

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO

**DESSORÇÃO DO HERBICIDA ATRAZINA E ATIVIDADE MICROBIANA EM  
DUAS CLASSES DE SOLOS DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL**

Adriana Regina Bohn Kleinschmitt  
(Dissertação)

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO

**DESSORÇÃO DO HERBICIDA ATRAZINA E ATIVIDADE MICROBIANA EM  
DUAS CLASSES DE SOLOS DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL**

ADRIANA REGINA BOHN KLEINSCHMITT  
Licenciada em Biologia (UNISINOS)

Dissertação apresentada como um dos requisitos à obtenção do Grau de  
Mestre em Ciência do Solo

Porto Alegre (RS) Brasil  
Fevereiro de 2003

## AGRADECIMENTOS

À professora Deborah pela confiança em mim depositada, pela amizade e pela orientação dedicada, não medindo esforços para que esse trabalho fosse realizado.

Ao professor Pedro Selbach pela troca de idéias e pela disposição em ajudar a resolver qualquer problema que envolvia a pesquisa.

Ao Professor Roberto Fernando de Souza e à professora Maria do Carmo Peralba pela ajuda nas análises cromatográficas.

Aos colegas Paulo Almeida e Clodoaldo dos Santos pelo auxílio na coleta das amostras de solo.

Ao bolsista de iniciação científica e estudante do Curso de Química (UFRGS) Marlon Santos pela inestimável ajuda com as centenas de amostras a serem concentradas.

Aos colegas, professores e funcionários do Departamento de Solos pela amizade e auxílio.

Ao André Kleinschmitt pelo amor, companheirismo, incentivo, apoio e compreensão.

À minha família pelo apoio e pela valorização constante do meu esforço.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos e à FAPERGS pelo financiamento do projeto.

# DESSORÇÃO DO HERBICIDA ATRAZINA E ATIVIDADE MICROBIANA EM DUAS CLASSES DE SOLOS DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL <sup>1/</sup>

Autor: Adriana Regina Bohn Kleinschmitt

Orientadora: Prof. Dra. Deborah Pinheiro Dick

## RESUMO

A atrazina (ATZ) foi utilizada em experimentos de laboratório para estudos de mineralização e dessorção em amostras de Argissolo Vermelho (PV) e Vertissolo Ebânico (VE), sob campo nativo, com o intuito de identificar os atributos do solo que afetam estes processos. A influência da umidade do solo sobre a atividade microbiana foi avaliada variando-se os teores de umidade em 20, 40, 65 e 85% da capacidade de água disponível do solo (CAD) e aplicando-se 1,5 kg de princípio ativo ha<sup>-1</sup> (menor dose recomendada (DR)). Para a avaliação do efeito das doses do herbicida ATZ sobre a atividade microbiana e sobre a taxa de degradação do herbicida foram feitas aplicações de 1x, 2x, 4x, 7x e 10x a DR. Na avaliação do efeito da matéria orgânica sobre a atividade microbiana e sobre a taxa de degradação da ATZ foi feita a aplicação de 10x a DR. Num estudo adicional foram testados quatro métodos de desinfestação de solos (fumigação, tinalização, autoclavagem e irradiação em forno de microondas). A determinação da ATZ na solução foi feita por cromatografia gasosa em extratos de metanol. A atividade microbiana foi monitorada pela evolução de CO<sub>2</sub> e a microbiota foi avaliada pela contagem de unidades formadoras de colônias. Os resultados indicam que a população microbiana apresenta maior atividade entre 65 e 85% de umidade da CAD e que o aumento das doses de aplicação da ATZ não provoca alterações relevantes na atividade microbiana. Aproximadamente 70% do herbicida aplicado fica sorvido ao solo, independentemente de dose de ATZ aplicada e da classe de solo estudada (PV e VE). As taxas de degradação da ATZ lábil foram baixas e dependentes de doses e tipos de solos, sendo maiores em doses mais elevadas e em solos com maior teor de C. Dentre os métodos de desinfestação, a irradiação em forno de microondas foi o mais adequado, uma vez que apresentou um comportamento similar à testemunha quanto à sorção do herbicida e foi eficiente na redução da população microbiana do solo.

