileno normalmente usados para esse tipo de ensaio, retiveram aproximadamente 31% do glifosato aplicado. Assim, o uso desse tipo de tubo pode conduzir a erros significativos no estudo de retenção do glifosato em solos.

O método “batch” foi utilizado para a realização do ensaio de sorção nas amostras de solos. Para isso foram pesados, em triplicata, 1g de solo (base seca) em tubos de centrífuga com capacidade de 35 mL e adicionados 5 mL de solução de glifosato nas concentrações de 0,24; 0,48; 0,96; 1,92 e 3,84 mg i.a L<sup>-1</sup>. As soluções foram preparadas em solução de CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (0,01 mol L<sup>-1</sup>), utilizando o produto técnico mais o radioativo. A concentração de 0,48 mg i.a L<sup>-1</sup> correspondeu a dose recomendada no campo, considerando dose máxima recomendada de 2,88 kg i.a ha<sup>-1</sup> (COMPÊNDIO, 2005), densidade do solo de 1,2 g cm<sup>-3</sup>, profundidade do solo de 10 cm e relação solo: solução de 1:5. Nas diferentes soluções, a concentração radioativa do glifosato <sup>14</sup>C-fosfometil foi de 0,33 kBq mL<sup>-1</sup>, sendo a atividade específica do produto de 85,74 µCi mg<sup>-1</sup>. A pureza do glifosato técnico utilizado foi de 95,6% e a do radioativo (glifosato (<sup>14</sup>C-fosfometil)) (Figura 2.1) de 91%.

As misturas foram agitadas horizontalmente durante 6 horas a 180 rpm em sala climatizada (escura e à temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ). Após este período, os frascos foram centrifugados a 3000 rpm por 10 minutos e duas alíquotas de 1 mL do sobrenadante foram retiradas e colocadas cada uma em frasco de cintilação, contendo 10 mL de solução cintiladora instagel e levadas para detecção da radioatividade em Espectrômetro de Cintilação Líquida (ECL).

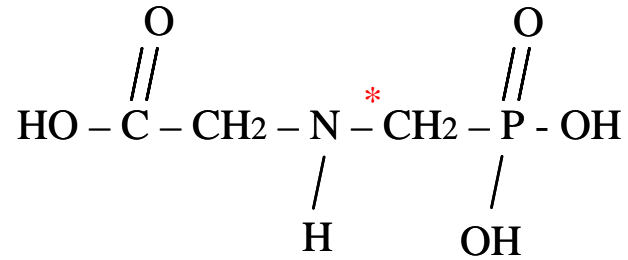


Figura 2.1 - Glifosato radiomarcado na posição  $^{14}\text{C}$ -fosfonometil

A sorção do glifosato pelos solos foi quantificada pela eq. (1):

$$S = (C_i - C_e) \times \frac{v}{m} \quad (1)$$

Em que:

$S$  – Quantidade de glifosato sorvido ( $\text{mg kg}^{-1}$ );

$C_i$  – Concentração inicial do glifosato ( $\text{mg L}^{-1}$ );

$C_e$  – Concentração do glifosato no equilíbrio ( $\text{mg L}^{-1}$ );

$v$  – Volume da solução de glifosato (L);

$m$  – massa de solo (kg).

Os resultados da sorção do glifosato foram ajustados à equação linearizada de Freundlich, conforme eq. (2).

$$\log S = \log K_f + n \cdot \log C_e \quad (2)$$

Em que:

$S$  – Quantidade de glifosato sorvido por massa de solo ( $\text{mg kg}^{-1}$ );

$K_f$  – Constante de Freundlich (quando  $n$  difere da unidade, a unidade de  $K_f$  é  $\text{mg}^{1-1/n} \text{kg}^{-1} \text{L}^{1/n}$ );

$C_e$  – Concentração do glifosato na solução em equilíbrio com o solo ( $\text{mg L}^{-1}$ );

$n$  – Grau de linearidade da isoterma de sorção.

Foram calculados também o coeficiente de partição ( $K_d$ ) (eq. (3)):

$$K_d = \frac{S}{C_e} \quad (3)$$

Seqüencialmente à sorção, foi realizado o ensaio de dessorção do glifosato nos tratamentos analisados, na concentração de  $0,48 \text{ mg i.a L}^{-1}$ , que corresponde a dose recomendada do glifosato no campo. Para isso, os sobrenadantes dos respectivos tubos foram descartados e alíquotas de 5 mL de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ( $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ ) adicionadas. Esses frascos contendo o glifosato retido às partículas dos solos e o cloreto de cálcio foram colocados para agitar em sala climatizada ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) por um período de 12 horas a 180 rpm. Após, os frascos foram centrifugados por 10 minutos a 3000 rpm e duas alíquotas de 1mL cada, analisadas em ECL para detecção da radioatividade. Este procedimento foi repetido por mais três vezes.

A dessorção foi quantificada pela eq. (4):

$$D = \frac{(C_e^d \cdot V^d - C_e^a \cdot V_R)}{M} \quad (4)$$

Em que:

$D$  – Quantidade de herbicida dessorvido ( $\text{mg kg}^{-1}$ );

$V^d$  – Volume de solução aquosa de  $\text{CaCl}_2$  adicionado (L);

$C_e^d$  – Concentração do herbicida na solução em equilíbrio com o solo após o processo de dessorção ( $\text{mg L}^{-1}$ );

$C_e^a$  – Concentração do herbicida na solução em equilíbrio com o solo obtida no processo de sorção ( $\text{mg L}^{-1}$ );

$V_R$  – Volume remanescente do processo anterior (L);

*M* - Massa de solo (kg).

#### 2.2.1.4 Delineamento experimental e análise dos dados

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado. Os resultados obtidos no experimento foram submetidos a análise de variância e sempre que esta apresentou diferença significativa entre os tratamentos, foi realizado o teste de Tukey a 5% para a comparação das médias.

#### 2.2.2 Resultados e Discussão

Após a desferrificação dos solos e a desidroxilação da gibbsita no solo LE, foram realizadas análises de DRX, para a verificação da eficiência das metodologias utilizadas. Os resultados podem ser observados nas Figuras 2.2, 2.3 e 2.4.

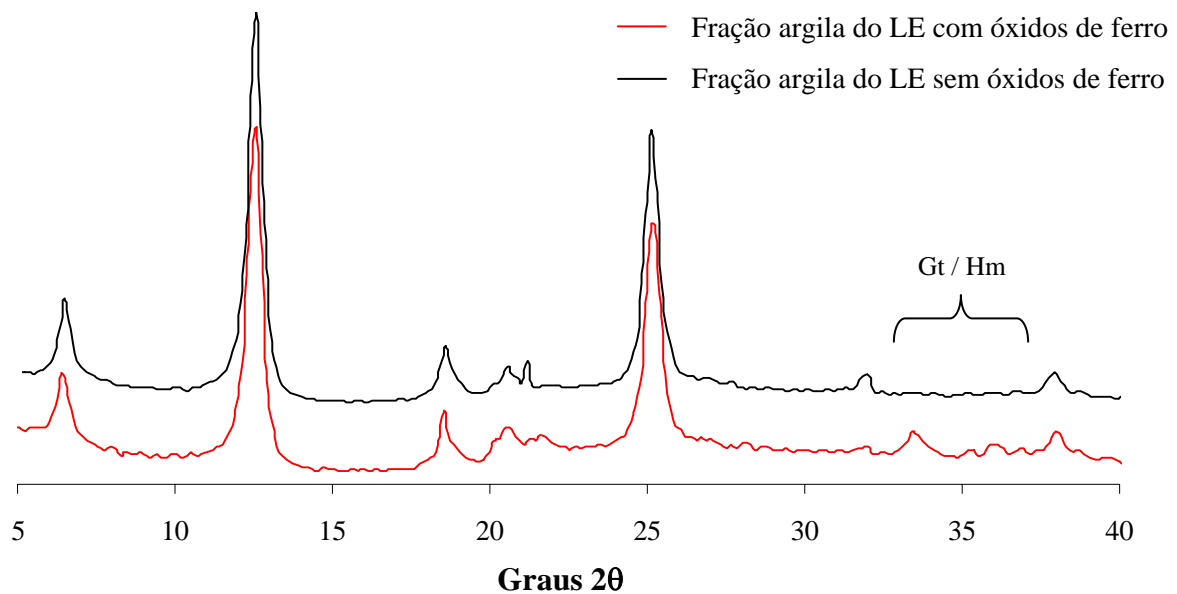


Figura 2.2 – Difratogramas da fração argila do Latossolo Vermelho (LE) na presença e ausência de óxidos de ferro (goethita - Gt e hematita -Hm)

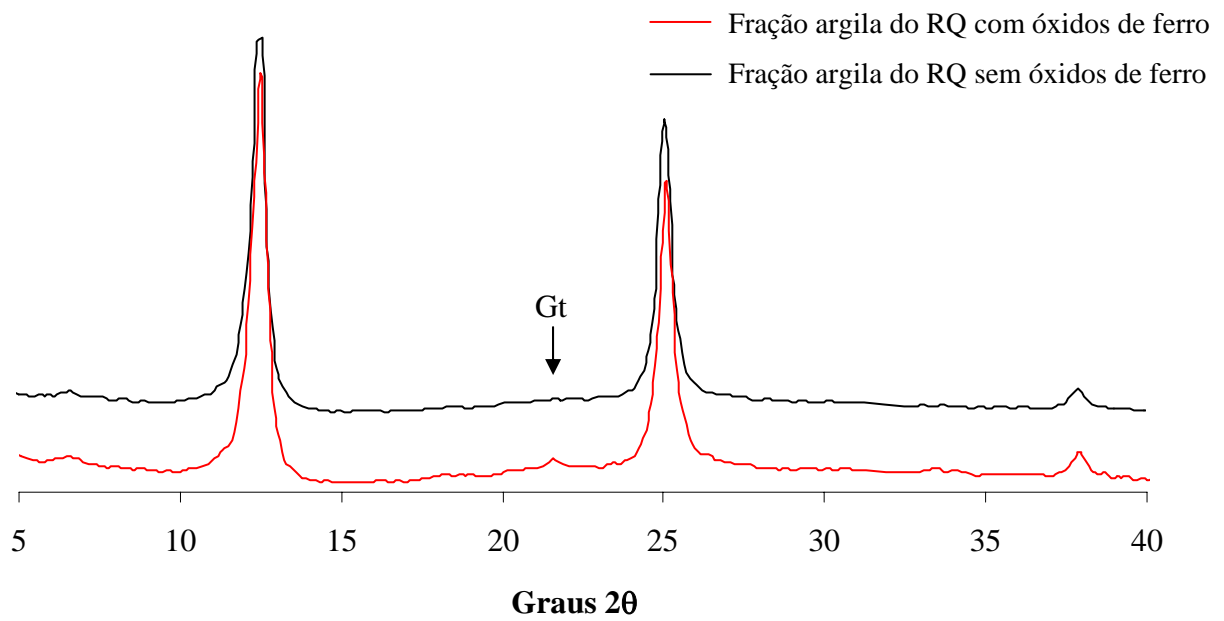


Figura 2.3 - Difratoogramas da fração argila do Neossolo Quartzarênico (RQ) na presença e na ausência de óxidos de ferro (goethita – Gt)

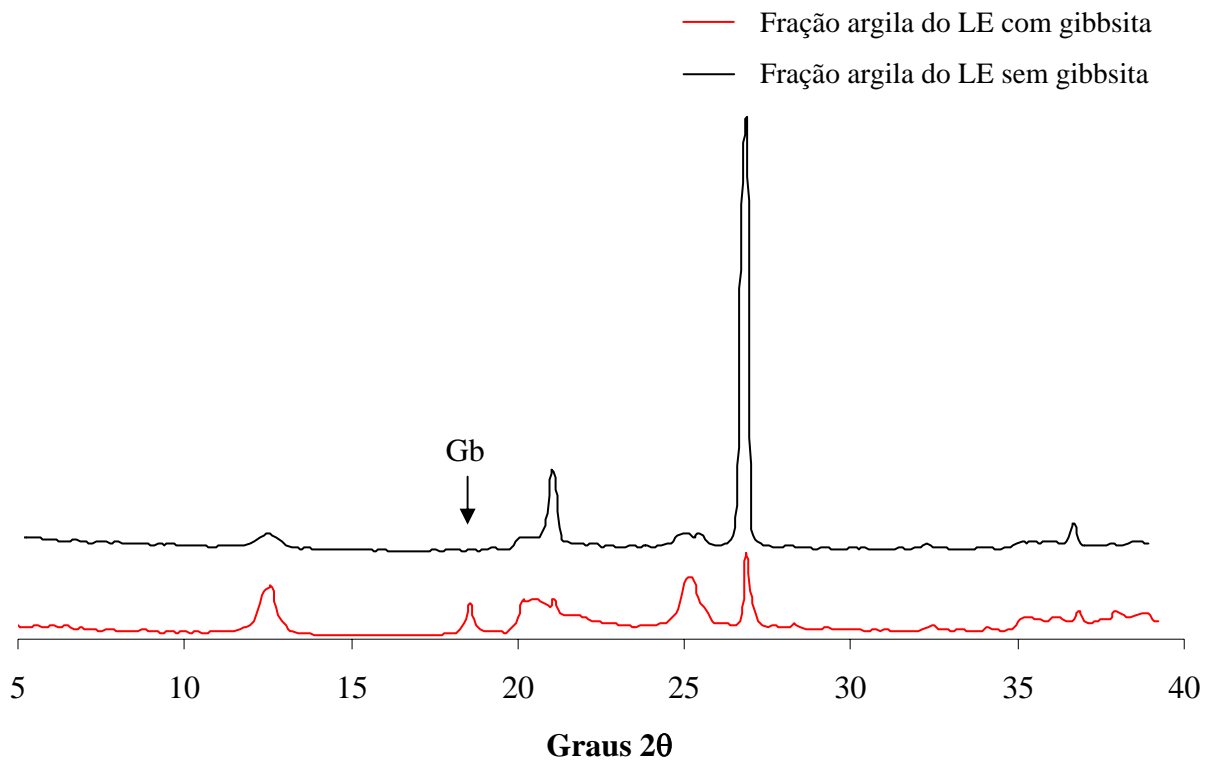


Figura 2.4 – Difratoogramas da fração argila do Latossolo Vermelho (LE) na presença e ausência de hidróxido de alumínio (gibbsita - Gb)

O LE e o RQ são solos intemperizados, com mineralogia dominada por minerais silicatados do tipo 1:1 e óxidos de ferro e alumínio. O termo óxidos, aqui utilizado, inclui óxidos, oxihidróxidos e hidróxidos.

Os difratogramas apresentados são da fração argila do LE e do RQ, pois os óxidos se encontram principalmente nesta fração (Tabela 2.5), como ocorre na maioria dos solos. Segundo Resende et al. (2005), os óxidos são minerais que por apresentarem baixa cristalinidade e estarem presentes em pequena quantidade nos solos, não são bem nítidos em difratogramas, mesmo nos da fração argila.

Foi possível notar, pela análise dos difratogramas, que a metodologia utilizada para a desferrificação foi eficiente para os dois solos, isso porque após o tratamento, os mesmos apresentaram somente a ausência dos óxidos de ferro livres, que são a hematita e goethita no LE e goethita no RQ. O tratamento para desferrificação também não afetou significativamente a cristalinidade dos demais minerais, o que pôde ser observado pela intensidade dos picos, sendo esse fato considerado de grande importância, pois os minerais remanescentes tiveram provavelmente, o mesmo comportamento na sorção do glifosato antes e após a desferrificação, não sendo uma fonte de variação no estudo. O mesmo foi observado para o tratamento térmico que objetivou a remoção da gibbsita no LE.

As Tabelas 2.6 e 2.7 apresentam os resultados obtidos nos ensaios de sorção e dessorção do herbicida glifosato nos solos LE e RQ respectivamente, e em seus diferentes componentes.

Tabela 2.6 – Parâmetros avaliados nos ensaios de sorção e dessorção do glifosato no Latossolo Vermelho total (LE); sem matéria orgânica (LESMO); sem matéria orgânica e óxidos de ferro (LESMO,O) e sem matéria orgânica, óxidos de ferro e gibbsita (LESMO,O,Gb)

Solo	S	K <sub>d</sub>	Equação de Freundlich			D
			K <sub>f</sub>	n	R <sup>2</sup>	
	%	L kg <sup>-1</sup>	mg <sup>1-1/n</sup> kg <sup>-1</sup> L <sup>1/n</sup>			%
LE	94,21	82,79	93,84 <i>a</i>	1,00	0,99	0,06 <i>c</i>
LESMO	93,27	69,66	74,70 <i>b</i>	1,03	0,99	1,30 <i>b</i>
LESMO,O	56,12	6,51	6,23 <i>c</i>	0,94	0,99	7,60 <i>a</i>
LESMO,O,Gb	52,80	5,61	5,32 <i>c</i>	0,92	0,99	1,17 <i>bc</i>

\* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%



Tabela 2.7 – Parâmetros avaliados nos ensaios de sorção e dessorção do glifosato no Neossolo Quartzarênico total (RQ); sem matéria orgânica (RQSMO); sem matéria orgânica e óxidos de ferro (RQSMO,O)

Solo	S	K <sub>d</sub>	Equação de Freundlich			D
			K <sub>f</sub>	n	R <sup>2</sup>	
	%	L kg <sup>-1</sup>	mg <sup>1-1/n</sup> kg <sup>-1</sup> L <sup>1/n</sup>			%
RQ	90,04	45,66	40,83 <i>a</i>	0,95	0,99	1,44 <i>b</i>
RQSMO	90,17	46,14	43,84 <i>a</i>	0,98	0,99	4,63 <i>a</i>
RQSMO,O	20,07	1,26	1,25 <i>b</i>	0,96	0,99	3,93 <i>a</i>

\* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%

Foram obtidas isotermas de sorção lineares tanto para o solo LE quanto para o RQ e em seus diferentes tratamentos, o que pode ser visto pelos valores do grau de linearidade (n), próximos a unidade. Este comportamento indica que nas condições estudadas, a sorção do glifosato aumentou linearmente com o aumento da concentração deste herbicida na solução e isso pode ser devido às baixas concentrações usadas no ensaio.

O solo LE total apresentou elevada sorção do glifosato (Tabela 2.6), provavelmente devido às suas características físicas (Tabela 2.1), químicas (Tabelas 2.2 e 2.3) e mineralógicas (Tabelas 2.4 e 2.5), que favoreceram a retenção desta molécula. O solo LE sem a presença da matéria orgânica também sorveu em grande extensão o glifosato, no entanto, foi estatisticamente menor que o solo total, o que evidencia a importância dos óxidos metálicos na sorção do glifosato.

O efeito da matéria orgânica na sorção do glifosato já foi estudada por outros autores. Prata et al. (2000) estudaram a influência da matéria orgânica na sorção do glifosato em um Nitossolo Vermelho eutroférico, um Latossolo Amarelo ácrico e em um Gleissolo e os autores observaram que o herbicida foi altamente sorvido aos solos, mesmo após a oxidação da matéria orgânica.

A molécula de glifosato, ao contrário da maioria dos pesticidas atualmente utilizados, tem característica polar, com alta solubilidade em água (12 g L<sup>-1</sup>), o que faz com que ela não tenha elevada afinidade pela matéria orgânica do solo e, portanto, não seja sorvida a ela por partição hidrofóbica. Por essa razão, Vereecken (2005) ressalta que o cálculo da adsorção do glifosato normalizado ao carbono orgânico do solo não é correto. Apesar da característica polar desse herbicida, ele se liga a matéria orgânica dos solos por ligação de hidrogênio, como ressaltado por Piccolo; Celano e Conte (1996). Segundo esses autores, as ligações de hidrogênio ocorrem entre os vários grupos ácidos e os contendo oxigênio, que existem tanto no glifosato quanto nas substâncias húmicas.

O glifosato também foi altamente sorvido ao solo RQ, como pode ser visto pelos valores acima de 90% de S (Tabela 2.7). Neste solo, através dos valores de  $K_f$ , foi verificado que a oxidação da matéria orgânica não reduziu estatisticamente a sorção do herbicida, como ocorreu no LE. Mas houve uma leve tendência de aumento da sorção do glifosato com a oxidação da fração orgânica do solo e isso pode ser devido ao bloqueio de sítios de sorção. Nos solos, é comum a interação da fração orgânica com os argilominerais e óxidos presentes, o que se dá através da associação dos grupos funcionais dessa fração com os da superfície mineral. Essa interação altera as cargas superficiais e resulta na diminuição das cargas positivas dos solos (MEURER, 2004).

Dessa forma, quando há formação de complexos da matéria orgânica com a fração mineral dos solos, pode haver redução da sorção do herbicida glifosato, pois este se liga principalmente às cargas positivas dos solos. Gerritse; Beltran e Hernandez (1996) verificaram que a sorção do glifosato e do seu metabólito ácido aminometilfosfônico (AMPA) em solos arenosos foi inversamente correlacionado com o conteúdo de carbono orgânico e a isso deveu-se a competição da matéria orgânica pelos sítios de retenção, inibindo a sorção das moléculas avaliadas.

O efeito diferenciado da matéria orgânica na sorção do glifosato nos solos LE e RQ, deve-se provavelmente às características dos próprios solos. O LE, ao contrário do RQ, é um solo argiloso, o qual possui maior quantidade de óxidos e silicatos em sua composição mineralógica, o que o faz possuir maior disponibilidade de sítios de retenção do herbicida, não sendo influenciados pela formação de complexos orgânico-minerais. Assim, neste solo, a matéria orgânica apresentou efeito mais pronunciado no favorecimento da retenção do glifosato, o que não ocorreu no RQ.

Segundo critério do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA, (1990) para a classificação dos solos quanto à capacidade de sorção, baseado no coeficiente de Freundlich ( $K_f$ ), o solo LE apresentou sorção classificada como grande e o solo RQ como média, tanto antes quanto após a oxidação da matéria orgânica.

Após a desferriificação, a sorção do glifosato foi reduzida significativamente nos dois solos avaliados, o que pode ser observado pelos valores dos parâmetros do estudo de sorção, que se encontram nas Tabelas 2.6 e 2.7.

No solo LE, após a remoção dos óxidos de ferro, a sorção do glifosato passou de grande a baixa e no RQ de média a baixa, conforme classificação do IBAMA (1990). O solo LE possui em

sua constituição mineralógica os óxidos de ferro, hematita e goethita, enquanto o RQ possui somente a goethita (Tabela 2.5). Dessa forma, fica claro que, tanto a hematita quanto a goethita são de fundamental importância na sorção do herbicida glifosato em solos tropicais.

O método do ditionito citrato bicarbonato (DCB) para a desferrificação dos solos é utilizado para a remoção dos óxidos de ferro livres que contém  $\text{Fe}^{3+}$  em sua constituição, como a hematita e a goethita (RESENDE et al., 2005). Os tratamentos que poderiam remover todas as outras espécies de óxidos de ferro presentes nos solos são mais agressivos e poderiam causar danos às estruturas dos minerais remanescentes, razão pela qual se optou por utilizar o DCB. Dessa forma, é de se esperar que, se todas as espécies de óxidos fossem removidas, a sorção do glifosato nos solos estudados seria ainda menor.

