

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

**Comportamento da associação entre os herbicidas glifosato e  
atrazina em um Latossolo vermelho-escuro do bioma cerrado  
brasileiro**

**Eloana Janice Bonfleur**

**Dissertação apresentada para obtenção do título de  
Mestre em Ciências. Área de concentração: Solos e  
Nutrição de Plantas**

**Piracicaba  
2010**

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

**Eloana Janice Bonfleur  
Engenheiro Agrônomo**

**Comportamento da associação entre os herbicidas glifosato e atrazina em um  
Latossolo vermelho-escuro do bioma cerrado brasileiro**

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

**Dissertação apresentada para obtenção do título de  
Mestre em Ciências. Área de concentração: Solos e  
Nutrição de Plantas**

**Piracicaba  
2010**

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

Bonfleur, Eloana Janice

Comportamento da associação entre os herbicidas glifosato e atrazina em um Latossolo vermelho-escuro do bioma cerrado brasileiro / Eloana Janice Bonfleur. - - Piracicaba, 2010. 84 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2010. Bibliografia.

1. Cerrado 2. Herbicidas 3. Latossolos 4. Milho 5. Microbiologia do solo 6. Organismos geneticamente modificados I. Título

CDD 632.954  
B713c

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

A Deus, pela saúde, alegria e força  
concedida ao longo dos dias;

## **OFEREÇO**

aos meus pais, Armando e Fátima, por serem  
meus exemplos de vida e verdadeiros Mestres;

aos meus irmãos, Débora e Paulo, pela sincera  
amizade;

à todos que acreditaram e contribuíram com  
este trabalho;

## **DEDICO**



## AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Arquimedes Lavorenti pela orientação profissional, paciência, confiança e amizade nos momentos difíceis;

Ao Dr. Valdemar Luiz Tornisielo, pela oportunidade, companheirismo e dicas essenciais de execução do presente trabalho;

Ao Dr. Adelino Pelissari, pelos ensinamentos iniciais;

Aos técnicos, funcionários e professores da área de Química do departamento de Ciências Exatas da ESALQ, Ana Maria da Silva Maia Michelin, Felipe Gabriel Andrino, Gertrudes Cláudia Barbieri Fornazier, Janaina Truffi, Lenita Maria Pacheco, Rita de Cássia Leite de Castro, Dra. Simone Lira, Dr. Arnaldo Rodela e Dr. Marcos Yassuo Kamogawa pela ajuda, amizade e valiosas dicas

À técnica Lílian Assêncio de Campos, do laboratório de Biogeoquímica Ambiental (CENA/USP), pela disponibilidade, atenção e dicas na execução dos ensaios;

Ao professor Antonio Augusto Bianchi pelas correções da língua inglesa;

Aos técnicos e estagiários do laboratório de Ecotoxicologia do CENA/USP, Rodrigo e Dorelli pelas experiências compartilhadas e ajuda na execução dos ensaios;

A bibliotecária chefe, Eliana Maria Garcia, da divisão de Biblioteca e Documentação da ESALQ/USP, pelas correções;

Aos amigos da pós-graduação Angélica Jaconi, Daniel Renato Lammel, Diana Signor, Elaine Maria Silva Guedes, Eloíse Mello, Ester Lambert, Jeanine Falconi, Leonardo Amaral Monteiro, Luciana Mercatti, Lucíola Hellen, Mariana Basseto Gabos, Marília Mitie, Sílvia Kanadani e Susana Churka Blum, por compartilharem os momentos felizes e tristes;

Ao programa de Pós-graduação em Solos e Nutrição de Plantas da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de São Paulo, sua comissão de coordenação, professores e funcionários, pela oportunidade e ajuda;

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da USP, pelo uso das instalações;

Aos pesquisadores da Embrapa Gado de Corte (CNPGC), Dr. Ademir Hugo Zimmer, Dr. Manuel Cláudio Motta Macedo e Dr. Valdemir Antonio Laura, pela disponibilização da área de estudo;

À CAPES, pelo suporte financeiro.



## SUMÁRIO

<b>RESUMO.....</b>	<b>9</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>11</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
1.1 Milho geneticamente modificado tolerante ao glifosato .....	14
1.2 Principais propriedades físico-químicas dos pesticidas.....	16
1.3 Destino dos pesticidas no solo .....	18
1.3.1 Retenção .....	19
1.3.2 Transformação .....	20
1.3.3 Transporte .....	24
1.4 Comportamento e influência nos aspectos microbianos do solo pelo glifosato ...	25
1.5 Comportamento e influência nos aspectos microbianos do solo pela atrazina ...	28
1.6 Associações entre pesticidas e o comportamento no solo .....	33
Referências .....	35
<b>2 DEGRADAÇÃO E MINERALIZAÇÃO DE GLIFOSATO E ATRAZINA APLICADOS EM ASSOCIAÇÃO EM UM LATOSSOLO VERMELHO-ESCURO .....</b>	<b>47</b>
Resumo .....	47
Abstract .....	47
2.1 Introdução .....	48
2.2 Material e Métodos .....	49
2.2.1 Descrição da Área e Solo .....	49
2.2.2 Ensaios de Mineralização e Degradação .....	51
2.3 Resultados e Discussão .....	53
2.4 Conclusões.....	62
Referências .....	62
<b>3 ASSOCIAÇÃO ENTRE GLIFOSATO E ATRAZINA E ASPECTOS MICROBIANOS EM UM LATOSSOLO VERMELHO-ESCURO .....</b>	<b>62</b>
Resumo .....	67
Abstract .....	67
3.1 Introdução .....	68
3.2 Material e Métodos .....	69

3.3 Resultados e Discussão.....	74
3.4 Conclusões .....	81
Referências .....	82

## RESUMO

### **Comportamento da associação entre os herbicidas glifosato e atrazina em um Latossolo vermelho-escuro do bioma cerrado brasileiro**

O uso da associação entre glifosato e atrazina para a cultura do milho geneticamente modificado tolerante ao glifosato é uma das opções de controle de plantas daninhas nesta cultura. Portanto, o objetivo principal desse trabalho foi avaliar a influência do uso desta associação em um Latossolo vermelho-escuro proveniente do bioma Cerrado do Brasil através dos ensaios de degradação e mineralização desses herbicidas, carbono da biomassa microbiana e carbono mineralizado pelo solo. Os tratamentos para os ensaios de mineralização e degradação constaram da combinação entre  $^{14}\text{C}$ -glifosato na dose de campo ( $2,88\text{Kg ha}^{-1}$ ) a 0, 1/2, 1 e 2 vezes a dose de campo de atrazina ( $3,00\text{Kg ha}^{-1}$ ) e  $^{14}\text{C}$ -atrazina na dose de campo a 0, 1/2, 1 e 2 vezes a dose de campo de glifosato. A mineralização dos herbicidas foi medida aos 0, 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 e 63 dias e a degradação aos 0, 7, 28 e 63 dias após o início do experimento. A avaliação do carbono da biomassa microbiana foi realizada aos 21 e 63 dias após o início do ensaio e foram utilizados os mesmos tratamentos com a inclusão de uma prova em branco (solo sem herbicida). O ensaio de mineralização de carbono pelo solo foi feito através da quantificação do  $\text{CO}_2$  desprendido aos 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 e 63 dias após o início do ensaio, e também teve a inclusão de uma prova em branco. Os resultados demonstraram influência na degradação e mineralização da atrazina devido a presença do glifosato. A meia-vida de mineralização de atrazina teve uma variação de aproximadamente 100 dias quando foi comparada a aplicação individual de atrazina a associação com o dobro da dose de glifosato. A influência da atrazina na degradação e mineralização de glifosato não foi nítida. A presença de atrazina provocou queda no carbono da biomassa microbiana do solo e ocorreu um aumento na velocidade e quantidade de carbono mineralizado pelo solo. Não houve alteração no carbono da biomassa microbiana do solo e mineralização de carbono pelo solo devido a adição de glifosato. Nos tratamentos em associação, a presença do glifosato no sistema impediu a redução da biomassa microbiana devido ao efeito da atrazina. A associação entre glifosato e atrazina favoreceu a mineralização de carbono pelo solo comparada a aplicação individual de glifosato. Esses resultados demonstram a necessidade por parte da pesquisa em considerar a possibilidade de interação entre os diversos xenobióticos, o que pode alterar seus comportamentos individuais no solo.

Palavras-chave: Atrazina; Glifosato; Associação; Comportamento



## ABSTRACT

### **Behavior of glyphosate and atrazine herbicides applied in association in a Oxisil from Brazilian Cerrado**

The use of glyphosate and atrazine in association for transgenic corn tolerant to glyphosate is an option to weed control in this case. Therefore, the aim of this work was to assess the influence of this association in an Oxisil from Brazil through the degradation, mineralization, microbial biomass and carbon mineralization of soil tests. The treatments of mineralization and degradation tests consisted of the combination between  $^{14}\text{C}$ -glyphosate in the field rate ( $2,88\text{Kg ha}^{-1}$ ) and 0,  $\frac{1}{2}$ , 1 and 2 times the field rate of atrazine ( $3,00\text{Kg ha}^{-1}$ ). The mineralization of herbicides was measured at 0, 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, and 63 days and the degradation was measured at 0, 7, 28 and 63 days after the beginning of the tests. The evaluation of microbial biomass was performed at 21 and 63 days after the beginning of the test and was used the same treatments of the degradation and mineralization tests, but it was included a control (soil without application of herbicides). The test of carbon mineralization of soil was done by measuring the  $\text{CO}_2$  evolved at 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 and 63 days after the beginning of the test and had the same control of the microbial biomass test. The results showed an influence on degradation and mineralization of atrazine due to the presence of glyphosate. The half-life of atrazine mineralization had a variation of about 100 days when it was compared the atrazine application alone to its association with glyphosate at double rate. The influence of atrazine in degradation and mineralization of glyphosate wasn't clear. The presence of atrazine caused decrease in the microbial biomass of soil and occurred an increase in speedy and amount of carbon mineralized by soil. No change was observed in microbial biomass and carbon mineralized by soil due to glyphosate application. In the treatments that was used the association, the presence of glyphosate in the system prevented decrease of microbial biomass due to the effect of atrazine. The association between glyphosate and atrazine favored the carbon mineralization by soil when compared to glyphosate applied alone. These results demonstrate a need to consider the possibility of interactions between several xenobiotics, which can modify their behaviors in the soil.

Keywords: Atrazine; Glyphosate; Association; Behavior



## 1 INTRODUÇÃO

“A personalidade criadora deve pensar e julgar por si mesma, porque o progresso moral da sociedade depende exclusivamente da sua independência.” (Albert Einstein)

A utilização de substâncias químicas destinadas a controlar agentes indesejáveis nas atividades agrícolas proporcionou, juntamente com os demais avanços tecnológicos, incrementos produtivos e redução nas perdas ocasionadas por pragas, doenças e plantas daninhas. O uso desses compostos foi intensificado a partir dos anos 70 com a chamada Revolução Verde. Esse período foi marcado pela invenção e disseminação de novas práticas agrícolas com a promessa de aumento considerável na produtividade agrícola, principalmente nos países em desenvolvimento. O objetivo foi suprir a demanda crescente por alimentos. De fato, o conjunto de tecnologias que surgiram nesse período garantiu o proposto. Porém, os problemas ambientais relacionados a exposição a esses produtos químicos, denominados no presente trabalho como pesticidas, geraram a necessidade por parte da ciência em adotar medidas que minimizassem seus efeitos ao meio ambiente. Atualmente, a comunidade científica está envolvida em definir e quantificar efeitos nocivos ao meio ambiente e também, selecionar tecnologias agrícolas que cumpram os requisitos agrônômicos propostos pelo seu uso e ao mesmo tempo, causem o menor efeito negativo possível ao meio ambiente.

Estima-se para safra 2009/2010 que o milho corresponda a aproximadamente 30% do total em área plantada no Brasil e sua produção seja responsável por 35% da produção total do país, considerando o somatório entre cereais e oleaginosas (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2010). Sua expressão econômica sugere importantes mudanças nos sistemas de produção, buscando a redução de impactos ambientais e custos monetários. Uma das práticas de manejo relevantes na produção de milho é o controle de plantas daninhas. O objetivo desse manejo é evitar perdas devido à competição entre a cultura de interesse e a cultura infestante e também, permitir melhores condições de colheita. Através da biotecnologia,

hoje é possível utilizar herbicidas de ação total em pós-emergência, o que constitui uma nova ferramenta para o manejo de plantas daninhas. A tolerância das plantas ao glifosato é o exemplo mais difundido onde se destacam as culturas da soja, milho e algodão.

O amplo espectro desse herbicida exclui a necessidade de utilização de vários princípios ativos seletivos a determinadas plantas daninhas. Portanto, espera-se que os efeitos negativos ao meio ambiente sejam menores, devido ao glifosato ser um produto de baixa persistência e baixa mobilidade, e também, pelo uso de um número menor de moléculas herbicidas. O glifosato é um herbicida que não possui efeito residual e na cultura do milho faz-se necessário o controle de plantas daninhas em pós-emergência. Neste caso, uma das alternativas cabíveis é a utilização do glifosato combinado a um herbicida residual. O grupo das triazinas é largamente utilizado para esta cultura e pode ser utilizado em associação ao glifosato. Isso garante a proteção do cultivo em todo o período de interferência cultura x planta daninha, anulando o efeito negativo em seu potencial produtivo relacionado a competição com as plantas daninhas. Visto que o uso dessa nova tecnologia será freqüente no Brasil, é necessário o estudo das interações entre o glifosato e a atrazina (principal herbicida do grupo das triazinas utilizado para o milho) no compartimento solo. A literatura sobre o comportamento de pesticidas no solo é limitada ao estudo individual de cada molécula. Porém no âmbito agrícola, o solo é o destino de um número variado de pesticidas e embora não prevista na legislação brasileira, a mistura de tanque é uma prática comum.

Portanto, o objetivo principal desse estudo foi elucidar as possíveis interações e interferências no comportamento entre essas duas moléculas no compartimento solo, definindo ambientalmente os efeitos dessa prática.

## **1.1 Milho geneticamente modificado tolerante ao glifosato**

De acordo com James (2003), aproximadamente 75% das culturas geneticamente modificadas são desenvolvidas para conferir tolerância a herbicidas. As culturas tolerantes ao glifosato são as de maior popularidade em função da eficácia,

baixo custo e baixo impacto ambiental deste herbicida (FRANZ et al., 1997). O milho tolerante ao glifosato começou a ser utilizado nos Estados Unidos em 1996 com a aprovação comercial do material GA21 (AGBIOS, 2009). Nos anos seguintes ocorreram várias liberações de diversos materiais que conferem resistência ao glifosato. No Brasil, as aprovações comerciais pela Comissão Técnica Nacional em Biossegurança (CTNBio) do milho GA21 e NK603 ocorreram no ano de 2008 e no ano seguinte três materiais que conferem tanto a resistência a insetos da ordem Lepidoptera quanto ao glifosato.

O gene que codifica para tolerância ao glifosato forma a enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS). No caso do NK603 esse gene foi isolado da bactéria *Agrobacterium* (tipo CP4) e transformado no milho por biobalística (Aceleração de Partículas). O milho NK603 já foi liberado para cultivo na Argentina, Brasil, Canadá, Japão, Filipinas, África do Sul, Estados Unidos e China entre os anos de 2000 e 2008 (AGBIOS, 2009). O milho GA21 foi obtido pela transformação de cultura de células de linhagem de milho também pelo método de biobalística e expressa uma proteína sintase duplo mutante 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato de milho (mEPSPS), que confere tolerância ao herbicida glifosato. Para o cultivo este milho foi aprovado na Argentina, Brasil, Canadá, Japão, Filipinas e Estados Unidos entre os anos de 1997 e 2009 (AGBIOS, 2009).

As perdas na cultura do milho influenciadas pela competição com as plantas daninhas variam de 13 a 85% em função da adoção ou não de alguma medida de controle (CARVALHO et al., 2007). O milho é muito sensível à presença de plantas daninhas nos seus primeiros estágios do crescimento (6 a 8 semanas) pois ocorre competição por água, nutrientes e luz. Portanto, o controle de plantas daninhas nesse estágio é fundamental (DEWAR, 2009). Essas perdas são caracterizadas pela diminuição do número e tamanho de espigas (BALBINOT Jr.; FLECK, 2005), conferindo a redução da produtividade da cultura. Por isso, o controle de plantas daninhas para o milho assume notável importância quando se deseja alcançar o máximo do potencial produtivo das plantas.

O uso de glifosato isoladamente ou em combinação com outros herbicidas convencionais em culturas resistentes ao herbicida glifosato

constitui uma importante ferramenta para o controle de plantas daninhas (PLINE-SRNIC, 2005). Tharp e Kells (2002), estudaram diversas formas de controle de plantas daninhas incluindo a aplicação de glifosato ou glufosinato e herbicidas residuais em pré e pós-emergência. A associação entre glifosato ou glufosinato e herbicidas residuais em pós-emergência se mostrou uma alternativa viável. De acordo com os autores, o uso de glifosato ou glufosinato em pós-emergência promove um bom controle, porém ocorre emergência de plantas daninhas pouco tempo após as aplicações. Portanto, a associação entre glifosato ou glufosinato e herbicidas residuais tende a estender o controle de plantas daninhas.

O uso do glifosato em associação à herbicidas residuais é uma importante ferramenta no controle de plantas daninhas na cultura do milho, portanto, é necessário avaliar quais são os impactos dessa prática ao meio ambiente.

## **1.2 Principais propriedades físico-químicas dos pesticidas**

As principais propriedades físico-químicas dos pesticidas relevantes aos estudos ambientais são: solubilidade em água ( $S_w$ ), pressão de vapor ( $P$ ), coeficiente de partição n-octanol-água ( $K_{ow}$ ), constante de ionização ácido ( $pK_a$ ) ou base ( $pK_b$ ) e constante da Lei de Henry (LAVORENTI et al., 2003).

A solubilidade em água é definida como a quantidade máxima da molécula pura que pode ser dissolvida em água (LAVORENTI et al., 2003). De acordo com Chlou et al. (1986), é a propriedade física mais importante relacionada com o transporte e destino de moléculas orgânicas em sistemas aquáticos e também, é um dos determinantes do coeficiente de sorção no solo. Pesticidas com elevada solubilidade, possuem a tendência de serem menos sorvidos aos colóides do solo (LAVORENTI et al., 2003). A sorção ao solo e a solubilidade em água são importantes parâmetros para prever a tendência do pesticida em se movimentar horizontalmente ou verticalmente no solo (EXTOXNET, 1998).

A pressão de vapor ( $P$ ) é a medida de saturação em termos de concentração ou pressão de um soluto na fase gasosa (MACKAY et al., 1997). Essa propriedade é relevante em estudos de comportamento de pesticidas, pois a partir dela é possível

prever a tendência de volatilização de uma molécula (LAVORENTI et al., 2003). Em muitas situações, a capacidade de volatilização de uma molécula é tão importante no processo de dissipação quanto sua degradação nos solos e também, a deposição a partir da atmosfera é uma importante fonte de contaminação por pesticidas em alguns ambientes. (GLOTFELTY; SCHOMBURG, 1989).

O coeficiente de partição n-octanol-água ( $K_{ow}$ ) mede o caráter hidrofóbico ou hidrofílico de uma molécula. Este parâmetro é definido como a relação entre a saturação na fase n-octanol saturado em água e sua concentração na fase aquosa saturada em n-octanol e é expresso na forma logarítmica (LAVORENTI et al., 2003). Em estudos ambientais, esse parâmetro é correlacionado com a solubilidade em água, coeficiente de sorção no solo e sedimentos e, bioconcentração em organismos aquáticos (RAN et al., 2002; SABLJIĆ et al., 1995; LYMAN et al., 1990). Pesticidas com valores de  $\log K_{ow}$  elevados ( $>4,0$ ) ou lipofílicos tendem a se acumularem em materiais lipídicos, como, por exemplo, a matéria orgânica do solo e como consequência, apresentarão baixa mobilidade (LAVORENTI et al., 2003). Ao contrário, pesticidas hidrofílicos ( $\log K_{ow} < 1,0$ ), são mais solúveis em água, e consequentemente apresentarão baixa sorção (LAVORENTI et al., 2003).

A constante de ionização ácido/base ( $K_a$  e  $K_b$ ) mede a tendência de ionização de pesticidas ácidos ou básicos, respectivamente. Esses valores indicam em qual faixa de pH ocorrerá a ionização do pesticida, sendo de extrema importância, pois as formas ionizadas muitas vezes se comportam de maneira diferente das formas neutras (ou não-ionizadas) (LAVORENTI et al., 2003). De uma forma resumida, os pesticidas na forma molecular são neutros e capazes de formar íons positivos (caráter ácido) ou negativos (caráter básico) (HORNSBY et al., 1995), de acordo com as variações de pH do meio. Os diferentes comportamentos das moléculas com caráter ácido ou básico de acordo com as alterações do pH do meio são descritas por (LAVORENTI et al., 2003).

A constante da Lei de Henry é definida como a constante de partição ar-líquido ou vapor-líquido (LAVORENTI et al., 2003). Essa constante é importante para determinar a volatilização de pesticidas quando dissolvidos em água. Em uma determinada temperatura, existe um equilíbrio entre as concentrações na água e no ar

de determinada molécula. Portanto, a constante da Lei de Henry é dependente da temperatura do meio (STENERSEN, 2004).

De acordo com Briggs et al. (1990), a complexidade da interação entre os produtos químicos e o ambiente pode ser descrita em termos de coeficiente de sorção, pressão de vapor, solubilidade e persistência no solo. A solubilidade em água e a pressão de vapor são características intrínsecas dos pesticidas, já descritas anteriormente. O coeficiente de sorção e a persistência referem-se à interação dessas moléculas com o meio sendo medidos através dos ensaios de sorção/dessorção, degradação e transporte dos pesticidas nos diferentes compartimentos ambientais.