<sup>1/</sup> Dissertação de Mestrado em Ciência do Solo. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. (78 p.) Fevereiro, 2003. Trabalho realizado com apoio financeiro do CNPq e FAPERGS.

## DESORPTION OF THE HERBICIDE ATRAZINE AND MICROBIAL ACTIVITY IN TWO SOIL CLASSES OF RIO GRANDE DO SUL STATE <sup>1/</sup>

Author: Adriana Regina Bohn Kleinschmitt

Adviser: Prof. Dra. Deborah Pinheiro Dick

### ABSTRACT

The mineralization and desorption of atrazine (ATZ) in samples of an Argissolo Vermelho (PV) and Vertissolo Ebânico( VE) under native vegetation were studied in the laboratory, aiming to verify the relationship between soil attributes and these processes. The influence of the soil moisture on the microbial activity was evaluated by varying the sample moisture from 20 to 85 % of the capacity of the available water (CAW) and applying 1,5 kg of ATZ ha<sup>-1</sup> (lowest recommended doses). The effect of the number of ATZ doses on the microbial activity and on the ATZ desorption was investigated by applying 1x, 2x, 4x, 7x e 10x the recommended doses. In the study about the effect of the organic matter on the microbial activity and on the ATZ degradation rate, the samples were submitted to 10x doses. In an additional study, four methods of soil desinfestation were tested: fumigation, autoclaving in partially opened system, autoclaving at 1 atm and microwave irradiation. The quantification of ATZ in solution was performed on methanol extracts by gaseous chromatography. The microbial activity was monitored by CO<sub>2</sub> evolution and the biomass was evaluated by counting the colony forming units. The highest activity of the microbial population occurred between 65 and 85 % of the CAW, whereas the increase of applied ATZ doses did not affect the microbial activity. Approximately 70 % of the applied herbicide was sorbed on the soil, regardless of the applied doses or of the soil class (PV and VE). The degradation rates of the labile ATZ were low and were affected by the applied doses and soil class. The higher rates were observed in soil samples with higher carbon content and for the higher applied doses. Among the soil desinfestation methods, the microwave irradiation was the most adequate, since it presented a similar sorption behavior observed in the testimony and was efficient in reducing the soil microbial population.

<sup>1/</sup> Master Science Dissertation – Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. (78 p.) February, 2003.

## SUMÁRIO

	Página
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	01
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	04
2.1 Pesticidas.....	04
2.1.1 Pesticidas no solo.....	04
2.1.2 Degradação de pesticidas.....	05
2.1.3 Sorção de pesticidas.....	06
2.2 O herbicida atrazina.....	07
2.2.1 Propriedades físico-químicas da atrazina.....	07
2.2.2 Persistência e transporte.....	08
2.2.3 Interação com a matéria orgânica.....	09
2.2.4 Degradação.....	10
2.3 Atividade microbiana do solo.....	13
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	19
3.1 Caracterização dos solos.....	19
3.2 Coleta e preparo das amostras de solo.....	20
3.3 Herbicida utilizado.....	20
3.4 Tratamentos.....	20
3.4.1 Variação dos teores de umidade do solo.....	20
3.4.2 Variação das doses do herbicida ATZ.....	21
3.4.3 Teste de métodos de desinfestação de solos.....	22
3.4.3.1 Método de fumigação.....	22
3.4.3.2 Método de tindalização.....	23
3.4.3.3 Autoclavagem.....	23
3.4.3.4 Irradiação em forno de microondas.....	23
3.4.4 Variação dos níveis de matéria orgânica em duas classes de solos.....	23
3.5 Avaliações.....	25
3.5.1 Avaliação da atividade microbiana.....	25
3.5.2 Avaliação da taxa de degradação do herbicida ATZ.....	25
3.5.2.1 Dessorção do herbicida ATZ.....	25
3.5.2.2 Quantificação do herbicida ATZ no extrato.....	26
3.5.3 Avaliação da eficiência dos métodos de desinfestação de solo.....	27
3.5.4 Determinação do pH do solo.....	27
3.5.5 Espectrofotometria na região UV/Visível.....	27
3.6 Tratamento dos resultados.....	28
3.6.1 Cálculo do percentual de ATZ dessorvido ( $ATZ_{DS}$ ).....	28
3.6.2 Cálculo do percentual de ATZ degradada a partir do maior percentual dessorvido ( $ATZ_{DG/DS}$ ).....	28
3.6.3 Cálculo do percentual de ATZ degradada a partir do total aplicado ( $ATZ_{DG/TA}$ ).....	28
3.6.4 Cálculo do percentual de ATZ lábil ao final do experimento a partir do total aplicado ( $ATZ_{RE/LA}$ ).....	29
3.6.5 Cálculo do percentual de ATZ ligada ao solo ( $ATZ_{RE/RL}$ ).....	29
3.6.6 Cálculo da meia-vida ( $t_{1/2}$ ).....	29
3.6.7 Análises estatísticas.....	29
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	30
4.1 Atividade microbiana em diferentes níveis de umidade do solo e doses de herbicida aplicado.....	30