Há trabalhos na literatura em que os objetivos foram estudar a capacidade dos óxidos de ferro em adsorver o herbicida glifosato. McConnel e Hossner (1985) estudaram a sorção do glifosato em hematita e goethita sintéticas em diferentes valores de pH e observaram maior retenção do herbicida na goethita que na hematita e isso deveu-se a superfície mais reativa e a maior área superficial do primeiro óxido. Os autores ressaltam que a sorção do glifosato nesses minerais se deu por atração eletrostática através do grupo funcional negativo do herbicida com os sítios carregados positivamente da superfície mineral.

No caso de solos tropicais, predominantemente ácidos, os óxidos presentes possuem carga líquida positiva e isso pode ser um dos fatores pelos quais o glifosato é altamente sorvido nos mesmos. A importância da manifestação das cargas superficiais, tanto dos óxidos, quanto da própria molécula do herbicida é importante quando o mecanismo de ligação se dá por atração eletrostática. No entanto, outros mecanismos de ligação podem atuar na retenção do glifosato em óxidos e em outros minerais.

Segundo Cheah; Kirkwood e Lum (1997); Jonge et al. (2001) e Prata et al. (2000), em solos oxidados, a ligação covalente entre um oxigênio do grupo metilfosfônico do glifosato e o átomo metálico dos óxidos é sugerido como o mecanismo de sorção mais importante. Tribe et al. (2006) estudaram a natureza da ligação do glifosato na goethita em diferentes valores de pH e pelos resultados puderam verificar que o herbicida se adsorveu ao óxido como uma espécie monodentada através do grupo funcional fosfato, em todos os valores de pH. Sheals; Sjoberg e Persson (2002) também estudaram a sorção do glifosato na goethita e observaram formação de complexos monodentados entre o mineral e o herbicida, através do grupo fosfato e o grupo

carboxílico permaneceu livre, ficando sujeito a degradação e/ou a complexação com íons metálicos presentes no ambiente.

Outro mineral de grande importância e de ocorrência comum em solos tropicais é a gibbsita. Este é um hidróxido de alumínio presente em ambientes com teores muito baixos de silício na solução, sendo, portanto, restrita a solos ou materiais altamente intemperizados e dessilicatados (MEURER, 2004). Após sua remoção no LE, através da sua desidroxilação, não foi observada diferença significativa na sorção do glifosato (Tabela 2.6). Este resultado indica que os óxidos de ferro foram os maiores contribuintes na sorção do herbicida no solo LE. Apesar da reduzida contribuição da gibbsita na retenção do glifosato na condição estudada, Dubbin; Sposito e Zavarin (2000) relatam que a energia de ligação do glifosato neste mineral é elevada, a qual se dá por quimiossorção através do grupo fosfato do herbicida.

Assim como observado nos resultados obtidos, vários trabalhos realizados anteriormente sugerem que os óxidos presentes nos solos possuem relação direta com a sorção do glifosato (GERRITSE; BELTRAN; HERNANDEZ, 1996; MILES; MOYE, 1988; NOMURA; HILTON, 1977; PICCOLO; CELANO; CONTE, 1996). De forma geral, pelas próprias condições de formação, os solos tropicais possuem diversas espécies de óxidos em sua mineralogia, fato que aumenta a capacidade sorptiva do glifosato. Essa interação possui diferentes implicações ambientais, as quais podemos citar a baixa probabilidade de lixiviação do glifosato nestas condições, uma vez que a sorção reduz a quantidade do herbicida na solução, reduzindo a susceptibilidade de transporte para camadas subsuperficiais dos solos. No entanto, esse comportamento do glifosato favorece o seu arrastamento juntamente com as partículas dos solos para águas superficiais. Além desses aspectos, é importante ressaltar que o glifosato, na maioria das vezes, uma vez sorvido, permanece nos solos na forma de resíduo ligado, o que o torna altamente persistente no ambiente.

Após todos os tratamentos realizados nos solos, os mesmos ainda apresentaram uma sorção remanescente do glifosato. Possivelmente, essa sorção se deve aos minerais caulinita, vermiculita com hidróxi-Al entrecamadas (VHE) e pelas outras espécies de óxidos ainda presentes nos solos.

A caulinita é um mineral do tipo 1:1 muito comum em solos brasileiros e assim, presente nos dois solos estudados. A caulinita possui principalmente carga variável ou dependente de pH, o que contribui para a retenção de ânions em condições de pH ácido e de cátions em pH elevado (KÄMPF; CURI, 2003). O pH dos solos estudados é ácido (Tabela 2.1), o que faz com que esse

mineral tenha condições de reter o glifosato, que se apresenta predominantemente negativo, nesses valores de pH. A adsorção do glifosato na caulinita mostrou um máximo próximo ao pH 4,5, em trabalho realizado por McConnell e Hossner (1985). Segundo estes autores, o mecanismo de ligação entre a caulinita e o glifosato é por ligação eletrostática. Miles e Moye (1988) observaram forte e específica adsorção do glifosato na caulinita, resultado que foi confirmado por Gerritse; Beltran e Hernandez (1996).

A VHE é um mineral normalmente formado em ambientes ácidos pela intercalação de polímeros de alumínio no espaço entrecamadas das estruturas 2:1 da vermiculita e isso causa mudanças significativas nas propriedades desses minerais, sendo o de maior importância, para esse estudo, o aumento da carga variável e redução da carga permanente. Segundo Kämpf e Curi (2003) aos hidróxi-Al entrecamadas é atribuída a fixação de ânions. Dessa forma, apesar de não haver na literatura trabalhos relacionando esse mineral com a sorção do glifosato, é de se esperar que o mesmo esteja contribuindo com a sorção desse herbicida nos solos.

Como relatado anteriormente, os tratamentos realizados nas amostras dos solos não removeram todas as espécies de óxidos presentes nos solos. Dessa forma, os demais óxidos de ferro, de titânio, de manganês etc., remanescentes nos solos podem ter contribuído para a retenção do glifosato, assim como os óxidos amorfos, que pela sua estrutura, são importantes na retenção de moléculas orgânicas. Segundo Gimsing; Szilas e Borggaard (2007) a sorção do glifosato, assim como do fosfato em solos de carga variável é relacionada principalmente aos óxidos de ferro e alumínio amorfos e aos silicatos dos solos.

A sorção do glifosato no solo LE, após todos os tratamentos, foi maior do que no RQ e a isso se deve, provavelmente, a maior quantidade de sítios de retenção, em função da maior quantidade e diversidade de óxidos e de silicatos (Tabelas 2.4 e 2.5) presentes neste solo.

Podemos observar nas Tabelas 2.6 e 2.7 que a dessorção do glifosato foi baixa nos dois solos e nos seus tratamentos. No entanto, foi possível observar diferença estatística nos tratamentos de cada solo. Houve maior dessorção no solo LE sem matéria orgânica e óxidos, porém, a dessorção no LE sem matéria orgânica, óxidos de ferro e alumínio foi igual ao solo completo e ao solo sem matéria orgânica. No caso do solo RQ, observou-se maior dessorção no tratamento sem matéria orgânica e sem matéria orgânica e óxidos.

Apesar de ter ocorrido diferenças estatísticas nos tratamentos, na prática, a dessorção do glifosato foi muito baixa, variando de 0,06 a 7,60%. Esses resultados vêm a confirmar a alta

energia de ligação do glifosato com todos os constituintes dos solos, visto que, mesmo após o uso de uma solução aquosa salina ( $\text{CaCl}_2$   $0,01\text{mol L}^{-1}$ ), considerado o melhor extrator, por ser o glifosato insolúvel em solventes orgânicos e após a remoção da matéria orgânica e óxidos de ferro e alumínio, o herbicida não se desorveu a uma proporção considerável para a solução do solo. Nas condições estudadas, a maior parte do glifosato aplicado permaneceu nos solos como resíduo ligado, não passível de ser extraído com a solução salina utilizada. Dessa forma, podemos considerar que os óxidos hematita e goethita são os principais responsáveis pela sorção do glifosato nos dois solos estudados, porém não são os únicos a reter o herbicida com alta energia.

Na literatura é amplamente relatado a baixa desorção do glifosato das partículas dos solos. Prata et al. (2000) não observaram liberação da molécula após o ensaio de desorção em um Nitossolo Vermelho, Latossolo Amarelo e em um Gleissolo antes e após a oxidação da matéria orgânica. Sorensen et al. (2006) verificaram baixa desorção do glifosato em amostras superficiais e subsuperficiais de dois solos dinamarqueses, sendo um arenoso e um orgânico.

### **2.3 Conclusões**

O glifosato foi altamente sorvido ao Latossolo Vermelho (LE) e ao Neossolo Quartzarênico (RQ).

Houve redução da sorção do glifosato na ausência da matéria orgânica no LE, no entanto, este efeito não foi observado no RQ. Neste solo, na ausência da matéria orgânica, houve tendência de aumento da sorção.

Os óxidos de ferro presentes tanto no RQ quanto no LE foram a fração mais importante na retenção do glifosato. A gibbsita não influenciou significativamente a sorção do glifosato no solo LE.

O glifosato foi pouco desorvido em todas as condições estudadas, permanecendo-o principalmente na forma de resíduo ligado.

## Referências

- AMARANTE JÚNIOR, O. P.; SANTOS, T. C. R.; BRITO, N. M.; RIBEIRO, M. L. Glifosato: Propriedades, toxicidade, uso e legislação. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 4, p. 589-593, 2002.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS DEFENSIVOS GENÉRICOS. Disponível em: <<http://www.aenda.org.br/aneuws064.htm>>. Acesso em: 20 abr. 2007.
- CAMARGO, O. A.; MONIZ, A. C.; JORGE, J. A.; VALADARES, J. M. **Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do Instituto Agrônomo de Campinas**. Campinas: IAC, 1986. 94 p. (IAC Boletim Técnico, 106).
- CHEAH, U. B.; KIRKWOOD, R. C.; LUM, K. Y. Adsorption, desorption and mobility of four commonly used pesticides in Malaysian agricultural soils. **Pesticide Science**, London, v.50, p.53-63, 1997.
- COLE, D. J. Mode of action of glyphosate – a literature analysis. In: GROSSBARD, E.; ATKINSON, D. **The Herbicide Glyphosate**. Butterworths, 1984. chap. 5, p. 48-74.
- COMPÊNDIO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS. Guia Prático de produtos fitossanitários para uso agrícola, 7 ed. São Paulo: Organização Andrei, São Paulo. 2005. 1141 p.
- DUBBIN, W. E.; SPOSITO, G.; ZAVARIN, M. X-ray absorption spectroscopic study of Cu-glyphosate adsorbed by microcrystalline gibbsite. **Soil Science**, Baltimore, v. 165, n. 9, p. 699–707, 2000.
- EMBRAPA. **Manual de métodos de análises de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CNPS, 1997. 212 p.
- GERRITSE, R. G.; BELTRAN, J.; HERNANDEZ, F. Adsorption of atrazine, simazine and glyphosate in soils of the Gngangara Mound. **Australian Journal of Soil Research**, Collingwood, v. 34, p. 599-607, 1996.
- GIMSING, A. L.; BORGGAARD, O. K.; BANG, M. Influence of soil composition on adsorption of glyphosate and phosphate by contrasting Danish soils. **European Journal Soil Science**, Oxford, v. 55, p. 183–199, 2004.
- GIMSING, A. L.; SZILAS, C.; BORGGAARD, O. K. Sorption of glyphosate and phosphate by variable-charge tropical soils from Tanzania. **Geoderma**, Amsterdam, v. 138, p. 127-132, 2007.
- GLASS, R. L. Adsorption of glyphosate by soils and clay minerals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 35, p. 497-500, 1987.
- HENSLEY, D. L.; BEUERMAN, E. S. N.; CARPENTER, P. L. The inactivation of glyphosate by various soils and metal salts. **Weed Research**, Oxford, v. 18, n. 5, p. 287-291, 1978.

INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE. **Manual de testes para a avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos**. 2.ed. Brasília, 1990. 351 p.

JACKSON, L.M. **Soil chemical analysis: advanced course**. Madison: American Society of Agronomy, 1969. 894 p.

JONGE, H. de; JONGE, L. W. de; JACOBSEN, O. H.; YAMAGUSHI, T.; MOLDRUP, P. Glyphosate sorption in soils of different pH and phosphorus content. **Soil Science**, Baltimore, v. 166, p. 230–238, 2001.

KÄMPF, N.; CURI, N. Argilominerais em solos brasileiros. In: CURI, N. et al. (Ed.). **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2003. p. 1-54.

McCONNEL, J. S.; HOSSNER, L. R. pH-Dependent adsorption isotherms of glyphosate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 33, p. 1075-1078, 1985.

MEKARU, T.; UEHARA, G. Anion adsorption in ferruginous tropical soils. **Soil Science of America Proceedings**, Madison, v. 36, n. 2, p. 296 -300, 1972.

MEURER, E. J. **Fundamentos de química do solo**. 2.ed. Porto Alegre: Genesis, 2004. 290 p.

MILES, C. J.; MOYE, H. A. Extraction of glyphosate herbicide from soil and clay minerals and determination of residues in soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 36, p. 486-491, 1988.

NOMURA, N. S.; HILTON, H. W. The adsorption and degradation of glyphosate in five Hawaiian sugarcane soils. **Weed Research**, Oxford, v. 17, p. 113-121, 1977.

PICCOLO, A.; CELANO, G.; CONTE, P. Adsorption glyphosate by humic substances. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 44, p. 2442-2446, 1996.

PRATA, F.; LAVORENTI, A.; REGITANO, J. B.; TORNISIELO, V. L. Influência da matéria orgânica na sorção e dessorção do glifosato em solos com diferentes atributos mineralógicos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, p. 947-951, 2000.

RESENDE, M.; CURI, N.; KER, J. C.; DE REZENDE, S. B. **Mineralogia de solos brasileiros: interpretação e aplicações**. Lavras: UFLA, 2005. 192 p.

SHEALS, J.; SJOBERG, S.; PERSSON, P. Adsorption of glyphosate on goethite: Molecular characterization of surface complexes. **Environmental Science Technology**, Washington, v. 36, p. 3090-3095, 2002.

SORENSEN, S. R.; SCHULTZ, A.; JACOBSEN, O. S.; AAMAND, J. Sorption, desorption and mineralisation of the herbicides glyphosate and MCPA in samples from two Danish soil and subsurface profiles. **Environmental Pollution**, Barking, v. 141, p. 184–194, 2006.



SPRANKLE, P.; MEGGIT, W. F.; PENNER, D. Adsorption, mobility and microbial degradation of glyphosate in the soil. **Weed Science**, Oxford, v. 23, p. 229-234, 1975.

TONI, L. R. M.; SANTANA, H. de; ZAIA, D. A. M. Adsorção de glifosato sobre solos e minerais. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 829-833, 2006.

TRIBE, L.; KWON, K. D.; TROUT, C. C.; KUBICKI, J. D. Molecular orbital theory study on surface complex structures of glyphosate on goethite: calculation of vibrational frequencies. **Environmental Science Technology**, Washington, v. 40, p. 3836–3841, 2006.

VERECKEN, H. Mobility and leaching of glyphosate: a review. **Pesticide Management Science**, Hoboken, v. 61, p. 1139–1151, 2005.

WILSON, M.J. **Clay mineralogy**: spectroscopic and chemical determinative methods. London: Chapman e Hall, 1994. 367 p.

### 3 INFLUÊNCIA DA CALAGEM NA RETENÇÃO, ATIVIDADE MICROBIANA E NA MINERALIZAÇÃO DE $^{14}\text{C}$ -GLIFOSATO EM DIFERENTES CLASSES DE SOLOS

#### Influência da calagem na retenção, atividade microbiana e na mineralização de $^{14}\text{C}$ -glifosato em diferentes classes de solos

##### Resumo

A calagem é uma prática de manejo da fertilidade essencial ao cultivo de solos tropicais, utilizada para a correção da acidez dos solos e para o fornecimento de nutrientes. Por influenciar alguns atributos físico-químico dos solos, essa prática também pode influenciar o comportamento de pesticidas em solos. O presente trabalho teve por objetivo verificar o efeito da calagem na retenção e na mineralização do glifosato em amostras de um Latossolo Vermelho (LE) e de um Neossolo Quartzarênico (RQ). Também foram avaliados os efeitos da calagem e do glifosato na atividade microbiana dos mesmos solos. Para a condução dos experimentos foram utilizadas técnicas radiométricas, com o glifosato radiomarcado no carbono fosfometil. O estudo de retenção foi realizado seguindo o método “batch” nas seguintes concentrações do glifosato: 0,24; 0,48; 0,96; 1,92 e 3,84 mg i.a L<sup>-1</sup>. Após a sorção, foi realizado o ensaio de dessorção na concentração de 0,48 mg i.a L<sup>-1</sup>. A mineralização foi avaliada semanalmente, durante 70 dias, pelo método da radiorespirometria. Foi utilizado o método de  $^{14}\text{C}$ -glicose para avaliação da atividade microbiana, por período de 70 dias. Todos os ensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, sendo os dois primeiros em esquema fatorial 2 x 2, correspondente a duas classes de solos (LE e RQ) e duas condições de manejo de solo (com e sem calagem). A avaliação da atividade microbiana foi conduzida em esquema fatorial 2 x 2 x 2, correspondente a duas classes de solos (LE e RQ), duas condições de manejo (com e sem calagem) e a presença ou não do glifosato. Verificou-se que a calagem não apresentou efeito significativo na sorção e na dessorção do glifosato nos dois solos estudados. No entanto, os dois solos reteram o glifosato diferentemente, independentemente da calagem, sendo o LE o solo que apresentou a maior capacidade sorptiva do herbicida. A calagem aumentou significativamente a degradação do glifosato no LE e no RQ, reduzindo sua meia-vida de mineralização, apesar desta ter sido elevada em todos os tratamentos. Após o experimento de mineralização, foi possível observar que grande parte do glifosato aplicado permaneceu nos solos na forma de resíduo ligado. Com relação a atividade microbiana dos solos, foi observado efeito tanto do glifosato quanto da calagem. Na ausência do herbicida, a calagem aumentou a atividade microbiana dos dois solos, no entanto, na presença deste, esse efeito somente foi notado no LE. O glifosato apresentou efeito deletério na respiração microbiana dos dois solos quando estes foram tratados com calagem. Diante desses resultados é importante destacar que o comportamento do glifosato em solos deve ser melhor investigado, visto que práticas simples como a calagem, foi capaz de influenciar a sua dinâmica em solos.

Palavras-chave: Radiorespirometria; Práticas agrícolas; Dinâmica ambiental

## Liming influence on the microbial activity and on retention and mineralization of $^{14}\text{C}$ -glyphosate in two tropical soils

### Abstract

Liming is an essential management practice to the cultivation of tropical soils due to not only improve the soil pH but also to provide plant nutrients such as Ca and Mg. This practice may also control the behaviour and the fate of pesticides in the soil. The aim of this research was to assess the liming effect on both retention and mineralization of  $^{14}\text{C}$ -glyphosate in a Red Latosol (LE) and a Quartzarenic Neosol (RQ). It was also evaluated the liming and glyphosate effects on the microbial activity of the same soils. Radiometric techniques were used with glyphosate radiolabelled at carbon phosphonomethyl group. The retention experiment was carried out by using the batch method with the following glyphosate concentrations: 0.24; 0.48; 0.96; 1.92 and 3.84 mg a.i.L<sup>-1</sup>. Desorption trial at 0.48 mg a.i. L<sup>-1</sup> concentration was carried out after the sorption. The mineralization was weekly evaluated during 70 days by respirator method. For the microbial activity evaluation it was used the  $^{14}\text{C}$ -glycose method during 70 days. All experiments were performed at a randomized design, being the two first in a 2 x 2 factorial scheme, corresponding to two soil classes (LE and RQ) and two soil management (liming and no-liming). The experiment for the evaluation of the microbial activity was carried out at a randomized design adopting a 2 x 2 x 2 factorial scheme, corresponding to two soil classes (LE and RQ), two soil management practices (liming and no-liming) and presence or absence of glyphosate. It was observed that liming did not have any significant effect on both the sorption and desorption of glyphosate in the studied soils. Both soils sorbed glyphosate in different manner and independently from liming practice being the LE soil the one that presented highest glyphosate sorption. Liming statistically increased the glyphosate degradation on both soils and decreased the half-life of its mineralization, which was high in all treatments. After the mineralization experiment it was possible to observe that the major part of glyphosate remained in the soils mainly as bound residues. It was observed certain effect of the glyphosate and liming practice in the microbial activity. Without herbicide the microbial activity was increased with liming for both soils and when the glyphosate was present the effect of the liming was only observed in the LE soil. Deleterious effects were observed in the microbial respiration for both soils in the presence of glyphosate together with liming. From these results it is important to point out that the behaviour of glyphosate should be better researched because a simple practice as liming was able to influence the dynamics of this herbicide.

Keywords: Radiorespirometry; Agricultural practices; Environmental dynamic

### 3.1 Introdução

A calagem é considerada uma prática do manejo da fertilidade essencial para solos tropicais. Ela é importante não somente para corrigir a acidez dos solos, mas também para corrigir os teores de cálcio e/ou magnésio. O uso de calcário como corretivo do solo e fonte de nutrientes é considerado de grande importância para a agricultura brasileira.

A prática da calagem promove uma série de mudanças nos atributos físicos, químicos e biológicos dos solos, uma vez que ela afeta o pH do solo, a dispersão de partículas, altera o balanço de cargas, fornece nutrientes ao solo e pode causar a dissolução da matéria orgânica. Dessa forma, pode-se esperar que tal prática, ao alterar os atributos dos solos, afete também o comportamento de pesticidas.

Quando uma molécula de pesticida alcança o solo, ela pode ser retida nas suas partículas. O processo de retenção retarda ou em alguns casos, impede o movimento das moléculas no perfil. A retenção pode ser reversível ou parcialmente reversível, podendo afetar os processos de transporte e transformação. O tempo de permanência no solo é determinante na eficiência agrônoma dos pesticidas e no risco de contaminação que estes possam representar.

A calagem por alterar o pH dos solos, pode influenciar diretamente os fenômenos de retenção dos pesticidas, uma vez que a sorção de várias moléculas orgânicas é diretamente relacionada com o pH do meio. Um exemplo é o herbicida glifosato, o qual vários autores observaram que sua sorção em solos e minerais é dependente do pH (McCONNEL; HOSSNER, 1985; MILES; MOYE, 1988). Isso ocorre porque o glifosato possui constantes de dissociação com valores diferentes em função do pH do solo. Não somente as cargas do herbicida são dependentes do pH, mas também as cargas superficiais dos constituintes da fase sólida dos solos.

Os solos possuem cargas permanente e variáveis ou dependentes de pH, sendo a segunda de maior importância nos solos tropicais, que são altamente intemperizados. Assim, a carga líquida superficial de cada mineral é diretamente dependente do seu ponto isoelétrico, o qual é definido como sendo o valor de pH no qual a carga líquida no plano que separa a dupla camada difusa e a camada de Stern é zero (UEHARA; GILLMAN, 1980). Os óxidos de forma geral, possuem ponto isoelétrico acima de 6,5 e a caulinita de 4,6, segundo Sparks (1995). A fração orgânica dos solos possui somente cargas dependentes de pH e é a principal responsável pela predominância de cargas negativas nos solos tropicais, pois segundo Meurer (2004), ela dissocia

seus íons mais facilmente que os minerais, criando cargas negativas em pH relativamente baixo, próximo a 3,5.

Jonge e Jonge (1999) quantificaram a sorção do glifosato em um solo arenoso em diferentes valores de pH e verificaram relação inversa entre a sorção e o pH, e isso, segundo os autores, foi devido a carga líquida do glifosato e a matéria orgânica dissolvida em condições de alto pH.