### **1.3 Destino dos pesticidas no solo**

Na década de 90 a indústria brasileira de pesticidas apresentou um considerável crescimento dobrando seu consumo em valores monetários de US\$ 1 bilhão em 1990 para US\$ 2,3 bilhões em 1999 destacando-se o segmento dos herbicidas que corresponde a 50% do mercado global (MARTINELLI; WAQUIL, 2002). As culturas de maior expressão na utilização de herbicidas são a cana-de-açúcar, soja e milho (FERREIRA; VEGRO; CAMARGO, 2008). A demanda crescente por alimentos, em função do aumento da população mundial, sugere o uso de grandes quantidades de pesticidas devido às perdas em produtividade ocasionadas pelos diversos tipos de pragas e plantas daninhas nas lavouras.

A utilização freqüente e muitas vezes incorreta de pesticidas pode causar a contaminação dos solos, da atmosfera, dos alimentos, das águas superficiais e subterrâneas, ocasionando efeitos negativos em organismos terrestres e aquáticos além da intoxicação humana por contato indireto (consumo de alimentos contaminados) ou direto (intoxicação ocupacional de trabalhadores e produtores rurais) (SPADOTTO, 2006). Por isso, tornam-se necessários estudos que viabilizem o monitoramento de possíveis contaminações no meio ambiente, pois o uso indiscriminado desses produtos vem ocasionando o aparecimento de resíduos nos diferentes compartimentos ambientais (água, solo, ar) e nos alimentos, ressaltando a problemática de inúmeros casos de intoxicação em trabalhadores rurais.

Estima-se que menos de 0,1% dos pesticidas aplicados nas culturas atinjam efetivamente o organismo-alvo, o restante contamina o solo, a água e o ar. (PIMENTEL; LEVITAN, 1986). Quando um pesticida entra em contato com o ambiente, o seu provável destino é o solo, seja por aplicação direta ou pela incorporação de restos culturais. No solo, podem ocorrer processos de retenção (adsorção, absorção), transformação (decomposição, degradação) e transporte (deriva, volatilização, lixiviação, escoamento superficial) os quais determinam seu destino, persistência e eficiência agrônômica (SPADOTTO, 2002). Os principais fatores que influenciam estes processos são: as condições climáticas, as propriedades físico-químicas do produto e as características físicas, químicas e microbiológicas do solo (DAMIN, 2005). De acordo com Oliveira (2001), o complexo fenômeno de retenção, por meio dos processos de sorção e desorção, influenciam direta ou indiretamente a atividade dos outros fatores. A retenção é considerada um fenômeno complexo em função da heterogeneidade físico-química dos solos e de suas relações com os sistemas biológicos, atmosféricos e aquáticos. Portanto, o conhecimento da composição do solo é fundamental para que se entendam os processos de retenção. Os processos de transporte (deriva, volatilização, lixiviação e escoamento superficial) de pesticidas no solo dependem dos processos de retenção (sorção) e de transformação (decomposição e degradação), e das interações desses processos (SPADOTTO, 2002). As propriedades químicas e físicas dos pesticidas são de grande importância para prever as interações com o solo, a possibilidade de contaminação e transporte quando dissolvidos em água ou associados a sedimentos sendo de fundamental importância o seu conhecimento (SANCHES et al., 2004).

### **1.3.1 Retenção**

Os pesticidas utilizados na agricultura, muitas vezes têm como destino final o solo e ao atingirem-no, podem ser retidos por seus colóides ou permanecerem em solução (OLIVEIRA, 2001). O processo de retenção é o mecanismo pelo qual ocorre apreensão de uma molécula impedindo seu movimento no perfil do solo. Este mecanismo pode ser reversível ou irreversível (resíduos ligados) o que pode afetar os

processos de transporte e transformação (LAVORENTI et al., 2003). A mobilidade de pesticidas no solo, e também sua biodisponibilidade e transferência para outros compartimentos do ambiente (atmosfera, corpos d'água), depende do mecanismo e cinética de sorção e dessorção pelas partículas do solo (MOORMAN et al., 2001).

Sorção é um termo geralmente utilizado quando o mecanismo de retenção na superfície do solo é desconhecido (SPARKS, 2003). Este termo é usado para definir o processo de retenção de moléculas orgânicas, pois não é possível definir se ocorre o fenômeno de adsorção, absorção, precipitação ou partição hidrofóbica (LAVORENTI et al., 2003). Portanto, a sorção representa a apreensão de um soluto pelo solo e seus constituintes sem indicar o mecanismo envolvido (BOUCHARD et al., 1989). O fenômeno inverso à sorção é denominado dessorção. Consiste no retorno de uma fração de moléculas sorvidas para a solução do solo. Na dessorção, determinada concentração do pesticida sorvido entra em equilíbrio com a concentração na solução do solo.

Esses resíduos podem ser a molécula original ou seus metabólitos, que podem estar na forma extraível ou ligada ao solo (CALDERBANK, 1989). As formas ligadas ao solo, denominadas resíduos ligados, são espécies químicas originadas dos pesticidas as quais não são extraídas da matriz do solo por métodos que não modifiquem significativamente a natureza química desses resíduos e a natureza da matriz (solo, plantas, animais, etc) (FÜHR et al., 1998). A matéria orgânica é o principal constituinte do solo responsável pela formação de resíduos ligados de pesticidas. A formação do resíduo ligado é uma importante forma de dissipação de um pesticida no solo, pois de uma forma geral, essas moléculas ficam indisponíveis no solo (LAVORENTI et al., 2003). A formação do resíduo ligado afeta diretamente o processo de transformação de um pesticida no solo, pois ocorre a diminuição da sua disponibilidade aos microrganismos do solo (KAWAMOTO; URANO, 1989).

### **1.3.2 Transformação**

O processo de transformação de um pesticida no solo pode ocorrer desde a remoção de um átomo até a completa mineralização da molécula. Esse processo é fundamental para atenuar os níveis de resíduo de pesticidas no solo (GUO et al., 2000) e é governada por fatores abióticos e bióticos. A degradação abiótica, biodegradação e mineralização são as principais formas de transformação de um pesticida no solo. A degradação abiótica ocorre sem a participação de microrganismos no processo através de reações fotoquímicas e de hidrólise (KONRAD; ARMSTRONG, 1981). A fotodegradação ocorre pela ação da luz que assume um comportamento de catalisador de reações químicas como a hidrólise, oxidação, redução entre outras (LAVORENTI et al., 2003). A hidrólise é a reação química mais importante na degradação de pesticidas, sendo influenciada pela água, pH, temperatura e sorção do pesticida. Os mecanismos de sorção são considerados importantes catalisadores das reações de hidrólise de acordo com estudos de Armstrong et al. (1967) e Armstrong e Konrad (1974). Muitos processos de degradação abiótica no solo resultam em uma degradação parcial da molécula pesticida que posteriormente sofrerá degradação microbiana (RACKE, 1990). De acordo com Rao et al. (1983), as taxas de degradação dependem de fatores microbiológicos, físicos e químicos do solo, bem como as propriedades do pesticida.

A atividade microbiana é reconhecida como um dos fatores mais importantes na eliminação dos produtos químicos do ambiente. A função dos microrganismos na transformação dos pesticidas vem sendo demonstrada através de comparações entre as proporções de degradação de solos ativos e esterilizados e também, pelo isolamento de microrganismos. As condições do ambiente que influenciam a atividade microbiana (umidade, temperatura, pH) também afetam a degradação dos pesticidas (CHAPMAN et al., 1986 apud MONTEIRO, 1997). Esse fato evidencia a relação entre os microrganismos do solo e a degradação de pesticidas.

As transformações influenciadas pelos microrganismos são resultado de reações bioquímicas diversas que abrangem desde a remoção de um único átomo da molécula até a sua completa mineralização (BOLLAG, 1974). De acordo com Moreira e Siqueira (2006), essas reações são compostas pelos seguintes processos:

- Detoxificação: consiste na conversão de uma molécula tóxica a um produto de menor toxicidade ou até mesmo atóxico;

- Degradação: é a alteração na estrutura química da molécula envolvendo microrganismos, plantas ou enzimas. O produto gerado não necessariamente é uma molécula menos tóxica;
- Mineralização: é a degradação completa de uma molécula a formas inorgânicas (CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, NH<sub>3</sub>, entre outros). Bioquimicamente difere do conceito de biodegradação, pois este não inclui necessariamente o processo de mineralização;
- Conjugação: é a adição de metabólitos microbianos ou outros materiais do solo (substâncias húmicas e argilas). De maneira geral, a molécula torna-se menos tóxica e mais recalcitrante;
- Ativação: é a conversão biótica de uma molécula atóxica a tóxica que apresente ação biocida;
- Mudança de espectro de toxicidade: ocorre quando uma molécula tóxica para um grupo de organismos torna-se tóxica para outros organismos devido ao processo de transformação.

De acordo com Frehse e Anderson (1983) os fatores de maior influencia na degradação microbiana de pesticidas são: a disponibilidade da molécula para os microrganismos ou os sistemas enzimáticos e a quantidade e atividade desses microrganismos ou sistemas enzimáticos. Moreira e Siqueira (2006) afirmam que, em relação a características do solo, os fatores de maior importância no processo de biodegradação são:

- Temperatura: influencia os processos de sorção, solubilidade e viscosidade os quais são determinantes na taxa de reação e na atividade da população do solo;
- Reação do solo (pH): depende das condições do solo como a capacidade tampão e o tipo de argila e também, das características do contaminante e das populações degradadoras;
- Características físicas: afeta diretamente o mecanismo de retenção que por sua vez influencia a biodisponibilidade do pesticida no solo;
- Matéria orgânica e nutrientes: garante maior biomassa microbiana influenciando a biodisponibilidade. Os nutrientes estimulam a degradação, especialmente de N e P;

- Receptores de elétrons: determinam o tipo de população ativa na degradação (anaeróbia ou aeróbia);
- Metais pesados: influencia na biomassa e atividade degradadora. Funcionam como inibidores enzimáticos ou do crescimento microbiano;
- Comunidade microbiana: adaptação para a degradação de uma molécula específica (biodegradação acelerada).

A biodegradação é essencial para permitir a reciclagem de nutrientes tais como carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e enxofre, pois sem ela esses nutrientes podem ficar retidos em complexos não biodegradáveis (BOLLAG; BOLLAG, 1992). Os mais importantes agentes da biodegradação são as bactérias e os fungos e, em geral, estes decompõem as substâncias orgânicas com o propósito de gerar energia e nutrientes para o seu crescimento (BOLLAG; BOLLAG, 1992). Portanto, uma consequência da biodegradação de um composto é um aumento no número de microrganismos degradantes desta substância (BOLLAG; BOLLAG, 1992).

Porém, algumas vezes a degradação de um pesticida não é acompanhada pelo crescimento da população microbiana. Isso ocorre pela incapacidade de determinada comunidade microbiana utilizar o pesticida como fonte de energia. Embora ocorra a quebra da molécula pela influência biótica, os microrganismos não a usam como fonte de nutrientes. Esse fenômeno é denominado cometabolismo e resulta de uma falta de especificidade de certas enzimas microbianas que embora modifiquem a molécula quimicamente não geram produtos que possam ser metabolizados pela comunidade microbiana (BOLLAG; BOLLAG, 1992). As principais consequências do cometabolismo são: os microrganismos responsáveis pela transformação não se proliferam na presença do pesticida e como resultado, a taxa de transformação do composto não aumenta de acordo com o tempo e os produtos da transformação podem se acumular no ambiente (BOLLAG; BOLLAG, 1992). A transformação de um pesticida por cometabolismo por um grupo de microrganismos pode servir como substrato para outro grupo e desta forma a molécula pode ser completamente degradada por uma série de reações cometabólicas por várias espécies microbianas (BOLLAG; BOLLAG, 1992).

A denominação de biodegradação acelerada ocorre após sucessivas aplicações de determinado pesticida e é resultado de uma adaptação metabólica dos microrganismos. Suas conseqüências são: desaparecimento acelerado do pesticida evitando seu acúmulo no solo (importante mecanismo para remediação de áreas poluídas); redução da persistência no solo o que diminui a eficácia do produto no controle dos organismos-alvo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

### **1.3.3 Transporte**

A lixiviação (movimentação vertical), o escoamento superficial (“runoff”) e a volatilização são as formas de transporte de pesticidas no ambiente. O escoamento superficial, definido como a movimentação do pesticida ao longo da superfície do solo, favorece a contaminação das águas superficiais, pois o pesticida é carregado e adsorvido às partículas do solo erodido ou em solução. O transporte por escoamento superficial é dependente de padrões de uso, condições climáticas e geografia. Por isso, este não é tão previsível como o processo de lixiviação.

A lixiviação de pesticidas é a principal forma de transporte de moléculas não voláteis e solúveis em água. Sua ocorrência resulta em contaminação das águas subterrâneas e neste caso, as substâncias químicas são carregadas em solução juntamente com a água que alimenta os aquíferos. A permanência dos pesticidas no solo agrícola é inversamente proporcional da taxa de ocorrência dos processos de transporte. Em geral, os principais fatores que governam o processo de lixiviação são: a solubilidade em água da molécula, a textura e estrutura do solo e o índice pluviométrico da região em questão (PRATA, 2002; SPADOTTO, 2002). Em geral, pode-se esperar correlação positiva entre a precipitação pluvial e a lixiviação de herbicidas, e as precipitações intensas podem incrementar a lixiviação desses produtos e contaminar as águas subsuperficiais (MONQUERO et al., 2008).

#### 1.4 Comportamento e influência nos aspectos microbianos do solo pelo glifosato

O glifosato [N-(fosfonometil) glicina] é um herbicida pertencente ao grupo químico das glicinas substituídas, não-seletivo e sistêmico, utilizado para o controle de plantas daninhas em pré-emergência ou pós-emergência em culturas resistentes, como dessecante em sistemas de plantio direto e para eliminação de plantas daninhas em ambientes aquáticos (RODRIGUES; ALMEIDA, 1995). É absorvido pelas folhas e translocado via floema fazendo ligação com a enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato (EPSPS) inibindo a síntese de aminoácidos pela planta (ROBERTS, 1998). Nos solos, o glifosato é caracterizado pela sua elevada sorção com os colóides orgânicos e minerais e devido à elevada energia de ligação com o solo, este herbicida é pouco desorvido (CHEAH et al., 1997). De acordo com Sprankle et al. (1975) os valores de  $pK_a$  para o glifosato são 2; 2,6; 5,6 e 10,6. A presença de vários valores de  $pK_a$  sugere que a sorção do glifosato é dependente do pH do solo. Em geral, valores elevados de pH são desfavoráveis para a sorção de glifosato pois os componentes orgânicos e inorgânicos do solo bem como o glifosato ficam carregados negativamente (De JONGE et al., 2001).

Prata et al. (2000), estudaram a influência da matéria orgânica na sorção do glifosato em solos. De acordo com os autores, a sorção do glifosato esteve relacionada principalmente com a fração mineral dos solos estudados. Para os solos com elevados teores de óxidos de Fe e Al, a matéria orgânica não influenciou a sorção do glifosato. Já para os solos com baixos teores de óxidos de Fe e Al a matéria orgânica desempenhou um importante papel na sorção deste herbicida. Não houve desorção para nenhum dos solos estudados, o que demonstra que o glifosato ficou em sua totalidade na forma de resíduo ligado. De acordo com Tomlin (1997), espera-se que o glifosato não seja sorvido a matéria orgânica do solo, pois seu valor de  $\log K_{ow}$  é negativo (-3,4). Entretanto, estudos recentes conduzidos por Albers et al. (2009), demonstraram que em diferentes frações da matéria orgânica do solo ocorre significativa sorção do glifosato, após 80 dias aproximadamente 40% do total adicionado de glifosato estava associado com ácidos húmicos e fúlvicos em um solo arenoso.

O processo de transporte do glifosato é bastante discutido. De uma forma geral, o risco de lixiviação do glifosato é mínimo em função da rápida degradação e elevada sorção nos solos (RUEPPEL et al., 1977; De JONGE; De JONGE, 1999; AAMAND; JACOBSEN, 2001; BORGGAARD; GIMSING, 2008). Shipitalo et al. (2008), avaliaram as perdas por runoff de glifosato e glufosinato, comparando as perdas de herbicidas residuais comumente utilizados nas culturas de soja e milho (alachlor, metribuzin, linuron e atrazina). De acordo com os autores, as perdas de glifosato e glufosinato foram mínimas e a utilização de culturas transgênicas tolerantes a estes herbicidas tende a diminuir o impacto ambiental proveniente do transporte de herbicidas residuais por runoff.

Na degradação do glifosato observa-se a ausência de lag fase. Isto indica que a degradação deste herbicida ocorre por um processo co-metabólico (TORSTENSSON, 1985). A rápida degradação do glifosato em solos é resultado da ação microbiana, tanto no meio aeróbico como no meio anaeróbico (RUEPPEL et al., 1977). A degradação do glifosato é caracterizada por uma fase inicial rápida seguida de uma segunda fase de lenta e prolongada mineralização (RUEPPEL et al., 1977; ACCINELLI et al., 2005; GRUNDMANN et al., 2008). As ligações C-P da molécula de glifosato são bastante resistentes a degradação química, sendo a degradação biológica, através da enzima C-P liase a responsável pela quebra dessas ligações (OBOJSKA et al., 1999). De acordo com Liu et al. (1991), muitos microrganismos podem degradar o glifosato formando AMPA (ácido aminometilfosfônico) e sarcosina como produtos de degradação. Gimsing et al. (2004), encontraram correlação positiva entre a mineralização de glifosato e o tamanho da população de *Pseudomonas spp.* nos solos estudados. De acordo com os autores, esses microrganismos são os principais controladores da mineralização de glifosato no solo. Prata et al. (2005) avaliaram a mineralização de glifosato em solos que estavam sob sistema de plantio convencional e plantio direto por um período de 23 anos. Após 63 dias do início do experimento, o solo sob sistema de plantio direto apresentou os maiores valores de  $^{14}\text{CO}_2$  desprendido, indicando que a mineralização do glifosato foi maior neste sistema de plantio. Os autores explicam que a maior atividade microbiana do solo sob sistema de plantio direto foi responsável pela maior mineralização da molécula. Alexa et al. (2009) conduziram estudos de mineralização

de glifosato em diferentes tipos de solos observando que a mineralização foi rápida nos primeiros dias decrescendo de acordo com o tempo. Os autores atribuíram a fase inicial de rápida mineralização à ação microbiana sob o glifosato em solução e a fase lenta ao ataque microbiano ao glifosato sorvido aos colóides do solo. Newton et al. (1994) conduziram estudos de dissipação de glifosato em solos florestais demonstrando que os resíduos foram encontrados em maiores concentrações no solo quando este estava descoberto. Não foram detectados resíduos de glifosato no solo após 409 dias do início do ensaio e de acordo com os autores, não houve movimentação desse pesticida abaixo de 15cm de profundidade no perfil do solo.

A influência do glifosato sobre a microbiota do solo é bastante discutida. De uma forma geral, os efeitos citados na literatura, quando existentes, são de curto prazo. Haney et al. (2000), avaliaram o efeito do glifosato na atividade e biomassa microbiana. De acordo com os autores, o glifosato estimulou a atividade microbiana (medida pela mineralização de carbono e nitrogênio), porém não afetou a biomassa microbiana. A mineralização de C e N foi proporcional a dose de glifosato utilizada. Em 14 dias a mineralização de C voltou ao nível basal. Houve relação linear entre o C e N adicionado e o C e N mineralizado indicando que o glifosato é rapidamente degradado. Resultados semelhantes para a influência do glifosato na biomassa microbiana também podem ser vistos nos trabalhos de Wardle e Parkinson (1990), Hart e Brookes (1996).

Gomez et al. (2009) avaliaram a biomassa microbiana e o quociente metabólico da microbiota do solo após aplicação de doses crescentes de glifosato. As análises foram realizadas aos 4 e 45 dias. A biomassa microbiana aos 4 dias foi significativamente menor nas maiores doses utilizadas (1,92 e 3,84 L i.a ha<sup>-1</sup>). Após 45 dias a biomassa microbiana para a dose 3,84 L i.a ha<sup>-1</sup> foi menor. Diferenças significativas foram encontradas no qCO<sub>2</sub> (quociente metabólico) entre as doses em todos os períodos de incubação. A atividade da desidrogenase foi maior nas menores doses (0,48 e 0,96 L i.a ha<sup>-1</sup>) e menor nas doses superiores. Os autores observaram que os efeitos na microbiota do solo foram transitórios tanto para as doses próximas as usadas em campo como para as maiores doses. Araújo et al. (2003) encontraram um aumento de 10-15% no CO<sub>2</sub> evoluído do solo comparando com o mesmo tipo de solo que nunca recebeu glifosato. Os autores também encontraram um aumento no número

de fungos e actinomicetos e uma diminuição no número de bactérias. Esses resultados indicaram que o glifosato foi degradado pelos microrganismos com a formação de AMPA e que o herbicida teve um efeito positivo na atividade microbiana a curto e longo prazo. Lancaster et al. (2009), reportam que ocorre incorporação de resíduos de  $^{14}\text{C}$ -glifosato à biomassa microbiana, indicando uma forma de utilização por via metabólica. Porém, os ensaios de degradação não apresentaram incrementos em função da incorporação na biomassa microbiana, indicando que a degradação do glifosato ocorre por uma via co-metabólica.

O glifosato, de uma forma geral, é considerado um herbicida seguro ao meio ambiente principalmente devido sua rápida inativação no solo (pela formação de resíduos ligados) e rápida degradação no solo. Porém, em função da utilização de elevadas quantidades dessa molécula em diferentes situações ambientais, são necessários estudos contínuos sobre o comportamento desse herbicida.

### **1.5 Comportamento e influência nos aspectos microbianos do solo pela atrazina**

A atrazina [2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-s-triazina] é um herbicida pertencente ao grupo químico das triazinas, seletivo, utilizado no controle de plantas daninhas na cultura do milho, sorgo, cana-de-açúcar, entre outras (TOPP et al., 2000). Atua como um inibidor da fotossíntese sendo transportado via xilema e acumulando-se em meristemas apicais (ROBERTS, 1998).