4.1.1 Atividade microbiana em diferentes níveis de umidade.....	30
4.1.2 Efeito de doses crescentes de ATZ na atividade microbiana e degradação da ATZ.....	32
4.2 Métodos de desinfestação de solos e dessorção de ATZ.....	38
4.3 Teor de matéria orgânica e atividade microbiana em duas classes de solos.	42
4.4 Teor de matéria orgânica e dessorção de ATZ em duas classes de solos.....	47
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>57</b>
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>58</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>59</b>
<b>8. APÊNDICES.....</b>	<b>73</b>

**RELAÇÃO DE TABELAS**

	Página
01 Propriedades físico-químicas do herbicida ATZ .....	7
02 Principais características químicas e mineralógicas dos solos estudados .....	19
03 Parâmetros obtidos para as quantidades de ATZ dessorvida nas diferentes doses aplicadas na camada de 0-20 cm do solo PV .....	35
04 Quantidades de ATZ dessorvida, degradada e residual do solo PV, em função das doses de ATZ aplicadas.....	36
05 Período, em dias, onde ocorreu efetiva diminuição da concentração de ATZ no solo, para as diferentes doses aplicadas na camada de 0-20 cm do solo PV, comparadas pelo teste de Tukey a 5% .....	38
06 Número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) na testemunha e nas amostras da camada de 0-20 cm do solo PV determinado por diferentes métodos de desinfestação .....	39
07 Parâmetros obtidos para as quantidades de ATZ dessorvida ao longo do tempo nas diferentes camadas do solo PV não tratado e submetido a desinfestação .....	50
08 Quantidade de ATZ dessorvida, degradada e resíduo ligado nas diferentes camadas do solo PV não tratado e desinfestado.....	51
09 Parâmetros obtidos para as quantidades de ATZ dessorvida ao longo do tempo nas diferentes camadas do solo VE não tratado e submetido a desinfestação .....	54
10 Quantidade de ATZ dessorvida, degradada e resíduo ligado nas diferentes camadas do solo VE não tratado e desinfestado.....	56