Jòzefaciuk et al. (1996) relatam que após a aplicação de calcário, com a elevação do pH, o processo primário que ocorre na matéria orgânica é a liberação do carbono orgânico para a solução do solo, uma vez que o pH constitui o principal fator que governa sua dissolução. Segundo os mesmos autores, o aumento da quantidade de carbono orgânico dissolvido, contribui para alterar os parâmetros de adsorção na superfície das partículas, devido a redução na área superficial e perda de sítios com alta energia de adsorção, devido a sucessiva lixiviação da matéria orgânica de natureza húmica.

A influência da calagem na retenção de outros pesticidas em solos, também foi estudada. Em trabalho realizado por Nóbrega et al. (2005), a calagem propiciou menor retenção do fungicida triadimenol em um Latossolo Vermelho e em um Latossolo Vermelho-Amarelo. Esse efeito foi devido, segundo os autores, a alteração na composição química do solo, pH e ao aumento da matéria orgânica dissolvida, uma vez que a interação do produto à fase sólida ocorre predominantemente por partição hidrofóbica na matéria orgânica do solo.

Outras alterações nos atributos dos solos também ocorrem pela aplicação de calcário. Jonge et al. (2001) observaram que além da elevação do pH, a calagem aumentou a concentração dos óxidos de ferro e alumínio amorfos, além da redução na concentração do fósforo lábil, em dois solos dinamarqueses. Segundo os autores, essas alterações aumentaram a retenção do glifosato nos solos.

A degradação do glifosato está diretamente relacionada a atividade microbiana dos solos, conforme destacado por Araújo; Monteiro e Abakerli (2003) e Prata et al. (2005). Isso porque os microrganismos dos solos são capazes de utilizar o herbicida como uma fonte prontamente disponível de carbono (ANDRÉA et al., 2003; ARAÚJO et al., 2003; TUFFI-SANTOS et al., 2005), nitrogênio (HANEY et al., 2000) e de fósforo (HEINONEN-TANSKI et al., 1985).

A atividade da microbiota do solo é afetada por vários fatores, entre eles o pH, o teor de matéria orgânica e nutrientes, a umidade do solo etc (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002). Assim,

pode-se esperar que a calagem afete a atividade microbiana dos solos, uma vez que ela melhora a fertilidade e aumenta o pH dos mesmos e assim possa alterar a degradação de pesticidas.

Vários estudos de degradação do glifosato são relatados na literatura, com valores de meia-vida variando de dias (ANDRÉA et al., 2003; ARAÚJO; MONTEIRO; ABAKERLI, 2003; PRATA et al., 2005) a anos (NOMURA; HILTON, 1977), dependendo do tipo de solo e dos microrganismos presentes.

Uma das preocupações com relação ao uso intensivo do glifosato é que este quando alcança o solo, pode ter efeitos sobre os microrganismos aí presentes. Segundo Borges et al. (2004), os microrganismos respondem de diversas maneiras a aplicação de um pesticida em seu habitat, podendo ocorrer seleção de populações resistentes. O glifosato tem apresentado diferentes efeitos nos microrganismos dos solos. Haney et al. (2000) avaliaram o efeito do glifosato na comunidade microbiana e observaram que a atividade desta foi estimulada na presença desse herbicida. Também Araújo; Monteiro e Abakerli (2003) concluíram que o glifosato tem um efeito positivo na atividade microbiana a curto e a longo prazo. Bellaloui et al. (2006), observaram uma redução na capacidade de fixação de nitrogênio sob efeito do glifosato na soja, com maior sensibilidade durante o desenvolvimento vegetativo.

Por ser a calagem uma prática comum na agricultura brasileira, é de fundamental importância o estudo do seu efeito sob o comportamento do glifosato nos solos, uma vez que são poucas as informações sobre a dinâmica desse herbicida em solos tropicais, principalmente frente a diferentes fatores de produção.

As hipóteses propostas para este trabalho são de que: i) a calagem, por elevar o pH dos solos, reduza a sorção do glifosato; ii) espera-se que a calagem favoreça a atividade microbiana e assim aumente a mineralização do glifosato nos dois solos e iii) frente aos resultados da literatura, espera-se que o glifosato não apresente efeito prejudicial aos microrganismos dos solos, independentemente da calagem.

Diante do exposto, os objetivos do presente trabalho foram estudar o efeito da calagem na retenção e mineralização do herbicida glifosato em um Latossolo Vermelho e em um Neossolo Quartzarênico. O ensaio de degradação também teve como objetivo a formação de resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato, para a realização do ensaio de remobilização. Além disso, foi avaliado o efeito da calagem e do glifosato na atividade microbiana dos mesmos solos.

## 3.2 Desenvolvimento

### 3.2.1 Material e Métodos

#### 3.2.1.1 Coleta e caracterização das amostras de solos

Para a realização do estudo, foram coletadas amostras superficiais (0 – 20 cm) de um Latossolo Vermelho (LE) e de um Neossolo Quartzarênico (RQ), localizados no município de Piracicaba/SP.

Foram realizadas análises físicas, químicas e mineralógicas para a caracterização dos solos. O atributo físico avaliado foi a granulometria, que foi realizada pelo método do densímetro, conforme Camargo et al. (1986). A areia total foi fracionada em conjunto de peneiras, obtendo-se a areia muito grossa, grossa, média, fina e muito fina (Tabela 2.1)

Os atributos químicos analisados foram os íons do complexo sortivo, sendo o fósforo (P), cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) e magnésio ( $\text{Mg}^{2+}$ ) determinados pela extração com resina trocadora de íons e o potássio ( $\text{K}^+$ ) pela extração com Melich1. Para a avaliação do alumínio ( $\text{Al}^{3+}$ ) foi utilizada extração com  $\text{KCl } 1 \text{ mol L}^{-1}$  (EMBRAPA, 1997). O enxofre (S) e o nitrogênio (N) foram determinados pelo analisador elementar da marca Thermo. Também foram obtidos os valores de pH em água e em cloreto de potássio dos solos, os quais foram utilizados para calcular os valores de  $\Delta\text{pH}$  (MEKARU; UEHARA, 1972) (Tabela 2.2).

Para a caracterização química, também foi avaliado o teor de matéria orgânica presente nos solos, a qual foi determinada utilizando o método de Walkley-Black e expressa na forma de carbono orgânico (CO) (EMBRAPA, 1997). À partir dos teores dos cátions do complexo sortivo, foram calculados a soma de bases (S), o índice de saturação de bases (V), a capacidade de troca de cátions efetiva (t) e potencial (T), a acidez trocável ( $\text{H} + \text{Al}$ ) e o índice de saturação por alumínio (m). Os resultados estão apresentados na Tabela 2.3.

Os ataques sulfúrico e alcalino foram realizados segundo EMBRAPA (1997) e com o objetivo de determinar os teores dos óxidos de ferro, alumínio, titânio, manganês e de silício. E a partir dos resultados foram calculados os índices de intemperismo  $K_i$  e  $K_r$  (Tabela 2.4).

A determinação dos minerais presentes nos solos foi feita utilizando a difratometria de raios-X (DRX). Foram realizados pré-tratamentos nas amostras, os quais estão descritos em

Jackson (1969) e Camargo et al. (1986). Pela análise térmica diferencial (ATD) foram quantificados os minerais caulinita e gibbsita (Tabela 2.5).

### **3.2.1.2 Incubação dos solos com calcário**

Após a coleta das amostras de solos, subamostras foram passadas em peneira com malha de 2 mm e armazenadas em geladeira a temperatura de aproximadamente 4°C, com umidade natural.

Posteriormente, parte das amostras armazenadas em geladeira por um período de 40 dias, foram incubadas com calcário dolomítico, o qual possuía um poder relativo de neutralização total (PRNT) de 91,82%. A dose de calcário aplicada nos solos foi determinada pela curva de incubação para estimativa da quantidade necessária para se elevar o pH dos solos a aproximadamente 6,0. As amostras foram incubadas com calcário por período suficiente para o pH ficar constante, o que aconteceu com aproximadamente trinta dias de incubação, em sala climatizada ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ), com umidade mantida em torno de 60% da capacidade de campo.

A capacidade de campo dos solos foi determinada pelo método do torrão separado pela frente de molhamento, conforme metodologia proposta por Costa (1983). Os valores encontrados foram de 36,6% para o LE e de 26,52% para o RQ.

Após a incubação com calcário, se realizou análise química dos solos, para avaliar as mudanças nos atributos dos solos. Para isso, foram determinados os valores de pH em água e em KCl, os quais foram utilizados para calcular os valores de  $\Delta\text{pH}$  (MEKARU; UEHARA, 1972). Foram determinados os íons do complexo sortivo ( $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e P), segundo EMBRAPA (1997) e os teores de S e N pelo analisador elementar da marca Thermo (Tabela 3.1). De posse desses resultados foram calculados a soma de bases (S), o índice de saturação de bases (V), a capacidade de troca de cátions efetiva (t) e potencial (T), a acidez trocável (H + Al) e o índice de saturação por alumínio (m) (Tabela 3.2).



Tabela 3.1 - Caracterização química do Latossolo Vermelho (LE) e do Neossolo Quartzarênico (RQ), após calagem

Solo	pH <sub>H2O</sub>	pH <sub>KCl</sub>	ΔpH	Al <sup>3+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	P	S	N
				-----mmolc dm <sup>-3</sup> -----			mg dm <sup>-3</sup>	---%---		
LE	5,87	5,13	-0,74	1,27	2,22	45,00	43,00	5,60	0,01	0,22
RQ	5,71	5,20	-0,51	1,17	0,81	15,00	13,00	5,25	0,01	0,06

Tabela 3.2 - Caracterização química do Latossolo Vermelho (LE) e do Neossolo Quartzarênico (RQ), após calagem

Solo	S <sup>(1)</sup>	t <sup>(2)</sup>	T <sup>(3)</sup>	H+Al	V <sup>(4)</sup>	m <sup>(5)</sup>
				-----mmolc dm <sup>-3</sup> -----		-----%-----
LE	90,22	91,49	141,89	51,67	63,58	1,39
RQ	28,81	29,98	56,21	27,40	51,25	3,90

<sup>(1)</sup>S = soma de bases trocáveis; <sup>(2)</sup>t = CTC efetiva; <sup>(3)</sup>T = CTC a pH 7,0; <sup>(4)</sup>V = índice de saturação de bases; <sup>(5)</sup>m = índice de saturação de alumínio

### 3.2.1.3 Ensaios de sorção e dessorção

O estudo de sorção foi realizado seguindo o método “batch” (em batelada). Para isso, foram utilizadas amostras do Latossolo Vermelho (LE) e do Neossolo Quartzarênico (RQ), incubadas ou não com calcário.

Em tubos de centrífuga de vidro, com capacidade de 35 mL, foram adicionados 1 g de solo (base seca) (em triplicata) e 5 mL de solução de glifosato (produto técnico + radioativo), contendo as diferentes concentrações do herbicida (0,24; 0,48; 0,96; 1,92 e 3,84 mg i.a L<sup>-1</sup>). A concentração que correspondeu a dose recomendada no campo foi de 0,48 mg i.a L<sup>-1</sup>, considerando nos cálculos uma dose máxima de 2,88 kg i.a. ha<sup>-1</sup> (COMPÊNDIO, 2005), densidade do solo de 1,2 g cm<sup>-3</sup>, profundidade de solo de 10 cm e relação solo: solução de 1:5. Nas diferentes soluções, a concentração radioativa do glifosato <sup>14</sup>C-fosfonometil foi de 0,33 kBq mL<sup>-1</sup>.

Os frascos contendo o solo mais a solução foram agitados horizontalmente por um período de 6 horas a 180 rpm, em sala climatizada (escura e temperatura a 25 ± 2°C). Em seguida, os mesmos foram centrifugados a 3000 rpm por 10 minutos e duas alíquotas de 1 mL foram retiradas e colocadas cada uma em frasco de cintilação contendo 10 mL de solução cintiladora instagel e levadas para detecção da radioatividade da solução de equilíbrio em Espectrômetro de Cintilação Líquida (ECL).

A sorção do glifosato pelos solos foi quantificada pela eq. (1):

$$S = (C_i - C_e) \times \frac{v}{m} \quad (1)$$

Em que:

$S$  – Quantidade de glifosato sorvido ( $\text{mg kg}^{-1}$ );

$C_i$  – Concentração inicial do glifosato ( $\text{mg L}^{-1}$ );

$C_e$  – Concentração do glifosato no equilíbrio ( $\text{mg L}^{-1}$ );

$v$  – Volume da solução de glifosato (L);

$m$  – massa de solo (kg).

Os resultados da sorção do glifosato foram ajustados à equação linearizada de Freundlich, conforme eq. (2).

$$\log S = \log K_f + n \cdot \log C_e \quad (2)$$

Em que:

$S$  – Quantidade de glifosato sorvido por massa de solo ( $\text{mg kg}^{-1}$ );

$K_f$  – Constante de Freundlich (quando  $n$  difere da unidade, a unidade de  $K_f$  é  $\text{mg}^{1-1/n} \text{kg}^{-1} \text{L}^{1/n}$ );

$C_e$  – Concentração do glifosato na solução em equilíbrio com o solo ( $\text{mg L}^{-1}$ );

$n$  – Grau de linearidade da isoterma de sorção.

Foram calculados também o coeficiente de partição ( $K_d$ ) (eq. (3)):

$$K_d = \frac{S}{C_e} \quad (3)$$

Sequencialmente à sorção, os sobrenadantes dos tubos que continham a concentração de  $0,48 \text{ mg i.a L}^{-1}$  de glifosato, foi descartado e alíquotas de  $5 \text{ mL}$  de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ( $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ ) foram adicionadas. Os mesmos foram colocados para agitar em sala climatizada por 12 horas,

após, foram centrifugados a 3000 rpm por 10 minutos e a radioatividade foi detectada por ECL em alíquotas de 1 mL. Este procedimento foi repetido por mais três vezes.

A dessorção foi quantificada pela eq. (4):

$$D = \frac{(C_e^d \cdot V^d - C_e^a \cdot V_R)}{M} \quad (4)$$

Em que:

$D$  – quantidade de herbicida dessorvido ( $\text{mg kg}^{-1}$ );

$V^d$  – volume de solução aquosa de  $\text{CaCl}_2$  adicionado (L);

$C_e^d$  – concentração do herbicida na solução em equilíbrio com o solo após o processo de dessorção ( $\text{mg L}^{-1}$ );

$C_e^a$  – concentração do herbicida na solução em equilíbrio com o solo obtida no processo de sorção ( $\text{mg L}^{-1}$ );

$V_R$  – volume remanescente do processo anterior (L);

$M$  – massa de solo (kg).

### 3.2.1.4 Atividade microbiana

Paralelamente ao ensaio de biodegradação do glifosato, foi conduzido o ensaio de atividade microbiana, determinado pelo método da radiorespirometria, com o uso de  $^{14}\text{C}$ -glicose. As avaliações da atividade microbiana foram feitas nos dias 0, 14, 28, 42, 56 e 70 dias. Os tratamentos utilizados estão descritos na Tabela 3.3 abaixo:

Para a realização desse estudo, os solos foram incubados em sala climatizada ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e em cada período de avaliação, subamostras foram retiradas para o ensaio de atividade microbiana.

Para a incubação, se utilizou 50 g de solo, referente a cada tratamento, em triplicata, e estes foram mantidos em sala climatizada a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  em frascos de Bartha, com umidade do solo mantida a 60% da capacidade de campo. Os tratamentos com herbicida receberam 400  $\mu\text{L}$  de uma solução de glifosato preparada em  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ( $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ ), utilizando apenas o produto técnico. A concentração do glifosato foi de  $2,4 \mu\text{g g}^{-1}$  de solo, calculado em relação a 2,88 kg ia

ha<sup>-1</sup> (que é a dose máxima recomendada no campo, conforme COMPÊNDIO (2005)), densidade do solo de 1,2 g cm<sup>-3</sup> e profundidade de 10 cm.

Tabela 3.3 - Tratamentos utilizados no ensaio de atividade microbiana

Solo	Calagem	Glifosato	Tratamento
LE	Com	Com	LECC CH
		Sem	LECC SH
	Sem	Com	LESC CH
		Sem	LESC SH
RQ	Com	Com	RQCC CH
		Sem	RQCC SH
	Sem	Com	RQSC CH
		Sem	RQSC SH

Para a realização do ensaio de atividade microbiana, se utilizou frasco respirométrico, que consiste em um Erlenmeyer com capacidade de 50 mL e acoplado a tampa, um frasco de vidro (Figura 3.1).

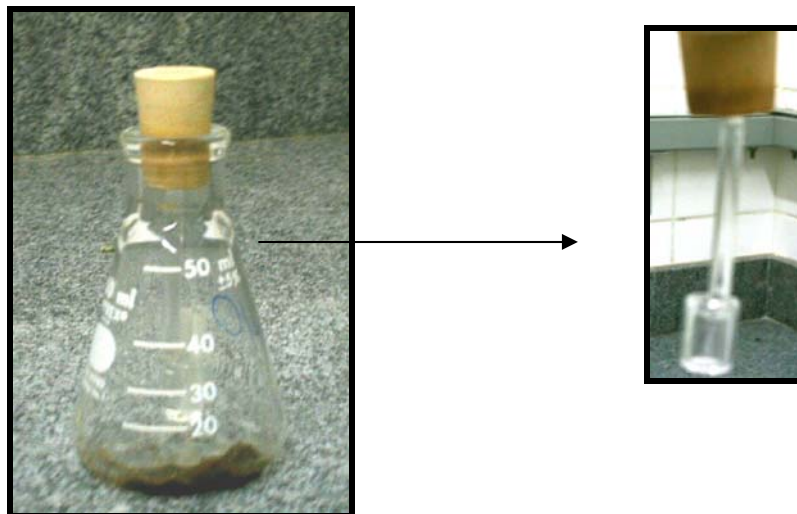


Figura 3.1 – Frasco respirométrico utilizado no ensaio de atividade microbiana

Foram pesados 1 g de solo (base úmida) provenientes dos frascos de Bartha e acondicionados dentro de cada Erlenmeyer, após foram colocados 0,3 mL de glicose

radiomarcada na concentração de  $2 \mu\text{mol mL}^{-1}$  sobre o solo e 0,25 mL de monoetanolamina no frasco acoplado a tampa, juntamente com uma tira de papel filtro, em três repetições. Os frascos foram incubados por 1 hora a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , no escuro, em seguida, realizada a coleta do  $^{14}\text{CO}_2$ , transferindo a monoetanolamina e o papel filtro para frasco contendo 10 mL de solução cintiladora instagel, para posterior detecção em ECL. A metodologia para a determinação da atividade microbiana foi proposta por Freitas et al. (1979).

A quantidade de glicose consumida (X) em  $\mu\text{mol}$  de glicose por grama por hora foi determinada pela eq. (5):

$$X = \left( \frac{A}{A_0} \right) \times \left( \frac{C}{M} \right) \times \left( \frac{V}{T} \right) \quad (5)$$

Em que,

A – atividade microbiana da amostra;

$A_0$  – atividade microbiana do padrão;

C – concentração da solução de glicose;

M – massa de solo (g);

V – volume da solução de glicose usada (mL);

T – tempo de incubação dos frascos com a glicose (h).

### 3.2.1.5 Ensaio de Mineralização

Para o estudo de mineralização do glifosato, 50g de solo (base seca) foram acondicionados em frascos de Bartha, em quatro repetições (Figura 3.2). Foi adicionado em cada frasco, 400  $\mu\text{L}$  de solução de glifosato preparada em  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ( $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ ), utilizando-se o produto técnico mais o radioativo. A concentração total do glifosato foi de  $2,4 \mu\text{g g}^{-1}$  de solo, calculada com base na dose de campo máxima recomendada de  $2,88 \text{ kg i.a ha}^{-1}$ , segundo COMPÊNDIO (2005), densidade do solo de  $1,2 \text{ g cm}^{-3}$  e uma profundidade de 10 cm. A pureza do glifosato técnico foi de 95,6% e a do radioativo (glifosato ( $^{14}\text{C}$ -fosfometil)) de 91%. A radioatividade do glifosato  $^{14}\text{C}$ -fosfometil foi de  $11,65 \text{ kBq } 50\text{g}^{-1}$  de solo e a atividade específica do produto de  $85,74 \mu\text{Ci mg}^{-1}$ .

A solução de glifosato foi aplicada diretamente sobre a superfície das amostras de solos e em seguida foi realizada a homogeneização, após, elevou-se a umidade dos solos para 60% da capacidade de campo. Os frascos foram incubados por um período de 70 dias em sala climatizada, no escuro, a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ .

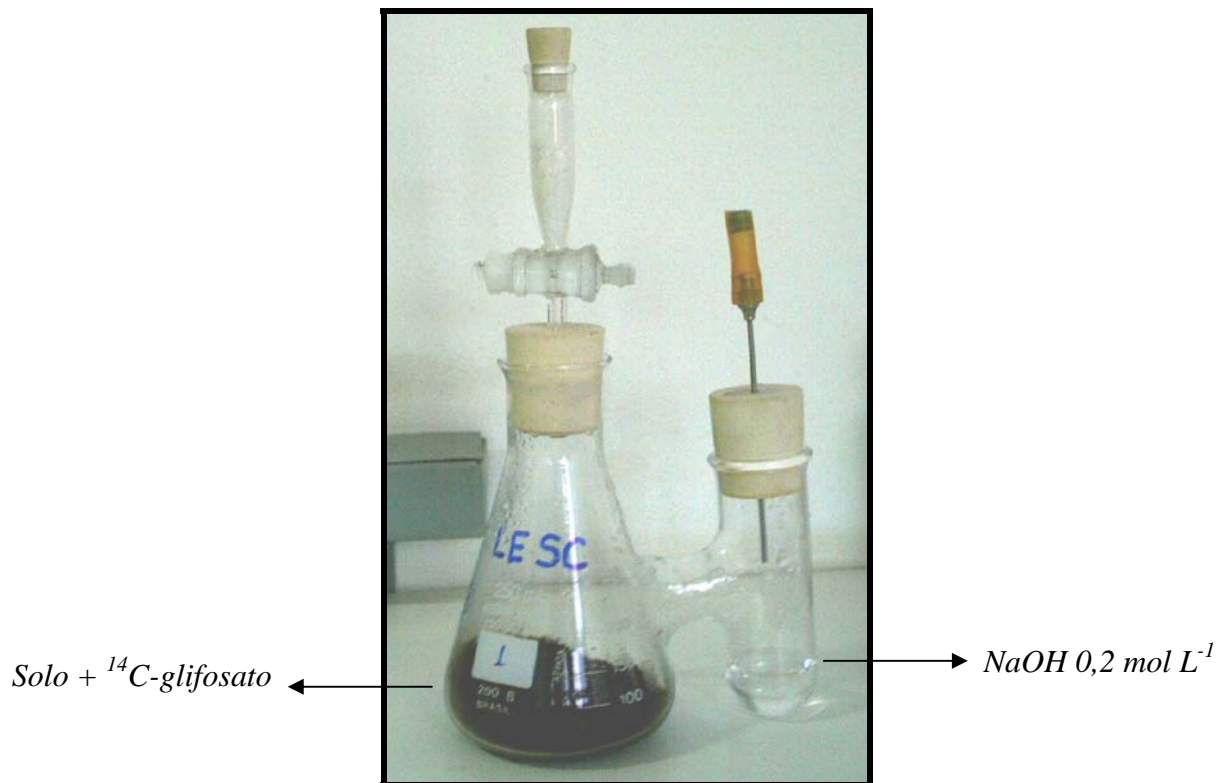


Figura 3.2 – Frasco de Bartha utilizado no estudo de mineralização do glifosato

Na lateral do frasco de Bartha foi colocado 10 mL de solução de  $\text{NaOH } 0,2 \text{ mol L}^{-1}$ , o qual foi trocado semanalmente para a determinação do  $^{14}\text{CO}_2$  desprendido. As trocas foram realizadas nos dias 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63 e 70 dias, quando se retirava todo o  $\text{NaOH}$  do frasco e transferia 2 alíquotas de 1 mL cada, para frascos contendo 10 mL de solução cintiladora. Estes frascos foram agitados para homogeneização e levados para leitura em ECL. Essa metodologia é baseada na reação do  $\text{NaOH}$  com o  $^{14}\text{CO}_2$  resultante da degradação do herbicida pelos microrganismos presentes no solo, formando o produto radioativo  $\text{Na}_2^{14}\text{CO}_3$ , o qual pode ser detectado por ECL.