A atrazina é considerada uma molécula recalcitrante no ambiente, considerada moderadamente persistente no solo e, embora possua baixa solubilidade em água ( $33\mu\text{g L}^{-1}$  a  $22^\circ\text{C}$ ) apresenta elevado potencial de mobilidade no solo (WINKELMANN; KLAINÉ, 1991). Seu principal mecanismo de dissipação é através da degradação microbiana (KAUFMAN; KEARNEY, 1970). O baixo coeficiente de partição ( $K_d = 0,19 - 2,46$ ), também faz com que a molécula possua potencial de transporte em superfície e subsuperfície (HUBBER, 1993; SOLOMON et al., 1996). Diversos autores destacam a problemática da contaminação de águas superficiais e subsuperficiais pela atrazina (BUSER, 1990; PICK et al., 1992; DÖRFLER et al., 1997; YASSIR et al., 1999; entre outros) tanto que seu uso foi banido na União Européia em 2003 (SASS; COLANGELO,

2006). Jablonowski et al. (2009), conduziram estudos de persistência de atrazina passados 22 anos da última aplicação deste herbicida. Foram detectadas concentrações em média quatro vezes maiores em subsuperfície comparado a superfície do solo (0-10cm), indicando elevado risco de contaminação de águas subterrâneas, mesmo após 22 anos de exposição desse herbicida.

Nos solos a atrazina apresenta sorção relacionada ao conteúdo de matéria orgânica (NOVAK, 1999), pH (MA; SELIM, 1996), densidade de carga superficial de argilas e, em argilas expansíveis, a densidade de carga entre camadas (GILCHRIST et al., 1993). De acordo com Ma e Selim (1996), a hidroxiatrazina (produto da degradação química da atrazina), é mais fortemente sorvida no solo que a atrazina. A desetilatrazina e deisopropilatrazina (produtos da degradação biológica da atrazina) possuem maior mobilidade que a atrazina. Correia et al. (2007) avaliaram a sorção de atrazina em um solo tropical. Os resultados indicaram baixa capacidade de sorção atribuído à textura arenosa do solo e a presença de minerais altamente intemperizados com baixa superfície específica e capacidade de troca catiônica. Prata et al. (2003), conduziram ensaios de sorção de atrazina sob sistema de plantio direto e convencional também em um solo de clima tropical. A porcentagem de atrazina sorvida foi por volta de 43% para os dois sistemas de cultivo. No ensaio de dessorção, os autores reportam a presença de aproximadamente 91% de atrazina sorvida, indicando que houve uma pequena histerese comparada aos dados da literatura. Isto significa que sorção de atrazina não é completamente reversível e requer menor energia que a dessorção. Peixoto et al. (2005), avaliando a remobilização de resíduos ligados de atrazina em ácidos fúlvicos, observaram que grande parte dos resíduos de  $^{14}\text{C}$ -atrazina em ácidos fúlvicos permaneceu nesta fração, sendo a remobilização para os ácidos húmicos e humina insignificante e também, ocorreu baixa mineralização deste herbicida. Kleinschmitt et al. (2006), observaram elevada sorção de atrazina em seus estudos independente da mineralogia e teor de carbono em um argissolo e um vertissolo. Em média 65 a 70% do total do herbicida aplicado permaneceram sorvidos. Os autores também observaram que a dessorção de atrazina decresceu com o tempo, relacionando isto a degradação da atrazina disponível na solução do solo. Correa et al. (2007), avaliaram a sorção de atrazina em um Latossolo Vermelho distroférico de textura argilosa sob sistemas de

plântio direto, plântio convencional, vegetação nativa e solo subsuperficial, onde os teores de matéria orgânica foram 33,3; 59,0; 31,3; 31,3 g.dm<sup>3</sup>, respectivamente. O sistema de plântio direto apresentou o maior potencial de adsorção de atrazina, em relação aos outros sistemas. Isso indica que não só a quantidade, mas a qualidade e o grau de humificação da matéria orgânica incorporada ao solo devem ser levados em consideração nos estudos de retenção de pesticidas. De acordo com os autores, as diferenças na qualidade da matéria orgânica do solo podem explicar resultados controversos como, por exemplo, o estudo de Prata et al. (2003).

O transporte de atrazina no solo se dá através do transporte lento através da matriz do solo ou rápido, através dos macroporos (MA; SELIM, 1996). Correia e Langenbach (2006), reportam perdas de atrazina por lixiviação de 4 a 11% em um argissolo sob a condição de clima tropical úmido. Os autores atribuíram essa variação ao fluxo preferencial causado por fissuras no solo. A textura arenosa e o baixo teor de matéria orgânica do solo estudado, possivelmente foram os responsáveis pela diminuição da capacidade de retenção de água, o que favorece a lixiviação da solução do solo contendo atrazina. Com relação ao runoff, aos dois dias, foi observado um percentual de 1,6 e 0,4 do total aplicado na fase líquida e sorvida nas partículas de solo erodidas, respectivamente. Essa diferença é atribuída à solubilidade da atrazina (<10mg L<sup>-1</sup>), o que caracteriza uma tendência de permanecer na fase líquida.

A degradação de atrazina nos solos ocorre por via química ou biológica resultando na formação principalmente dos metabólitos hidroxiatrazina, deetilatrazina e deisopropilatrazina. Estes metabólitos possuem diferentes potenciais de mobilidade e toxicidade e, portanto, diferentes potenciais de contaminação (BARRETT, 1996). A degradação biótica é considerada a maior rota de degradação de atrazina nos solos (BARRIUSO; HOUOT, 1996), sendo a N-dealquilação a primeira reação da rota de degradação, com a remoção do grupo etil seguido da remoção do grupo isopropil (RADOSEVICH et al., 1995). De acordo com Haney et al. (2002), microrganismos específicos são capazes de detoxificar a atrazina por reações de N-dealquilação ou dehalogenação, e estes são capazes de utilizar o nitrogênio do anel triazínico como fonte de energia. É importante destacar que a hidrólise química, com a formação de

hidroxiatrazina (ARMSTRONG et al., 1967), é um importante meio de dissipação desse herbicida em solos ácidos (PIMENTEL; ROSIM, 2000).

Barriuso e Houot (1996) realizaram um estudo comparativo entre a mineralização de atrazina em solos com microbiota adaptada (com histórico de aplicação) e não-adaptada (sem histórico de aplicação) concluindo que a taxa de mineralização foi sempre inferior na situação não-adaptada. Hang et al. (2007) avaliaram a mineralização de atrazina em superfície e subsuperfície em solos com aplicações prévias de atrazina. De acordo com os resultados, os autores sugerem que os microrganismos responsáveis pela mineralização de atrazina ficam distribuídos tanto em superfície como em subsuperfície em solos adaptados, indicando que a aplicação freqüente de atrazina aumenta a mineralização em subsuperfície sendo considerado um mecanismo natural de biorremediação. Estudos conduzidos por Krutz et al. (2009) indicam uma lag fase cinco vezes menor e mineralização da atrazina por volta de três vezes maior quando se compara solos adaptados a solos não-adaptados. Krutz et al. (2010) afirmam que em um ponto de vista ambiental, os resíduos de atrazina no ambiente podem ser super estimados em aproximadamente 13 vezes em solos adaptados pois a persistência e rotas metabólicas não refletem o destino e o transporte deste herbicida.

Houot et al. (2000), observaram em seus estudos que quando o pH do solo foi menor que 6,5, menos de 25% de  $^{14}\text{C}$ -atrazina inicialmente aplicada foi mineralizada em solos adaptados. Em contrapartida, quando o pH do solo foi superior a 6,5 houve mineralização de aproximadamente 80% aos 35 dias de incubação. De acordo com os autores, a acidez do solo diminui a biodisponibilidade dessa molécula, pois seu metabólito hidroxiatrazina em meio ácido apresenta elevada sorção. Behki e Khan (1986), afirmam que uma fração considerável de atrazina é degradada por espécies não fúngicas. O grupo *Pseudomonas* foi responsável por 25 a 30% da biodegradação de atrazina através da N-dealquilação removendo o grupo isopropil ou etil da molécula de atrazina. A formação de deisopropilatrazina foi maior que a formação de deetilatrazina. A razão da preferência pela n-dealquilação do grupo isopropil não é conhecida. Goswami e Green (1971) avaliaram a degradação de atrazina em um ambiente anaeróbio. A degradação foi lenta em função do elevado pH e aeração restrita do meio.

De Queiroz e Monteiro (2000), reportam elevados valores de mineralização de atrazina (em média 36%) em seus estudos, atribuindo esses resultados principalmente à alternância da temperatura entre o dia e a noite, o que pode favorecer diferentes populações microbianas ao ataque deste herbicida. Associando a elevada mineralização com o aumento dos resíduos não-extraíveis de atrazina conforme o tempo, os autores afirmam que a fração mineralizada de atrazina se deve a fração extraível. Roeth et al. (1969), observaram que a cada aumento de 10°C na faixa de 15 a 35°C causa um incremento na taxa de degradação de atrazina na ordem de 2 a 3 vezes nos solos estudados.

A influência da atrazina nos aspectos microbianos do solo é extensamente discutida e apresenta resultados controversos. Por exemplo, com relação à influência da atrazina no carbono da biomassa microbiana, Song et al. (2009) e Moreno et al. (2007) reportam um aumento em solos de regiões de clima semiárido e, Ghani et al. (1996) constataram em seus estudos que o carbono da biomassa microbiana ficou inalterado. Mahía et al. (2008), também observaram que não houveram incrementos no carbono da biomassa microbiana em seus estudos a partir de dois tipos de Cambissolos. A mineralização de carbono pelo solo (baseado no desprendimento de CO<sub>2</sub> pelo solo) é um parâmetro bastante avaliado quando se busca entender as relações entre pesticidas e microbiota do solo. Em relação à influência da atrazina nesse parâmetro Gan et al. (1996), utilizando uma faixa de concentração de 500 a 5000mg Kg<sup>-1</sup> solo observaram que houve um aumento na taxa de CO<sub>2</sub> desprendido. Mahia et al. (2008), estudaram a mineralização de carbono pelo solo em Cambissolos influenciado pela adição de atrazina. Os autores afirmam que o aumento nesse parâmetro foi mais pronunciado nos primeiros sete dias, porém manteve-se em menor extensão durante todo o período de incubação, indicando um efeito residual da atrazina na comunidade microbiana do solo.

A elevada persistência associada ao potencial de mobilidade no ambiente da atrazina caracteriza seu elevado risco de contaminação do meio ambiente. Também, seus efeitos tóxicos à microbiota do solo sugerem a busca de alternativas que viabilizem a diminuição do seu uso.

## 1.6 Associações entre pesticidas e o comportamento no solo

As associações entre herbicidas, mais conhecidas como misturas de tanque, tem a finalidade de reduzir o número de pulverizações. Essa prática tem sido preferida pelos produtores, pois requer menos tempo e custo de aplicação comparada a cada herbicida aplicado individualmente (SHAW; ARNOLD, 2002). A prática mais comum consiste em aplicar simultaneamente herbicidas de ação total e residual, objetivando aumentar o espectro de espécies controladas ou seu período de controle. Essa prática pode resultar, em termos de controle da espécie desejada, reações antagônicas ou sinérgicas que dependem dos herbicidas utilizados e das plantas a serem controladas (VIDAL et al., 2003). Vários estudos elucidam a questão de efeitos sinérgicos e antagônicos no controle de plantas daninhas, relativos à mistura de ingredientes ativos. Em relação ao herbicida glifosato, por exemplo, destacam-se: Vidal et al. (2003); Shaw e Arnold (2002), Selleck e Baird (1981). Porém, o efeito das associações no destino dos pesticidas no solo é pouco discutido.

White et al. (2010), estudaram os efeitos do fungicidas chlorothalonil, tebuconazole, flutriafol e cyproconazole na cinética de dissipação do herbicida metolachlor. O chlorothalonil diminuiu significativamente a dissipação do metolachlor comparado ao solo não tratado ou tratado com os outros fungicidas. Ocorreu uma redução significativa na formação de metabólitos de metolachlor e os autores atribuem isto, a influência do fungicida na atividade da enzima glutathione S-transferase. De uma forma geral, o chlorothalonil aumentou a persistência em duas vezes do metolachlor. Ke-Bin et al. (2008) estudaram a degradação dos herbicidas atrazina e bentazone aplicados em associação na cultura do milho. Comparando a degradação das moléculas aplicadas individualmente e em combinação notou-se uma lag fase maior e também, uma redução na degradação quando aplicados em combinação. De acordo com os autores, o uso da combinação desses pesticidas prolonga sua persistência no solo e conseqüentemente aumenta seus potenciais de contaminação ambiental.

Krutz et al. (2003), estudaram o efeito do glifosato na degradação de atrazina em um solo de textura siltosa, pH 8,3 e carbono orgânico 10,6g Kg<sup>-1</sup> da região do Texas, EUA. A degradação da atrazina foi inversamente correlacionada com a dose de

glifosato e atividade microbiana em um período de oito dias, indicando que o glifosato estimulou a atividade microbiana e inibiu a degradação da atrazina. Os autores argumentam que o mecanismo de degradação da atrazina nesse sistema é preferencialmente microbiano e a redução da degradação está relacionada com o decréscimo da atividade enzimática e/ou a supressão das populações degradantes pelo glifosato. Para o mesmo tipo de solo, resultados semelhantes são demonstrados por Haney et al. (2002) que estudaram o efeito da atrazina e glifosato na atividade microbiana do solo através da mineralização de carbono (C) e nitrogênio (N) do solo. Os autores concluíram que os tratamentos em que se utilizou a mistura entre atrazina e glifosato a atividade microbiana foi superior comparada a aplicação apenas de atrazina. Também, a partir dos fluxos de C e N, que ocorre preferência microbiana pelo glifosato em um primeiro momento, levando a crer que a completa mineralização deste herbicida ocorra em 14 dias sendo seguida por uma rápida degradação de atrazina.

Zablotowicz et al. (2008) avaliando os efeitos do glufosinato, sulfato de amônio e da combinação de glufosinato e sulfato de amônio sobre a mineralização da atrazina observaram que houve uma redução na mineralização deste herbicida quando o glufosinato e sulfato de amônio foram aplicados conjuntamente. Os autores explicam que a fertilização com sulfato de amônio altera a partição da molécula de  $^{14}\text{C}$ -atrazina, a formação de metabólitos e os resíduos não extraíveis da molécula indicando que este fertilizante reprime a clivagem do anel triazínico da molécula de atrazina. Os resultados encontrados indicam que a aplicação conjunta de glufosinato com uma fonte mineral de nitrogênio pode aumentar a persistência de atrazina nos solos, aumentando seu efeito residual. Lancaster et al. (2008) avaliaram a degradação microbiana do herbicida fluometuron influenciada pelo glifosato. A adição de glifosato aumentou a mineralização de carbono pelo solo e aumentou a degradação de fluometuron. Os autores atribuem o aumento da mineralização de C pelo solo com o aumento da degradação de fluometuron ou um efeito priming causado pelo glifosato.

Tejada (2009), avaliou a influência da associação entre glifosato e diflufenican em aspectos biológicos do solo. Quando estes pesticidas foram aplicados em associação, houve um maior tempo para a degradação de ambos, comparado a suas aplicações individuais. A associação entre glifosato e diflufenican aumentou os efeitos

tóxicos de ambos os pesticidas na atividade biológica do solo (medida através do carbono da biomassa microbiana e atividade das enzimas dehidrogenase, urease,  $\beta$ -glucosidase, fosfatase e arilsulfatase) e a persistência individual de cada herbicida. Pereira et al. (2008), avaliaram a influência da associação entre glifosato e endosulfan sobre a atividade microbiana do solo na cultura da soja. A atividade microbiana do solo foi medida através da determinação da produção de CO<sub>2</sub> pela microbiota do solo. A aplicação de endosulfan isolado ou em associação com o glifosato reduziu esse parâmetro e também, a biomassa microbiana e o quociente metabólico.

A associação entre pesticidas, por ser uma prática comum, deve ser considerada nos estudos de destino ambiental dessas moléculas. Os resultados demonstrados pela literatura evidenciam a existência de interações entre os pesticidas, o que pode modificar ou alterar seus comportamentos nos compartimentos ambientais. Por isso, os estudos de comportamento e destino ambiental de pesticidas devem incluir esse aspecto, buscando aproximar os estudos de laboratório à realidade no campo.

## Referências

AAMAND, J.; JACOBSEN, O.S. Sorption and degradation of glyphosate and dichlobenil in fractured clay. In: WALKER, A. (Ed.). **Pesticide behaviour in soils and water**. Farnham: British Crop Protection Council, 2001. p. 205-210. (Monograph Series, 78).

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, Food and Chemistry**, Washington, v. 53, p. 4110-4117, 2005.

AGBIOS. Disponível em: < <http://www.agbios.com/main.php>>. Acesso em: 12 fev. 2010.

ALBERS, C. N.; BANTA, G.T.; HANSEN, P.E.; JACOBSEN, O.S. The influence of organic matter on sorption and fate of glyphosate in soil. Comparing different soils and humic substances. **Environmental Pollution**, Massachusetts, v. 157, n. 10, p. 2865-2870, 2009.

ALEXA, E.; BRAGEA, M.; SUMALAN, R. ; LAZUREANU, A.; NEGREA, M.; IANCU, S. Dynamic of glyphosate mineralization in different soil types. **Romanian Agricultural Research**, Fundulea, v. 26, p. 57-60, 2009.

ARAUJO, A.S.F.; MONTEIRO, R.T.R.; ABARKELI, R.B. Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils. **Chemosphere**, Oxford, v.52, n.5, p.799-804, 2003.

ARMSTRONG, D.E.; KONRAD, J.G. Non-biological degradation of pesticides. In: GUENZI, W.D. (Ed.). **Pesticides in soil and water**. Madison: Soil Science Society of America, 1974. p. 123-131.

ARMSTRONG, D.E.; CHESTERS, G.; HARRIS, R.F. Atrazine hydrolysis in soil. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 31, p. 61-66, 1967

BALBINOT Jr., A.A.; FLECK, N.G. Competitividade de dois genótipos de milho (*Zea mays*) com plantas daninhas sob diferentes espaçamentos entre fileiras. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 23, n. 3, p. 415-421, 2005.

BARRETT, M.R. The environmental impact of pesticide degradates in groundwater. In: MEYER, M.T.; THURMAN, E.M. (Ed.). **Herbicide metabolites in surface water and groundwater**. Washington: ACS Symposium Series, 1996. p. 200–250.

BARRIUSO, E.; HOUOT, S. Rapid mineralization of the s-triazine ring of atrazine in soils in relation to soil management. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 28, p. 1341-1348, 1996.

BEHKI, R.M.; KHAN, S.U. Degradation of atrazine by *Pseudomonas*: N-dealkylation and dehalogenation of atrazine and its metabolites. **Journal of Agriculture Food and Chemistry**, Washington, v. 24, n. 4, p. 746-749, 1986.

BOLLAG, J.M. Microbial transformation of pesticides. **Advances in Applied Microbiology**, New York, v. 18, p. 75-130, 1974.

BOLLAG, W.B.; BOLLAG, J. Biodegradation. In: LEDERBERG, J. (Ed.). **Encyclopedia of microbiology**. San Diego: Academic Press, 1992. p. 461-471.

BORGGGAARD, O.K.; GIMSING, A.L. Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review. **Pest Management Science**, West Sussex, v. 64, p. 441-456, 2008.

BOUCHARD, D.C.; ENFIELD, C.G.; PIWONI, M.D. Transport processes involving organic chemicals. In: SAWHNEY, B.L.; BROWN, B.L. (Ed.). **Reactions and movement of organic chemicals in soils**. Madison: Soil Science Society of America, 1989. p. 349-372.

BRIGGS, G.G.; TINKER, P.B.; GRAHAM-BRYCE, I.J. Predicting the behaviour of pesticides in soil from their physical and chemical properties [and discussion]. **Philosophical Transactions: Biological Sciences**, London, v. 329, n. 1255, p. 375-382, 1990.

BUSER, H.R. Atrazine and other s-triazine herbicides in lakes and in rain in Switzerland. **Environmental Science and Technology**, New York, v. 24, n. 7, p. 1049-1058, 1990.

CALDERBANK, A. The occurrence and significance of bound pesticide residues in soil. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 108, p. 71-103, 1989.

CARVALHO, L.B.; BIANCO, S.; PITELLI, R.A.; BIANCO, M.S. Estudo comparativo do acúmulo de massa seca e macronutrientes por plantas de milho var. BR-106 e *Brachiaria plantaginea*. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 25, n. 2, p. 293-301, 2007.

CHEAH, U.B.; KIRKWOOD, R.C.; LUM, K.Y. Adsorption, desorption and mobility of four commonly used pesticides in Malaysian agricultural soils. **Pesticide Science**, New York, v. 50, p. 53-63, 1997.

CHIOU, C.T.; MALCOLM, R.L.; BRINTON, T.I.; KILE, D.E. Water solubility enhancement of some organic pollutants and pesticides by dissolved humic and fulvic acids. **Environmental Science & Technology**, Easton, v. 20, p. 502-508, 1966.

COMPANIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, sexto levantamento, março 2010**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conabweb/index.php?PAG=131>>. Acesso em: 02 abr. 2010.

CORREIA, F.V.; LANGENBACH, T. Dinâmica da distribuição e degradação de atrazina em argissolo vermelho-amarelo sob condições de clima tropical úmido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, p. 183-192, 2006.

CORREIA, F.V.; MERCANTE, F.M.; FABRÍCIO, A.C.; DE CAMPOS, T.M.P.; VARGAS Jr., E.; LANGENBACH, T. Adsorção de atrazina em solo tropical sob plantio direto e convencional. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 17, p. 37-46, 2007.