## RELAÇÃO DE FIGURAS

		Página
01	Estrutura química da ATZ e seus metabólitos .....	11
02	Evolução de CO <sub>2</sub> , ao longo do tempo, em diferentes níveis de umidade (20, 40, 65 e 85% da CAD), na ausência do herbicida (T) e, em presença de 1x dose do herbicida ATZ (A), na camada de 0-20 cm do solo PV.....	30
03	Evolução de CO <sub>2</sub> , ao longo do tempo, na ausência do herbicida (TE) e com variação das doses aplicadas (1, 2, 4, 7 e 10x dose), na camada de 0-20 cm do solo PV .....	33
04	Quantidade de ATZ dessorvida em função do tempo, para diferentes doses de aplicação do herbicida na camada de 0-20 cm do solo PV.....	35
05	Percentual de ATZ dessorvida, após 24 horas da aplicação, nos solos, PV e VE tratados por diferentes métodos de desinfestação: testemunha (TE), microondas (MI), clorofórmio (CHCL <sub>3</sub> ), autoclave a 105°C (AC 105) e autoclave a 121°C (AC 121) .....	41
06	Evolução de CO <sub>2</sub> , ao longo do tempo, dos solos PV e VE na ausência do herbicida (T) e na aplicação de 10x dose (A), em diferentes camadas de solo (0-20, 50-60, 0-30 e 30-45 cm) .....	43
07	Evolução de CO <sub>2</sub> , na ausência do herbicida (T) e na aplicação de 10x dose (A), com variação das camadas do solo PV (0-20, 50-60cm), não tratado (ND) e desinfestado em forno de microondas (D).....	46
08	Evolução de CO <sub>2</sub> , na ausência do herbicida (T) e na aplicação de 10x dose (A), com variação das camadas do solo VE (0-30, 30-45 cm), não tratado (ND) e desinfestado em forno de microondas (D)...	47
09	Quantidade de ATZ dessorvida em função do tempo, para diferentes camadas do solo PV (0-20 e 50-60 cm), não tratado (ND) e desinfestado em forno de microondas (D) .....	48
10	Ajuste linear traçado aos dados obtidos na dessorção de ATZ até 64 dias nas diferentes camadas do solo PV (0-20 e 50-60 cm), não tratado (ND) e desinfestado em forno de microondas (D).....	49
11	Quantidade de ATZ dessorvida em função do tempo, para diferentes camadas do solo VE (0-30 e 30-45 cm), não tratado (ND) e desinfestado em forno de microondas (D).....	52
12	Ajuste linear traçado aos dados obtidos na dessorção de ATZ dos 15 aos 64 dias nas diferentes camadas do solo VE (0-30 e 30-45 cm), não tratado (ND) e desinfestado em forno de microondas (D)...	54

**RELAÇÃO DE APÊNDICES**

	Página	
01	Quantidade de ATZ desorvida em função do tempo, para diferentes doses de aplicação do herbicida na camada de 0-20 cm do solo PV.....	74
02	Valores de pH em função do tempo para as camadas 0-20 e 50-60 cm do solo PV na ausência do herbicida (T) e na aplicação de 10x dose (A) herbicida, irradiadas em forno de microondas (D) e não tratado (ND).....	75
03	Valores de pH em função do tempo para as camadas 0-30 e 30-45 cm do solo VE na ausência do herbicida (T) e na aplicação de 10x dose (A) herbicida, irradiadas em forno de microondas (D) e não tratado (ND).....	76
04	Quantidade de ATZ desorvida em função do tempo, para diferentes camadas do solo PV.....	77
05	Quantidade de ATZ desorvida em função do tempo, para diferentes camadas do solo VE.....	78

## 1. INTRODUÇÃO

Desde a Segunda Guerra Mundial a agricultura vem passando por grandes mudanças, que incluem a diminuição da diversificação de culturas, o emprego de novas variedades mais produtivas e dependentes de adubos minerais, o uso intenso de pesticidas e máquinas agrícolas a fim de aumentar os índices de produtividade. Embora o uso de pesticidas, sem dúvida, tenha contribuído para o aumento da produtividade, criou sérios problemas, incluindo o amplo acúmulo de resíduos, danos à vida selvagem, à piscicultura, a insetos e mesmo ao homem. O impacto de pesticidas sobre o ambiente provoca efeitos muito mais sérios do que os aparentes, tais como mudança adversa na qualidade ambiental, que pode reduzir o potencial produtivo, ao invés da aparente toxicidade.

O solo pode ser visto como um amplo local de reciclagem, continuamente recebendo e reduzindo compostos de carbono e oxidando-os a  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ . Quando um pesticida chega ao solo, seu tempo de permanência depende das propriedades físico-químicas do pesticida e do solo, das forças de sorção, da dinâmica do fluxo da água, da prática agrícola, da atividade microbiana e da distribuição do produto no perfil do solo, entre outros. O entendimento da sorção, degradação e transporte de produtos químicos no solo é essencial para prever o destino e o impacto desses produtos no ambiente.