Após a obtenção dos dados (70 dias), os mesmos foram ajustados a diferentes equações, através do programa Table Curve 2D, que forneceu equações representativas da mineralização do glifosato. A equação que melhor se ajustou aos dados foi a do tipo potencial, através da qual se calculou a meia-vida de mineralização do glifosato para os tratamentos.

#### **3.2.1.5.1 Extração do glifosato das amostras de solos**

Após o período de 70 dias, foram realizadas extrações do glifosato nos solos, as quais foram realizadas com  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ( $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ ).

Para se realizar as extrações, todo o solo presente no frasco de Bartha foi transferido para frascos de teflon e adicionados 100 mL de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$   $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ , em seguida, os mesmos foram agitados durante 2 horas a 180 rpm e centrifugados a 4000 rpm por 20 minutos. O processo foi repetido por mais duas vezes e os sobrenadantes referente às 3 extrações, foram transferidos para frascos de vidro e armazenados sob refrigeração para posterior concentração em roto-evaporador a  $40^\circ\text{C}$ . Após, foi retirada uma alíquota de 100  $\mu\text{L}$  para leitura em ECL e sendo suficiente a radioatividade presente na amostra, foi feita a placa de cromatografia de camada delgada (TLC) para a verificação da presença de metabólitos formados. Para a realização da placa, aplicou-se 100  $\mu\text{L}$  de cada concentrado em um ponto. Imediatamente após a aplicação dos pontos, foi feita a eluição da placa em uma cuba cromatográfica, utilizando como solventes 30 mL de ácido tricloroacético 10%; 60 mL de metanol e 10 mL de hidróxido de amônio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) 25%. Após a secagem das placas, procedeu-se a verificação dos metabólitos no Automatic TLC-Linear Analyser Berthold.

#### **3.2.1.5.2 Oxidação das amostras de solos**

Após as extrações, os solos foram secos em estufa a  $40^\circ\text{C}$  até a completa secagem, em seguida, os mesmos foram macerados manualmente. Em recipiente próprio, foram pesados 0,4g de cada solo em triplicata, oxidados a  $900^\circ\text{C}$  com fluxo de  $270 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$  de  $\text{O}_2$  por 3 minutos, em oxidador biológico (Harvey Instrument, OX 500). A radioatividade presente foi detectada por ECL, para o fechamento do balanço de radioatividade.

Ao final do experimento de mineralização, se obteve os solos com resíduo ligado de  $^{14}\text{C}$ -glifosato, que possibilitou a realização do experimento de remobilização.

### **3.2.1.6 Delineamento experimental e análise dos dados**

Todos os ensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC), sendo os estudos de retenção (sorção e dessorção) e mineralização realizados em esquema fatorial 2 x 2, correspondendo a duas classes de solos (LE e RQ) e a duas condições de manejo do solo (com e sem calagem). O estudo de atividade microbiana foi conduzido em esquema fatorial 2 x 2 x 2, correspondendo a duas classes de solos, duas condições de manejo (com e sem calagem) e a presença ou não do glifosato.

Para os resultados obtidos (coeficiente de Freundlich; dessorção; atividade microbiana e  $^{14}\text{CO}_2$  evoluído acumulado) foi realizada análise de variância e as médias foram comparadas através do teste de Tukey a 5% de significância.

## **3.2.2 Resultados e Discussão**

### **3.2.2.1 Sorção e dessorção**

Os parâmetros avaliados no estudo de sorção e dessorção estão apresentados na Tabela 3.4. Podemos observar que o herbicida glifosato foi altamente sorvido aos solos estudados, uma vez que a sorção (S) foi superior a 90% em todos os tratamentos. A capacidade do glifosato em ser sorvido às partículas dos solos é amplamente relatado na literatura. Em suas revisões, Vereecken (2005) e Toni; Santana e Zaia (2006) discorrem sobre a sorção do glifosato nos diferentes constituintes dos solos, em diversas condições.

A isoterma de Freundlich, representado pelo  $K_f$ , se ajustou adequadamente aos dados obtidos nesse estudo, como pode ser observado pelos altos valores de coeficiente de correlação ( $R^2$ ). O modelo de Freundlich é bastante utilizado para descrever a adsorção de íons, moléculas ou substâncias nas superfícies dos adsorventes dos solos, sendo-o muito utilizado para descrever a sorção de pesticidas (MEURER, 2004). Vários trabalhos relatam a eficiência da isoterma de Freundlich na sorção do herbicida glifosato (CHEAH; KIRKWOOD; LUM, 1997; GLASS, 1987; HANCE, 1976; JONGE; JONGE, 1999; McCONNELL; HOSSNER, 1985; PRATA et al., 2000).



Tabela 3.4 - Valores médios dos parâmetros de avaliação de sorção e dessorção do glifosato no Latossolo Vermelho sem calagem (LESC), com calagem (LECC) e no Neossolo Quartzarênico sem calagem (RQSC) e com calagem (RQCC)

Solo	S <sup>(1)</sup> %	K <sub>d</sub> <sup>(2)</sup> L kg <sup>-1</sup>	Equação de Freundlich			D <sup>(5)</sup> %
			K <sub>f</sub> <sup>(3)</sup> mg <sup>1-1/n</sup> kg <sup>-1</sup> L <sup>1/n</sup>	n <sup>(4)</sup>	R <sup>2</sup>	
<b>LESC</b>	94,21 ± 0,22	81,82 ± 2,63	82,85 ± 10,09 <i>a</i>	1,00	0,99	0,06 ± 0,02 <i>b</i>
<b>LECC</b>	94,39 ± 0,05	85,10 ± 0,74	92,77 ± 0,60 <i>a</i>	1,03	0,99	0,28 ± 0,08 <i>b</i>
<b>RQSC</b>	90,04 ± 0,14	45,47 ± 0,47	40,86 ± 2,34 <i>b</i>	0,95	0,99	1,44 ± 0,50 <i>a</i>
<b>RQCC</b>	90,31 ± 0,19	46,67 ± 1,09	43,65 ± 0,31 <i>b</i>	0,97	0,99	1,23 ± 0,33 <i>a</i>

<sup>(1)</sup>Glifosato sorvido; <sup>(2)</sup>Coefficiente de partição; <sup>(3)</sup>Constante de Freundlich para sorção; <sup>(4)</sup>Grau de linearidade da isoterma; <sup>(5)</sup>Dessorção do glifosato para a concentração de 0,48 mg L<sup>-1</sup>. \*Letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

Os valores do grau de linearidade da isoterma de Freundlich (n), variaram de 0,95 a 1,03, indicando isotermas lineares para todos os solos. Segundo Vereecken (2005) a comparação de valores de K<sub>f</sub> entre solos, somente são permitidas quando os valores de n são iguais, como é o caso do presente estudo.

Quando as isotermas são lineares em estudos de sorção, pode-se considerar que os sítios de retenção envolvidos são homogêneos para a faixa de concentração avaliada, isso significa que a sorção do glifosato neste estudo aumentou linearmente com o aumento da concentração deste na solução. Valores de n próximos a 1,00 também foram encontrados por Prata et al. (2000) para solos tropicais na presença e ausência da matéria orgânica.

Pela análise estatística, foi possível verificar que tanto no solo LE quanto no RQ, a calagem não influenciou significativamente a sorção do glifosato. No entanto, independentemente da calagem, a sorção foi diferente entre as classes de solos estudadas.

A prática da calagem acarreta diversas modificações nos solos, entre essas podemos citar a dispersão de partículas, o aumento da capacidade de troca de cátions dos solos, o aumento do teor de nutrientes, pode causar a dissolução da matéria orgânica, além de afetar o pH dos solos. Todas essas alterações podem de alguma forma afetar o comportamento de pesticidas em solos, dependendo das características intrínsecas às moléculas. No entanto, no caso específico do glifosato, o pH possivelmente tem maior influência no comportamento desta molécula. Isso porque as cargas superficiais do glifosato são alteradas com a variação do pH, tornando-o mais

negativamente carregado com a elevação do pH. Além disso, as cargas superficiais dos solos tropicais também variam com o pH.

O pH natural dos solos, antes da incubação com calcário era de 4,26 e 4,32 para os solos LE e RQ, respectivamente. Após a incubação, o pH foi elevado para 5,87 no LE e 5,71 no RQ. Essa variação no valor de pH dos solos aumentou, provavelmente, a presença de cargas negativas na superfície da molécula. No entanto, os solos de forma geral, permaneceram com o predomínio de cargas negativas, como pode ser observado pelos valores de  $\Delta\text{pH}$  negativo, antes e após a calagem (Tabelas 2.1 e 3.1). O  $\Delta\text{pH}$  é normalmente utilizado para estimar a carga líquida dos solos e valores negativos indicam predominância de cargas negativas.

A alteração do pH pode ter afetado o comportamento individual dos constituintes dos solos com relação a sorção do glifosato, porém, não de forma significativa para afetar a retenção. Os solos estudados possuem na sua fase sólida, minerais característicos de solos intemperizados, com presença de minerais do tipo 1:1, 2:1 com intercalação de polímeros de alumínio (AlOH) nas entrecamadas e óxidos (englobando os óxidos, hidróxidos e oxihidróxidos) de ferro e alumínio (Tabela 2.5), além da matéria orgânica. Os constituintes dos solos, a exceção da matéria orgânica, possuem cargas permanentes e principalmente dependentes de pH. A matéria orgânica, por sua vez, possui somente cargas dependentes de pH.

Dessa forma, dependendo do ponto isoelétrico de cada mineral, o mesmo apresenta-se com a carga líquida positiva ou negativa. Dentre os constituintes da fase sólida dos solos LE e RQ, a caulinita provavelmente se comportou diferentemente na presença da calagem. A caulinita possui ponto isoelétrico de aproximadamente 4,6, segundo Sparks (1995) e assim, após a calagem a carga líquida superficial da caulinita era negativa e antes, positiva. Isso pode ter alterado a capacidade sorçiva deste mineral, no entanto, este comportamento diferenciado da caulinita não afetou de forma significativa a sorção do glifosato. Apesar dela ser considerada um mineral importante na retenção do glifosato em solos (VERECKEN, 2005), a mesma possui poucas cargas dependentes de pH, as quais são encontradas somente nas bordas do mineral.

Os demais constituintes dos solos, em função do ponto isoelétrico, possuíam a mesma carga líquida tanto antes quanto após a calagem. Os óxidos possuem ponto isoelétrico acima de 6,5 (SPARKS, 1995), assim, a variação de pH dos solos em função da calagem não afetou a sua carga superficial, a qual era nestas condições, positiva. Essa é uma das razões pela qual os óxidos, que estão presentes em solos intemperizados e ácidos, é um dos principais responsáveis

pela sorção do glifosato, como visto no capítulo anterior. A matéria orgânica, por possuir ponto isoelétrico de 3,5 (MEURER, 2004), possuía carga superficial predominantemente negativa, antes e após a calagem e provavelmente, apresentando a mesma capacidade sorptiva do glifosato. É importante ressaltar que a retenção do glifosato nos constituintes dos solos se dá por diversos mecanismos de ligação e não só por ligação eletrostática, que é dependente da carga superficial do herbicida e do solo.

McConnell e Hossner (1985) estudaram o efeito do pH na sorção do herbicida glifosato nos minerais caulinita, hematita e goethita. A sorção do glifosato na caulinita reduziu com o aumento do pH, sendo o ponto isoelétrico da caulinita estudada de 3,7. A hematita e a goethita sorveram o glifosato fortemente em valores de pH abaixo do ponto isoelétrico dos mesmos, que foi de 7,9 e 8,4 respectivamente. Porém, no pH de 11,5, a sorção foi reduzida drasticamente, devido a superfície dos óxidos se tornarem negativamente carregadas.

Vários trabalhos realizados em solos de clima temperado relatam a redução na sorção do glifosato com o aumento do pH. Gimsing; Borggaard e Bang (2004) estudaram dentre outras características, o efeito do pH na sorção do glifosato em cinco solos dinamarqueses. Para a realização deste estudo, os autores ajustaram o pH dos solos para 6, 7 e 8 pela adição do KOH ou HCl. A redução do pH de 8 para 6 aumentou mais que o dobro a sorção do glifosato nos solos e essa maior atração, foi explicada pelos autores como sendo resultado de um aumento da atração entre a superfície dos solos e o glifosato, com o decréscimo do pH. Resultados semelhantes foram obtidos por Jonge e Jonge (1999).

Os resultados encontrados no presente estudo não corroboraram com a maioria dos trabalhos desenvolvidos em condições temperadas, visto que o aumento do pH não alterou a retenção do glifosato nos solos. As explicações para tal fato podem ser baseadas no fato de que a variação de pH observada pelo efeito da calagem, não tenha sido suficiente para causar grandes alterações nas cargas superficiais dos constituintes dos solos e do herbicida. Os solos de clima temperado possuem carga superficial predominantemente permanente, não sendo significativamente afetada por variações de pH. Dessa forma, alterações no pH causam mudanças principalmente na carga líquida superficial do herbicida e como esse fica mais negativamente carregado com a elevação do pH, a atração e conseqüentemente a sorção é menor.

Diante desses aspectos, pode-se inferir que o efeito do pH na sorção do herbicida glifosato é dependente da carga líquida superficial adquirida pelo herbicida e em condição de solos tropicais, também a adquirida pelos minerais presentes nos solos.

Apesar do grande potencial do glifosato em ser sorvido aos dois solos estudados, houve diferença na sorção entre os mesmos. Isto porque a sorção do herbicida no LE foi praticamente o dobro que no RQ, conforme os valores de  $K_f$ , independentemente da calagem (Tabela 3.4). O LE é um solo que possui maior teor de óxidos (Tabela 2.4), que é um dos principais responsáveis pela retenção do glifosato em solos tropicais, textura mais argilosa (Tabela 2.1), além de outras características que o torna um bom adsorvente. Conforme o critério do IBAMA (1990), que se baseia em valores de  $K_f$  para a classificação dos solos quanto a capacidade sorviva, a sorção do glifosato no LE foi grande e no RQ média.

Sprankle; Meggit e Penner (1975) verificaram maior sorção do herbicida glifosato em um solo argiloso do que em um solo arenoso, sugerindo que os minerais de argila são os principais responsáveis pela sorção. Glass (1987) estudou a sorção do glifosato em três solos agrícolas e em minerais de argila e sugeriram que a retenção dessa molécula foi relacionada ao conteúdo de argila e a capacidade de troca de cátions dos solos. No entanto, Zhou et al. (2004) relatam que a característica que mais influencia a retenção do glifosato em solos é a presença de óxidos metálicos.

A calagem não influenciou estatisticamente a dessorção do glifosato nos dois solos, no entanto, independentemente da calagem, os solos dessorveram diferentemente o herbicida (Tabela 3.4). Apesar das diferenças estatísticas e da maior dessorção no solo arenoso (RQ), a dessorção do glifosato nos dois solos foi muito baixa, não apresentando provavelmente, grande importância ambiental a curto prazo. Dessa forma, praticamente todo o herbicida ficou no solo na forma de resíduo ligado, resultado que vem a reforçar a grande persistência dessa molécula nos solos. As implicações ambientais da formação de resíduos ligados do glifosato ainda não é compreendida, visto que não há estudos a esse respeito na literatura.

Cheah; Kirkwood e Lum (1997) observaram dessorção do glifosato em um solo arenoso e em um solo orgânico e a dessorção foi significativamente maior no solo arenoso. Os mesmos autores concluem que em alguns casos, dependendo das características do solo, quando a sorção do herbicida não é permanente, a lixiviação através do solo pode ocorrer. No entanto, não existe comprovação desta hipótese na literatura, uma vez que a dessorção do glifosato é baixa na

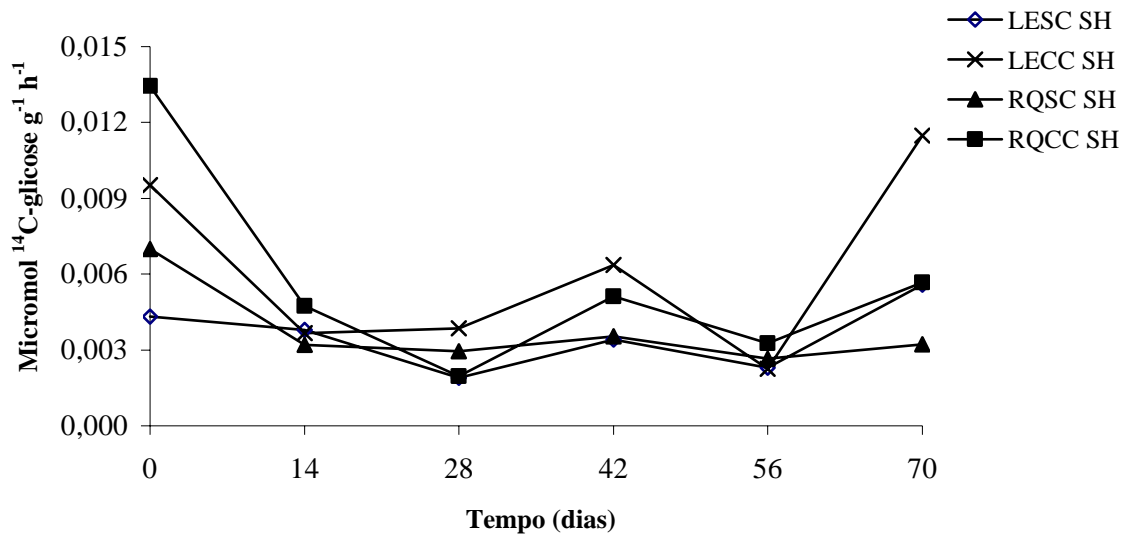
maioria das condições estudadas e em outras, não se obtém nenhuma dessorção, como observado por Prata et al.(2000).

A retenção do glifosato nos constituintes dos solos se dá por diferentes mecanismos de ligação, os quais atuam concomitantemente. No entanto, Gerritse; Beltran e Hernandez (1996) e Prata et al. (2003) relatam que a ligação covalente existente entre o grupo metilfosfônico do herbicida com os metais dos óxidos de ferro e alumínio do solo é um dos mais importantes. Provavelmente por essa razão, o glifosato possui baixa capacidade de dessorção nos solos, principalmente nos que possuem óxidos em sua constituição, em função da alta energia envolvida nesse tipo de ligação. Talvez esse fato seja uma das razões pela qual houve baixa dessorção do glifosato nos solos estudados, os quais possuem óxidos em seu arranjo cristalográfico.

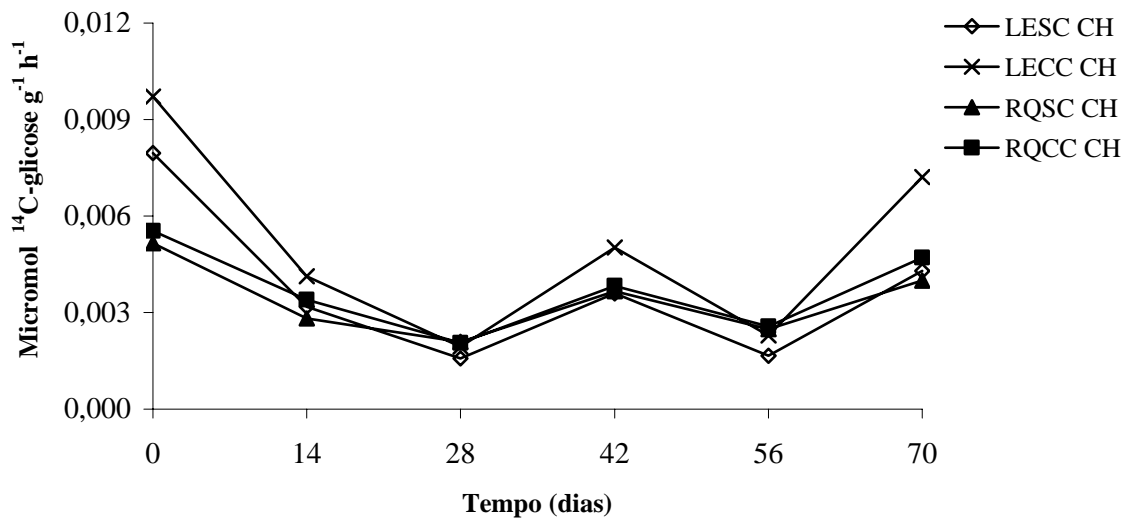
### **3.2.2.2 Atividade microbiana**

O comportamento da atividade dos microrganismos nos solos estudados foram semelhantes, tanto na ausência quanto na presença do glifosato (Figuras 3.3a e b), ao longo dos 70 dias de avaliação.

Em praticamente todos tratamentos, a atividade inicial foi um pouco mais elevada, seguida por uma redução até próximo aos 28 dias. A partir daí, houve uma oscilação na atividade até os 56 dias, quando voltou novamente a aumentar. Essa alteração da atividade da microbiota dos solos, durante o período de incubação é comum, visto que os microrganismos presentes nos solos se modificam ao longo do tempo. Vários fatores podem provocar mudanças na atividade, entre eles pode-se citar: as condições ambientais do meio, a umidade dos solos, a disponibilidade de nutrientes, o teor de matéria orgânica, o pH, dentre outros (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002). Neste estudo, as condições ambientais do meio e a umidade dos solos não foram fontes de variação da atividade, uma vez que os frascos foram incubados em sala climatizada ( $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) e a umidade mantida a 60% da capacidade de campo dos solos. No entanto, qualquer alteração do meio afeta diretamente a microbiota do solo, não somente na sua atividade, mas na sua composição.