DAMIN, V. **Biodegradação, sorção e dessorção do herbicida <sup>14</sup>C-diuron em dois Latossolos tratados com lodo de esgoto**. 2005. 70 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

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

DE JONGE, H.; DE JONGE, L.W.; JACOBSEN, O.H.; YAMAGUCHI, T.; MOLDRUP, P. Glyphosate sorption in soils with varying pH and phosphorus status. **Soil Science**, Baltimore, v. 166, p. 230-238, 2001.

DEWAR, A.M. Weed control in glyphosate-tolerant maize in Europe. **Pest Management Science**, West Sussex, v. 65, p. 1047-1058, 2009

DÖRFLER, U.; FEICHT, E.A.; SCHEUNERT, I. S-Triazine residues in groundwater. **Chemosphere**, Oxford, v. 35, p. 99-106, 1997.

EXTOXNET. **Questions about pesticide environmental fate**. 1998. Disponível em: <<http://extoxnet.orst.edu/faqs/pesticide/pestfate.htm>>. Acesso em: 13 jan. 2010.

FERREIRA, C.R.R.P.T.; VEGRO, C.L.R.; CAMARGO, M.L.B. Defensivos agrícolas: rumo a uma retomada sustentável. **Revista Análise e Indicadores do Agronegócio**, v. 3, n. 2, 2008. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/verTexto.php?codTexto=9200>>. Acesso em: 29 mar. 2010.

FRANZ, J.E.; MAO, M.K.; SIKORSKI, J.A. **Glyphosate**: a unique global herbicide. Washington: American Chemical Society, 1997. 653 p.

FREHSE, H.; ANDERSON, J.P.E. Pesticide residues in soil – problems between concept and concern. In: GREENHALG, R.; DRESCHER, N. (Ed.). **Pesticide chemistry, human welfare and the environment**. Oxford: Pergamon Press, 1983. v. 4, p. 23-32.

FÜRHR, F.; OPHOFF, H.; BURAUDEL, P.; WANNER, U.; HAIDER, K. Modification of the definition of bound residues. In: FÜRHR, F.; OPHOFF, H. (Ed.). **Bound residue in soil**. Weinheim: Wiley-VHC, 1998. p. 175-176.

GAN, J.; BECKER, R. L.; KOSKINEN, W. C.; BUHLER, D. D. Degradation of atrazine in two soils as a function of concentration. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 25, p. 1064-1072, 1996.

GHANI, G.; WARDLE, D.A.; RAHMAN, A.; LAUREN, D.R. Interactions between <sup>14</sup>C-labelled atrazine and the soil microbial biomass in relation to herbicide degradation. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 21, n. 1/2, p. 17-22, 1996.

GILCHRIST, G.F.R.; GAMBLE, D.S.; KODAMA, H.; KHAN, S.U. Atrazine interactions with clay minerals: kinetics and equilibria of sorption. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 41, p. 1748-1755, 1993.

GIMSING, A.L.; BORGGAARD, O.K.; JACOBSEN, O.S.; AAMAND, J.; SØRENSEN, J. Chemical and microbiological soil characteristics controlling glyphosate mineralization in Danish surface soils. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 27, p.233–242, 2004.

GLOTFELTY, D.E.; SCHOMBURG, C.J. **Volatilization of pesticides from soil**: reactions and movement of organic chemicals in soils. Atlanta: Madison, 1989. p.181-207.

GOMEZ, E.; FERRERAS, L.; LOVOTTI, L.; FERNANDEZ, E. Impact of glyphosate application on microbial biomass and metabolic activity in a Vertic Argiudoll from Argentina. **European Journal of Soil Biology**, Paris, v. 45, p. 163–167, 2009.

GOSWAMI, K.P.; GREEN, R.E. Microbial degradation of the herbicide atrazine and its 2-hydroxy analog in submerged soils. **Environmental Science & Technology**, Easton, v. 5, n. 5, p. 426-429, 1971.

GRUNDMANN, S.; DÖRFLER, U.; RUTH, B.; LOOS, C.; WAGNER, T.; KARL, H.; MUNCH, J.; SCHROLL, R. Mineralization and transfer processes of <sup>14</sup>C-labeled pesticides in outdoor lysimeters. **Water, Air, & Soil Pollution**, Dordrecht, v. 8, p. 177-185, 2008

GUO, L.; JURY, W. A.; WAGENET, R. J.; FLURY, M. Dependence of pesticide degradation on sorption: nonequilibrium model and application to soil reactors. **Journal of Contaminant Hydrology**, Amsterdam, v. 43, n. 1, p. 45-62, 2000.

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

HANEY, R.L.; SENSEMAN, S.A.; KRUTZ, L.J.; HONS, F.M. Soil carbon and nitrogen mineralization as affected by atrazine and glyphosate. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 35, p. 35-40, 2002.

HANG, S.; HOUOT, S.; BARRIUSO, E. Vertical variation of atrazine mineralization capacity in soils. **Agriscientia**, Córdoba, v. 24, n. 2, p. 87-95, 2007

HART, M.R.; BROOKES, P.C. Soil microbial biomass and mineralization of soil organic matter after 19 years of cumulative field applications of pesticides. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 28, n. 12, p. 1641-1649, 1996.

HORNSBY, A.G.; WANCHOPE, R.D.; HERNER, A.E. **Pesticide properties in the environment**. New York: Springer-Verlag, 1995. 227 p.

HOUOT, S.; TOPP, E.; YASSIR, A.; SOULAS, G. Dependence of accelerated degradation of atrazine on soil pH in French and Canadian soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 32, p. 615-625, 2000.

HUBER W. Ecotoxicological relevance of atrazine in aquatic systems. **Environmental Toxicology & Chemistry**, Lawrence, v. 12, p. 1865-1881, 1993.

JABLONOWSKI, N.D.; KÖPPCHEN, S.; HOFMANN, D.; SCHÄFFER, A.; BURAUDEL, P. Persistence of <sup>14</sup>C-labeled atrazine and its residues in a field lysimeter soil after 22 years. **Environmental Pollution**, Massachusetts, v. 157, p. 2126-2131, 2009.

JAMES, C. **Global review of commercialized transgenic crops: 2002 Feature Bt Maize**. 2003. Disponível em: <<http://www.monsanto.co.uk/news/ukshowlib.phtml?uid=7536>>. Acesso em: 06 fev. 2010.

KAUFMAN, D.; KEARNEY, P. C. Microbial degradation of s-triazine herbicides. **Residue Reviews**, New York, v. 32, p. 235-265, 1970.

KAWAMOTO, K.; URANO, K. Parameters for predicting fate of organochlorine pesticides in the environment (II) Adsorption Constant to soil. **Chemosphere**, Oxford, v. 19, p. 1223-1231, 1989.

KE-BIN, L. I.; CHENG, J.; WANG, X.; ZHOU, Y.; LIU, W. Degradation of herbicides atrazine and bentazone applied alone and in combination in soils. **Pedosphere**, Amsterdam, v. 18, p. 265-272, 2008.

KLEINSCHMITT, A.R.B.; DICK, D.P.; SELBACH, P.A.; dos SANTOS, M. Dessorção do herbicida atrazina e atividade microbiana em duas classes de solos do estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 6, p. 1794-1798, 2006.

KRUTZ, L.J.; SENSEMAN, S.A.; HANEY, R.L. Effect of Roundup Ultra on atrazine degradation in soil. **Biology and Fertility of Soils**. Berlin, v. 38, p. 115-118, 2003.

KRUTZ, L.; BURKE, I.; REDDY, K.; ZABLOTOWICZ, R.; PRICE, A. Enhanced atrazine degradation: evidence for reduced residual weed control and a method for identifying adapted soils and predicting herbicide persistence. **Weed Science**, Champaign, v. 57, p.427-434, 2009.

KRUTZ, L.; SHANER, D.L.; WEAVER, M.A.; WEBB, R.M.T.; ZABLOTOWICZ, R.M.; REDDY, K.N.; HUANG, Y.; THOMSON, S.J. Agronomic and environmental implications of enhanced s-triazine degradation. **Pest Management Science**. v.66, n.5, p.461-481, 2010.

LANCASTER, S.H.; HANEY, R.L.; SENSEMAN, S.A.; KENERLEY, C.M.; HONS, F.M. Microbial degradation of Fluometuron is influenced by Roundup WeatherMAX. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 56, p. 8588-8593, 2008.

LANCASTER, S.H.; HOLLISTER, E.B.; SENSEMAN, S.A.; GENTRY, T.J. Effects of repeated glyphosate applications on soil microbial community composition and the mineralization of glyphosate. **Pest Management Science**, West Sussex, v. 66, p. 59-64, 2009.

LAVORENTI, A.; PRATA, F.; REGITANO, J. B. Comportamento de pesticidas em solos: fundamentos. In: CURI, N., MARQUES, J.J., GUILHERME, L.R.G., LIMA, J.M., LOPES, A.S., ALVAREZ V, V.H. (Org.). **Tópicos especiais em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2003. v. 3, p. 335-400.

LIU, C. M.; McLEAN, P. A.; SOOKDEO, C. C.; CANNON, F.C. Degradation of the herbicide glyphosate by members of the family Rhizobiaceae. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 57, p. 1799-1804, 1991.

- LYMAN, W. J.; REEHL, W. F.; ROSENBLATT, D. H. **Handbook of chemical property estimation methods**. Washington: ACS, 1990. 530 p.
- MA, L.; SELIM, H. M. Atrazine retention and transport in soils. **Reviews of Environmental Contamination & Toxicology**, New York, v. 145, p. 129-173, 1996.
- MACKAY, D.; SHIU, W.; MA, K. **Illustrated handbook of physical-chemical properties and environmental fate for organic chemicals**. Boca Raton: CRC Press, 1997. 795p.
- MAHIA, J.; CABANEIRO, A.; CARBALLAS, T.; DÍAZ-RAVIÑA, M. Microbial biomass and C mineralization in agricultural soils as affect by atrazine addition. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 45, p. 99-105, 2008.
- MARTINELLI Jr., O.; WAQUIL, P.D. Tendências recentes da indústria de defensivos agrícolas no Brasil. **Análise Econômica**, Porto Alegre, v. 38, n. 20, p. 123-142, 2002.
- MONQUERO, P.A.; AMARAL, L.R.; BINHA, D.P.; SILVA, A.C.; SILVA, P.V. Potencial de lixiviação de herbicidas no solo submetidos a diferentes simulações de precipitação. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 26, n. 2, p. 403-409, 2008.
- MONTEIRO, R. T. R. Degradação de pesticidas. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J.D. (Ed.). **Microbiologia ambiental**. Jaguariúna: Embrapa, CNPMA, 1997. p. 107-124.
- MOORMAN, T.B.; JAYACHANDRAN, K.; REUNGSANG, A. Adsorption and desorption of atrazine in soils and subsurface sediments. **Soil Science**, Baltimore, v. 166 n. 12, p. 921–929, 2001.
- MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2006. 729 p.
- MORENO, J. L.; ALIAGA, A.; NAVARRO, S.; HERNÁNDEZ, T.; GARCÍA, C. Effects of atrazine on microbial activity in semiarid soil. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 35, p. 120–127, 2007.
- NEWTON, M.; HORNER, L.M.; COWELL, J.E.; WHITE, D.E.; COLE, E.C. Dissipation of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in North American forest. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 42, p. 1795-1802, 1994.
- NOVAK, J.M. Soil factors influencing atrazine sorption: implications on fate. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 18, n. 8, p. 1663-1667, 1999.
- OBOJSKA, A.; LEJCZAK, B.; KUBRAK, M. Degradation of phosphonates by streptomycete isolates. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Heidelberg, v. 51, p. 872-876, 1999.

OLIVEIRA, M.F. de. Comportamento de herbicidas no ambiente. In: OLIVEIRA Jr., R.S.; CONSTANTIN, J. (Org.). **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Livraria e Editora Agropecuária, 2001. v.1, p. 315-362.

PEREIRA, J.L.; PICANÇO, M.C.; SILVA, A.A.; SANTOS, E.A.; TOMÉ, H.V.V.; OLARTE, J.B. Effects of glyphosate and endosulfan on soil microorganisms in soybean crop. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 26, n. 4, p. 825-830, 2008.

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.

PICK, F.E.; VAN DYK, L P.; BOTHA, E. Atrazine in ground and surface water in maize production areas of the transvaal, South Africa. **Chemosphere**, Oxford, v. 25, n. 3, p. 335-341, 1992.

PIMENTEL, D.; LEVITAN, L. Pesticides: amounts applied and amounts reaching pests. **BioScience**, Washington, v. 36, p. 86–91, 1986.

PIMENTEL, B.; ROSIM, R. Degradação de <sup>14</sup>C-atrazina em solo sob condições semi-controladas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 4, p. 849-856, 2000.

PLINE-SRNIC, W. Technical performance of some commercial glyphosate-resistant crops. **Pest Management Science**, West Sussex, v. 61, n. 3, p. 225-234, 2005.

PRATA, F. **Comportamento do glifosato no solo e deslocamento miscível de atrazina**. 2002. 122 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

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, 2000.

PRATA, F.; LAVORENTI, A.; VANDERBORGHT, J.; BURAUUEL, P.; VEREECKEN, H. Miscible displacement, sorption and desorption of atrazine in a brazilian oxisol. **Vadose Zone Journal**, Madison, v. 2, p. 728-738, 2003.

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, p. 61-69, 2005.

QUEIROZ, B.V.P. de; MONTEIRO, R.T. Degradação de <sup>14</sup>C-atrazina sob condições semicontroladas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 4, p. 849-856, 2000.

- RACKE, K.D. Pesticide in the soil microbial ecosystem. In: RACKE, K.D.; COATS, J.R. (Ed.). **Enhanced biodegradation of pesticides in the environment**. Washington: ACS, 1990. p. 1-12. (ACS Symposium Series, 426).
- RADOSEVICH, M.; TRAINA, S.J.; HAO, Y.L.; TUOVINEN, O.H. Degradation and mineralization of atrazine by a soil bacterial isolate. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 61, n. 1, p. 297-302, 1995.
- RAN, Y.; HE, Y.; YANG, G.; JOHNSON, J.L.H.; YALKOWSKY, S.H. Estimation of aqueous solubility of organic compounds by using the general solubility equation. **Chemosphere**, Oxford, v.48, p.487–509, 2002.
- RAO, P.S.C.; MANSELL, R.S.; BALDWIN, L.B.; LAURENT, M.F. **Pesticides and their behavior in soil and water**. Gainesville: Soil Science Fact Sheet, 1983. 4 p.
- ROBERTS, T.; HUTSON, D.H. **Metabolic pathways of agrochemicals: herbicides and plant growth regulators**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1998. v. 1, 849 p.
- RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 3. ed. Londrina: IAPAR, 1995. 675 p.
- ROETH, F.W.; LAVY, T.L.; BURNSIDE, O.C. Atrazine degradation in two soil profiles. **Weed Science**, Lawrence, v.17, n.2, p.202-205, 1969.
- RUEPPEL, M.L.; BRIGHTWELL, B.B.; SCHAEFER, J.; MARVEL, J.T.J. Metabolism and degradation of glyphosate in soil and water. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.25, n. 3, p. 517-528, 1977.
- SABLJIĆ, A.; GÜSTEN, H.; VERHAAR, H.; HERMENS, J. QSAR modelling of soil sorption. Improvements and systematics of log  $K_{OC}$  vs. log  $K_{OW}$  correlations. **Chemosphere**, Oxford, v. 31, p. 4489–4514, 1995.
- SANCHES, S.M.; SILVA, C.H.T.P.; VIEIRA, E.M. Pesticidas e seus respectivos riscos associados à contaminação da água. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 13, p. 53-58, 2004.
- SASS, J.B.; COLANGELO, A. European Union bans atrazine, while United States negotiates continued use. **International Journal of Occupational and Environmental Health**, Philadelphia, v. 12, n. 13, p. 260-267, 2006.
- SELLECK, G.W.; BAIRD, D.D. Antagonism with glyphosate and residual herbicide combinations. **Weed Science**, Lawrence, v. 29, n. 2, p. 185-190, 1981.
- SHAW, D.R.; ARNOLD, J.C. Weed control from herbicide combinations with glyphosate. **Weed Technology**, Champaign, v. 16, n. 1, p. 1-6, 2002.

SHIPITALO, M.J.; MALONE, R.W.; OWENS, L.B. Impact of glyphosate-tolerant soybean and glufosinate-tolerant corn production on herbicide losses in surface runoff. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 37, p. 401-408, 2008.

SOLOMON, K.R.; BAKER, D.B.; RICHARDS, R.P.; DIXON, K.R.; KLAINE, S.J.; LA POINT, T.W.; KENDALL, R.J.; WEISSKOPF, C.P.; GIDDINGS, J.M.; GIESY, J.P.; HALL, L.W.; WILLIAMS, W.M. Ecological risk assessment of atrazine in North America surface waters. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 15, n. 1, p. 31-76, 1996.

SONG, R.; LIU, L.; WU, C. S.; MA, L. Y. Effect of Atrazine on chernozem soil microbial activity in semiarid region of Northeast China. **Journal of Agro-Environment Science**. Tianjin, v. 28, n. 6, p. 1153-1158, 2009.

SPADOTTO, C.A. **Comportamento e destino ambiental de herbicidas**. Comitê de Meio Ambiente, Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas. 2002. Disponível em: <<http://www.cnpma.embrapa.br/herbicidas/>>. Acesso em: 25 jan. 2009.

\_\_\_\_\_. **Abordagem interdisciplinar na avaliação ambiental de agrotóxicos**. São Manuel: Núcleo de Pesquisa Interdisciplinar, 2006. Disponível em: <[http://www.fmr.edu.br/npi\\_2php](http://www.fmr.edu.br/npi_2php)>. Acesso em: 20 jan. 2009.

SPARKS. D.L. **Environmental soil chemistry**. 2<sup>nd</sup> ed. Orlando: Academic Press, 2003. 352 p.

SPRANKLE, P.; MEGGIT, W.F.; PENNER, D. Adsorption, mobility and microbial degradation of glyphosate in the soil. **Weed Science**, Lawrence, v. 23, n. 3, p. 229-234, 1975.

STENERSEN, J. **Chemical pesticides: mode of action and toxicology**. New York: CRC Press, 2004. 276 p.

TEJADA, M. Evolution of soil biological properties after addition of glyphosate, diflufenican and glyphosate + diflufenican herbicides. **Chemosphere**, Oxford, v. 76, p. 365–373, 2009.

THARP, B.E.; KELLS, J.J. Residual herbicides used in combination with glyphosate and glufosinate in corn (*Zea mays*). **Weed Technology**, Champaign, v. 16, n. 2, p. 274-281, 2002.

TOMLIN, C.D.S. **The pesticide manual**. 11<sup>th</sup> ed. Farnham: British Crop Protection Council; The Royal Society of Chemistry, 1997. 1341 p.

TOPP, E.; MULBRY, W.M.; ZHU, H.; NOUR, S.M.; CUPPELS, D. Characterization of s-triazine herbicide metabolism by a *Nocardioides* sp. isolated from agricultural soils. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, p. 3134-3141, 2000.

TORSTENSSON, L. Behaviour of glyphosate in soils and its degradation. In: GROSSBARD, E.; ATKINSON, D. (Ed.) **The herbicide glyphosate**. London: Butterworths. 1985. p. 137-150.

WARDLE, D.A.; PARKINSON, D. Effects of three herbicides on soil microbial biomass and activity. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.122, p.21-28, 1990.

WINKELMANN, D.A.; KLAINE, S.J. Atrazine metabolite behaviour in soil-core microcosms: formation, disappearance, and bound residues. In: SOMASUNDARAM, L.; COATS, J.R. (Ed.) **Pesticide transformation products fate and significance in the environment**. Washington: American Chemical Society, 1991. p. 75-92.

WHITE, P.M.; POTTER, T.L.; CULBREATH, A.K. Fungicide dissipation and impact on metolachlor aerobic soil degradation and soil microbial dynamics. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 408, n. 6, p. 1393-1402, 2010.

VIDAL, R.A.; MACHRY, M.; HERNANDES, G.C.; FLECK, N.G. Antagonismo na associação de glyphosate e triazinas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, n. 2, p. 301-306, 2003.

YASSIR, A.; LAGACHERIE, B.; HOUOT, S.; SOULAS, G. Microbial aspects of atrazine biodegradation in relation to history of soil treatment. **Pesticide Science**, New York, v. 55, p. 799-809, 1999.

ZABLOTOWICZ, R.M.; KRUTZ, L.J. WEAVER, M.A.; ACCINELLI, C.; REDDY, K.N. Glufosinate and ammonium sulfate inhibit atrazine degradation in adapted soils. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 45, p. 19-26, 2008.



## 2 DEGRADAÇÃO E MINERALIZAÇÃO DE GLIFOSATO E ATRAZINA APLICADOS EM ASSOCIAÇÃO EM UM LATOSSOLO VERMELHO-ESCURO

### Resumo

O objetivo deste estudo foi analisar através dos ensaios de mineralização e degradação o comportamento no solo da associação entre as moléculas de atrazina e glifosato. Para tal, combinaram-se as doses de campo de glifosato ( $2,88\text{Kg ha}^{-1}$ ) a 0, 1/2, 1 e 2 vezes a dose de campo de atrazina ( $3,00\text{Kg ha}^{-1}$ ) e a dose de campo de atrazina a 0, 1/2, 1 e 2 vezes a dose de campo de glifosato. A mineralização dos herbicidas foi medida aos 0, 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 e 63 dias e a degradação aos 0, 7, 28 e 63 dias após o início do experimento. A presença da atrazina na dose de campo estimulou a mineralização do glifosato. Porém, quando se utilizou o dobro ou a meia dose de atrazina recomendada a campo, não houve diferença em relação a aplicação individual de glifosato. Portanto, as diferenças observadas não podem ser atribuídas a presença de atrazina. A influência do glifosato na mineralização de atrazina foi evidente, sendo crescente conforme se aumentou a dose de glifosato e a dose máxima de glifosato acelerou a degradação de atrazina. Portanto, a associação entre esses herbicidas permitiu um aumento na mineralização e degradação de atrazina. A associação entre pesticidas pode promover reações sinérgicas ou antagônicas no processo de dissipação desses compostos principalmente devido sua influencia na microbiota do solo.