Mais de 1600 pesticidas estão no mercado (Edwards, 1993) e o seu uso continua em crescimento, em função do aumento da área cultivada. Do total de pesticidas, os herbicidas são os mais utilizados em todo o mundo, tanto em volume como em área tratada. No Brasil são gastos anualmente aproximadamente 2,5 bilhões de dólares (Vidal et al., 2001) com herbicidas. O uso de herbicidas aumentou substancialmente em decorrência do

desenvolvimento de produtos mais específicos, da habilidosa comercialização por parte das indústrias químicas, da emergência de métodos de preparo conservacionista da terra e do desenvolvimento de tecnologia de aplicação mais conveniente.

Calcula-se que somente 0,1% dos pesticidas aplicados atinge o alvo específico enquanto os restantes 99,9% da aplicação têm potencial para se mover em diferentes compartimentos ambientais, tais como o solo e águas superficiais e subterrâneas (Colombini et al., 1998).

Os resultados de inúmeros trabalhos têm revelado a presença de níveis alarmantes de agroquímicos e seus produtos de degradação em solos e águas superficiais e subterrâneas. Os relatos iniciaram-se nos anos 70 e desde então, com o aprimoramento das técnicas analíticas mais sensíveis, mostraram, por exemplo, que em 1988, mais da metade dos estados americanos possuíam águas subterrâneas contaminadas (Parsons & Witt, 1989).

O herbicida atrazina (ATZ) foi introduzido no mercado na década de 50, e desde então tem sido utilizado em grande escala pela agricultura. É um dos herbicidas mais utilizados no mundo, e também o é no Estado do Rio Grande do Sul, sendo aplicado principalmente nas culturas de milho e cana-de-açúcar. Seu consumo em áreas agrícolas está entre 70000 a 90000 toneladas por ano (Steinberg et al., 1995).

O herbicida ATZ é considerado relativamente recalcitrante nos solos, embora a degradação microbiana tem sido reconhecida como o principal mecanismo de dissipação da atrazina nos solos (Kaufman & Kearney, 1970). A utilização intensiva do herbicida ATZ e sua baixa degradabilidade tem levado ao acúmulo desse composto no ambiente, contaminando águas de superfície e do lençol freático. A ATZ é o pesticida mais comumente encontrado nas águas superficiais e subterrâneas dos Estados Unidos (Blanchard & Donald, 1997; Senseman et al., 1997), Alemanha (Guzzella et al., 1996; Dorfler et al., 1997), França (Garmouma et al., 1997), Canadá (Masse et al., 1998) e Austrália (Kookana et al., 1998). Nenhum dado de literatura foi encontrado para o Brasil, até o momento. A permanência desse composto no solo é variável, com valores de meia-vida entre 37 dias até 3-5 anos (Armstrong et al., 1967; Winkelmann & Klaine, 1991; Montiel & Welté, 1992; Thurman et al., 1994;

Alvord & Kadlec, 1995). Esta variabilidade deve-se às diversas condições e classes de solos empregados nos estudos.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade microbiana e a dessorção do herbicida ATZ em duas classes de solos do Estado do Rio Grande do Sul, variando-se a umidade e o teor de matéria orgânica do solo, e em condições de solo não tratado e desinfestado.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Pesticidas**

#### **2.1.1 Pesticidas no solo**

O solo é utilizado para produzir mais de 90% do nosso alimento. Devido à presença de competidores das culturas, a utilização de pesticidas tem se tornado comum no manejo de plantas, insetos e fungos que apresentam significado econômico.

De todos os compostos que atingem o solo intencionalmente, os pesticidas merecem atenção especial, pois sua dissipação, persistência e transformação indicam sua eficácia como produto e seu perigo potencial para a microbiota, a qualidade do ambiente e a vida no planeta. De acordo com Fay et al. (1997), existem mais de 1000 xenobióticos registrados como pesticidas, com uma grande variação na estrutura química das moléculas. Dos xenobióticos registrados como pesticidas, 65% são herbicidas, 25% inseticidas e 7% fungicidas. Os restantes 3% incluem nematicidas, acaricidas, rodenticidas, moluscidas e outros.