(a)



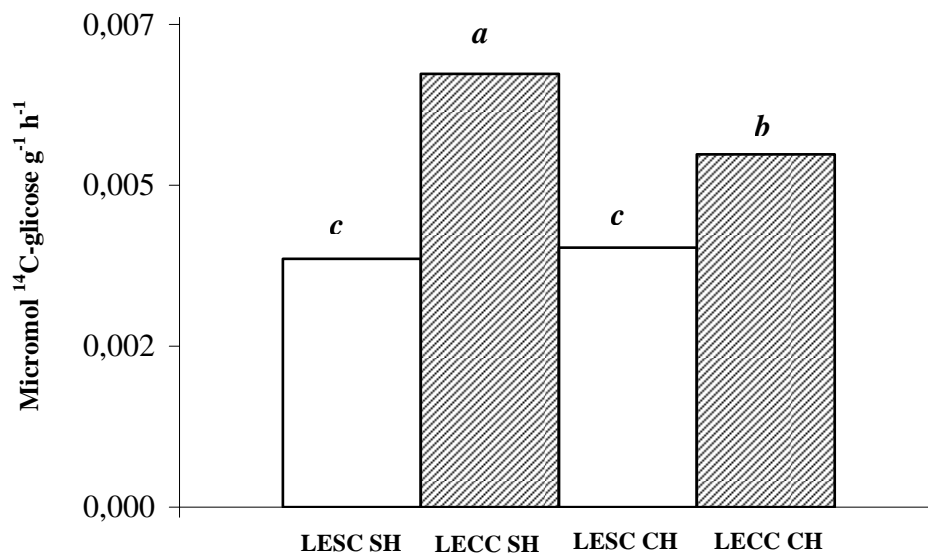
(b)

Figura 3.3 - Atividade microbiana, ao longo dos 70 dias de incubação, no Latossolo Vermelho sem calagem (LESC), com calagem (LECC), no Neossolo Quartzarênico sem calagem (RQSC) e com calagem (RQCC), na ausência (a) e presença do glifosato (b)

Na comparação dos resultados da atividade microbiana média, não foi observada diferença significativa na interação solos, calagem e herbicida. Houve efeito significativo somente na interação solos e calagem, e dentro de cada solo, a interação calagem e herbicida foi significativa

a 5%. Os resultados da atividade microbiana média dos solos estão apresentados nas Figuras 3.4a e b.

Tanto no solo LE quanto no RQ, a utilização de calcário aumentou significativamente a atividade microbiana, na ausência do glifosato, observado pela maior respiração dos microrganismos dos solos nesta condição. A calagem é uma prática agrícola bastante comum na agricultura brasileira e que traz diversos benefícios, principalmente devido as alterações nas condições físicas, químicas e biológicas dos solos. Dentre essas, pôde-se observar neste trabalho, que as características químicas foram melhoradas (Tabelas 2.2 e 3.1), uma vez que o pH e a fertilidade dos solos aumentaram. E isso refletiu diretamente nos microrganismos dos solos, os quais aumentaram sua respiração na presença da mesma. Há trabalhos na literatura em que a atividade microbiana aumentou em função de algum tipo de benefício causado por práticas agrícolas. Em solos tratados com vinhaça, Prata et al. (2001) observaram maior atividade e biomassa microbiana. Em estudo posterior, Prata et al. (2005) verificaram maior atividade microbiana em um Latossolo Vermelho sob condição de plantio direto que sob plantio convencional. Também Castro Júnior; Selbach e Záchiaayub (2006) estudaram o efeito de diversos compostos na atividade microbiana de um Argissolo, e observaram que a adição de esterco elevou a atividade dos microrganismos do solo, observado pela maior liberação de CO<sub>2</sub>.



(a)

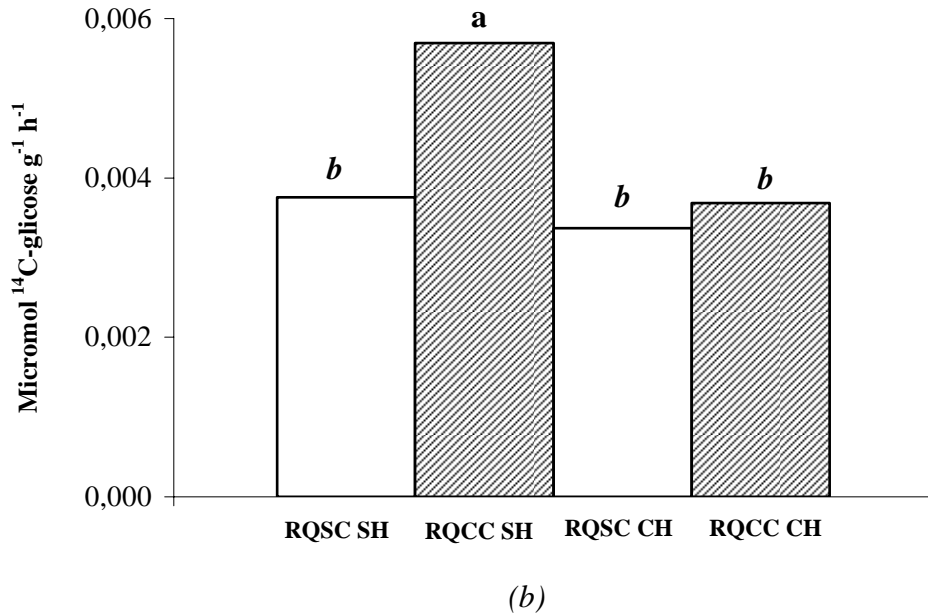


Figura 3.4 - Atividade microbiana média do Latossolo Vermelho (a) e do Neossolo Quartzarênico (b), com calagem (CC), sem calagem (SC), com herbicida (CH) e sem herbicida (SH). Letras minúsculas acima das barras comparam os tratamentos calagem e herbicida, dentro de cada solo, pelo teste de Tukey a 5% de significância

Após o tratamento com calagem, o LE apresentou maior atividade microbiana que o RQ. Isso se deve possivelmente, a maior fertilidade obtida por esse solo após a calagem (Tabelas 3.1 e 3.2).

No tratamento com o glifosato, a calagem aumentou a atividade microbiana somente no solo LE (Figuras 3.4a e b). O glifosato é uma molécula que possui em sua estrutura carbono, nitrogênio, fósforo, oxigênio e hidrogênio, o que a torna fonte de nutrientes e energia para a microbiota do solo (ARAÚJO; MONTEIRO; ABAKERLI, 2003). Além disso, a própria estrutura molecular do glifosato o torna prontamente disponível, pois não possui estruturas cíclicas, que compromete a degradação da molécula. Assim, uma possível hipótese para esse comportamento é que o herbicida pode ter sido fonte primária de alimento para os microrganismos do RQ e assim, a calagem não contribuiu significativamente na respiração do solo. O RQ, por possuir textura arenosa e baixa quantidade e diversidade de óxidos, pode ter propiciado maior disponibilidade do glifosato para o metabolismo microbiano. Este processo, no qual o pesticida serve como fonte de energia e nutrientes para o crescimento e desenvolvimento dos microrganismos degradadores, é chamado de catabolismo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002). Outra hipótese para esse



comportamento, a qual parece ser mais adequada, é a de que o glifosato pode ter apresentado efeito tóxico aos microrganismos dos solos, o qual foi mais pronunciado que o efeito estimulante da calagem.

Tanto no LE quanto no RQ tratados com calagem, o glifosato reduziu estatisticamente a atividade microbiana. Os dois solos estudados foram coletados sob mata, portanto não foram anteriormente agricultáveis, o que contribuiu para a baixa fertilidade natural dos solos. Dessa forma, no tratamento sem calagem, os microrganismos dos solos provavelmente utilizaram o glifosato como fonte de nutrientes (carbono, nitrogênio, fósforo, hidrogênio e oxigênio). No entanto, nos tratamentos com calagem, os solos possuíam maiores teores de nutrientes, além de melhores condições químicas (como por exemplo o pH) que propiciaram condições adequadas para o crescimento e desenvolvimento de microrganismos. Nesta condição, o glifosato ficou mais disponível no solo e possivelmente, causou efeito tóxico aos microrganismos. Este comportamento foi observado nos dois solos, sugerindo que em solos que possuem boa fertilidade e condições químicas adequadas, os microrganismos podem se tornar prejudicial aos organismos dos solos.

Na literatura, normalmente, não se observa efeitos prejudiciais do glifosato na atividade da microbiota dos solos. Haney et al. (2000) e mais recentemente Araújo; Monteiro e Abakerli (2003) avaliaram o efeito do glifosato na microbiota do solo e observaram que a atividade microbiana foi estimulada na presença do herbicida. Castro Júnior; Selbach e Záchiaayub (2006) investigaram o efeito do glifosato, tanto na formulação comercial GOAL<sup>®</sup> quanto na forma pura em um Argissolo e não observaram efeito negativo do herbicida na atividade da microbiota. Souza; Ferreira e Silva (1999) estudaram o efeito do glifosato na respiração microbiana de solos que possuíam diferentes texturas e composição química, sob diferentes umidades. Os autores observaram maior respiração com a aplicação do glifosato nos solos e com maiores teores de água, demonstrando que a microbiota dos solos é capaz de utilizar o glifosato como fonte de nutrientes. Segundo Tuffi-Santos et al. (2005), a presença do glifosato em solos pode favorecer a microbiota que consegue degradar esse herbicida, mas, por outro lado, pode suprimir outros microrganismos, inclusive os benéficos, alterando assim o equilíbrio da microfauna desses ambientes.

O efeito de interações de práticas agrícolas com o uso do glifosato em solos devem ser melhor investigados, diante dos resultados observados neste trabalho. Pois, em condições de boa

fertilidade dos solos, o glifosato mostrou-se deletério na respiração dos microrganismos. É importante ressaltar que o estudo da respiração microbiana pode não ser o melhor método para a investigação de efeitos de compostos orgânicos sobre os microrganismos dos solos, visto que, segundo Moreira e Siqueira (2002) mesmo que um produto iniba certos microrganismos dos solos, funções globais medida pela liberação de CO<sub>2</sub>, podem não ser afetadas.

A medida da atividade microbiana nem sempre se relaciona positivamente com a degradação de pesticidas em solos. Isso ocorre porque alguns pesticidas podem ser degradados por uma grande diversidade de microrganismos e outros, por uma pequena parcela da microbiota do solo. Damin (2005) observou relação inversa entre a degradação do diuron e a atividade microbiana. Resultado semelhante foi encontrado por Peixoto et al. (2005) para a mineralização dos resíduos ligados de atrazina.

### **3.2.2.3 Mineralização**

A Figura 3.5 apresenta a liberação de <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> resultante da mineralização do herbicida glifosato durante o período de incubação, nos solos tratados ou não com calagem. Em todos os tratamentos houve uma maior degradação nos primeiros dias de incubação, seguida por uma redução gradual até próximo aos 35 – 40 dias. Após este período, a taxa de degradação se tornou constante até o final do experimento, o que ocorreu aos 70 dias.

O padrão de mineralização do herbicida glifosato observado neste estudo, foi similar ao de outros trabalhos (ANDRÉA et al., 2003; EBERBACH, 1998; NOMURA; HILTON, 1977; PRATA et al., 2005; SPRANKLE; MEGGIT; PENNER, 1975).

É comum observar em trabalhos científicos que avaliaram a degradação do glifosato, liberação maior de <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> no período inicial da incubação, e uma redução deste processo após algumas semanas. Esse comportamento do glifosato possivelmente decorre da maior retenção do herbicida na matriz do solo com o passar do tempo. Em trabalho pioneiro, Sprankle; Meggit e Penner (1975) relatam que a retenção do glifosato às partículas minerais e orgânicas dos solos dificulta a degradação do herbicida pelos microrganismos. Conforme Nomura e Hilton (1977), os microrganismos utilizam a fração do herbicida que está prontamente biodisponível e devido a forte sorção do glifosato, a sua degradação é mais acentuada logo após a aplicação no solo.

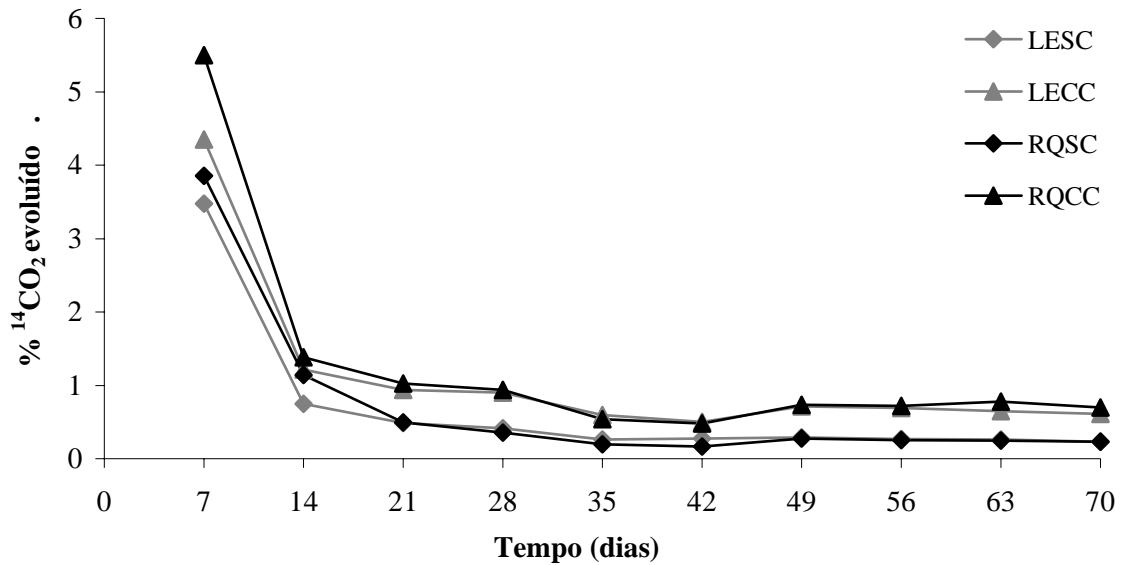


Figura 3.5 - Evolução semanal do  $^{14}\text{CO}_2$  no Latossolo Vermelho sem calagem (LESC), com calagem (LECC), Neossolo Quartzarênico sem calagem (RQSC) e com calagem (RQCC), durante período de 70 dias

Cheah; Kirkwood e Lum (1998) estudaram a degradação do glifosato em um solo arenoso e em um solo orgânico da Malásia e observaram que a taxa de degradação do herbicida foi dependente do seu grau de adsorção aos solos. O padrão de degradação foi o mesmo observado neste trabalho e os autores atribuíram isso a ação microbiana sobre o glifosato livre, na fase inicial e na posterior ao glifosato adsorvido.

Segundo Eberbach (1998), a degradação do glifosato é derivada de duas fases distintas, uma inicial chamada de fase lábil, quando grande parte do herbicida está na solução do solo, e uma posterior, chamada de fase não-lábil, na qual o glifosato se encontra sorvido às partículas do solo. No seu trabalho, o autor considerou que no primeiro momento da curva, a degradação do glifosato derivou das duas fases simultaneamente.

O calcário adicionado aos solos aumentou significativamente o desprendimento de  $^{14}\text{CO}_2$  no LE e no RQ (Figura 3.6). A quantidade de  $^{14}\text{CO}_2$  acumulado durante os 70 dias de condução do experimento foi de 6,72% para o LESC; 11,16% para o LECC; 7,22% para o RQSC e de 12,78% para o RQCC. Valores semelhantes de evolução de  $^{14}\text{CO}_2$  foram observados por Prata et al. (2005), os quais avaliaram a mineralização do glifosato durante 63 dias em um Latossolo Vermelho distroférico, sob plantio direto e convencional, e encontram resultados de 10,8 e 5,6%, respectivamente.

No entanto, em outros trabalhos citados na literatura, o desprendimento de  $^{14}\text{CO}_2$  foi mais elevado. Andréa et al. (2003), estudando o efeito de repetidas aplicações de glifosato sobre sua mineralização em solos, encontraram valores de  $^{14}\text{CO}_2$  acumulado variando de 47% quando o herbicida foi aplicado uma única vez e de 33,5% para quatro aplicações, por um período de aproximadamente 60 dias. Accinelli et al. (2005), encontraram valores de  $^{14}\text{CO}_2$  de glifosato acumulado por 28 dias, de 36,8 e 37,4% em dois solos italianos.

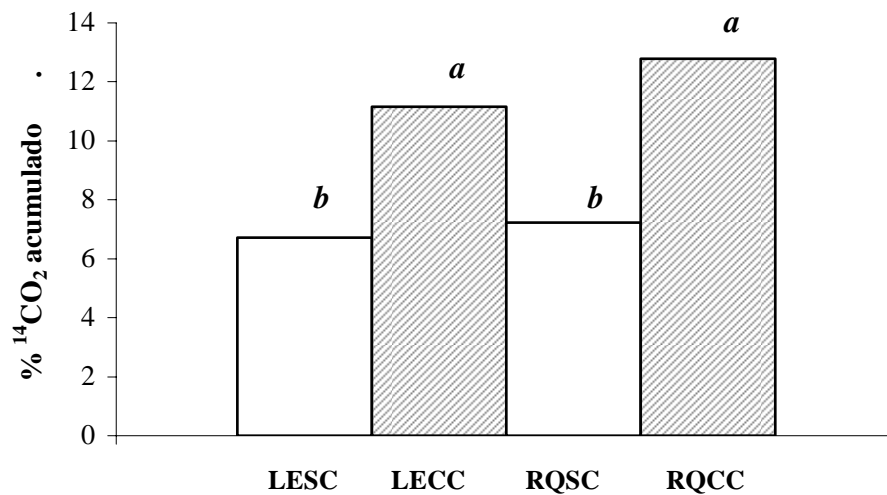


Figura 3.6 - Liberação de  $^{14}\text{CO}_2$  acumulado nas amostras do Latossolo Vermelho sem calagem (LESC), com calagem (LECC), Neossolo Quartzarênico sem calagem (RQSC) e com calagem (RQCC), durante período de incubação de 70 dias. Letras minúsculas acima das barras comparam a porcentagem de  $^{14}\text{CO}_2$  média, entre os tratamentos

Conforme Souza; Ferreira e Silva (1999), a interação entre microrganismos, substrato e constituintes do solo pode alterar a biodegradação dos herbicidas, sendo maior ou menor conforme a capacidade adsortiva do solo. Nos tratamentos avaliados, a calagem não influenciou a retenção do glifosato, tanto no LE quanto no RQ, como visto no item 3.2.2.1, não alterando assim, a disponibilidade do herbicida para o metabolismo microbiano. Assim, não foi o efeito da calagem na retenção do glifosato a causa da maior mineralização do glifosato nesta condição.

Após a realização da calagem, foi observado um aumento do pH dos solos, assim como maior disponibilidade dos nutrientes (Tabela 3.1). Isso provavelmente foi a causa do maior crescimento e desenvolvimento da microbiota dos solos, representado pela maior respiração dos mesmos, como observado nos resultados de atividade microbiana, discutidos anteriormente. A

atividade microbiana dos solos é de grande importância na degradação do glifosato em solos. Araújo; Monteiro e Abakerli (2003) relatam que há relação direta entre atividade microbiana dos solos e a degradação do glifosato.

O glifosato é relativamente resistente a hidrólise química, a decomposição térmica e a fotólise (AMARANTE JÚNIOR et al., 2002), sendo a degradação microbiana o mecanismo predominante da transformação do glifosato em solos (RUEPPEL et al., 1977; SOUZA; FERREIRA; SILVA, 1999; SPRANKLE; MEGGIT; PENNER, 1975). Os microrganismos capazes de degradar o glifosato é onipresente no ambiente, segundo Sorensen et al. (2006). Esses autores avaliaram a mineralização do glifosato em amostras superficiais e subsuperficiais de solos e observaram maior mineralização da molécula na camada subsuperficial de um solo argiloso, nunca anteriormente cultivado.

A principal rota de mineralização do glifosato em solos é a que consiste na transformação do glifosato em ácido aminometilfosfônico (AMPA) (AMARANTE JÚNIOR et al., 2002), e finalmente a produção de água, CO<sub>2</sub> e fosfato. Na condução deste experimento, foi utilizado o glifosato radiomarcado no carbono fosfometil, o qual se encontra também na molécula do AMPA, considerado o principal metabólito do glifosato. Dessa forma, o <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> detectado foi formado da degradação do glifosato para o AMPA e deste para a completa metabolização da molécula. Assim, o <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> expressa a mineralização da molécula do glifosato.

A partir das curvas de degradação que relacionaram a concentração do glifosato remanescente nos solos pelo tempo, se obteve equações que definiram os valores de meia-vida de mineralização do glifosato (Tabela 3.5). As equações que melhor se ajustaram aos dados foram do tipo potencial, no entanto, em trabalho realizado por Araújo; Monteiro e Abakerli (2003), a equação exponencial foi a mais adequada.

O uso de calcário nos solos reduziu significativamente a meia-vida de mineralização do glifosato, tanto no LE quanto no RQ. Nomura e Hilton (1977), encontraram valores de meia-vida de mineralização de 11,2 e 22,7 anos para o glifosato em solos orgânicos. Prata et al. (2005) encontraram valores de 1,2 e de 2,14 anos para um Latossolo Vermelho sob plantio direto e convencional, respectivamente. Neste mesmo estudo foram calculados a meia-vida de dissipação e os valores foram de 19,3 dias para o plantio direto e 25,8 dias para o convencional. Estes resultados evidenciam a diferença existente entre a meia-vida de dissipação e a de mineralização para o glifosato. Isso ocorre porque a de dissipação envolve os processos de degradação, da

formação de resíduos ligados, absorção e transporte e a de mineralização, porém, envolve somente a quebra total da molécula a CO<sub>2</sub>, água e sais minerais. O cálculo da meia-vida de mineralização do glifosato é de maior relevância, uma vez que a de dissipação considera a formação de metabólitos, que no caso do glifosato, é a formação do ácido aminometilfosfônico (AMPA) e a formação de resíduos ligados, principalmente. Os efeitos tóxicos e o comportamento ambiental do AMPA são pouco conhecidos (SILVA; PERALBA; MATTOS, 2003), da mesma forma ocorre para os resíduos ligados do glifosato nos solos.

Tabela 3.5 – Valores de meia-vida de mineralização do herbicida glifosato em Latossolo Vermelho sem calagem (LESC); com calagem (LECC); Neossolo Quartzarênico sem calagem (RQSC) e com calagem (RQCC)

Solos	Equação <sup>(1)</sup>	R <sup>2</sup>	Meia-vida (anos) <sup>(2)</sup>
LESC	$y = 17402,59 + (-128,37)x^{0,5}$	0,94	12,38 <i>a</i>
LECC	$y = 17410,24 + (-180,24)x^{0,5}$	0,96	4,17 <i>b</i>
RQSC	$y = 17346,27 + (-135,55)x^{0,5}$	0,91	11,04 <i>a</i>
RQCC	$y = 17395,42 + (-248,73)x^{0,5}$	0,98	3,47 <i>b</i>

<sup>(1)</sup> y = concentração remanescente do glifosato (dpm g<sup>-1</sup> solo); x = tempo de incubação em dias.

<sup>(2)</sup> Valores seguidos da mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

Após 70 dias de condução do experimento, foi realizada a extração e a oxidação do glifosato nos solos, onde se obteve os resultados apresentados na Figura 3.7. Nas condições estudadas, foi possível extrair o glifosato remanescente em todos os solos. Este resultado não foi semelhante ao obtido por Prata et al. (2005), onde o glifosato e seus metabólitos não puderam ser extraídos. A extração neste estudo foi em média 10 vezes maior no solo RQ do que no solo LE, independentemente da calagem.

Por co-cromatografia de camada delgada, foram analisados os extratos do solo RQ com e sem calagem. No solo LE, tanto na presença quanto na ausência da calagem não foi possível a realização da análise, pois a quantidade de radioatividade presente nos extratos não foi suficiente para alcançar o limite máximo de detecção do aparelho, mesmo após a concentração. Nas placas de TLC do RQSC e do RQCC, não foi detectado a presença de nenhum metabólito do glifosato. Isso pode ser em razão de que o ácido aminometilfosfônico (AMPA), ser tão adsorvido às partículas do solo quanto o glifosato (GERRITSE; BELTRAN; HERNANDEZ, 1996), portanto não passível de ser extraído.