Palavras-chave: Atrazina; Glifosato; Degradação; Mineralização; Associação

### Abstract

The aim of this study was to analyze through mineralization and degradation tests the behavior of the association between the molecules of atrazine and glyphosate in the soil. To this end, we combined field doses of glyphosate ( $2.88\text{ kg ha}^{-1}$ ) with 0, 1/2, 1 and 2 times field doses of atrazine ( $3.00\text{ kg ha}^{-1}$ ) and a field dose of atrazine with 0, 1/2, 1 and 2 times field dose of glyphosate. Mineralization of herbicides was measured at 0, 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 and 63 days and degradation at 0, 7, 28 and 63 days after the beginning of the experiment. Presence of atrazine in the field dose stimulated mineralization of glyphosate. However, when we used the double or half of the recommended field dose of atrazine, there was no difference in relation to the application of glyphosate alone. Therefore, observed differences cannot be attributed to the presence of atrazine. The influence of glyphosate in atrazine mineralization was evident, rising as the dose of glyphosate increased and the higher dose of glyphosate accelerated atrazine degradation. Thus, the association between these herbicides allowed an increase in mineralization and degradation of atrazine. The association

between these pesticides can promote synergistic or antagonistic reactions in the dissipation process of these compounds mainly due to their influence on soil microflora.

Keywords: Atrazine; Glyphosate; Dissipation; Association

## 2.1 Introdução

O plantio comercial do milho geneticamente tolerante ao glifosato foi aprovado no Brasil em 2008. O amplo espectro do herbicida glifosato exclui a necessidade de utilização de vários princípios ativos seletivos a determinadas plantas daninhas. Portanto, espera-se que os efeitos negativos ao meio ambiente sejam menores, devido ao glifosato ser um produto de baixa persistência e baixa mobilidade, e também, pelo uso de um número menor de herbicidas. Porém, este herbicida não possui efeito residual, e para a cultura do milho é fundamental o controle de plantas daninhas em todo o período vegetativo de desenvolvimento da cultura do milho. Além disso, o uso de sucessivas aplicações de glifosato pode ocasionar resistência de plantas daninhas a esta molécula (de AMARANTE JUNIOR; SANTOS, 2002; PEREZ, KOGAN, 2002; POWLES et al., 1998). Portanto, uma das alternativas de uso de herbicidas no controle de plantas daninhas é a aplicação de glifosato associado a algum herbicida residual (DEWAR, 2009). Owen (2000) analisou o uso atual do milho geneticamente modificado tolerante ao herbicida glifosato nos Estados Unidos afirmando que os herbicidas residuais podem ser combinados a herbicidas não-residuais e não-seletivos em pré-emergência e, já existe um número de associações disponíveis comercialmente entre elas: glufosinato ou glifosato associado a atrazina. Desta forma, a atrazina, que é largamente utilizada para esta cultura no Brasil, pode ser usada em associação ao glifosato.

O glifosato [N-(fosfometil) glicina] é um herbicida pertencente ao grupo químico das glicinas substituídas, não-seletivo e sistêmico, utilizado para o controle de plantas daninhas em pré-emergência ou pós-emergência em culturas resistentes. A expansão do plantio direto e o desenvolvimento de culturas geneticamente modificadas resistentes a este herbicida causaram o aumento na sua utilização e conseqüente aumento de sua presença no meio ambiente, especialmente no solo. De acordo com

Moshier e Penner (1978), a taxa de mineralização do glifosato no solo é inicialmente rápida seguida por um período prolongado e lento. As principais vias de degradação microbiana do glifosato no solo são: clivagem da molécula produzindo ácido aminometilfosfônico (AMPA) e a clivagem da ligação C-P da molécula pela ação da enzima C-P liase produzindo sarcosina (LIU et al., 1991).

A atrazina [2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-s-triazina] é um herbicida pré-emergente pertencente ao grupo químico das triazinas utilizado principalmente, no controle de plantas daninhas na cultura do milho. A atrazina é considerada uma molécula recalcitrante no ambiente, e seu principal mecanismo de dissipação é através da degradação microbiana (KAUFMAN; KEARNEY, 1970). A literatura sobre o comportamento de pesticidas no solo é limitada ao estudo individual de cada molécula. Porém no âmbito agrícola, o solo é o destino de um número variado de pesticidas e, embora não prevista na legislação brasileira, a mistura de herbicidas em tanque é uma prática comum. Portanto, o objetivo desse trabalho é analisar através dos ensaios de mineralização e degradação o comportamento no solo da associação entre as moléculas de atrazina e glifosato em relação a seus comportamentos individuais.

## **2.2 Material e Métodos**

### **2.2.1 Descrição da Área e Solo**

A coleta das amostras foi realizada no Centro Nacional de Pesquisa em Gado de Corte (CNPGC – Embrapa) na cidade de Campo Grande – MS. O solo da área é classificado como Latossolo vermelho-escuro distroférico, classe textural argilosa, mantido 16 anos sob cultivo de pastagem (*Brachiaria brizantha*). A escolha do modelo de manejo deveu-se a ausência de aplicação das moléculas estudadas, anulando o efeito da degradação acelerada de pesticidas, estudada pelos autores Krutz et al. (2008), Barriuso e Houot (1996), Robertson e Alexander (1994). A profundidade de coleta das amostras foi de 0 - 0,10 m e as mesmas foram armazenadas a temperatura de 4°C até o início do experimento, que transcorreu após 15 dias. Para as análises

químicas e físicas as amostras foram secas ao ar e passadas em peneira de 2 mm. Para os ensaios de biodegradação e mineralização, as amostras resfriadas foram aclimatadas à temperatura ambiente por sete dias para posterior peneiramento em malha 2 mm e execução dos ensaios.

As análises químicas e físicas foram realizadas no Departamento de Solos e Nutrição de Plantas da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. O pH determinado em água e KCl  $1 \text{ mol L}^{-1}$  e a análise granulométrica (tabela 1) pelo método do densímetro (CAMARGO et al., 1986). A determinação dos atributos químicos (tabela 1) obedeceu a metodologia proposta por Rajj et al. (2001). A determinação da capacidade de retenção do solo foi realizada a partir de uma amostra de 150 g de solo em triplicata colocada em um béquer com capacidade de 500 mL. Com o auxílio de uma pipeta adicionou-se 2 mL de água destilada gota a gota por 40 segundos. O torrão formado foi seco em estufa ( $105^{\circ}\text{C}$  por 24 horas) e a capacidade de retenção calculada pelo peso seco do solo que absorveu os 2 mL de água (COSTA, 1983).

Tabela 1 - Atributos físico-químicos do solo

<b>Atributos</b>	<b>Unidade</b>	<b>Resultado</b>
Areia		56
Silte	%	1
Argila		43
pH H <sub>2</sub> O		5,5
pH KCl		5
C*	g Kg <sup>-1</sup>	31
P	mg Kg <sup>-1</sup>	13
K <sup>+</sup>		1
Ca <sup>2+</sup>		36
Mg <sup>2+</sup>	mmol <sub>c</sub> Kg <sup>-1</sup>	26
H <sup>+</sup> + Al <sup>3+</sup>		33
Al <sup>3+</sup>		0
T**		96
V***	%	66
m****		0

### 2.2.2 Ensaio de Mineralização e Degradação

O ensaio de mineralização dos herbicidas atrazina e glifosato foi realizado em duas situações: aplicados em combinação e individualmente. A concentração do glifosato (produto técnico + molécula radioativa) utilizada foi de  $2,16 \mu\text{g g}^{-1}$  de solo, que corresponde a  $2,88 \text{ Kg ha}^{-1}$  de ingrediente ativo. A concentração da atrazina (produto técnico + molécula radioativa) foi de  $2,25 \mu\text{g g}^{-1}$  de solo, que corresponde a  $3 \text{ Kg ha}^{-1}$  de ingrediente ativo. Para ambas moléculas considerou-se a maior dose recomendada a campo, 0,1m de profundidade e densidade do solo de  $1,20 \text{ g cm}^{-3}$ . A pureza radioquímica e atividade específica do  $^{14}\text{C}$ -glifosato bem como da  $^{14}\text{C}$ -atrazina foi de 94% ,  $0,2333 \text{ mCi mg}^{-1}$  e 95%,  $0,0843 \text{ mCi mg}^{-1}$ , respectivamente.

O ensaio foi conduzido em frascos tipo “Bartha” com quatro repetições conforme os tratamentos (tabela 2). As soluções contendo glifosato foram preparadas em  $\text{CaCl}_2$   $\text{H}_2\text{O}$  ( $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ ) e as de atrazina foram preparadas em acetona, ambas acrescidas do produto técnico e o radioativo a um volume de  $300 \mu\text{L}$  por frasco. Essas soluções foram aplicadas diretamente na superfície das amostras de solo seguida de homogeneização e elevação da umidade dos solos para 60% da capacidade de retenção de água. Os frascos passaram por um período de incubação de 63 dias em sala climatizada, no escuro, a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Em cada frasco adicionou-se 50 g de solo (base seca) e a umidade correspondente a 60% da capacidade de retenção foi corrigida semanalmente. Na lateral do frasco de “Bartha” foi adicionado 10 mL de solução de  $\text{NaOH}$   $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  para coleta e determinação do  $^{14}\text{CO}_2$  desprendido. Aos 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 e 63 dias após o início do ensaio todo o  $\text{NaOH}$  da lateral do frasco foi substituído e então, a partir do  $\text{NaOH}$  retirado foram extraídas duas alíquotas de 1mL acrescidas a 10 mL de solução cintiladora para determinação do  $^{14}\text{CO}_2$ . A leitura da radioatividade presente nas alíquotas foi realizada por espectrometria de cintilação líquida (ECL). Durante todo o período de incubação a massa de solo foi aerada com ar isento de  $\text{CO}_2$  para evitar a anaerobiose do sistema.

Os dados de desprendimento de  $^{14}\text{CO}_2$  acumulado foram ajustados a um modelo de cinética de primeira ordem de acordo com a eq. (1).

$$C = C_0 - (1 - e^{-kt}) \quad (1)$$

onde;

C: concentração do herbicida remanescente no solo no tempo t (%)

C<sub>0</sub>: concentração do herbicida no tempo zero;

k: constante de velocidade de mineralização (dia<sup>-1</sup>);

t: tempo de incubação em dias.

A partir dos valores de k foi possível calcular a meia-vida de mineralização (t<sub>1/2 min</sub>) (eq. 2) dos herbicidas que é definida como o tempo em que 50% do reagente passa a produto final da reação

$$t_{1/2\min} = \ln 2/k \quad (2)$$

As médias acumuladas aos 63 dias e meia-vida de mineralização foram submetidas ao teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

O ensaio de biodegradação foi conduzido conjuntamente ao de mineralização utilizando os mesmos tratamentos (tabela 2). Porém, foram realizadas duas repetições para cada tratamento, e as extrações dos herbicidas e seus metabólitos em estudo foram feitas aos 0, 7, 28 e 63 dias após o início do experimento. Para o glifosato realizaram-se três extrações por agitação a 180 rpm durante 2 horas adicionando à massa de solo 100 mL de CaCl<sub>2</sub> 0,01 mol L<sup>-1</sup>. A análise de metabólitos presentes não pôde ser efetuada, pois a porcentagem extraída pelo método utilizado foi insignificante.

Para extração da Atrazina foi utilizada uma solução de acetonitrila e água (4:1, v/v), na relação 1g de solo para 3 mL de solução. As soluções foram colocadas em agitação por uma hora a 220 rpm em agitador horizontal e em seguida, centrifugadas a 10.000 rpm por 15 minutos. Esse procedimento de extração foi repetido por três vezes. Os extratos obtidos foram concentrados em rotaevaporador a 40°C para um volume final de 0,5 mL. Aplicou-se em placas de TLC (60F254) um volume de 0,1 mL do extrato rotaevaporado e em seguida essas placas foram eluídas com o seguinte sistema de solventes: clorofórmio, acetona, ácido acético e água na proporção em volume de 50:30:15:1. Um ponto da placa de TLC foi utilizado para aplicação do padrão contendo atrazina. A estimativa da quantidade de atrazina radiomarcada foi realizada através da

exposição das placas de TLC a um filme fosforescente por 24 horas, seguida de escaneamento no equipamento Cyclone (Perkin-Elmer). Após a extração e determinação de atrazina presente, as amostras foram secas ao ar e homogeneizadas. Em seguida, foi realizada para cada tratamento a partir de uma massa de 0,2 g de solo uma oxidação no equipamento Oxidizer-OX 500 tanto para os tratamentos contendo  $^{14}\text{C}$ -glifosato como  $^{14}\text{C}$ -atrazina.. Esse procedimento permitiu o fechamento do balanço de radioatividade.

Tabela 2 - Descrição dos tratamentos para os ensaios de mineralização e biodegradação

Tratamento	Volume em $\mu\text{L g}^{-1}$ solo de princípio ativo			
	Atrazina (produto técnico)	$^{14}\text{C}$ -atrazina (produto técnico + radioativo)	Glifosato (produto técnico)	$^{14}\text{C}$ -glifosato (produto técnico + radioativo)
Glif+0AT	-	-	-	2,16
Glif+1/2AT	1,12	-	-	2,16
Glif+1AT	2,25	-	-	2,16
Glif+2AT	4,50	-	-	2,16
AT+0Glif	-	2,25	-	-
AT+1/2Glif	-	2,25	1,08	-
AT+1Glif	-	2,25	2,16	-
AT+2Glif	-	2,25	4,32	-

### 2.3 Resultados e Discussão

A curva de mineralização do glifosato apresentou três fases distintas, sendo a primeira rápida e decrescente até os 14 dias, a segunda apresentando um pico entre os dias 21 e 49 e a terceira de lenta e praticamente constante mineralização após 49 dias (figura 1). A primeira fase de mineralização indica que não ocorreu lag fase da comunidade microbiana, ou seja, o glifosato esteve prontamente disponível para os microrganismos. Resultados semelhantes foram encontrados Accinelli et al. (2005) e Grundmann et al. (2008). A ausência de lag fase indica que a degradação do glifosato ocorre por um processo co-metabólico (TORSTENSSON, 1985). De acordo com Ogram et al. (1985), a sorção de pesticidas pode aumentar ou diminuir as taxas de degradação

microbiana no solo, dependendo se o pesticida sorvido está disponível para a microbiota do solo. Prata et al. (2000), afirmam que a sorção do glifosato está fortemente relacionada com a fração mineral dos solos ocorrendo a formação de resíduo ligado. Quando ocorre a formação de resíduo ligado, a biodisponibilidade do pesticida é reduzida, pois ocorre forte ligação entre o pesticida e a matriz do solo (BURAUEL; FÜHR, 2000). A fase inicial decrescente na mineralização do glifosato pode ser explicada por esse conceito de sorção.

A segunda fase de mineralização indica que embora a molécula não esteja em solução, ou seja, encontra-se retida na fase sólida do solo, ocorre sua utilização pelos microrganismos. O glifosato utilizado nesse trabalho foi marcado na posição fosfometil. Este carbono marcado neste grupo funcional está presente tanto no ácido aminometilfosfônico (AMPA) como na sarcosina, ambos metabólitos do glifosato. Portanto, para o presente estudo não se pode afirmar qual das duas vias de degradação ocasionou a completa mineralização da molécula. É possível que as duas primeiras fases de mineralização representem duas rotas de degradação diferentes, uma predominando a formação de AMPA e outra de sarcosina. Rennig et al. (2008), estudaram as interações entre AMPA e sarcosina com o mineral de argila montmorilonita concluindo que para o AMPA ocorrem ligações covalentes entre o grupo fosfato e a superfície do mineral e para sarcosina predomina a formação de ligações de hidrogênio. Embora a mineralogia básica da fração argila dos Latossolos vermelho-escuros seja constituída principalmente de caulinita, gibbsita, goethita e hematita (KER, 1997), o estudo de Rennig et al. (2008) demonstra que os diferentes metabólitos do glifosato possuem diferentes formas de ligação no solo. Portanto, pode-se esperar que a primeira fase de mineralização ocorra pela via de formação do AMPA, pois este metabólito forma ligações covalentes com o solo diminuindo sua biodisponibilidade com o tempo de contato; e a segunda fase de mineralização ocorra via a rota de formação da sarcosina, pois ocorrem ligações de hidrogênio com os minerais de argila e estas ligações são conhecidas como mais fracas que as covalentes facilitando o ataque microbiano.

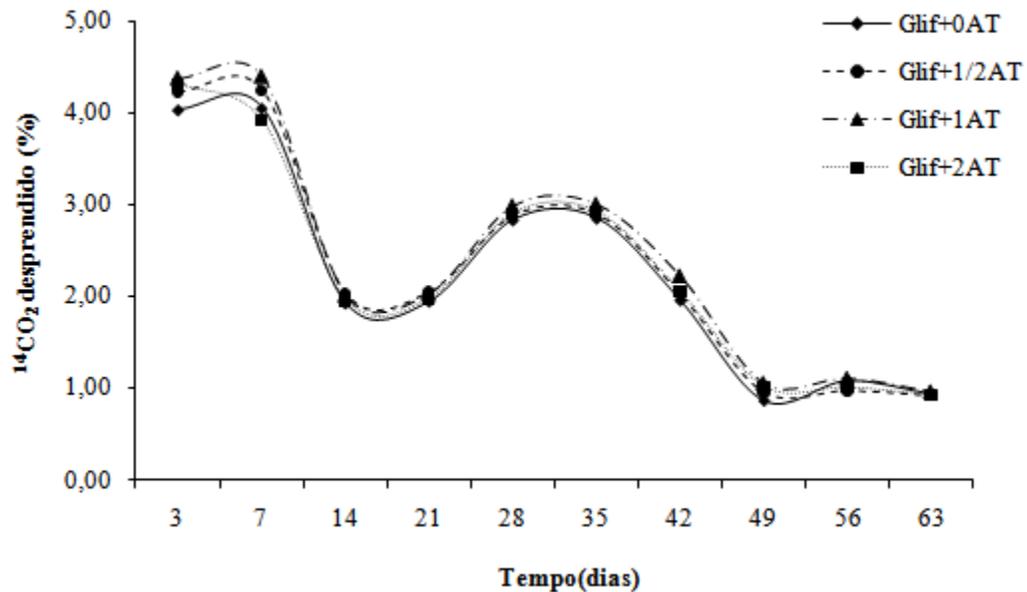


Figura 1 - Curva de mineralização do glifosato a partir do desprendimento semanal de  $^{14}\text{CO}_2$  (%) durante 63 dias

Os resultados de desprendimento de  $^{14}\text{CO}_2$  acumulado aos 63 dias devido a mineralização do glifosato nos diferentes tratamentos utilizados (tabela 3) demonstraram diferenças estatísticas conforme a dose de atrazina utilizada em associação. A associação entre as doses de campo de atrazina e glifosato apresentou média superior entre os tratamentos utilizados. Porém, quando se utiliza o dobro da dose de atrazina ou a meia dose de atrazina recomendada a campo, a média de ambas não difere do tratamento com aplicação individual de glifosato. Observando os valores de  $R^2$  (tabela 3) conclui-se que houve um bom ajuste do modelo de cinética de primeira ordem proposto para estimativa da meia-vida de mineralização a partir dos dados de desprendimento de  $^{14}\text{CO}_2$ . Com relação ao parâmetro de meia-vida de mineralização do glifosato (tabela 3), não ocorreram diferenças estatísticas entre os tratamentos. Embora existam diferenças no desprendimento de  $^{14}\text{CO}_2$  conforme os tratamentos utilizados, essa diferença é considerada pequena, pois esses valores não são proporcionais as doses utilizadas de atrazina e também, não houve efeito na meia-vida de mineralização dessa molécula. Portanto, as diferenças observadas não podem ser atribuídas a presença de atrazina.

Tabela 3 -  $^{14}\text{CO}_2$  desprendido acumulado aos 63 dias (%) e meia-vida de mineralização para o glifosato

<i>Tratamento</i>	$^{14}\text{CO}_2$ desprendido (%)	$t_{1/2}$ mineralização	<i>K</i>	$R^2$
<i>Glif+0AT</i>	22,52 b*	18,64 ± 3,31a	$3,71 \times 10^{-3}$	0,99
<i>Glif+1/2AT</i>	23,23 ab	17,99 ± 1,62a	$3,85 \times 10^{-3}$	0,99
<i>Glif+1AT</i>	24,13 a	18,66 ± 0,81a	$3,71 \times 10^{-3}$	0,99
<i>Glif+2AT</i>	22,99 ab	18,87 ± 3,19a	$3,67 \times 10^{-3}$	0,99

\*médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%

A quantidade de atrazina mineralizada nos 63 dias de incubação variou de 0,70 a 0,97% da radioatividade inicialmente aplicada (tabela 4). Barriuso e Houot, (1996) realizaram um estudo comparativo entre a mineralização de atrazina em solos com microbiota adaptada (com histórico de aplicação) e não-adaptada (sem histórico de aplicação) concluindo que a taxa de mineralização foi sempre inferior na situação não-adaptada. Houot et al. (2000), encontraram resultados semelhantes e também atribuíram a baixa mineralização de atrazina ao pH dos solos estudados. Em solos ácidos, a taxa de mineralização foi menor que em solos alcalinos. Os autores atribuem a diminuição de biodisponibilidade devido a elevada sorção do metabólito hidroziazina em baixo pH como responsável pela menor mineralização de atrazina. A baixa mineralização de atrazina observada nesse trabalho pode ser explicada pela ausência de aplicação desta molécula e também ao valor de pH na faixa ácida (5,5).