Globalmente são utilizados milhões de quilos de pesticidas por ano, com um mercado estimado em 27 bilhões de dólares. O maior consumidor é os Estados Unidos, com mais de 600 produtos registrados e 371 milhões de quilogramas aplicados em 1991. O Brasil representa o quinto mercado consumidor mundial de pesticidas, com aproximadamente 250 ingredientes ativos registrados no IBAMA e movimenta 2,5 bilhões de dólares (Aspelin et al., 1992).

Segundo Lavorenti (1999), herbicidas são substâncias químicas produzidas com a finalidade de controlar e eliminar plantas daninhas que se desenvolvem juntamente com as culturas. Uma vez aplicado nas culturas e após ter realizado sua função, o herbicida pode permanecer no solo por muito

tempo. No entanto, dependendo das características do herbicida e do meio, este pode ser transportado no perfil do solo atingindo o lençol freático, contaminando os rios, os lagos e as fontes de águas que são utilizadas no consumo humano (Adams & Thurman, 1991; Cogger et al., 1998; Comber, 1999).

A habilidade do solo em desintoxicar ou reter os produtos químicos ou retardar-lhes o movimento, ajuda a reduzir a contaminação do ambiente. A persistência e/ou transporte de um produto são influenciados basicamente pelos processos de volatilização, lixiviação, escoamento superficial e adsorção (Cheng & Lehman, 1985).

O comportamento de um pesticida no solo é influenciado pelas suas características físico-químicas, tais como: solubilidade em água (S), pressão de vapor (P), coeficiente de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ), constante de equilíbrio de ionização ácida ( $pK_a$ ) ou básica ( $pK_b$ ), constante de Henry (H), reatividade e meia vida ( $t_{1/2}$ ). Com exceção desta última, as demais propriedades podem ser determinadas em laboratório sob condições controladas e por métodos conhecidos. Já a meia vida do herbicida, obtida em condições de campo, pode apresentar resultados variáveis devido às diferentes condições experimentais (local, tipo de solo, modo de aplicação, teor de água no solo e temperatura) (Lavorenti, 1999).

Características do solo como teor de carbono orgânico, acidez, textura, estrutura, nível de fertilidade, umidade do solo e diversidade e densidade da população microbiana também desempenham importantes funções na interação de herbicidas no ambiente solo. A maioria dessas propriedades é influenciada pelo sistema de manejo e pelo uso local do solo (Locke & Bryson, 1997).

### **2.1.2 Degradação de pesticidas**

A degradação de um herbicida consiste no desdobramento da sua estrutura molecular em componentes menores ou mais simples por meios bióticos ou abióticos. Estes subprodutos resultantes tendem a diminuir a toxicidade do herbicida, embora ocasionalmente, possam ser produzidos metabólitos mais tóxicos do que a molécula original (Lavorenti, 1999).

A maioria das moléculas de herbicidas é transformada pela ação do metabolismo de microrganismos e plantas. Enzimas são excretadas por estes seres vivos, as quais, em contato com os herbicidas originam uma série de reações, tais como: oxidação, redução, hidrólise, dealquilação, descarboxilação, hidroxilação, metilação, beta-oxidação, dealcoilação, etc. (Walker, 1987).

A degradabilidade é vista como um atributo desejável nos pesticidas atuais, pois a persistência prolongada leva à contaminação de outros ambientes e também de águas subterrâneas. A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) constatou a presença de 46 pesticidas diferentes em águas subterrâneas de 26 estados (Moorman, 1990). A maioria desses produtos são herbicidas e sua origem é atribuída principalmente às atividades agrícolas.

A importância do solo, como comunidade microbiana, em mediar a degradação de pesticidas, tem sido reconhecida desde muito tempo. A atividade microbiana foi mostrada por Audus (1960), como a responsável pela degradação do herbicida 2,4-D. Desde essa primeira descoberta tem havido um número considerável de trabalhos mostrando a importância da degradação microbiana nas transformações dos pesticidas no solo.