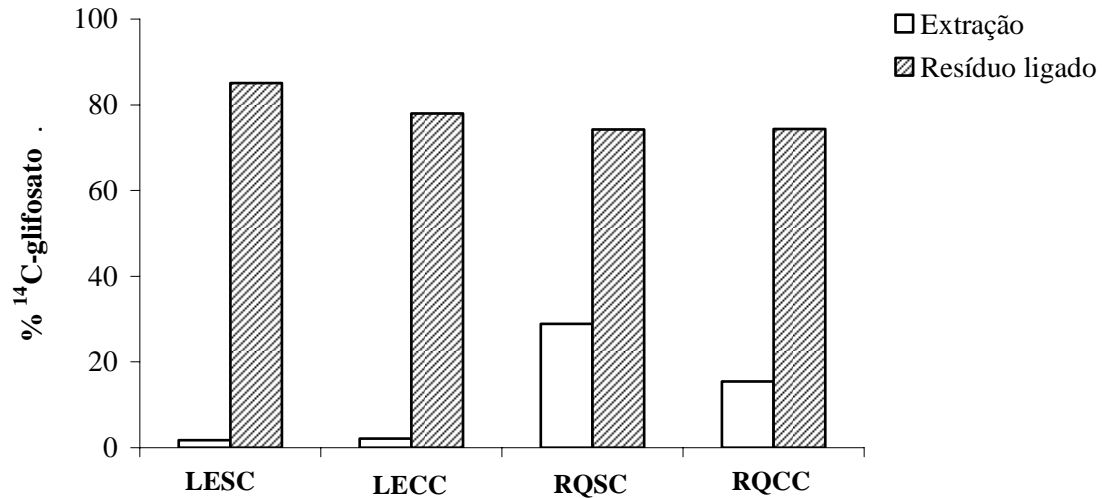


Figura 3.7 – Valores médios de extração e oxidação do Latossolo Vermelho sem calagem (LESC); com calagem (LECC); Neossolo Quartzarênico sem calagem (RQSC) e com calagem (RQCC)

Pelos resultados de oxidação, verificamos que a maior parte do glifosato aplicado permaneceu na forma de resíduo ligado. É relatado na literatura que o principal destino desse herbicida em solos tropicais é a formação de resíduo-ligado (MATTOS et al., 2002; PRATA et al., 2000; PRATA et al., 2003). Assim, a principal fração do glifosato formada nos solos são os resíduos ligados, os quais merecem especial atenção, uma vez que não se conhece a consequência ambiental da formação desses resíduos.

Ao final do estudo de distribuição do herbicida glifosato, houve recuperação total da radioatividade aplicada de 93,6% para o LESC; 91,2% para LECC; 110% para o RQSC e de 102% para o RQCC. Esses valores de recuperação total estão em concordância com Andréa et al. (2003), que encontraram um balanço total variando de 80 a 103%.

Diante das inúmeras aplicações do glifosato em solos para o controle de plantas daninhas, dos altos valores de meia-vida de mineralização obtidas neste trabalho e frente a grande parcela do glifosato aplicado que formou resíduo ligado, é de grande importância análises que visem avaliar as implicações ambientais do uso deste herbicida, a longo prazo.

### 3.3 Conclusões

A calagem não influenciou a sorção e a desorção do glifosato nas duas classes de solos estudadas. Entre os solos, o Latossolo Vermelho (LE) reteu em maior extensão o herbicida.

A atividade microbiana foi maior no tratamento com calagem, independentemente da presença do glifosato no solo LE, o que não ocorreu no RQ. Neste solo, a calagem aumentou a atividade somente na ausência do glifosato. O glifosato reduziu a atividade microbiana nos dois solos, na presença da calagem.

A mineralização do glifosato foi influenciada pelo uso de calcário, tanto no LE quanto no RQ, reduzindo a meia-vida de mineralização. No entanto, a maior porção do glifosato aplicado permaneceu na forma de resíduo ligado.



## Referências

- ACCINELLI, C.; KOSKINEN, W. C.; SEEBINGER, J. D.; VICARI, A.; SADOWSKY, M. J. Effects of incorporated corn residues on glyphosate mineralization and sorption in soil. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 53, p. 4110-4117, 2005.
- AMARANTE JÚNIOR, O. P.; SANTOS, T. C. R.; BRITO, N. M.; RIBEIRO, M. L. Glifosato: Propriedades, toxicidade, uso e legislação. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 4, p. 589-593, 2002.
- ANDRÉA, M. M. de; PEREZ, T. B.; LUCHINI, L. C.; BAZARIN, S.; PAPINI, S.; MATALLO, M. B.; SAVOY, V. L. T. Influence of repeated applications of glyphosate on its persistence and soil bioactivity. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 11, p. 1329-1335, 2003.
- ARAÚJO, A. S. F. de; MONTEIRO, R. T. R.; ABAKERLI, R. B. Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils. **Chemosphere**, Oxford, v. 52, p. 799-804, 2003.
- ARAÚJO, A. S. F. de; MONTEIRO, R. T. R.; ABAKERLI, R. B.; SOUZA, L. S. de. Biodegradação de glifosato em dois solos brasileiros. **Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 13, p. 157-164, jan./dez. 2003.
- BELLALLOUI, N.; REDDY, K. N.; ZABLOTOWCZ, R. M.; MENGISTU, A. Simulated Glyphosate drift influences nitrate assimilation and nitrogen fixation in non-glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 54, p. 3357-3364, 2006.
- BORGES, K. P.; CONEGLIAM, C. M. R.; JESUS, M. A.; DELLAMATRICE, P. M.; MONTEIRO, R. T. R.; TSAI, S. M. Efeito do herbicida glifosato sobre a comunidade microbiana em solos com sistema de plantio direto complementado com vermicomposto. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, p. 714-717, 2004.
- CAMARGO, O. A.; MONIZ, A. C.; JORGE, J. A.; VALADARES, J. M. **Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do Instituto Agrônomo de Campinas**. Campinas: IAC, 1986. 94 p. (IAC Boletim Técnico, 106).
- CASTRO JÚNIOR, J. V. de; SELBACH, P. A.; ZÁCHIAAYUB, M. A. Z. Avaliação do efeito do herbicida glifosato na microbiota do solo. **Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 16, p. 21-30, jan./dez. 2006.
- CHEAH, U. B.; KIRKWOOD, R. C.; LUM, K. Y. Adsorption, desorption and mobility of four commonly used pesticides in Malasyan agricultural soils. **Pesticide Science**, London, v. 50, p. 53-63, 1997.
- CHEAH, U. B.; KIRKWOOD, R. C.; LUM, K. Y. Degradation of four commonly used pesticides in Malasyan agricultural soils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n. 3, p. 1217-1223, 1998.

COMPÊNDIO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS. Guia Prático de produtos fitossanitários para uso agrícola, 7 ed. São Paulo: Organização Andrei, São Paulo, 2005. 1141 p.

COSTA, M. A. **Biodegradação de  $^{14}\text{C}$ -ametrina em Areia Quartzosa com adição de palha de cana e solo rizosférico.** 1983. 107 p. Dissertação (Mestrado em Energia Nuclear na Agricultura) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1983.

DAMIN, V. **Biodegradação, sorção e desorção do herbicida  $^{14}\text{C}$ -diuron em dois latossolos tratados com lodo de esgoto.** 2005. 71 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

EBERBACH, P. Applying non-steady-state compartmental analysis to investigate the simultaneous degradation of soluble and sorbed glyphosate (N-(Phosphonomethyl)glycine) in four soils. **Pesticides Science**, London, v, 52, p. 229-240, 1998.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análises de solo.** 2.ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CNPS, 1997. 212 p.

FREITAS, J. R.; NASCIMENTO FILHO, V.; VOSE, P. B.; RUSCHEL, A. P. Estimativa da atividade da microflora heterotrófica em um solo de terra roxa estruturada usando respirometria com glicose  $^{14}\text{C}$ . **Energia Nuclear e Agricultura**, Piracicaba, v. 1, p. 123-130, 1979.

GERRITSE, R. G.; BELTRAN, J.; HERNANDEZ, F. Adsorption of atrazine, simazine and glyphosate in soils of the Gngangara Mound. **Australian Journal of Soil Research**, Collingwood, v. 34, p. 599-607, 1996.

GIMSING, A.L.; BORGGAARD, O.K.; BANG, M. Influence of soil composition on adsorption of glyphosate and phosphate by contrasting Danish soils. **European Journal of Soil Science**, Oxford., v. 55, p. 183–199, 2004.

GLASS, R. L. Adsorption of glyphosate by soils and clay minerals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 35, p. 497-500, 1987.

HANCE, R. J. Adsorption of glyphosate by soils. **Pesticides Science**, London, v. 7, p. 363-366, 1976.

HANEY, R. L.; SENSEMAN, S. A.; HONS, F. M.; ZUBERER, D. A. Effect of glyphosate on soil microbial activity and biomass. **Weed Science**, Oxford, v. 48, p. 89-93, 2000.

HEINONEN-TANSKI, H.; ROSENBERG, C.; SILTANEN, H.; KILPI, S.; SIMOJOKI, P. The effect of the annual use of pesticides on soil microorganisms, pesticide residues in the soil and barley yields. **Pesticides Science**, London, v. 16, p. 341-348, 1985.

INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE. **Manual de testes para a avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos.** 2.ed. Brasília, 1990. 351 p.

JACKSON, L.M. **Soil chemical analysis: advanced course**. Madison: American Society of Agronomy, 1969. 894 p.

JONGE, H. de; JONGE, L. W. de. Influence of pH and solution composition on the sorption of glyphosate and prochloraz to a sandy loam soil. **Chemosphere**, Oxford, v. 39, n. 5, p. 753-763, 1999.

JONGE, H. de; JONGE, L. W. de; JACOBSEN, O. H.; YAMAGUSHI, T.; MOLDRUP, P. Glyphosate sorption in soils of different pH and phosphorus content. **Soil Science**, Baltimore, v. 166, p. 230-238, 2001.

JÓZEFACIUK, G.; SOKOLOWSKA, Z.; HAJNOS, M.; HOFFMANN, C.; RENGER, M. Large effect of leaching of DOC on water adsorption properties of a sandy soil. **Geoderma**, Amsterdam, v. 74, p. 125-137, nov. 1996.

MATTOS, M. L.T.; PERALBA, M.C.R.; DIAS, S.L.P.; PRATA, F.P.; CAMARGO, L. Monitoramento ambiental do glifosato e do seu metabólito (ácido aminometilfosfônico) na água de lavoura de arroz irrigado. **Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 12, p. 145-154, 2002.

McCONNEL, J. S.; HOSSNER, L. R. pH-Dependent adsorption isotherms of glyphosate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 33, p. 1075-1078, 1985.

MEKARU, T.; UEHARA, G. Anion adsorption in ferruginous tropical soils. **Soil Science of America Proceedings**, Madison, v. 36, n. 2, p. 296-300, 1972.

MEURER, E. J. **Fundamentos de química do solo**. 2.ed. Porto Alegre: Genesis, 2004. 290 p.

MILES, C. J.; MOYE, H. A. Extraction of glyphosate herbicide from soil and clay minerals and determination of residues in soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 36, p. 486-491, 1988.

MOREIRA, F. M. S. de; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2002. 626 p.

NÓBREGA, J. C. A; LIMA, J. M.; GUERREIRO, M. C.; RIGITANO, R. L. de; MORENO, S. A. C. Retenção do fungicida triadimenol em latossolos em razão da calagem e da fosfatagem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 5, p. 503-511, maio 2005.

NOMURA, N. S.; HILTON, H. W. The adsorption and degradation of glyphosate in five Hawaiian sugarcane soils. **Weed Research**, Oxford, v. 17, p. 113-121, 1977.

PEIXOTO, M. F. S. P.; LAVORENTI, A.; REGITANO, J. B.; TORNISIELO, V. L. PEIXOTO, C. P.; SAMPAIO, L. S. V.; SAMPAIO, H. S. V. Remobilização de resíduos ligados de <sup>14</sup>C-atrazina em ácidos fúlvicos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 2, p. 340-346, 2005.

PRATA, F.; CARDINALI, V. C. B.; LAVORENTI, A.; TORNISIELO, V. L.; REGITANO, J. B. Glyphosate sorption and desorption in soils with distinct phosphorus levels. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 1, p. 175-180, 2003.

PRATA, F.; LAVORENTI, A.; REGITANO, J. B.; TORNISIELO, V. L. Influência da matéria orgânica na sorção e dessorção do glifosato em solos com diferentes atributos mineralógicos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, p. 947-951, 2000.

PRATA, F.; LAVORENTI, A.; REGITANO, J. B.; TORNISIELO, V.L. Degradação e sorção da ametrina em dois solos com aplicação de vinhaça. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Viçosa, v. 36, n. 7, p. 975-981, 2001.

PRATA, F.; LAVORENTI, A.; REGITANO, J.B.; VEREECKEN, H.; TORNISIELO, V.L.; PELISSARI, A. Glyphosate behavior in a Rhodic Oxisol under no-till and conventional agricultural systems. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.29, n.1, p.61-69, 2005.

RUEPPEL, M. L.; BRIGHTWELL, B. B.; SCHAEFER, J.; MARVEL, J. T. Metabolism and degradation of glyphosate in soil and water. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 25, n. 3, p. 517-528, 1977.

SILVA, M. D. da; PERALBA, M. C. R.; MATTOS, M. L. T. Determinação de glifosato e ácido aminometilfosfônico em águas superficiais do Arroio Passo do Pilão. **Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 13, p. 19-28, 2003.

SORENSEN, S. R.; SCHULTZ, A.; JACOBSEN, O. S.; AAMAND, J. Sorption, desorption and mineralisation of the herbicides glyphosate and MCPA in samples from two Danish soil and subsurface profiles. **Environmental Pollution**, Barking, v. 141, p. 184 – 194, 2006.

SOUZA, A. P.; FERREIRA, F. A.; SILVA, A. A. Respiração microbiana do solo sob doses de glyphosate e de imazapyr. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 17, p. 387-398, 1999.

SPARKS, D.L. **Environmental soil chemistry**. California: Academic Press, 1995. 267 p.

SPRANKLE, P.; MEGGIT, W. F.; PENNER, D. Adsorption, mobility and microbial degradation of glyphosate in the soil. **Weed Science**, Oxford, v. 23, p. 229-234, 1975.

TONI, L. R. M.; SANTANA, H. de; ZAIA, D. A. M. Adsorção de glifosato sobre solos e minerais. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 829-833, 2006.

TUFFI-SANTOS, L. D.; FERREIRA, F. A.; BARROS, N. F.; SIQUEIRA, C. H.; SANTOS, I. C.; MACHADO, A. F. L. Exsudação radicular do glyphosate por *Brachiaria decumbens* e seus efeitos em plantas de eucalipto e na respiração microbiana do solo. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 23, n. 1, p. 143-152, 2005.

UEHARA, G.; GILLMAN, G. P. Charge characteristics of soils with variable and permanent charge minerals. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 44, p. 250-252, 1980.

VERECKEN, H. Mobility and leaching of glyphosate: a review. **Pesticides Management Science**, Hoboken, v. 61, p. 1139–1151, 2005.

ZHOU, D. M.; WANG, Y. J.; CANG, L.; HAO, X. Z.; LUO, X. S. Adsorption and cosorption of cadmium and glyphosate on two soils with different characteristics. **Chemosphere**, Oxford, v. 54, p. 1237-1244, 2004.

## 4 EFEITO DA CALAGEM NA REMOBILIZAÇÃO DOS RESÍDUOS LIGADOS DE <sup>14</sup>C-GLIFOSATO EM SOLOS

### Efeito da calagem na remobilização dos resíduos ligados de <sup>14</sup>C-glifosato em solos

#### Resumo

Grande parte dos pesticidas normalmente utilizados na agricultura, quando alcançam os solos formam os chamados resíduos ligados. Estes merecem atenção especial quando constituem a fração principal de um pesticida no solo, como ocorre com o herbicida glifosato. Isso porque os resíduos ligados podem em algum momento, serem remobilizados e apresentar efeitos ecotoxicológicos e ambientais. Diante desses aspectos, o objetivo desta pesquisa foi investigar o efeito da calagem na remobilização dos resíduos ligados de <sup>14</sup>C-glifosato, previamente formados em um Latossolo Vermelho (LE) e em um Neossolo Quartzarênico (RQ). Para isso, monitorou-se a evolução de <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> semanalmente, por um período de 63 dias, sob condições controladas de umidade e temperatura. Paralelamente, foi conduzido ensaio de atividade microbiana pelo método de radiorespirometria, com uso de <sup>14</sup>C-glicose, com os mesmos tratamentos do estudo de remobilização. Os dois ensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 2, correspondente a duas classes de solos (LE e RQ) e a duas condições de manejo (com e sem calagem). A calagem aumentou significativamente a respiração microbiana no LE, o que não ocorreu no RQ. No entanto, essa prática favoreceu a remobilização dos resíduos ligados de <sup>14</sup>C-glifosato nos dois solos estudados. Os solos não tratados com calagem apresentaram remobilização baixa e constante durante todo o período de avaliação. Comparando os resultados de atividade microbiana com os de remobilização foi possível observar que somente no solo LE a atividade se correlacionou positivamente com a remobilização. A contribuição dos resultados obtidos neste trabalho é de que os resíduos ligados de <sup>14</sup>C-glifosato formados nos solos podem ser mineralizados pelos microrganismos e que a prática da calagem tem grande influência na remobilização. Portanto, mais estudos com resíduos ligados de glifosato são importantes para se conhecer a dinâmica desta fração no ambiente, principalmente frente a outras práticas de manejo dos solos.

Palavras-chave: Efeitos ambientais; Mineralização; Microrganismos

## Liming effects on remobilization <sup>14</sup>C-glyphosate bound residues in soils

### Abstract

Great part of pesticides used in the agriculture form the so-called bound residues after reaching soil. Bound residues deserve special attention mainly when they are the main fraction of a pesticide in the soil, as occurs with glyphosate. After certain time, bound residues may be remobilized and then exert ecotoxicological impacts. Under this aspect, the aim of this research was to investigate the liming effect in the remobilization of <sup>14</sup>C-glyphosate bound residues formed in a Red Latosol (LE) and a Quartzarenic Neosol (RQ). The <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> evolution was weekly monitored during 63 days under controlled temperature and humidity. At same time, it was carried out an experiment to evaluate the microbial activity by using the radiorespirator method with <sup>14</sup>C-glycose in the same treatments employed in the remobilization study. Both experiments were done at randomized design and factorial 2 x 2 scheme corresponding to two soil classes (LE and RQ) and to two management practices (liming and no-liming). Liming significantly increased the microbial respiration only in the LE soil and had positive effect on the remobilization of <sup>14</sup>C-glyphosate bound residues in both soils. No-limed soils presented lower remobilization, which was constant during all experimental period. By comparing the microbial activity and the remobilization results it was possible to verify that the microbial activity was directly correlated with the remobilization only in the LE soil. The experimental results allow concluding that <sup>14</sup>C-glyphosate bound residues formed in the studied soils can be mineralized by microorganisms and that the liming practice has great influence on this process. More studies should be carried out with glyphosate bound residues in order to get more information about the dynamics of this fraction in soils submitted to other management practices.

Keywords: Environmental effects; Mineralization; Microorganisms

#### 4.1 Introdução

O glifosato, n-(fosfonometil)glicina, é um importante herbicida utilizado no Brasil. É um herbicida pós-emergente, não seletivo, que tem largo uso doméstico e agrícola. Uma grande quantidade desta molécula pode alcançar o solo após sua aplicação em plantas daninhas, no entanto, o plantio de uma cultura pode ser realizado logo após sua aplicação, sem causar injúrias na mesma (McCONNEL; HOSSNER, 1985). De acordo com a literatura, isso se deve a sua rápida inativação nos solos. Essa inativação, segundo Sprankle; Meggit e Penner (1975) é devida a degradação do glifosato pela microbiota do solo e a sorção da molécula às partículas do solo. A sorção, entretanto, parece ser o processo mais importante na inativação do glifosato nos solos, a qual influencia diretamente o comportamento e disponibilidade da molécula.

O glifosato é um herbicida altamente sorvido aos solos, principalmente na sua fração mineral (VERECKEN, 2005). Os mecanismos de ligação do glifosato com as partículas dos solos envolvem elevada energia, razão pela qual sua extração normalmente é baixa ou inexistente (JONGE et al., 2001). Dessa forma, uma vez sorvido, o glifosato pode permanecer nos solos como resíduo ligado permanecendo no ambiente até a sua completa mineralização, que pode durar dias ou anos conforme relatado por Toni; Santana e Zaia (2006).

A definição de resíduo ligado adotada pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) e aceita na literatura, segundo Gevaio; Semple e Jones (2000) é: “resíduos ligados são espécies químicas originadas de pesticidas, que não são passíveis de serem extraídas por métodos que não mudem a natureza química desses resíduos” e uma modificação neste conceito foi proposta por Führ et al. (1998), onde resíduo ligado abrange compostos que persistem não somente em solos, mas em plantas e animais e que o método de extração não deve alterar também a estrutura da matriz.

O resíduo ligado de pesticidas em solos é formado pelas ligações químicas ou físicas entre a molécula do pesticida e a matriz do solo, e tem sido detectado em todas as classes de pesticidas, em quantidades que variam de 20% a 90% do composto aplicado (CALDERBANK, 1989). A formação de resíduo ligado pode ter como consequência para o composto orgânico a diminuição da sua degradação, a perda da sua identidade química (CALDERBANK, 1989), a perda da sua função biológica e a alteração do transporte dessas moléculas no solo.



Existe recentemente grande preocupação em relação a liberação de resíduos ligados de pesticidas em solos. Os componentes que podem ser diretamente impactados pela liberação desses resíduos, devido a proximidade, podem ser plantas, organismos aquáticos e microrganismos do solo. Na natureza, resíduos ligados podem ser liberados por mecanismos físico-químicos ou por processos bioquímicos, sendo a atividade dos microrganismos o fator primário responsável pela liberação dos resíduos ligados em solos (GEVAO; SEMPLE; JONES, 2000). Se por qualquer razão, o resíduo ligado do pesticida é novamente mobilizado, o nome remobilização é usualmente utilizado (LAVORENTI et al., 1998).

Segundo Yee; Weinberger e Khan (1985), os resíduos ligados podem representar uma reserva potencial de compostos que podem interagir com outros componentes do ecossistema e exercer atividade biológica. Realmente, alguns estudos revelam que resíduos ligados podem ser liberados pela atividade microbiana (KHAN; IVARSON, 1981), ou por mudanças físico-químicas nos constituintes dos solos (HAYAR et al., 1997) e poder assim, ter efeitos ecotoxicológicos. Estudos também indicam que pode haver a absorção de resíduos ligados por minhocas e plantas (FUHREMANN; LICHTENSTEIN, 1978; YEE; WEINBERGER; KHAN, 1985).