A curva de mineralização da atrazina apresentou uma fase inicial de lenta mineralização com duração de 14 dias seguida de um pico entre os 14 e 42 dias (figura 2). A fase lenta é atribuída a lag fase da comunidade microbiana e infere-se que esta fase foi longa em função do solo utilizado para este estudo não ter histórico de aplicações de atrazina, ou seja, a comunidade microbiana não estava adaptada a utilizar o composto. Estudos conduzidos por Krutz et al. (2009) indicam uma lag fase cinco vezes menor e mineralização da atrazina por volta de três vezes maior quando se compara solos adaptados a solos não-adaptados.. Portanto, a fase inicial de lenta mineralização da atrazina pode ser compreendida como o tempo necessário para a

comunidade microbiana do solo estar apta a utilizar a molécula como fonte de energia. A segunda fase de mineralização da molécula reflete a adaptação da comunidade microbiana em utiliza-la como fonte de energia, pois esta fase apresenta-se na forma exponencial. Após esse período, ocorre um declínio na mineralização tendendo a estabilidade. Albuquerque et al. (2001), obteve resultados semelhantes e afirmam que a curva de mineralização da atrazina é semelhante a curva de crescimento da população microbiana pois apresenta lag fase, crescimento exponencial e declínio.

A influência do glifosato na taxa de mineralização da atrazina é acentuada (figura 2), sendo que as médias de  $^{14}\text{CO}_2$  desprendido (%) são proporcionalmente maiores em função das diferentes doses de glifosato utilizadas (Tabela 4).

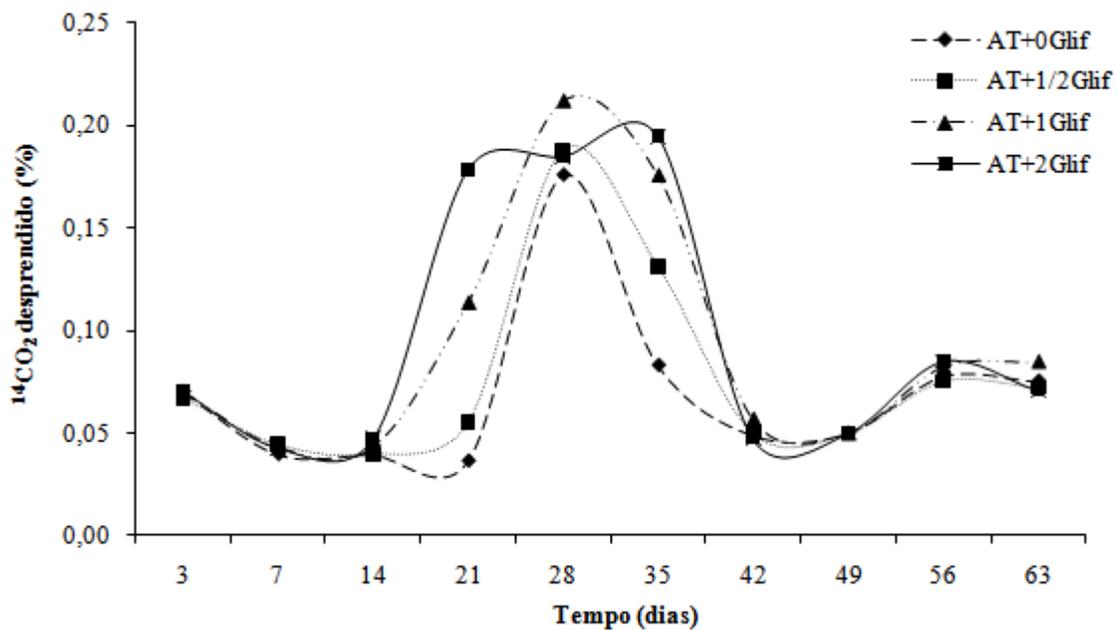


Figura 2 - Curva de mineralização da atrazina a partir do desprendimento semanal de  $^{14}\text{CO}_2$  (%) durante 63 dias

Tabela 4 -  $^{14}\text{CO}_2$  desprendido acumulado aos 63 dias (%) e meia-vida de mineralização para a atrazina

<i>Tratamento</i>	$^{14}\text{CO}_2$ desprendido (%)	$t_{1/2}$ mineralização	<i>K</i>	$R^2$
<i>AT+0Glif</i>	0,70 c*	177,23 ± 66,57a	3.911 x 10 <sup>-3</sup>	0.99
<i>AT+1/2Glif</i>	0,77 bc	147,6 ± 119,30a	4.696 x 10 <sup>-3</sup>	0.99
<i>AT+1Glif</i>	0,93 ab	135,22 ± 61,19a	5.126 x 10 <sup>-3</sup>	0.98
<i>AT+2Glif</i>	0,97 a	83,46 ± 47,73a	8.002 x 10 <sup>-3</sup>	0.98

\*médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%

Haney et al. (2002), observaram que ocorre uma preferência da microbiota do solo ao glifosato como substrato comparado a atrazina. Porém, conforme o consumo do glifosato é totalizado, a atrazina passa a ser rapidamente consumida. Os mesmos autores também afirmam que a associação entre a atrazina e glifosato promove maior atividade microbiana quando comparada a aplicação apenas de atrazina atribuindo esses efeitos a baixa relação C:N dos herbicidas utilizados, pois a aplicação desses herbicidas em associação fornece uma fonte de nitrogênio disponível ao microrganismos suficiente para superar a imobilização inicial desse composto quando se aplica apenas atrazina. Esses resultados são contrastantes aos observados neste trabalho (figura 3). Aos 28 dias, ocorre tanto um pico para mineralização da atrazina como para o glifosato.

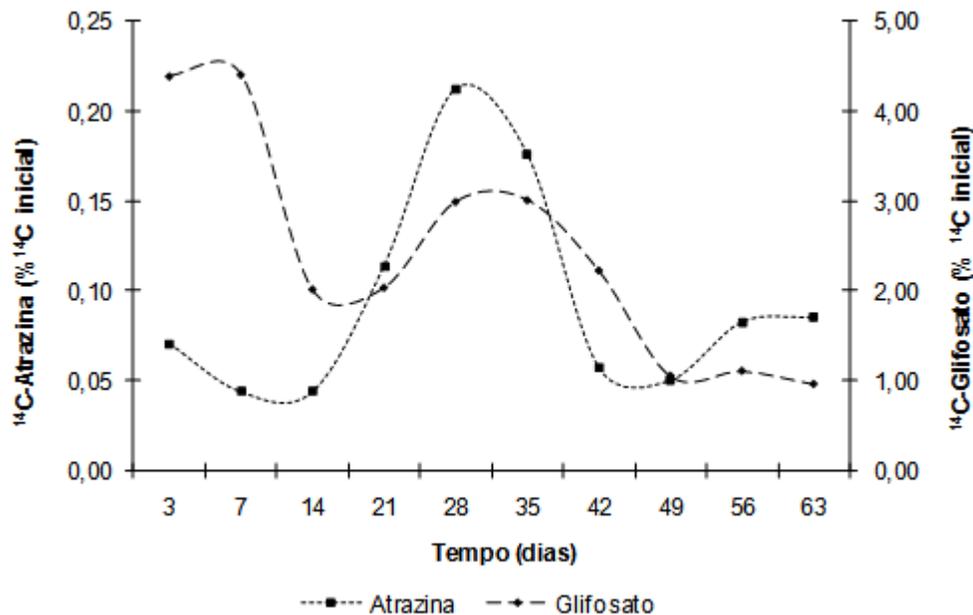


Figura 3 - Curvas de mineralização para atrazina e glifosato aplicados em associação na dose de campo recomendada

É importante destacar que a fase exponencial de mineralização da atrazina coincide com a segunda fase de mineralização do glifosato onde foi sugerido sua mineralização via formação da sarcosina. Ao estudar a degradação do glifosato por um grupo de *Streptomicetos*, Obojska e Leczjak, (1999), observaram que estes microrganismos podem utilizar a molécula não só como fonte de fósforo, mas também como fonte de nitrogênio com o aparecimento de sarcosina como metabólito intermediário. As doses crescentes de glifosato utilizadas nesse trabalho podem estar contribuindo como fonte de nitrogênio diminuindo a imobilização inicial quando o único substrato é a atrazina o que explica o aumento na mineralização de atrazina conforme o aumento de dose de glifosato no período de 14 a 42 dias. O modelo proposto para estimativa da meia-vida de mineralização ajustou-se aos dados de  $^{14}\text{CO}_2$  desprendido e também, não houve diferença estatística para o parâmetro meia-vida de mineralização da atrazina (tabela 3). Porém, em termos agronômicos, é de suma importância a persistência deste herbicida. Conforme os tratamentos utilizados, nota-se uma variação de aproximadamente 100 dias para o tratamento com presença apenas de atrazina comparado ao tratamento onde se adicionou o dobro da dose de campo de glifosato associado à atrazina. Agronomicamente, essa diferença é vista como negativa quando

é utilizada a associação entre esses herbicidas, pois uma das principais características da atrazina refere-se a sua persistência. Porém, devido ao seu largo uso, elevada persistência e moderada mobilidade no solo, a atrazina é detectada em vários compartimentos do ambiente, especialmente nas águas superficiais (BUSER, 1990) e subterrâneas (DÖRFLER et al., 1997). Desta forma, o uso da atrazina associada ao glifosato permite a diminuição de sua meia-vida o que de certa forma diminui a contaminação do ambiente pelo composto e indiretamente reduz sua probabilidade de mobilização. Ke-bin et al., (2008), estudaram a associação entre atrazina e bentazone revelando dados contrastantes aos deste estudo. De acordo com os autores, a persistência no solo para os dois herbicidas foi mais prolongada quando aplicados em associação.

Quando foi utilizado o dobro da dose recomendada de glifosato em associação com a atrazina nota-se que a partir dos 28 dias não existe a molécula original em sua fração extraível (tabela 5). Os demais tratamentos utilizados apresentaram comportamento semelhante ao tratamento com a presença somente de atrazina. É possível afirmar que a presença do glifosato na quantidade máxima utilizada neste trabalho acelerou não só o processo de mineralização de atrazina, mas também sua dissipação. De acordo com Calderbank (1989), o processo de dissipação envolve a formação de resíduos que podem estar na forma extraível ou ligada ao solo. Krutz et al. (2003), estudaram o efeito do Roundup Ultra na degradação da atrazina encontrando resultados contrastantes ao deste trabalho. Aos oito dias os tratamentos com presença de glifosato diminuíram a porcentagem de atrazina degradada em comparação ao tratamento apenas com atrazina. Porém, aos 12 dias todos os tratamentos testados não diferiram entre si. Os autores explicam que possivelmente em situações com diversos pesticidas ocorre um decréscimo na atividade enzimática do solo ou supressão das comunidades microbianas degradantes de determinado composto. Portanto, é de se esperar que ocorram diferentes resultados para os variados tipos de solo e clima. Ressalta-se que o trabalho de Krutz et al. (2003) foi realizado em um solo com teor de matéria orgânica de  $10,6 \text{ g Kg}^{-1}$  e pH 8,3, caracterizando uma condição bastante diferente da utilizada neste estudo.

Quanto maior o tempo de contato entre a molécula e o solo, maior a formação de resíduos não-extraíveis ou ligados (tabela 6). A formação de resíduos ligados é semelhante entre os tratamentos utilizados. Houot et al. (2000), estudando solos não-adaptados encontraram resultados semelhantes. De acordo com os autores, aproximadamente 50% da radioatividade inicial permaneceu na forma extraível e 30% na forma não-extraível aos 35 dias de incubação. De acordo com Barriuso e Houot (1996), a formação desses resíduos constitui uma alternativa para dissipação de atrazina em solos não-adaptados.

Tabela 5 - Fração extraível de Atrazina do solo (%)

Tratamento	Tempo (dias)			
	0	7	28	63
<i>AT+0Glif</i>	100	86,1	83,3	70,5
<i>AT+1/2Glif</i>	100	87,5	84,7	68,6
<i>AT+1Glif</i>	100	92,1	74,8	71,7
<i>AT+2Glif</i>	100	86,2	0	0

Tabela 6 - Resíduo ligado e resíduo extraível de atrazina aos 7, 28 e 63 dias após a aplicação dos tratamentos (%)

Tratamento	Tempo (dias)					
	7		28		63	
	Resíduo Ligado	Resíduo Extraível	Resíduo Ligado	Resíduo Extraível	Resíduo Ligado	Resíduo Extraível
<i>AT+0Glif</i>	12,13±0,44	87,76±0,42	19,63±1,67	80,01±1,67	34,10±1,46	65,31±1,45
<i>AT+1/2Glif</i>	11,75±0,21	88,13±0,22	16,70±7,47	82,95±7,65	32,14±1,06	67,21±1,09
<i>AT+1Glif</i>	12,19±0,18	87,10±0,18	19,81±0,40	79,73±0,40	32,40±0,79	66,84±0,83
<i>AT+2Glif</i>	11,17±1,22	88,73±1,22	18,66±0,43	80,88±0,47	32,24±0,03	66,90±0,07

Tendo em vista os resultados apresentados, o estudo das associações entre os pesticidas é de extrema importância, visto os inúmeros pesticidas que atualmente são utilizados em diferentes tipos de solo e condições climáticas, além do solo ser o principal destino desses compostos. É de se esperar que ocorram reações sinérgicas ou antagônicas dependendo principalmente do grau de influência desses compostos na microbiota do solo, o que pode reduzir ou acelerar o processo de dissipação.

## 2.4 Conclusões

Os resultados demonstraram que as fases de mineralização do glifosato podem representar rotas de degradação diferentes. Portanto, nesse estudo assumiu-se que a primeira fase de mineralização ocorreu pela via de formação do AMPA e a segunda fase ocorreu via a rota de formação da sarcosina. As diferenças observadas na mineralização de glifosato na presença de atrazina não foram consistentes, portanto, para a condição utilizada nesse estudo não houve influência na mineralização de glifosato pela atrazina.

O glifosato alterou significativamente a mineralização de atrazina, sendo que as médias de  $^{14}\text{CO}_2$  desprendido (%) são proporcionalmente maiores em função das diferentes doses de glifosato utilizadas indicando que houve nítida influência da aplicação da associação na mineralização de atrazina. A meia-vida da atrazina sofreu uma variação de aproximadamente 100 dias quando compara-se a aplicação individual de atrazina e sua associação com o dobro da dose de glifosato. Portanto, a utilização da associação entre esses dois herbicidas permite a diminuição da persistência de atrazina no solo diminuindo a contaminação do ambiente por indiretamente reduzir sua probabilidade de mobilização.

## 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 Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, p. 4110-4117, 2005.

ALBUQUERQUE, M.A.; SCHAEFER, C.E.G.R.; FOLONI, J.M.; KER, J.C.; FONTES, L.E.F. Mineralização e sorção de atrazina em Latossolo roxo sob cultivo convencional e plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 25, p. 179-188, 2001.

AMARANTE Jr., O.P.; SANTOS, T.C.R. dos. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, p. 589-593, 2002.

BARRIUSO, E.; HOUOT, S. Rapid mineralization of the s-triazine ring of atrazine in soils in relation to soil management. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 28, p. 1341-1348, 1996.

BURAUUEL, P., FÜHR, F. Formation and long-term fate of non-extractable residues in outdoor lysimeter studies. **Environmental Pollution**, Massachusetts, v. 108, p. 45–52, 2000.

BUSER, H.R. Atrazine and other s-triazine herbicides in lakes and in rain in Switzerland. **Environmental Science and Technology**, Boca Raton, v. 24, n. 7, p. 1049-1058, 1990.

CALDERBANK, A. The occurrence and significance of bound pesticide residues in soil. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 108, p. 71-103, 1989.

CAMARGO, O.A.; MONIZ, A.C.; JORGE, J. A.; VALADARES, J.M.A.S. **Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do Instituto Agrônomo de Campinas**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1986. 94 p. (IAC. Boletim Técnico, 106).

COSTA, M.A. **Efeito da matéria orgânica em alguns atributos do solo**. 1983. 137 p. Dissertação (Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1983.

DEWAR, A.M. Weed control in glyphosate-tolerant maize in Europe. **Pest Management Science**, West Sussex, v. 65, p. 1047-1058, 2009

DÖRFLER, U.; FEICHT, E.A.; SCHEUNERT, I. S-Triazine residues in groundwater. **Chemosphere**, Oxford, v. 35, p. 99-106, 1997.

GRUNDMANN, S.; DÖRFLER, U.; RUTH, B.; LOOS, C.; WAGNER, T.; KARL, H.; MUNCH, J.; SCHROLL, R. Mineralization and transfer processes of <sup>14</sup>C-labeled pesticides in outdoor lysimeters. **Water, Air, & Soil Pollution**, Dordrecht, v. 8, p. 177-185, 2008

HANEY, R.L.; SENSEMAN, S.A.; KRUTZ, L.J.; HONS, F.M. Soil carbon and nitrogen mineralization as affected by atrazine and glyphosate. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 35, p. 35–40, 2002.

HOUOT, S.; TOPP, E.; YASSIR, A.; SOULAS, G. Dependence of accelerated degradation of atrazine on soil pH in French and Canadian soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 32, p. 615–625, 2000.

KAUFMAN, D.; KEARNEY, P. C. Microbial degradation of s-triazine herbicides. **Residue Reviews**, New York, v. 32, p. 235-265, 1970.

KE-BIN, L. I.; CHENG, J.; WANG, X.; ZHOU, Y.; LIU, W. Degradation of herbicides atrazine and bentazone applied alone and in combination in soils. **Pedosphere**, Amsterdam, v. 18, p. 265-272, 2008.

KER, J.C. Latossolos do Brasil: uma revisão. **Geonomos**, Belo Horizonte, v. 5, n. 1, p. 17-40, 1997.

KRUTZ, L.J.; SENSEMAN, S.A.; HANEY, R.L. Effect of Roundup Ultra on atrazine degradation in soil. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 38, p. 115-118, 2003.

KRUTZ, L.; BURKE, I.; REDDY, K.; ZABLOTOWICZ, R.; PRICE, A. Enhanced atrazine degradation: evidence for reduced residual weed control and a method for identifying adapted soils and predicting herbicide persistence. **Weed Science**, Lawrence, v. 57, p.427-434, 2009.

KRUTZ, L.J.; SHANER, D.L.; ACCINELLI, C.; ZABLOTOWICZ, R.M.; HENRY, W.B. Atrazine Dissipation in s-triazine–adapted and nonadapted soil from Colorado and Mississippi: implications of enhanced degradation on atrazine fate and transport parameters. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 37, p. 848-857, 2008

LIU, C. M.; McLEAN, P. A.; SOOKDEO, C. C.; CANNON, F.C. Degradation of the herbicide glyphosate by members of the family Rhizobiaceae. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 57, p. 1799-1804, 1991.

MOSHIER, L.; PENNER, D. Factors influencing the microbial degradation of <sup>14</sup>C-glyphosate to <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> in soils. **Weed Science**, Champaign, v. 26, p. 686-691, 1978.

OBOJSKA, A.; LEJCZAK, B.; KUBRAK, M. Degradation of phosphonates by streptomycete isolates. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Heidelberg, v. 51, p. 872-876, 1999.

OGRAM, A.V.; JESSUP, L.T.; RAO, P.S.C. Effects of sorption on biological degradation rates of 2,4-dichlorophenoxy)acetic acid in soils. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 49, n. 3, p. 582-587, 1985.

OWEN, M.D.K. Current use of transgenic herbicide-resistant soybean and corn in the USA. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 19, p. 765-771, 2000.

PEREZ, A.; KOGAN, M. Glyphosate-resistant *Lolium multiflorum* in Chilean orchards. **Weed Research**, Oxford, v. 43, p. 12-19, 2002.

POWLES, S.B.; LORRAINE-COLWILL, D.F.; DELLOW, J.J.; PRESTON, C. Evolved resistance to glyphosate in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) in Australia. **Weed Science**, Champaign, v. 46, p. 604-607, 1998.

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.

RAIJ, B. van.; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. 285 p.

RENNIG, A.; SLUTTER, A.; TRIBE, L. Interactions of aminomethylphosphonic acid and sarcosine with montmorillonite interlayer surfaces. **International Journal of Quantum Chemistry**, New York, v.108, p.538-543, 2008.

ROBERTSON, B.K.; ALEXANDER, M. Growth-linked and cometabolic biodegradation: possible reason for occurrence or absence of accelerated pesticide biodegradation. **Pesticide Science**, New York, v. 41, p. 311-318, 1994.

TORSTENSSON, L. Behaviour of glyphosate in soils and its degradation. In: GROSSBARD, E.; ATKINSON, D. (Ed.). **The herbicide glyphosate**. London: Butterworths, 1985. p. 137-150.



### 3 ASSOCIAÇÃO ENTRE GLIFOSATO E ATRAZINA E ASPECTOS MICROBIANOS EM UM LATOSSOLO VERMELHO-ESCURO

#### Resumo

O objetivo desse estudo foi demonstrar os efeitos da aplicação em associação de glifosato e atrazina no carbono da biomassa microbiana do solo (CBM) e a mineralização de carbono do solo ( $C_{\min}$ ) em um Latossolo vermelho-escuro, comparando aos efeitos da aplicação individual desses herbicidas. Foram combinadas a dose de campo de glifosato a 0,  $\frac{1}{2}$ , 1 e 2 vezes a dose de campo de atrazina e a dose de campo de atrazina a 0,  $\frac{1}{2}$ , 1 e 2 vezes a dose de campo de glifosato, ambos com um acréscimo de um tratamento controle (solo sem herbicida). O CBM foi avaliado aos 21 e 63 dias e o  $C_{\min}$  aos 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63 dias após a aplicação dos herbicidas. O glifosato não alterou as variáveis estudadas. A atrazina provocou diminuição temporária do CBM e aumento na velocidade e quantidade do  $C_{\min}$ . A presença do glifosato nos tratamentos em associação impediu a redução do CBM devido ao efeito da atrazina, por servir como substrato para a comunidade microbiana do solo enquanto esta se adapta para utilizar a atrazina. Também, a associação entre esses herbicidas aumentou a velocidade e quantidade de  $C_{\min}$  do solo comparada a aplicação individual de glifosato. Portanto, o uso da associação apresenta efeitos mais pronunciados nas variáveis estudadas quando comparada a aplicação apenas de glifosato e menos pronunciados quando se compara a aplicação apenas de atrazina.