A molécula do herbicida também pode ser degradada pela ação de fatores abióticos do meio ambiente. Assim, é possível observar fotodegradação quando ocorre a ação da luz na decomposição da estrutura molecular do herbicida e degradação química quando reações químicas tais como a hidrólise, oxidação e descarboxilação se processam no meio ambiente em função da presença de algumas substâncias que interagem com o herbicida.

### **2.1.3. Sorção de pesticidas**

A sorção é o processo pelo qual a molécula de herbicida é transferida da fase móvel (líquida ou gasosa) para a fase estacionária (sólida). A reação é reversível e pode seguir ambas as direções: sorção ou dessorção (Monteiro, 1997).

As duas características mais importantes e determinantes na sorção do herbicida no solo são o conteúdo de matéria orgânica e a solubilidade do composto orgânico (Triegel & Guo, 1994). O conteúdo de água no solo também

é importante, pois apresenta competitividade pelos sítios ativos do solo, influenciando o grau de sorção e toxicidade dos pesticidas (Bailey & White, 1964).

A sorção é um processo importante no comportamento de pesticidas no solo, pois está diretamente relacionada com a translocação, persistência, mobilidade e bioatividade desses produtos (Luchini, 1987).

## 2.2 O herbicida atrazina

### 2.2.1 Propriedades físico-químicas da atrazina

A ATZ (2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-s-triazina) é um herbicida pertencente ao grupo das s-triazinas. É um pó incolor, solúvel em alguns solventes orgânicos como éter, acetona, benzeno, clorofórmio, metanol e acetato de etila (Worthing & Hance, 1991). É um herbicida seletivo utilizado no controle de ervas daninhas de folhas largas, aplicado em pré ou pós-emergência inicial, indicado para culturas de milho, cana-de-açúcar, sorgo, abacaxi, banana, cacau, chá, citros, maçã, sisal e seringueira (Rodrigues & Almeida, 1998). O mecanismo de ação consiste em inibir o crescimento de plantas daninhas pela interferência no funcionamento normal da fotossíntese (deNoyelles et al., 1982; Dewey, 1986; Hamilton et al., 1987; Chapman & Stranger, 1992), ou seja, ocorre a interrupção da reação de Hill (Rodrigues & Almeida, 1998).

O conhecimento das propriedades físico-químicas dos herbicidas é muito importante, pois através delas é possível prever o comportamento dos mesmos no ambiente. Na Tabela 1 constam as principais propriedades da ATZ.

TABELA 1. Propriedades físico-químicas do herbicida ATZ (Javaroni et al., 1999).

Nome Comum	Peso molec. (g.mol <sup>-1</sup> )	Ponto de Fusão (°C)	Solub.(H <sub>2</sub> O) a 20-25 °C (mg.L <sup>-1</sup> )	Pressão de vapor a 20 °C (mPa)	Dens. a 20 °C (g.cm <sup>-3</sup> )	pK <sub>a</sub> a 21°C
Atrazina	215,69	175-177	33	0,04	1,187	1,7

Herbicidas bastante solúveis podem ser distribuídos facilmente no ciclo hidrológico e contaminar os corpos d'água (Lavorenti, 1999). A ATZ é

moderadamente hidrofílica (Graymore et al., 1999), e seu potencial de lixiviação é relativamente alto, particularmente em solos arenosos ou em solos bem estruturados, com maior quantidade de macroporos. Quanto maior a hidrofobicidade da molécula, maior é a sorção do herbicida no solo (Weber, 1994).

A pressão de vapor indica a tendência de volatilização de um composto. De maneira geral, herbicidas voláteis estão menos sujeitos a causar contaminação nos solos, porém podem distribuir-se na atmosfera (Weber, 1994). A ATZ apresenta um valor de pressão de vapor baixo (Tabela 1) e, portanto, as perdas da mesma por volatilização são baixas.

O valor da constante de ionização ácida ( $pK_a$ ) da ATZ (Tabela 1) indica que abaixo do pH 1,7 os grupos etilamino e isopropilamino da atrazina encontram-se protonados, sendo considerada portanto, uma base fraca (Lavorenti, 1999).