Yee; Weinberger e Khan (1985) estudaram o efeito do pH, da adição de fertilizantes nitrogenados e de diferentes espécies de plantas (soja e trigo) na remobilização de resíduos ligados de prometrina. Observaram que nos valores de pH acima de 6,0, os resíduos ligados foram liberados em maior extensão. Esse comportamento foi relacionado ao efeito do pH na mudança estrutural da matéria orgânica, com relação a forma e ao tamanho, as quais resultaram na liberação do resíduo ligado. Com relação aos fertilizantes, os que possuíam  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  aumentaram a liberação dos resíduos. O plantio de soja nos solos resultou em maior liberação dos resíduos ligados comparado ao de trigo, devido principalmente aos diferentes microrganismos presentes na rizosfera destas plantas. No entanto, tanto a soja quanto o trigo foram capazes de absorver e translocar os resíduos ligados do pesticida.

Khan e Ivarson (1981) avaliaram a liberação dos resíduos ligados de prometrina em um solo orgânico e verificaram que os mesmos foram remobilizados pelos microrganismos presentes nos solos. No entanto, Hayar et al. (1997) observaram que a liberação dos resíduos ligados de atrazina em um solo argiloso não foi relacionada aos microrganismos do solo, mas sim as mudanças físico-químicas ocorridas em função das várias extrações, da secagem dos solos, seu

reumedecimento e da temperatura de incubação para a montagem do experimento de remobilização.

A remobilização dos resíduos ligados do parathion em um solo franco siltoso foi investigada por Fuhremann e Lichtenstein (1978). Os autores verificaram que parte dos resíduos ligados do inseticida foram liberados e absorvidos por minhocas e por plantas de aveia e dentro destas foram translocados.

A absorção de resíduos ligados de pesticidas por plantas pode ter como consequência sua transferência ao longo da cadeia alimentar. No entanto, resíduos ligados de alguns pesticidas são remobilizados em baixa extensão. Nakagawa e Andréa (2000), estudaram a liberação de resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -atrazina em um solo Glei Húmico e em um Latossolo Vermelho Escuro e sua absorção por plantas de feijão e de arroz. Os autores observaram baixa liberação dos resíduos ligados e as plantas não foram capazes de absorver os resíduos de atrazina.

O tempo de contato entre o pesticida e a matriz do solo também influencia a remobilização dos resíduos ligados. Andréa e Wiendl (1995) investigaram o efeito do tempo na bioliberação de resíduos ligados do parathion em dois solos. As avaliações foram feitas imediatamente e após 3 meses da aplicação do inseticida e os autores observaram que os resíduos foram mais fracamente ligados imediatamente após o tratamento com parathion do que após o maior tempo de interação. Isso resultou em uma remobilização mais elevada no primeiro período da avaliação.

Segundo Geva; Semple e Jones (2000), a atividade da microbiota dos solos é a principal responsável pela liberação ou remobilização dos resíduos ligados dos pesticidas da matriz do solo. Assim, a introdução de materiais que estimulem os microrganismos dos solos, a exemplo de compostos orgânicos, de práticas agrícolas como a calagem, podem alterar a biodisponibilidade dos resíduos ligados.

Peixoto et al. (2005) avaliaram a remobilização dos resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -atrazina em ácidos fúlvicos de um Latossolo Vermelho-Escuro e de um Gleissolo Húmico durante 49 dias, com os tratamentos palha de milho e glicose + peptona. Verificaram que os dois solos apresentaram uma baixa mineralização dos resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -atrazina em ácidos fúlvicos e a adição dos tratamentos não influenciaram nem na mineralização e nem a disponibilidade dos resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -atrazina.

Lavorenti et al. (1998) estudaram a remobilização de resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -anilazina em ácidos fúlvicos, em dois solos da Alemanha, aplicando-se os tratamentos palha de milho e glicose

+ peptona. Observaram baixa liberação de  $^{14}\text{CO}_2$  em todos os tratamentos avaliados, indicando que os resíduos ligados de anilazina em ácidos fúlvicos não foram apreciavelmente mineralizados. Segundo os autores, possivelmente, os microrganismos se concentraram na utilização nas fontes externas de carbono e energia, antes de utilizarem o resíduo ligado dos ácidos fúlvicos.

A extensão quantitativa e a importância dos resíduos ligados nos solos ainda não são bem conhecidas. Dessa forma, os riscos ecotoxicológicos e a disponibilidade para os microrganismos dos solos e a sua biodegradação, devem ser mais bem compreendidos. Do ponto de vista ambiental, necessita-se saber se estes resíduos podem ser bioliberados e representar contaminação a longo prazo.

Os estudos de remobilização de pesticidas em solos começaram a serem realizados recentemente e é interesse de pesquisadores em várias partes do mundo, inclusive no Brasil. Estudos com este enfoque demandam tempo, pois envolvem a formação de resíduos ligados de um determinado pesticida e a sua remobilização.

A formação de resíduos ligados de glifosato foi observado por vários autores. No Brasil, Prata et al. (2000) estudaram o efeito da matéria orgânica na retenção do glifosato em solos, e observaram que praticamente a totalidade do herbicida aplicado no solo ficou na forma de resíduo ligado. Mattos et al. (2002), observaram formação de resíduo ligado de glifosato em um Gleissolo Háplico.

No entanto, não há na literatura estudos sobre a remobilização deste importante herbicida em solos, principalmente diante de práticas agrícolas, tal como a calagem. Estudos a esse respeito são considerados de grande importância, por ser o glifosato uma molécula bastante utilizada não só no Brasil mas em todo o mundo e com grande potencial para a formação de resíduo ligado.

Este trabalho se baseou na hipótese de que a calagem realizada nos solos, por melhorar as condições químicas e biológicas, favoreça a remobilização dos resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato.

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a remobilização dos resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato em um Latossolo Vermelho (LE) e em um Neossolo Quartzarênico (RQ), tratados ou não com calagem.

## 4.2 Desenvolvimento

### 4.2.1 Material e Métodos

#### 4.2.1.1 Coleta e caracterização das amostras de solos

Para a realização do estudo, foram coletadas amostras superficiais (0 – 20 cm) de um Latossolo Vermelho (LE) e de um Neossolo Quartzarênico (RQ), localizados no município de Piracicaba/SP.

Foram realizadas análises físicas, químicas e mineralógicas para a caracterização dos solos. O atributo físico avaliado foi a granulometria, que foi realizada pelo método do densímetro, conforme Camargo et al. (1986). A areia total foi fracionada em conjunto de peneiras, obtendo-se a areia muito grossa, grossa, média, fina e muito fina (Tabela 2.1)

Os atributos químicos analisados foram os íons do complexo sortivo, conforme metodologia proposta pela EMBRAPA (1997). O enxofre (S) e o nitrogênio (N) foram determinados pelo analisador elementar da marca Thermo. Também foram obtidos os valores de pH em água e em cloreto de potássio dos solos, os quais foram utilizados para calcular os valores de  $\Delta\text{pH}$  (MEKARU; UEHARA, 1972) (Tabela 2.2).

Para a caracterização química, também foi avaliado o teor de matéria orgânica presente nos solos, a qual foi determinada utilizando o método de Walkley-Black (EMBRAPA, 1997). A partir dos teores dos íons do complexo sortivo, foram calculados a soma de bases (S), o índice de saturação de bases (V), a capacidade de troca de cátions efetiva (t) e potencial (T), a acidez trocável (H + Al) e o índice de saturação por alumínio (m). Os resultados estão apresentados na Tabela 2.3.

Os teores de óxidos de ferro, alumínio, titânio, manganês e de silício, foram determinados pelos ataques sulfúrico e alcalino, segundo EMBRAPA (1997). A partir desses resultados foram calculados os índices de intemperismo  $K_i$  e  $K_r$  (Tabela 2.4).

Os minerais presentes nos solos foram determinados pela difratometria de raios-X (DRX). Foram realizados pré-tratamentos nas amostras, os quais estão descritos em Jackson (1969) e Camargo et al. (1986). Pela análise térmica diferencial (ATD) foram quantificados os minerais caulinita e gibbsita (Tabela 2.5).

#### 4.2.1.2 Incubação dos solos com calcário

Parte das amostras de solos, foram passadas em peneira com malha de 2 mm e incubadas com calcário dolomítico, o qual possuía um poder relativo de neutralização total (PRNT) de 91,82%. A dose de calcário aplicada nos solos foi determinada pela curva de incubação para estimativa da quantidade necessária para se elevar o pH dos solos a aproximadamente 6,0. As amostras foram incubadas com calcário por período suficiente para o pH ficar constante, o que aconteceu com aproximadamente trinta dias de incubação, em sala climatizada ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ), com umidade mantida em torno de 60% da capacidade de campo.

A capacidade de campo dos solos foi determinada pelo método do torrão separado pela frente de molhamento, conforme metodologia proposta por Costa (1983). Os valores encontrados foram de 36,6% para o LE e de 26,52% para o RQ.

Após a incubação com calcário, se realizou análise química dos solos, para avaliar as mudanças nos atributos dos solos. Para isso, foram determinados os valores de pH em água e em KCl, os quais foram utilizados para calcular os valores de  $\Delta\text{pH}$  (MEKARU; UEHARA, 1972). Foram determinados os íons do complexo sortivo ( $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e P) segundo EMBRAPA (1997) e os teores de S e N pelo analisador elementar da marca Thermo (Tabela 3.1). De posse desses resultados foram calculados a soma de bases (S), o índice de saturação de bases (V), a capacidade de troca de cátions efetiva (t) e potencial (T), a acidez trocável (H + Al) e o índice de saturação por alumínio (m) (Tabela 3.2).

#### 4.2.1.3 Formação dos resíduos ligados de $^{14}\text{C}$ -glifosato

Para a obtenção dos resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato, foi realizado o experimento preliminar de influência da calagem na mineralização de  $^{14}\text{C}$ -glifosato em duas classes de solos, conforme relatado no capítulo 3, por um período de 70 dias (Figura 4.1). Os tratamentos utilizados foram: Latossolo Vermelho sem calagem (LESC), Latossolo Vermelho com calagem (LECC), Neossolo Quartzarênico sem calagem (RQSC) e Neossolo Quartzarênico com calagem (RQCC).

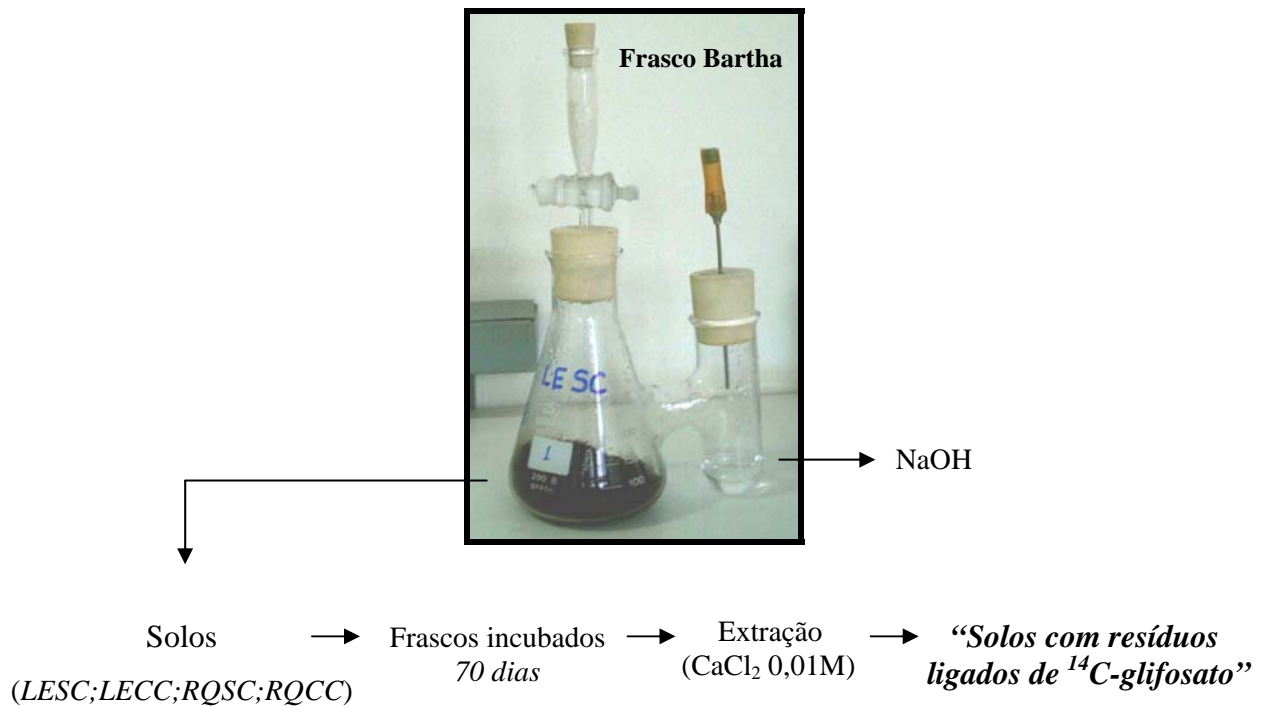


Figura 4.1 – Esquema das etapas para a formação dos resíduos ligados de <sup>14</sup>C-glifosato nos solos estudados

Após o período de 70 dias, foram realizadas 4 extrações do glifosato nos solos com CaCl<sub>2</sub> (0,01 mol L<sup>-1</sup>). O uso dessa solução aquosa salina reflete a capacidade máxima de extração do herbicida glifosato, pois esta molécula possui comportamento hidrofílico. Logo após as extrações, os solos foram secos em estufa em temperatura menor que 40°C. Posteriormente, os solos foram levemente macerados e a quantidade de resíduo que ainda permanecia ligado foi determinado por combustão de 0,4 g de solo em triplicata, a 900°C com fluxo de 270 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup> de O<sub>2</sub> por 3 minutos, em oxidador biológico (Harvey Instrument, OX 500). Portanto, ao final do processo, se obteve os tratamentos com resíduo ligado de <sup>14</sup>C-glifosato, que possibilitou a realização do experimento de remobilização.

Paralelamente ao ensaio de mineralização, monitorou-se a atividade microbiana por um período de 70 dias com os mesmos tratamentos (LESC; LECC; RQSC; RQCC). A concentração utilizada de glifosato foi a mesma usada para a mineralização (2,4 μg g<sup>-1</sup> de solo), porém utilizando somente o produto frio, que possuía pureza de 95,6%. Ao final de 70 dias, foi realizada 4 extrações do glifosato nos solos com CaCl<sub>2</sub> (0,01 mol L<sup>-1</sup>) e os solos foram secos em estufa, que consistiu do mesmo procedimento realizado no ensaio de mineralização. Obtendo-se assim, o

resíduo ligado de glifosato em todos os tratamentos para avaliação da atividade microbiana durante o desenvolvimento do ensaio de remobilização.

#### **4.2.1.4 Estudo de remobilização e atividade microbiana**

No ensaio de remobilização foram utilizados os mesmos tratamentos do ensaio de mineralização: Latossolo Vermelho sem calagem (LESC), Latossolo Vermelho com calagem (LECC), Neossolo Quartzarênico sem calagem (RQSC) e Neossolo Quartzarênico com calagem (RQCC).

Todas as amostras continham  $^{14}\text{C}$ -resíduos previamente ligados do herbicida glifosato, com quantidades de radioatividade média de 11,99 kBq g<sup>-1</sup> para o LESC; 11,35 kBq g<sup>-1</sup> para o LECC; 8,67 kBq g<sup>-1</sup> para o RQSC e 7,97 kBq g<sup>-1</sup> para o RQCC.

Os solos com resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato foram acondicionados em frascos de Bartha na quantidade de 45 g (base seca), em 4 repetições. Aos diferentes tratamentos, contendo os resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato foram adicionados 15 g (base seca) do mesmo tipo de solo e com o mesmo tratamento (com e sem calagem), porém sem resíduo ligado. Após, foi realizada a homogeneização dos solos e os frascos foram mantidos em sala climatizada ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) durante 63 dias de realização do experimento. O experimento de remobilização está representado na Figura 4.2.

Das misturas presentes nos frascos de Bartha, retirou-se subamostras para a combustão em oxidador biológico, para a determinação da radioatividade inicial presente em cada frasco de Bartha, após a mistura. Em seguida, elevou-se a umidade das misturas para 60% da capacidade de campo. A capacidade de campo foi determinada conforme metodologia proposta por Costa (1983).

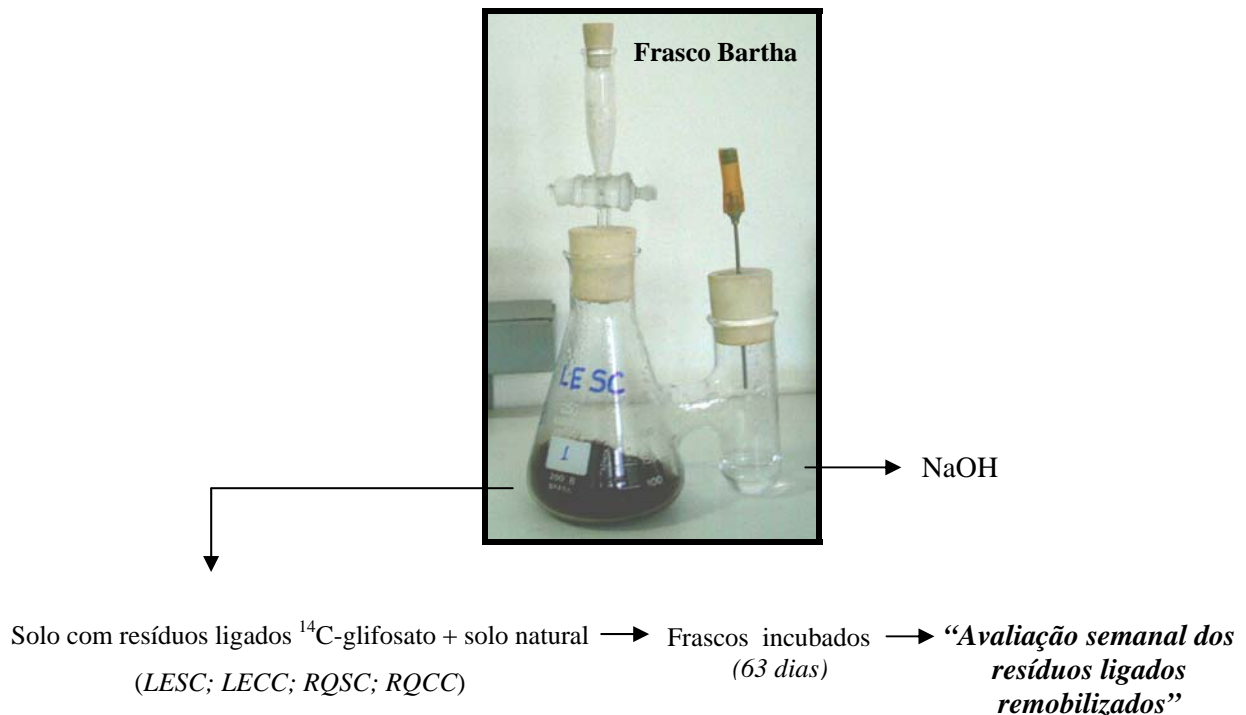


Figura 4.2 – Esquema geral para avaliação da remobilização dos resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato nos solos estudados

Os solos naturais que foram adicionados aos que continham os resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato, foram incubados com calcário e armazenados em geladeira a temperatura de aproximadamente  $4^\circ\text{C}$ . Uma semana antes da adição aos frascos de Bartha, a umidade das amostras foi elevada a 60% da capacidade de campo e as mesmas foram mantidas em sala climatizada ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ), no escuro, para reativar os microrganismos presentes.

A possibilidade de liberação dos resíduos ligados presentes, foi verificada por meio do metabolismo microbiano, por um período de 63 dias. Na lateral dos frascos de Bartha foi acondicionado 10 mL de NaOH  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ . Essa solução foi trocada nos dias 1, 3, 5, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 e 63 após o início do experimento, para a determinação do  $^{14}\text{CO}_2$  desprendido. Em cada dia de avaliação, duas alíquotas de 1 mL de NaOH foram transferidas para frascos de cintilação contendo 10 mL de solução cintiladora e os mesmos eram levados para leitura em Espectrômetro de Cintilação Líquida (ECL), para a detecção da radioatividade presente.

Após 63 dias de avaliação, foi realizada a extração do  $^{14}\text{C}$ -glifosato com  $\text{CaCl}_2$  ( $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ ) por 4 vezes. Em cada extração, foi adicionado 120 mL de cloreto de cálcio e a mistura solo e solução salina foi agitada por 2 horas em agitador horizontal a 180 rpm. Em seguida, as amostras



foram centrifugadas a 4000 rpm por 20 minutos. Os sobrenadantes provenientes das extrações foram concentrados em roto-evaporador a 40°C, para obtenção de um volume final de 5 mL.

Após a rotoevaporação, foi retirada uma alíquota de 100 µL para leitura em ECL e sendo suficiente a radioatividade presente na amostra, foi feita a placa de cromatografia de camada delgada (TLC) para determinação dos metabólitos formados. Para a realização da placa, aplicou-se 200 µL de cada concentrado em um ponto. Imediatamente após a aplicação dos pontos, foi feita a eluição da placa em uma cuba cromatográfica, utilizando como solventes 30 mL de ácido tricloroacético 10%; 60 mL de metanol e 10 mL de hidróxido de amônio (NH<sub>4</sub>OH) 25%. Após a secagem das placas, procedeu-se a detecção dos metabólitos no Automatic TLC-Linear Analyser Berthold. Não foi possível a realização das placas para os tratamentos LESC e LECC, pois a radioatividade presente não foi suficiente para a detecção no analisador.

Os solos oriundos das extrações foram secos em estufa, macerados e subamostras de 0,4 g de solo, em triplicata, foram submetidos a combustão em oxidador biológico, para posterior determinação dos resíduos ligados ainda presentes nos solos. A radioatividade de todas as amostras foi quantificada por contagem em ECL.

Juntamente com o ensaio de remobilização, foi avaliada a atividade microbiana por um período de 63 dias. Após o ensaio preliminar de atividade microbiana, foi adicionado em frascos de Bartha, 45 g dos solos com resíduos ligados de glifosato e 15 g dos solos naturais nos respectivos tratamentos, em três repetições. A forma como foi preparado o ensaio de atividade microbiana foi idêntico ao de mineralização dos resíduos ligados de <sup>14</sup>C-glifosato (mesmos tratamentos e mesmas quantidades de solos).

Os frascos de Bartha incubados para a o ensaio de atividade microbiana, foram armazenados em sala climatizada a 25 ± 2°C e a atividade avaliada nos dias 0, 4, 7, 21, 35, 49 e 63 dias após a montagem do experimento. Mediu-se a atividade microbiana dos solos por meio de radiorespirometria de <sup>14</sup>C-glicose, conforme metodologia proposta por Freitas et al. (1979).

O delineamento experimental utilizado tanto para o ensaio de remobilização quanto para o de atividade microbiana foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 2, correspondente a duas classes de solos (LE e RQ) e a duas condições de manejo do solo (com e sem calagem). Para os resultados de <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> acumulado (%) e atividade microbiana (µmol glicose g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) foi realizado a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

#### 4.2.2 Resultados e Discussão

A Figura 4.3 mostra a mineralização dos resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato nos diferentes tratamentos avaliados, durante um período de incubação de 63 dias. Nos solos LE e RQ sem calagem, o desprendimento de  $^{14}\text{CO}_2$  foi constante e baixo durante toda a duração do experimento. No entanto, a calagem favoreceu a degradação dos resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato para os dois solos estudados, pois a evolução do  $^{14}\text{CO}_2$  foi maior desde o início do experimento.