Palavras-chave: Atrazina; Glifosato; Associação; Biomassa microbiana; Carbono do solo

#### Abstract

The aim of this study was to demonstrate the effects of glyphosate and atrazine applied in mixture on microbial biomass (MB) and mineralization of soil carbon ( $C_{\min}$ ) in a Oxisol, comparing effects with the application of these herbicides alone. To this end, has been combined the field rate of glyphosate to 0, 1/2, 1 and 2 times the field rate of atrazine and the field rate of atrazine to 0,  $\frac{1}{2}$ , 1 and 2 times the field rate of glyphosate, both with an addition of a control treatment (soil without herbicide). The MB was evaluated at 21 and 63 days and  $C_{\min}$  at 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63 days after herbicide application. Glyphosate did not affect the variables studied. Atrazine caused a temporary decrease of MB and increase of speedy and amount of  $C_{\min}$ . The presence of glyphosate treatments in combination prevented the reduction of MB due to the effect of atrazine, to serve as substrate for soil microbial community as it adapts to the use of atrazine. The association between these herbicides increased the speedy and amount of soil  $C_{\min}$  compared to individual application of glyphosate. Therefore, the use of the combination has more pronounced effects in the variables studied when compared to the glyphosate application alone and less pronounced when comparing only to the application of atrazine

Keywords: Atrazine; Glyphosate; Association; Microbial biomass; Soil carbon

### 3.1 Introdução

O uso intensivo de pesticidas é um tema relevante em termos ambientais, devido a possibilidade de contaminação do solo e da água. Muitos estudos envolvendo este assunto são realizados em regiões de clima temperado e muitas vezes, os resultados não podem ser extrapolados para uma condição tropical, na qual o Brasil se encontra. A completa biodegradação de uma molécula orgânica na água ou solo é quase sempre uma consequência da atividade microbiana, evidenciada pela velocidade de transformação de um composto em uma amostra ambiental não-esterilizada comparada a uma amostra esterelizada (ALEXANDER, 1994). Os microrganismos do solo são essenciais para manter a sustentabilidade da atividade agrícola. Eles são responsáveis também, pela quebra da matéria orgânica do solo e ciclagem de nutrientes (PANKHURST et al., 1997). Desta forma, ao entender a interação entre os pesticidas e os microrganismos do solo é possível selecionar produtos menos agressivos ao meio ambiente. De acordo com Mahía et al. (2008), a aplicação de herbicidas no solo pode gerar efeitos inibitórios na microbiota do solo ou estimulatórios, através de microrganismos resistentes que utilizam o herbicida como fonte de nutrientes. A respiração do solo (mineralização de carbono) e a biomassa microbiana são parâmetros utilizados para avaliar efeitos de herbicidas na comunidade microbiana do solo e também, o impacto ambiental dessa prática (HART; BROKES, 1996; PERUCCI, 2000; HANEY et al., 2002). De acordo com Voos e Groffman (1997), a correlação entre biomassa microbiana do solo e a degradação de pesticidas fornece uma idéia mais clara para predizer o efeito e destino dos pesticidas no solo.

A atrazina [2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-s-triazina] é um herbicida pré-emergente pertencente ao grupo químico das triazinas utilizado principalmente, no controle de plantas daninhas na cultura do milho. Este herbicida é considerado recalcitrante no ambiente, e seu principal mecanismo de dissipação é através da degradação microbiana (KAUFMAN; KEARNEY, 1970). O glifosato [N-(fosfometil) glicina] é um herbicida pertencente ao grupo químico das glicinas substituídas, não-

seletivo e sistêmico, utilizado em pré ou pós-emergência em culturas resistentes. De acordo com Moshier e Penner, (1978), a taxa de mineralização do glifosato no solo é inicialmente rápida seguida por um período prolongado e lento. A avaliação da influência do glifosato nos aspectos microbianos do solo é bastante estudada. Em geral, quando existentes, os efeitos do glifosato na microbiota do solo são transitórios (HANEY et al., 2000; GOMEZ et al., 2008; WEAVER et al., 2007, ARAUJO et al., 2003). Com relação a atrazina, os trabalhos mostram dados contrastantes (MORENO et al., 2007; MAHÍA et al., 2008; RADIVOJEVIC et al., 2008) evidenciando a necessidade de um estudo mais detalhado para este herbicida.

A associação entre glifosato e atrazina é uma opção no controle de plantas daninhas para a cultura do milho geneticamente resistente ao glifosato. Isso se deve a característica não residual que o glifosato apresenta. O milho é uma cultura sensível a presença de plantas daninhas em seu período vegetativo e, portanto, existe uma necessidade em utilizar herbicidas residuais para esta cultura. Além disso, o uso de sucessivas aplicações de glifosato pode ocasionar resistência de plantas daninhas a esta molécula (PEREZ; KOGAN, 2002; POWLES et al., 1998).

A literatura sobre o comportamento e efeitos de pesticidas no solo é limitada ao estudo individual de cada molécula. Porém, o solo é o destino de um número variado de xenobióticos e, muitas vezes ocorre a prática de aplicação em associação, mais conhecida como mistura de tanque. Portanto, o objetivo desse estudo foi demonstrar os efeitos da aplicação em associação de glifosato e atrazina sobre a biomassa microbiana do solo e a mineralização de carbono em um Latossolo vermelho-escuro (típico de regiões de clima tropical), comparando aos efeitos da aplicação individual desses herbicidas.

### **3.2 Material e Métodos**

A coleta das amostras foi realizada no Centro Nacional de Pesquisa em Gado de Corte (CNPGC – Embrapa) na cidade de Campo Grande – MS. O solo da área é classificado como Latossolo vermelho-escuro distroférico, classe textural argilosa, mantido 16 anos sob cultivo de pastagem (*Brachiaria brizantha*). A profundidade de

coleta das amostras foi de 0 - 0,10 m e as mesmas foram armazenadas a temperatura de 4°C até o início do experimento, que transcorreu em um período inferior à 30 dias. Para as análises químicas e físicas as amostras foram secas ao ar e passadas em peneira de 2 mm. O pH em água e KCl 1 mol L<sup>-1</sup> e a análise granulométrica foram feitos pelo método do densímetro (CAMARGO et al., 1986) enquanto os atributos químicos obedeceram a metodologia proposta por Raij et al. (2001). A capacidade de retenção de água pelo solo foi determinada a partir de uma amostra de 150 g de solo em triplicata colocada em um béquer com capacidade de 500 mL. Com o auxílio de uma pipeta adicionou-se 2 mL de água destilada gota a gota por 40 segundos. O torrão formado foi seco em estufa (105°C por 24 horas) e a capacidade de retenção calculada pelo peso seco do solo que absorveu os 2 mL de água (COSTA, 1983).

Tabela 1 - Atributos físico-químicos do solo

<b>Atributos</b>	<b>Unidade</b>	<b>Resultado</b>
Areia		56
Silte	%	1
Argila		43
pH H <sub>2</sub> O		5,5
pH KCl		5
Carbono org.	g Kg <sup>-1</sup>	31
P	mg Kg <sup>-1</sup>	13
K <sup>+</sup>		1
Ca <sup>2+</sup>		36
Mg <sup>2+</sup>	mmol <sub>c</sub> Kg <sup>-1</sup>	26
H+Al		33
Al		0
SB		63
T		96
V	%	66
m		0

Tanto para o ensaio de biomassa microbiana como para a mineralização de carbono do solo a concentração do glifosato utilizada foi de 2,16 µg g<sup>-1</sup> de solo, que corresponde a 2,88 Kg ha<sup>-1</sup> de ingrediente ativo e a de atrazina foi de 2,25 µg g<sup>-1</sup> de solo, que corresponde a 3 Kg ha<sup>-1</sup> de ingrediente ativo. Para ambas moléculas considerou-se a maior dose recomendada a campo, 0,1 m de profundidade e densidade do solo de 1,20 g cm<sup>-3</sup>. Os tratamentos constaram da associação da dose de campo de

uma molécula com 0, ½, 1 e 2x a dose de campo da outra molécula, para ambos os herbicidas e foi inserido um tratamento controle (frasco com solo, sem aplicação das moléculas) (Tabela 2).

Tabela 2 - Descrição dos tratamentos utilizados para os ensaios de carbono a biomassa microbiana (CBM) e carbono mineralizado pelo solo ( $C_{min}$ )

Tratamentos	Doses (em relação a dose de campo)	
	Atrazina	Glifosato
CT	-	-
G0A	-	1x
G1/2A	1/2x	1x
G2A	2x	1x
1A1G	1x	1x
A0G	1x	-
A1/2G	1x	1/2x
A2G	1x	2x

- : dado numérico igual a zero não resultante de arredondamento.

x: número de vezes multiplicado pela dose de campo

O método utilizado para quantificação do carbono da biomassa microbiana (CBM) foi o de fumigação-extração (VANCE, 1987). As amostras conservadas a 4°C foram passadas em peneira 2 mm e incubadas a temperatura ambiente por sete dias. Utilizando frascos Bartha, foi pesada uma massa de 70 g de solo em base seca, seguida da aplicação dos tratamentos, homogeneização do solo com bastão de vidro e ajuste da capacidade de retenção do solo para 60%. Os frascos foram incubados a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  em sala climatizada e as avaliações foram realizadas aos 21 e 63 dias após o início do ensaio. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com duas repetições. Para cada frasco, foram extraídas seis amostras de 10 g das quais três foram fumigadas em um dessecador revestido com papel toalha umedecido com água e três não foram fumigadas. O dessecador contendo as amostras a serem fumigadas foi despressurizado por uma bomba de vácuo por cinco minutos e mantido fechado por 24 horas na presença de um béquer com 25 mL de clorofórmio ( $\text{CHCl}_3$ ). O

vapor residual de  $\text{CHCl}_3$  foi removido do solo através de repetidas despressurizações até o retorno da pressão atmosférica. As amostras fumigadas e não-fumigadas foram transferidas para frascos de Erlenmayer de 250 mL para extração do CBM pela adição de 40 mL de  $\text{K}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ . Após 30 minutos em agitação a 180 rpm o extrato resultante foi centrifugado a 3000 rpm por 5 minutos. O carbono orgânico foi determinado pela digestão de 8mL do extrato acrescido a 2mL de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$   $0,067 \text{ mol L}^{-1}$  e 15 mL de uma mistura de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  e  $\text{H}_3\text{PO}_4$  concentrados na proporção de 2:1 (v/v). Após aquecimento em banho-maria a  $100^\circ\text{C}$  por 30 minutos, foi adicionado 10mL de água deionizada e o excesso de dicromato foi determinado por titulação com  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (sulfato ferroso amoniacal)  $0,33 \text{ mol L}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ , utilizando difenilamina sulfonato de bário como indicador. A quantidade de dicromato consumida foi calculada pela diferença entre o excesso titulado no extrato de solo e o que sobrou na digestão em branco de 8 mL do extrator ( $\text{K}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ). A umidade do solo foi medida aos 21 e 63 dias, permitindo a correção da massa de solo utilizada para quantificação do CBM (eq. 1).

$$C \text{ (mg Kg}^{-1} \text{ solo base seca)} = (C_F - C_{NF})/0,38 \quad (1)$$

Onde:  $C_F$  = quantidade de carbono da amostra fumigada ( $\text{mg Kg}^{-1}$  solo base seca);

$C_{NF}$  = quantidade de carbono na amostra não-fumigada ( $\text{mg Kg}^{-1}$  solo base seca);

0,38 = fator de correção que representa a eficiência na extração do carbono (FRIGHETTO, 2000).

O carbono mineralizado pelo solo foi quantificado de acordo com a NBR 14283 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 1999). As amostras de solo conservadas a  $4^\circ\text{C}$  foram aclimatadas a temperatura ambiente por sete dias e em seguida, passadas em peneira 2 mm. Foi utilizada uma massa de solo de 50 g em base seca ajustada a 60% da capacidade de retenção de água do solo a qual foi

aconditionada em frascos Bartha. Para este ensaio foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Os frascos passaram por um período de incubação de 63 dias em sala climatizada, no escuro, a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Na lateral do frasco de “Bartha” foi adicionado um volume de 10mL de solução de KOH  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  para captura e posterior determinação do  $\text{CO}_2$  desprendido. Aos 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 e 63 dias após o início do ensaio todo o conteúdo presente na lateral do frasco foi removido com uma seringa de 20 mL e procedeu-se três lavagens da lateral do frasco com água isenta de  $\text{CO}_2$ . Imediatamente após esse procedimento o conteúdo de KOH  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  foi repostado e o conteúdo retirado foi transferido para frascos de Erlenmeyer de 250 mL e titulado com uma solução de HCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  padronizado utilizando duas gotas de fenolftaleína como indicador e 1 mL de uma solução de  $\text{BaCl}_2$   $1 \text{ mol L}^{-1}$ . O HCl foi padronizado através de uma titulação com uma solução de carbonato de sódio  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  utilizando vermelho-de-metila como indicador. Para todos os tempos de avaliação foi titulada uma prova em branco utilizando apenas a solução de KOH  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ . Todas as soluções utilizadas foram preparadas com água isenta de  $\text{CO}_2$ . O cálculo da quantidade de  $\text{CO}_2$  produzida em cada frasco é dada pela eq. (2).

$$\mu\text{molCO}_2(\text{prod.}) = (A-B) \cdot 50 \cdot f_{\text{HCl}} \quad (2)$$

onde:

A: volume de HCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  gasto para titular o branco;

B: volume de HCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  gasto para titular o tratamento;

50: fator para transformar equivalente em  $\mu\text{mol}$  de gás carbônico;

$f_{\text{HCl}}$ : fator obtido na padronização do HCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$

Os dados de desprendimento de  $\text{CO}_2$  foram expressos em  $\text{mg Kg}^{-1}$  solo e os valores acumulados foram ajustados a um modelo de cinética de primeira ordem de acordo com a eq. (3) para avaliar a velocidade de mineralização do carbono do solo.

$$C = C_0 \cdot (1 - e^{-kt}) \quad (3)$$

onde;

C: CO<sub>2</sub> desprendido no tempo t (mg Kg<sup>-1</sup>)

C<sub>0</sub>: CO<sub>2</sub> desprendido no tempo zero (mg Kg<sup>-1</sup>)

k: constante de velocidade de mineralização (dia<sup>-1</sup>);

t: tempo de incubação em dias.

Para fins de comparação, as médias do carbono da biomassa microbiana aos 21 e 63 dias, carbono mineralizado pelo solo aos 21 e 63 dias e valores da constante de velocidade de mineralização foram submetidos a análise de variância. Os valores de diferença mínima significativa (DMS) foram calculados pelo teste de Tukey (p<0,05).

### 3.3 Resultados e Discussão

Aos 21 dias o tratamento controle (CT) apresentou média superior de carbono da biomassa microbiana (CBM) sendo significativamente diferente dos tratamentos com dose fixa de glifosato associada a metade e dobro da dose de atrazina (G1/2A e G2A) (Figura 1A). Aos 63 dias as associações entre a dose de campo de atrazina com meio e dobro da dose de glifosato (A1/2G e A2G) apresentaram médias significativamente superiores em relação ao tratamento com aplicação apenas de atrazina (A0G) (Figura 1B). As associações entre a dose de campo de glifosato com doses de atrazina (G1/2A, G2A, 1G1A) não diferiram do CT e da aplicação apenas de glifosato (G0A) (Figura 1B). Gomez et al., (2009) encontraram uma redução inicial (aos quatro dias) no CBM proporcional a doses crescentes de glifosato, porém essa redução foi significativa apenas para as maiores doses testadas (1,92 e 3,84 L i.a ha<sup>-1</sup>). Aos 45 dias, as menores doses estimularam o CBM, pois foram superiores ao controle, possivelmente em função do suprimento de C, N e P.

Observando os tratamentos A1/2G e A2G, é possível afirmar que a associação entre atrazina e glifosato provocou incrementos no CBM e também, a aplicação apenas de atrazina (A0G) ocasionou redução no valor de CBM aos 63 dias. Haney et al., (2000), trabalharam com uma faixa de concentração de glifosato de 47 a 234 µg g<sup>-1</sup> de

solo e não encontraram alterações no CBM, assim como neste estudo. De acordo com os autores, as concentrações utilizadas foram provavelmente baixas para detectar alterações no CBM. Resultados semelhantes para a influência do glifosato na biomassa microbiana também podem ser vistos nos trabalhos de Hart e Brookes (1996). Com relação a influência da atrazina no CBM, Song et al. (2009) e Moreno et al. (2007), reportam um aumento em solos de regiões de clima semiárido e, Ghani et al. (1996) constataram em seus estudos que o CBM ficou inalterado. Lancaster et al. (2006), afirmam que a combinação de pesticidas pode afetar a atividade microbiana do solo de forma diferente do que a aplicação individual desses pesticidas. Com isso, pode-se afirmar que a presença do glifosato no sistema impediu a redução do CBM devido a presença apenas de atrazina. Porém, neste estudo, para as diferentes combinações entre doses de atrazina e glifosato, não foi possível elucidar em termos quantitativos a influência do uso dessa associação no CBM provavelmente em função da estreita faixa de concentração utilizada para ambas as moléculas, conforme reportado por Haney et al. (2000). Ao que parece, a presença do glifosato pode servir como substrato a comunidade microbiana do solo por uma forma co-metabólica (TORSTENSSON, 1985). Lancaster et al. (2009), reportam que ocorre incorporação de resíduos de  $^{14}\text{C}$ -glifosato a biomassa microbiana, indicando uma forma de utilização por via metabólica. Porém, os ensaios de degradação não apresentaram incrementos em função da incorporação na biomassa microbiana, indicando que a degradação do glifosato ocorre por uma via co-metabólica. Desta forma, enquanto comunidades específicas se adaptam para utilizar a atrazina como substrato, o glifosato pela via co-metabólica serve como fonte de nutrientes, impedindo que ocorra redução da biomassa microbiana do solo causada pela presença de atrazina. No período de 21 a 63 dias todos os tratamentos tenderam a uma faixa de CBM semelhante ao controle (CT) (Figura 1B). Portanto, os efeitos apresentados anteriormente parecem ser transitórios ao longo do tempo.

O CBM é um indicador sensível de alterações das condições microbiológicas do solo, porém a estimativa da biomassa microbiana possui limitações nos estudos de poluição do solo porque não permite quantificar as variações na estrutura da comunidade microbiana do solo (BROOKES, 1995). Portanto, o uso de técnicas

moleculares para esse tipo de estudo, permite uma maior clareza em relação a dinâmica da comunidade microbiana do solo na presença desses dois herbicidas.

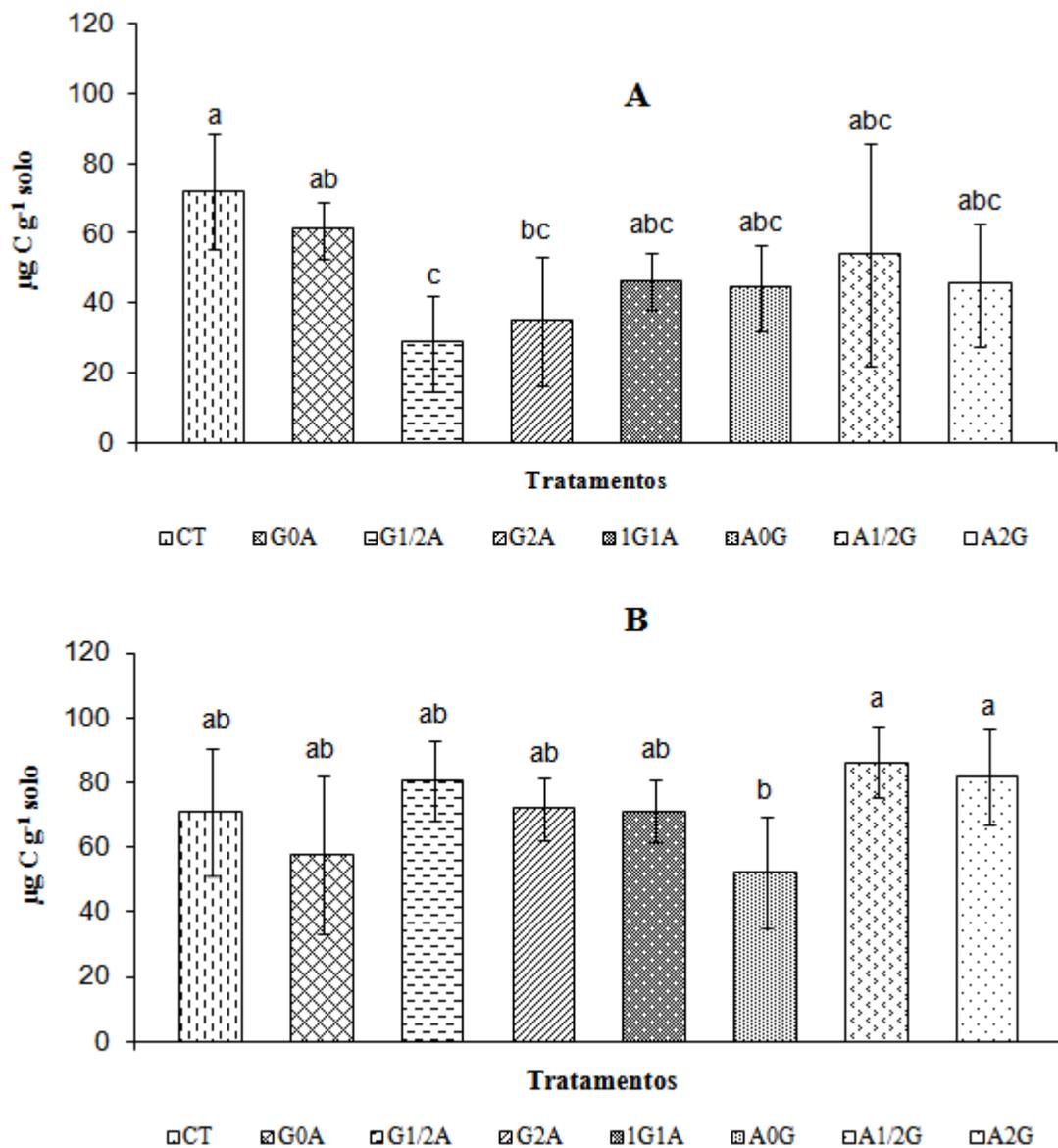


Figura 1 - Carbono da Biomassa Microbiana aos 21 (A) e 63 (B) dias.

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

a – DMS = 31,61; CV(%) = 35,49

b – DMS = 28,77; CV(%) = 21,78

Não houve diferença na cinética de mineralização de carbono pelo solo ( $C_{min}$ ) entre o CT e G0A (tabela 3). A cinética de mineralização de carbono pelo solo foi

semelhante nos tratamentos onde foram aplicadas as associações entre glifosato e atrazina e maior em relação ao CT e G0A e não houve diferenças entre o tratamento A0G e os demais tratamentos em associação. A partir desses dados, é possível afirmar que a atrazina aumentou a velocidade de desprendimento de CO<sub>2</sub> em aproximadamente 12 vezes em relação ao controle no período de 63 dias.

Aos 21 dias, as médias de CO<sub>2</sub> desprendido não foram significantes entre o tratamento G0A e o controle evidenciando que não ocorreu influência do glifosato na mineralização de carbono pelo solo (Figura 2A). Resultados semelhantes para influência do glifosato são apresentados por Hart e Brookes (1996), Stratton e Stewart (2006). Araujo et al. (2003), encontraram resultados contrastantes estudando dois tipos de solo com e sem histórico de aplicação de glifosato. De acordo com os autores, o desprendimento de CO<sub>2</sub> pelo solo teve incrementos em torno de 10 a 15% em relação aos solos que nunca receberam esse herbicida. Cabe salientar que a quantidade de CO<sub>2</sub> desprendida no estudo de Araujo et al. (2003), ficou situada em uma faixa de 0 a 0,6 µg g<sup>-1</sup> solo, resultado este bem inferior ao encontrado neste trabalho. Haney et al. (2000), também reportam incrementos no carbono mineralizado pelo solo na presença de glifosato, porém esse efeito teve duração de 14 dias o que sugere que o glifosato estava prontamente disponível e foi rapidamente consumido pelos microrganismos.

Ainda com relação as médias de CO<sub>2</sub> desprendido aos 21 dias (Figura 2A) é possível perceber que a associação entre a dose fixa de glifosato e variável de atrazina favoreceu quantitativamente a mineralização de carbono pelo solo. Analisando as médias dos tratamentos G0A, G1/2A, 1G1A e G2A, nota-se que a presença de atrazina, independente da dose utilizada, aumentou esse parâmetro em comparação com a aplicação individual de glifosato. Para os tratamentos A0G, A1/2G, 1G1A e A2G a mesma tendência é observada, porém a associação da dose de campo de atrazina com a dose de campo de glifosato e com o dobro da dose de campo de glifosato, cujo os valores de desprendimento foram 55,71 e 58,00 mg CO<sub>2</sub> Kg<sup>-1</sup> solo respectivamente, aumentaram a mineralização de carbono pelo solo comparado a aplicação individual de atrazina (52,18mg CO<sub>2</sub> Kg<sup>-1</sup> solo). Todos os tratamentos utilizados, com exceção do G0A, foram significativamente superiores ao CT. Haney et al., (2002), estudaram doses crescentes de atrazina (2, 4 e 6x a dose recomendada) aplicadas individualmente ou

associadas a doses crescentes de glifosato (2, 4 e 6x a dose recomendada). De acordo com os autores, a associação entre os herbicidas estimulou a atividade microbiana (medida pela mineralização de carbono do solo) mais que a aplicação individual de atrazina. No presente estudo, a diferença observada refere-se a aplicação individual de glifosato, que manteve os níveis basais de mineralização de carbono, pois foi semelhante ao controle. Isso pode ter ocorrido em função das diferentes doses utilizadas neste trabalho não terem uma faixa mais ampla de concentração. Porém, as associações tenderam a médias superiores em relação as aplicações individuais, o que concorda com os resultados de Haney et al. (2002).

Aos 63 dias o tratamento G0A não diferiu estatisticamente do CT e todos os tratamentos com presença de atrazina apresentaram médias superiores em relação ao CT e G0A e não foram estatisticamente diferentes entre si (figura 2B). Gan et al., (1996), encontraram resultados semelhantes a respeito da influência da atrazina na mineralização de carbono do solo. Os autores utilizaram uma faixa de concentração de 500 a 5000 mg Kg<sup>-1</sup> solo constando que o crescimento e atividade microbiana aumentaram, baseado no aumento de desprendimento de CO<sub>2</sub> pelo solo. Essa afirmação concorda com dados desse trabalho, pois no intervalo entre 21 e 63 dias houveram incrementos na biomassa microbiana (Figura 1A e 1B) e na mineralização de carbono do solo (Figura 2B) estatisticamente significativos, o que possibilita afirmar que houve crescimento microbiano no período.

Mahia et al. (2008), estudaram a mineralização de carbono pelo solo em Cambissolos influenciado pela adição de atrazina. Os autores afirmam que o aumento nesse parâmetro foi mais pronunciado nos primeiros sete dias, porém manteve-se em menor extensão durante todo o período de incubação, indicando um efeito residual da atrazina na comunidade microbiana do solo. Portanto, para os tratamentos onde se aplicou a associação, o aumento do carbono mineralizado pelo solo e a diferença estatística aos 63 dias em relação ao CT e G0A podem ser explicados pela presença de atrazina.

Tabela 3 – Parâmetros da cinética de mineralização de carbono pelo solo em 63 dias conforme as doses de glifosato associadas a atrazina

Tratamento	k*	Desvio Padrão	R <sup>2</sup>
CT	0,00145 <b>b</b>	0,0001780	0,98
G0A	0,00135 <b>b</b>	0,0002216	0,98
G1/2A	0,01677 <b>a</b>	0,0062826	0,99
G2A	0,01988 <b>a</b>	0,0035713	0,99
1G1A	0,01701 <b>a</b>	0,0026654	0,99
A0G	0,01768 <b>a</b>	0,0026380	0,99
A1/2G	0,01829 <b>a</b>	0,0033277	0,99
A2G	0,02158 <b>a</b>	0,0025025	0,99

\* Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

DMS = 0,00757

CV (%) = 22,70

k= constante de velocidade de mineralização (dia<sup>-1</sup>)

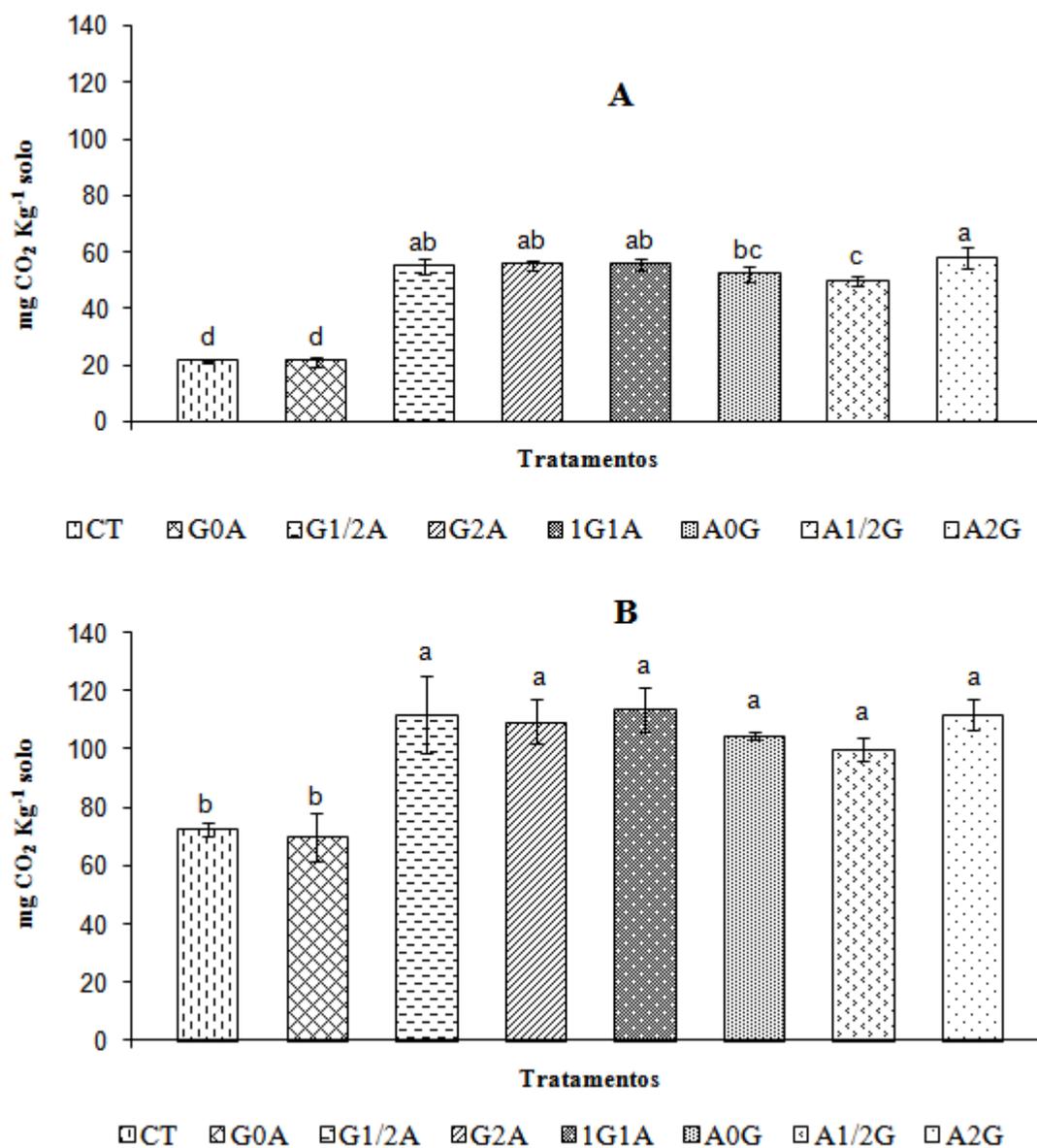


Figura 2 – Carbono mineralizado pelo solo aos 21 (A) e 63 (B) dias.

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

a - DMS = 5,19; CV(%) = 4,81

b - DMS = 16,84; CV(%) = 7,25

Houve correlação entre o carbono da biomassa microbiana e o carbono mineralizado pelo solo aos 21 dias para os tratamentos com dose fixa de atrazina e variável de glifosato ( $R^2 = 0,94$ ), sendo que todos os tratamentos com presença de glifosato, tiveram CBM menor e  $C_{\min}$  pelo solo maior que o CT (figura 3A). Entretanto, aos 63 dias não ocorreu correlação entre as variáveis analisadas e as diferentes doses

de glifosato associado à atrazina ( $R^2 = 0,01$ ) (Figura 3B). As associações entre glifosato e doses variáveis de atrazina apresentaram correlação aos 21 e 63 dias ( $R^2 = 0,84$  e  $0,83$ ) (figuras 3C e 3D). Porém, o efeito mais expressivo foi aos 21 dias, onde é possível notar que independente da dose de atrazina utilizada houve redução do CBM e aumento do  $C_{\min}$  pelo solo em relação ao CT e G0A.

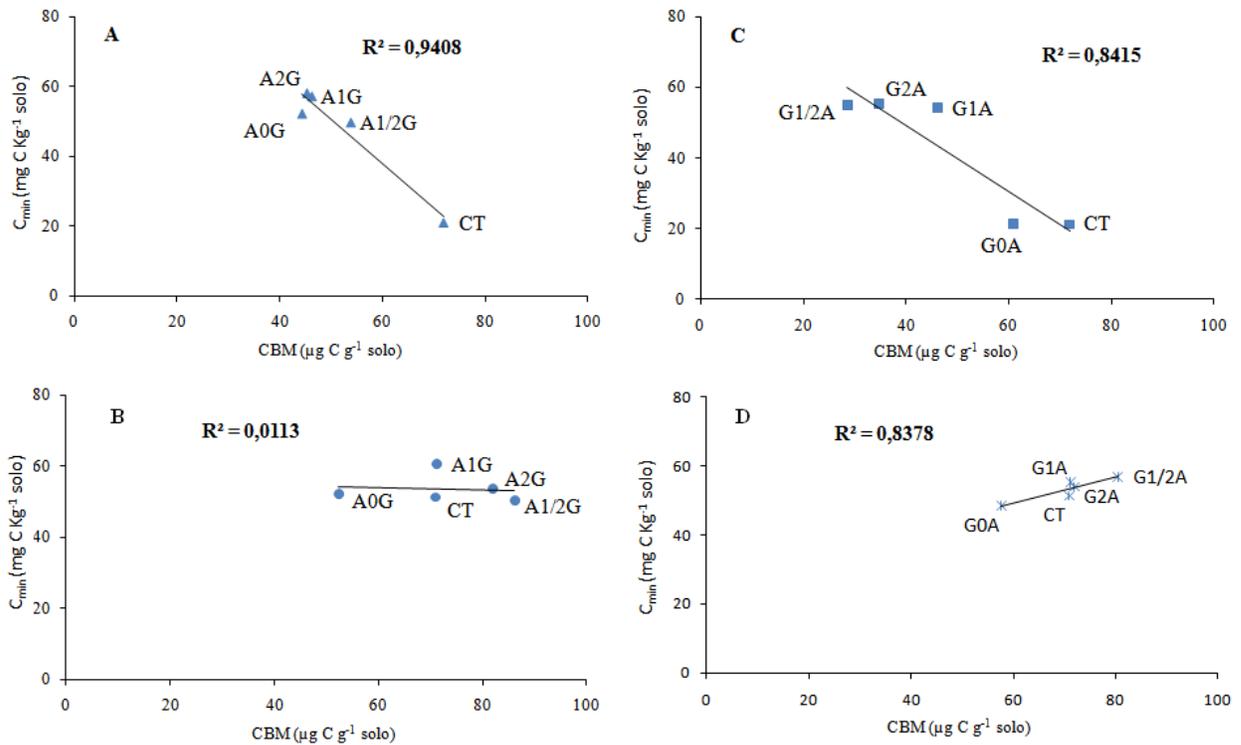


Figura 3 - Correlação entre carbono da biomassa microbiana e carbono mineralizado pelo solo aos 21 (A) e 63 dias (B) de acordo com diferentes doses de glifosato associado à atrazina e correlação entre carbono da biomassa microbiana e carbono mineralizado pelo solo aos 21 (C) e 63 dias (D) de acordo com diferentes doses de atrazina associada ao glifosato

### 3.4 Conclusões

- 1) O glifosato não alterou as variáveis estudadas (CBM e  $C_{\min}$ );
- 2) A aplicação apenas de atrazina provocou diminuição no CBM, porém os efeitos foram transitórios;

- 3) Em todos os tratamentos com presença de atrazina ocorreu um aumento na velocidade e quantidade do  $C_{\min}$ ;
- 4) Nos tratamentos em associação, o glifosato no sistema impediu a redução do CBM devido ao efeito da atrazina, provavelmente por servir como substrato a comunidade microbiana do solo;
- 5) A associação entre glifosato e atrazina favoreceu  $C_{\min}$  do solo comparada a aplicação individual de glifosato;

## Referências

ALLEXANDER, M. **Biodegradation and biorremediation**. New York: Academic Press, 1994. 302 p.

ARAUJO, A.S.F.; MONTEIRO, R.T.R.; ABARKELI, R.B. Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils. **Chemosphere**, Oxford, v. 52, p. 799-804, 2003.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 14283**: resíduos em solo – determinação da biodegradação pelo método respirométrico. Rio de Janeiro, 1999. 8 p.

BROOKES, P.C. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 19, p. 269–279, 1995

CAMARGO, O.A.; MONIZ, A.C.; JORGE, J.A.; VALADARES, J.M.A.S. **Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do Instituto Agrônomo de Campinas**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1986. 94 p. (IAC. Boletim Técnico, 106).

COSTA, M.A. **Efeito da matéria orgânica em alguns atributos do solo**. 1983. 137 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1983.

FRIGHETTO, R.T.S. Análise da biomassa microbiana em carbono: método de fumigação-extração. In: FRIGHETTO, R.T.S.; VALARINI, P.J. (Ed.). **Indicadores biológicos e bioquímicos da qualidade do solo**. Jaguariúna: EMBRAPA, 2000. p. 157-166.

GAN, J.; BECKER, R.L.; KOSKINEN, W.C.; BUHLER, D.D. Degradation of atrazine in two soils as a function of concentration. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 25, p. 1064-1072, 1996.

GHANI, G.; WARDLE, D.A.; RAHMAN, A.; LAUREN, D.R. Interactions between <sup>14</sup>C-labelled atrazine and the soil microbial biomass in relation to herbicide degradation. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 21, n. 1/2, p. 17-22, 1996.

GOMEZ, E.; FERRERAS, L.; LOVOTTI, L.; FERNANDEZ, E. Impact of glyphosate application on microbial biomass and metabolic activity in a Vertic Argiudoll from Argentina. **European Journal of Soil Biology**, Paris, v. 45, n. 2, p. 163-167, 2009.

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

HANEY, R.L.; SENSEMAN, S.A.; KRUTZ, L.J.; HONS, F.M. Soil carbon and nitrogen mineralization as affected by atrazine and glyphosate. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 35, p. 35-40, 2002.

HART, M.R.; BROOKES, P.C. Soil microbial biomass and mineralisation of soil organic matter after 19 years of cumulative field applications of pesticides. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 28, n. 12, p. 1641-1649, 1996.

KAUFMAN, D.; KEARNEY, P. C. Microbial degradation of s-triazine herbicides. **Residue Reviews**, New York, v. 32, p. 235-265, 1970.

LANCASTER, S.H.; HOLLISTER, E.B.; SENSEMAN, S.A.; GENTRY, T.J. Effects of repeated glyphosate applications on soil microbial community composition and the mineralization of glyphosate. **Pest Management Science**, West Sussex, v. 66, p. 59-64, 2009.

LANCASTER, S.R.; HANEY, R.L.; SENSEMAN, S.A.; HONS, F.M.; CHANDLE, J.M. Soil microbial activity is affected by roundup weathermax and pesticides applied to cotton (*Gossypium hirsutum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 54, n. 19, p. 7221-7226, 2006.

MAHIA, J.; CABANEIRO, A.; CARBALLAS, T.; DÍAZ-RAVIÑA, M. Microbial biomass and C mineralization in agricultural soils as affect by atrazine addition. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 45, p. 99-105, 2008.

MORENO, J.L.; ALIAGA, A.; NAVARRO, S.; HERNÁNDEZ, T.; GARCÍA, C. Effects of atrazine on microbial activity in semiarid soil. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 35, p. 120-127, 2007.

MOSHIER, L.; PENNER, D. Factors influencing the microbial degradation of <sup>14</sup>C-glyphosate to <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> in soils. **Weed Science**, Champaign, v. 26, p. 686-691, 1978.

PANKHURST, C.E.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R. Biological indicators of soil health. Synthesis. In: PANKHURST, C.E.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R (Ed.). **Biological indicators of soil health**. Wallingford: CAB, 1997. p. 419-435.

- PEREIRA, J. L.; PICANÇO, M.C.; SILVA, A.A.; SANTOS, E.A.; TOMÉ, H.V.V.; OLARTE, J.B. Effects of glyphosate and endosulfan on soil microorganisms in soybean crop. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 26, n. 4, p. 825-830, 2008.
- PEREZ, A.; KOGAN, M. Glyphosate-resistant *Lolium multiflorum* in Chilean orchards. **Weed Research**, Oxford, v. 43, p. 12-19, 2002.
- PERUCCI, P.; DUMONTET, S.; BUFO, S.A.; MAZZATURA, A.; CASUCCI, C. Effects of organic amendment and herbicide treatment on soil microbial biomass. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 32, p. 17-23, 2000.
- POWLES, S.B.; LORRAINE-COLWILL, D.F.; DELLOW, J.J.; PRESTON, C. Evolved resistance to glyphosate in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) in Australia. **Weed Science**, Champaign, v. 46, p. 604-607, 1998.
- RADIVOJEVIC, L.J. ; GASIC, S. ; SANTRIC, L.J. ; STANKOVIC-KALEZIC, R. The impact of atrazine on several biochemical properties of chernozem soil. **Journal of the Serbian Chemical Society**, Belgrade, v. 73, n. 10, p. 951-959, 2008.
- RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2001. 285 p.
- SONG, R.; LIU, L.; WU, C.S.; MA, L.Y. Effect of atrazine on chernozem soil microbial activity in semiarid region of Northeast China. **Journal of Agro-Environment Science**. Tianjin, v. 28, n. 6, p. 1153-1158, 2009.
- STRATTON, G.W.; STEWAR, K.E. Glyphosate effects on microbial biomass in a coniferous forest soil. **Environmental Toxicology and Water Quality**, New York, v. 7, p. 223-236, 2006.
- TORSTENSSON, L. Behaviour of glyphosate in soils and its degradation. In: GROSSBARD, E.; ATKINSON, D. (Ed.). **The herbicide glyphosate**. London: Butterworths, 1985. p. 137-150.
- VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 19, p. 703-707, 1987.
- VOOS, G.; GROFFMAN, P.M. Relationship between microbial biomass and dissipation of 2,4-D and dicamba in soil. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 24, p. 106-110, 1997

# 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](#)