Gevao; Semple e Jones (2000), afirmam que a liberação de resíduos ligados de pesticidas ocorre muito lentamente e em extensão mínima, na maioria das vezes. Esse comportamento foi confirmado neste estudo para os dois solos não tratados com calagem. O mesmo foi observado por Peixoto et al. (2005) em um Gleissolo Húmico para resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -atrazina. Os autores relacionaram este comportamento a menor disponibilidade dos resíduos ligados para a degradação e a reduzida habilidade dos microrganismos na sua utilização.

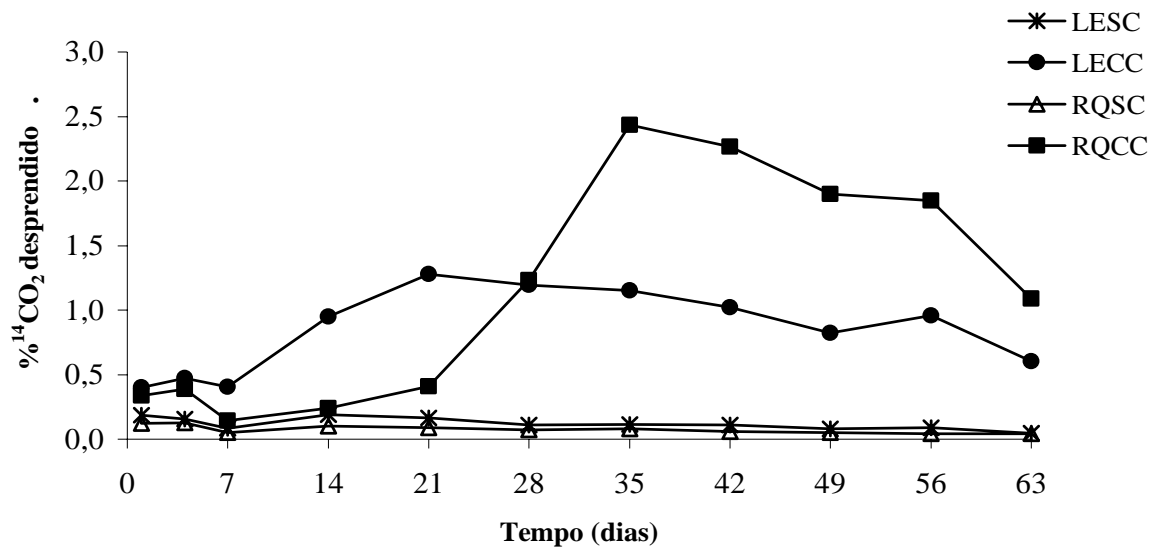


Figura 4.3 -  $^{14}\text{CO}_2$  desprendido, resultante da mineralização de resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato, nos tratamentos Latossolo Vermelho sem calagem (LESC); com calagem (LECC); Neossolo Quartzarênico sem calagem (RQSC) e com calagem (RQCC), durante 63 dias de avaliação

Houve efeito significativo da calagem na liberação de  $^{14}\text{CO}_2$ , para os dois solos estudados. Tanto no LE quanto no RQ tratados com calagem, a mineralização dos resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato foi maior que nos solos sem tratamento de calagem. Dessa forma, por a calagem

melhorar as condições físico-químicas dos solos, possivelmente, propiciou melhores condições para o desenvolvimento dos microrganismos, que remobilizaram maior quantidade de resíduos ligados do herbicida. Segundo Gevaio; Semple e Jones (2000), os resíduos ligados podem ser liberados por mudanças nas práticas agrícolas e pela introdução de certos produtos. Este efeito foi observado por Yee; Weinberger e Khan (1985), os quais estudaram a liberação de resíduos ligados de prometrina sob diferentes condições de pH e adubação nitrogenada. Neste estudo, tanto a elevação do pH quanto a adubação nitrogenada aumentaram a remobilização dos resíduos ligados do pesticida em um solo orgânico.

O comportamento da atividade microbiana nos solos estudados contendo resíduo ligado de  $^{14}\text{C}$ -glifosato, ao longo dos 63 dias de avaliação, está representado na Figura 4.4.

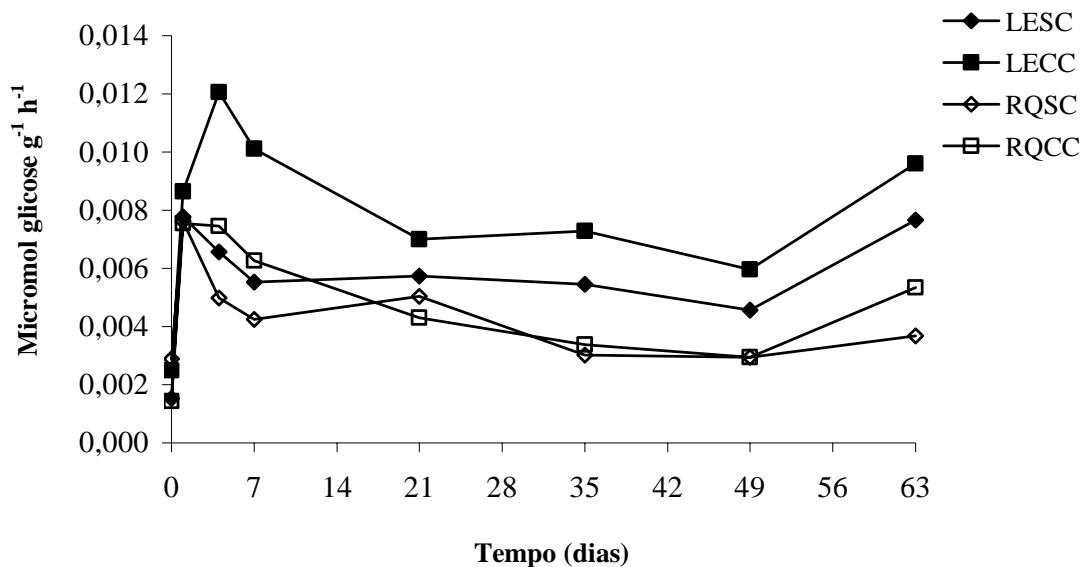


Figura 4.4 - Atividade microbiana do Latossolo Vermelho sem calagem (LESC); com calagem (LECC), Neossolo Quartzarênico sem calagem (RQSC) e com calagem (RQCC), ao longo de 63 dias de avaliação

Podemos observar que em todos os tratamentos avaliados, o comportamento da atividade microbiana foi praticamente o mesmo. Inicialmente, foi verificada uma baixa atividade da microbiota, seguida por um aumento, sendo este mais pronunciado no LECC. A partir do quinto dia de avaliação, aproximadamente, houve novamente redução da atividade, voltando a aumentar próximo aos 49 dias.

Os solos contendo resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato, resultantes do ensaio de mineralização, passaram por uma série de processos como extração, secagem, congelamento, que

possivelmente reduziu a atividade dos microrganismos nesses solos. Assim, no início do experimento, os solos naturais e os contendo resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato haviam sido recentemente misturados, fato que pode ter sido responsável pela reduzida atividade microbiana neste período. Os solos naturais foram adicionados aos solos contendo resíduos ligados com o objetivo de aumentar a quantidade e a atividade dos microrganismos e assim, proporcionar maior metabolismo capaz de mineralizar o glifosato presente como resíduo ligado.

Para a atividade microbiana média (Figura 4.5), os resultados da análise estatística evidenciam que houve diferença significativa entre os solos, tanto no tratamento com calagem quanto no sem calagem, sendo a atividade microbiana média maior no LE. Neste solo, maior atividade microbiana foi encontrada para o tratamento com calagem e no RQ não houve diferença estatística entre os tratamentos.

A calagem estimulou a atividade microbiana no solo LE, devido ao maior teor de nutrientes e ao maior pH, uma vez que os microrganismos dos solos são estimulados em condições de boa fertilidade do solo e em condições de pH mais elevado (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002).

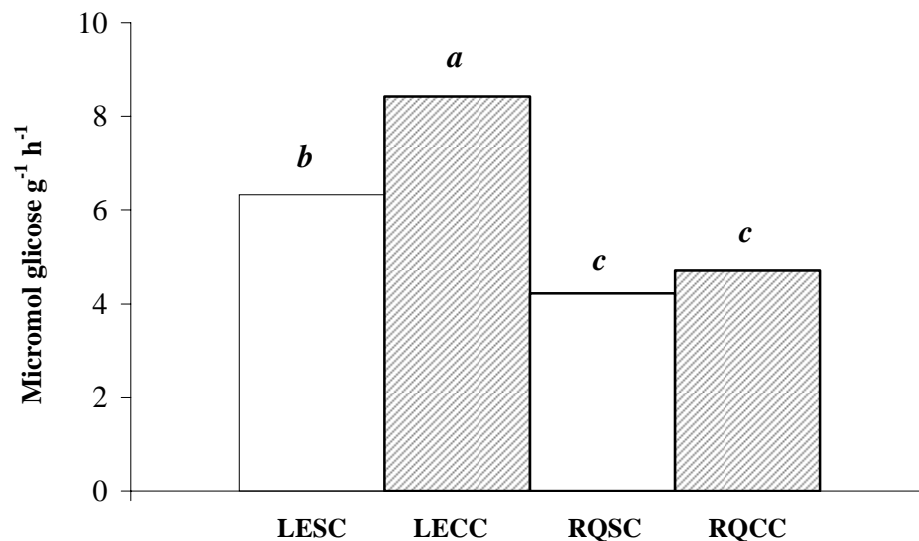


Figura 4.5 - Atividade microbiana média do Latossolo Vermelho sem calagem (LESC); com calagem (LECC), Neossolo Quartzarênico sem calagem (RQSC) e com calagem (RQCC). Letras minúsculas acima das barras comparam a atividade microbiana média entre os tratamentos

O solo LE apresentou maior atividade microbiana que o solo RQ, independentemente da calagem, provavelmente devido a maior fertilidade deste solo tanto antes (Tabelas 2.2 e 2.3)

quanto após o tratamento com calagem (Tabelas 3.1 e 3.2), além do maior teor de matéria orgânica (Tabela 2.2), que propiciou maior quantidade de substratos para os microrganismos.

Comparando os resultados de atividade microbiana com a porcentagem acumulada de  $^{14}\text{CO}_2$  desprendido no experimento de remobilização, pode-se observar que no solo LE, a calagem aumentou a atividade microbiana e a mineralização dos resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato. Este mesmo comportamento não pôde ser observado para o RQ, pois, apesar da atividade microbiana do RQCC ter sido ligeiramente superior a do RQSC, não houve diferença significativa a 5% (Figura 4.5). Assim, a calagem no RQ não apresentou efeito estatístico sobre a respiração dos microrganismos dos solos, no entanto, elevou a capacidade dos microrganismos em metabolizar os resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato. Conforme Moreira e Siqueira (2002) a medida da atividade somente indica sobre a respiração dos microrganismos, que é considerada uma função global. Dessa forma, muitas vezes, a avaliação da respiração dos microrganismos dos solos não pode ser extrapolada para funções específicas, como a mineralização de resíduos ligados.

Por ser os microrganismos de grande importância na remobilização dos resíduos ligados, acredita-se que tratamentos que estimulem a microbiota do solo podem aumentar a remobilização. Com o intuito de verificar este efeito, vários estudos foram realizados neste sentido, tais como os de Lavorenti et al. (1998) e de Peixoto et al. (2005), os quais não confirmaram este efeito. No entanto, Liebich; Burauel e Führ (2000) observaram que o estímulo da atividade microbiana, através da aplicação de glicose, favoreceu a remobilização de resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -anilazina.

Vários estudos relatam que os microrganismos podem ser os principais responsáveis pela remobilização de resíduos ligados de pesticidas (LIEBICH; BURAUUEL; FÜHR, 2000; KHAN; BEHKI, 1990; KHAN; IVARSON, 1981). Assim, a menor mineralização dos resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato dos solos LESC e RQSC deve-se provavelmente, a baixa eficiência dos microrganismos em utilizarem esses resíduos.

Pelos resultados obtidos, podemos inferir que a calagem, por ser uma prática agrícola essencial e extensivamente utilizada para o cultivo de solos brasileiros, é de grande importância na dinâmica de resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato, visto que nos dois solos estudados, ela elevou significativamente a mineralização dos resíduos do herbicida (Tabela 4.1).

A remobilização de resíduos ligados de glifosato ainda não é bem esclarecida, portanto, não se conhece seus efeitos ecotoxicológicos e ambientais. As plantas agrícolas podem ser um dos principais componentes do ecossistema a serem impactados pela liberação dos resíduos ligados (GEVAO; SEMPLE; JONES, 2000). Assim, a remobilização de resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato pode vir a causar injúrias em culturas que se desenvolvam em solo contaminado.

Tabela 4.1 - Distribuição do  $^{14}\text{C}$ -glifosato aplicado no Latossolo Vermelho sem calagem (LESC); com calagem (LECC); Neossolo Quartzarênico sem calagem (RQSC) e com calagem (RQCC)

Solo	$^{14}\text{CO}_2^{(1)}$	Extração <sup>(2)</sup>	Resíduo ligado
LESC	1,33 ± 0,12 <i>c</i>	1,25	93,05
LECC	9,25 ± 0,39 <i>b</i>	1,67	79,88
RQSC	0,84 ± 0,06 <i>c</i>	14,50	89,79
RQCC	12,29 ± 0,45 <i>a</i>	11,62	85,21

<sup>(1)</sup>Resultado obtido de valores acumulados; <sup>(2)</sup>Resultado obtido da soma de quatro extrações. Médias seguidas de mesma letra são iguais pelo teste de Tukey a 5%

No tratamento com calagem, se observou diferença estatística na remobilização dos resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato entre os solos. O solo RQ apresentou maior remobilização que o LE, a 5% de significância.

Para que ocorra a metabolização dos resíduos ligados, segundo Reid; Jones e Semple (2000), dois requisitos são fundamentais: a molécula orgânica deve ser biodegradável e os resíduos devem ser acessíveis aos organismos. Com relação ao primeiro requisito, o glifosato é uma molécula facilmente utilizada pelos microrganismos dos solos, até mesmo como fonte de nutrientes, o que se deve a própria estrutura química da molécula. Com respeito a acessibilidade, os resíduos ligados de pesticidas podem ser formados nos solos na superfície das partículas, com diferentes energias de ligação e/ou dentro dos constituintes minerais e orgânicos dos solos. Portanto, dependendo da energia e do local de formação dos resíduos ligados, eles estarão mais ou menos acessíveis ao ataque microbiano. A acessibilidade biológica dos resíduos deve-se também a presença de microrganismos aptos a utilizar os resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato. Assim, as diferenças de remobilização dos resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato nos solos estudados deve-se, provavelmente, as diferenças na acessibilidade dos microrganismos aos resíduos.

Diante desses aspectos, algumas hipóteses podem ser sugeridas para a maior remobilização dos resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato no RQCC. A primeira delas é a de que as espécies de microrganismos presentes neste tratamento possuíam maior habilidade na remobilização dos resíduos ligados desse herbicida. A segunda é que o RQ, devido às suas características físicas, químicas e mineralógicas, tenha proporcionado uma maior disponibilidade e acessibilidade dos resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato aos microrganismos.

A quantidade de resíduos ligados remobilizados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato nos tratamentos com calagem foi comparativamente maior que a de outros pesticidas. Peixoto et al. (2005) observaram baixa mineralização dos resíduos ligados de atrazina, variando de 0,22% a 0,39% em um Latossolo Vermelho Escuro e de 0,03% em um Gleissolo Húmico, em um período de 49 dias. Em trabalho realizado por Hayar et al. (1997), a mineralização de resíduos ligados de atrazina também foi baixa (0,72%), após 63 dias de incubação. Lavorenti et al. (1998) encontraram resultados semelhantes para o fungicida anilazina.

Uma vez formado o resíduo ligado de glifosato nos solos, o herbicida pode permanecer nesta condição por tempo indeterminado. No entanto, com os resultados obtidos neste trabalho, podemos observar que o processo de retenção do glifosato não é irreversível, como proposto por Galli e Montezuma (2005) e que práticas de manejo simples e comuns como a calagem, podem favorecer a remobilização dos resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato. Dessa forma, não é conveniente considerar que a formação de resíduo ligado de  $^{14}\text{C}$ -glifosato nos solos seja ambientalmente benéfica, pois ainda não se tem conhecimento dos impactos e interações ambientais dos mesmos.

Após o período de avaliação da mineralização dos resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -glifosato, foi possível observar que a maioria do herbicida ainda permaneceu no solo nesta forma, como pode ser visto na Tabela 4.1. A extração do glifosato variou entre os dois solos estudados (Tabela 4.1), sendo maior no RQ. Após a realização das placas de TLC, pôde-se observar que os extratos possuíam uma grande porcentagem da molécula original do  $^{14}\text{C}$ -glifosato e uma pequena proporção de um metabólito, que provavelmente é do ácido aminometilfosfônico (AMPA), por ser o principal metabólito do glifosato. No entanto, é importante ressaltar que a identificação do metabólito não foi possível por falta de padrão analítico.

### 4.3 Conclusões

A prática da calagem aumentou significativamente a mineralização dos resíduos ligados de <sup>14</sup>C-glifosato, tanto no LE quanto no RQ.

A calagem aumentou a atividade microbiana e essa se correlacionou positivamente com a remobilização dos resíduos ligados no solo LE.



## Referências

- ANDRÉA, M. M.; WIENDL, F. M. Formation and biorelease of bound residues of pesticides in two Brazilian soils. II. [ $^{14}\text{C}$ ]-parathion. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 5, p. 695-700, maio 1995.
- CALDERBANK, A. The occurrence and significance of bound pesticide residues in soil, **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 108, n. 1, p. 71–103, 1989.
- CAMARGO, O. A.; MONIZ, A. C.; JORGE, J. A.; VALADARES, J. M. **Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do Instituto Agronômico de Campinas**. Campinas: IAC, 1986. 94 p. (IAC Boletim Técnico, 106).
- COSTA, M. A. **Biodegradação de  $^{14}\text{C}$ -ametrina em Areia Quartzosa com adição de palha de cana e solo rizosférico**. 1983. 107 p. Dissertação (Mestrado em Energia Nuclear na Agricultura) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1983
- EMBRAPA. **Manual de métodos de análises de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CNPS, 1997. 212 p.
- FREITAS, J. R.; NASCIMENTO FILHO, V.; VOSE, P. B.; RUSCHEL, A. P. Estimativa da atividade da microflora heterotrófica em um solo de terra roxa estruturada usando respirometria com glicose  $^{14}\text{C}$ . **Energia Nuclear e Agricultura**, Piracicaba, v. 1, p. 123-130, 1979.
- FÜHR, F.; OPHOFF, H.; BURAUDEL, P.; WANNER, U.; HAIDER, K.; Modification of definition of bound residues. In: FÜHR, F.; OPHOFF, H. **Pesticide bound residues in soil**. Weinheim: Wiley-VCH, 1998. p. 175-176.
- FUHREMANN, T. W.; LICHTENSTEIN, E. P. Release of soil-bound methyl [ $^{14}\text{C}$ ] parathion residues and their uptake by earthworms and oat plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 26, p. 605-610, 1978.
- GALLI, A. J. B.; MONTEZUMA, M. C. **Alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na agricultura**, Jaboticabal: ACADCOM, 2005. 67 p.
- GEVAO, B.; SEMPLE, K. T.; JONES, K. C. Bound pesticide residues in soil: a review. **Environmental pollution**, Barking, v. 108, p. 3-14, 2000.
- HAYAR, S., MUNIER-LAMY, C., CHONE, T., SCHIAVON, M., Physico-chemical versus microbial release of  $^{14}\text{C}$ -atrazine bound residues from a loamy clay soil incubated in laboratory microcosms. **Chemosphere**, Oxford, v. 34, p. 2683–2697, 1997.
- JACKSON, L.M. **Soil chemical analysis: advanced course**. Madison: American Society of Agronomy, 1969. 894 p.

JONGE, H. de; JONGE, L. W. de; JACOBSEN, O. H.; YAMAGUSHI, T.; MOLDRUP, P. Glyphosate sorption in soils of different pH and phosphorus content. **Soil Science**, Baltimore, v. 166, p. 230 – 238, 2001.

KHAN S.U.; IVARSON, K. C. Microbial release of unextracted (bound) residues from an organic soil treated with prometryn. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington, v. 29, p. 1301–1303, 1981.

KHAN, S. U.; BEHKI, R. M. Effects of *Pseudomonas* species on the release of bound  $^{14}\text{C}$  residues from soil treated with [ $^{14}\text{C}$ ] atrazine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 38, p. 2090-2093, 1990.

LAVORENTI, A.; BURAUDEL, P.; WAIS, A.; FÜHR, F. Remobilization of bound anilazine residues in fulvic acids. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 8, 1998.

LIEBICH, J.; BURAUDEL, P.; FÜHR, F. Microbial release and degradation of nonextractable anilazine residues. **Environmental pollution**, Barking, v.108, p.3-14, 2000.

MATTOS, M. L. T.; PERALBA, M. C. R.; DIAS, S. L. P.; PRATA, F. P.; CAMARGO, L. Monitoramento ambiental do glifosato e do seu metabólito (ácido aminometilfosfônico) na água de lavoura de arroz irrigado. **Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 12, p. 145-154, 2002.

McCONNEL, J. S.; HOSSNER, L. R. pH-Dependent adsorption isotherms of glyphosate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 33, p. 1075-1078, 1985.

MEKARU, T.; UEHARA, G. Anion adsorption in ferruginous tropical soils. **Soil Science of America Proceedings**, Madison, v. 36, n. 2, p. 296 -300, 1972.

MOREIRA, F. M. S. de; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**, Lavras: UFLA, 2002. 626 p.

NAKAGAWA, L.E.; ANDREA, M.M. Liberação de resíduos não-extraíveis ou ligados do herbicida atrazina em solo e sua absorção por plantas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 8, p. 1517-1522, ago. 2000.

PEIXOTO, M.F.S.P.; LAVORENTI, A.; REGITANO, J.B.; TORNISIELO, V.L. PEIXOTO, C.P.; SAMPAIO, L.S.V.; SAMPAIO, H.S.V. Remobilização de resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -atrazina em ácidos fúlvicos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 2, p. 340-346, 2005.

REID, B. J.; JONES, K. C. Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments – a perspective on mechanisms, consequences and assessment. **Environmental pollution**, Barking, v. 108, p. 103-112, 2000.

PRATA, F.; LAVORENTI, A.; REGITANO, J.B.; TORNISIELO, V.L. Influência da matéria orgânica na sorção e dessorção do glifosato em solos com diferentes atributos mineralógicos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, p. 947-951, 2000.

SPRANKLE, P.; MEGGIT, W. F.; PENNER, D. Adsorption, mobility and microbial degradation of glyphosate in the soil. **Weed Science**, Oxford, v. 23, p. 229-234, 1975.

TONI, L. R. M.; SANTANA, H. de; ZAIA, D. A. M. Adsorção de glifosato sobre solos e minerais. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 829-833, 2006.

VERECKEN, H. Mobility and leaching of glyphosate: a review. **Pesticides Management Science**, Hoboken, v. 61, p. 1139–1151, 2005.

YEE, D.; WEINBERGER, P.; KHAN, S. U. Release of soil-bound prometryne residues under different soil pH and nitrogen fertilizer regimes. **Weed Science**, Oxford, v. 33, p. 882-887, 1985.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)