### **2.2.2 Persistência e transporte**

Quantidades significativas de ATZ podem persistir no solo após a aplicação do produto (Kookana et al., 1998). A quantidade e a persistência do herbicida no ambiente dependem de muitos fatores, tais como o tipo de solo, teor de matéria orgânica, quantidade de argila, pH do solo e estrutura do solo (Kookana et al., 1998; Stagnitti et al., 1998).

A ATZ apresenta maior eficiência em solos úmidos e por isso é usualmente aplicada após o período de chuvas. Adicionalmente, a ATZ persiste em baixas temperaturas, em condições áridas, em meio com pH neutro e por estas razões ela tem sido proibida em muitas regiões de clima frio com solos de textura fina (Graymore et al., 2001).

Concentrações significativas de ATZ ou de seus metabólitos têm sido determinadas em horizontes subsuperficiais do solo, assim como em lençóis freáticos e água dos rios e lagos de regiões temperadas (Frank & Sirons, 1979; Glotfelty et al., 1984; Gish et al., 1991; Edwards et al., 1993; Stehouwer et al., 1993; Baskaran et al., 1996; Rothstein et al., 1996; Loyd-Smith et al., 1999). A translocação da ATZ ocorre principalmente na fase aquosa. No entanto, o transporte da ATZ sorvida em partículas de solo erodido também é possível, ainda que em menor escala (Kookana et al., 1998).

Concentrações da ordem de 49000  $\mu\text{g}$  de ATZ  $\text{kg}^{-1}$  de solo já foram determinadas em solo erodido (Douglas et al., 1993).

Perdas por escoamento superficial e por lixiviação também podem ser significativas. Em áreas agrícolas, a contaminação pelo processo natural de drenagem é inevitável, sendo que em algumas áreas dos Estados Unidos foram detectadas concentrações acima de 1000  $\mu\text{g L}^{-1}$  (deNoyelles et al., 1982; Christopher & Bird, 1992; Davies et al., 1994). Locais onde o lençol freático é baixo são mais suscetíveis à contaminação com ATZ e particularmente em áreas de solo arenoso ou franco-arenoso (Loyd-Smith et al., 1999).

Observa-se que solos arenosos e argilosos sem estrutura fornecem rápido transporte para herbicidas até o lençol freático. Adicionalmente, os canais deixados pelas raízes constituem um outro caminho preferencial do fluxo, que somente aceleraria a transferência de um herbicida móvel da fração sólida do solo para a água (Stagnitti et al., 1998). Este mecanismo é acentuado se o solo for pobre em matéria orgânica, dado que os processos facilitadores da degradação são biológicos (Herwing et al., 2001). Já em solos com altos teores de matéria orgânica tem-se observado maior sorção da ATZ nos horizontes superficiais, reduzindo assim perdas para camadas mais inferiores do solo (Shelton et al., 1998). A concentração de ATZ nos lençóis freáticos e rios varia muito de local para local, dependendo do comportamento químico do herbicida no solo, do tipo de solo, da intensidade e da duração da chuva, da proximidade da chuva após a aplicação, das características do local de campo e das práticas de manejo de campo (Christopher & Bird, 1992; Douglas et al., 1993).

### **2.2.3 Interação com a matéria orgânica**

O processo de mineralização e a sorção são os principais fatores que controlam o destino final da ATZ no solo. O estudo de sorção é de grande importância para a compreensão da retenção deste composto pelos colóides do solo, os quais influenciam o processo de lixiviação, volatilização e mineralização, sendo também fundamental nas definições de doses a serem utilizadas (Bailey & White, 1970).

A matéria orgânica presente no solo influencia as suas propriedades físicas, químicas, e, portanto, afeta reações que ocorrem neste meio.

Propriedades físicas como aeração, agregação e capacidade de retenção de água são dependentes da quantidade e das características da matéria orgânica. Propriedades químicas como capacidade de troca de cátions (CTC), poder tampão do solo e pH também variam de acordo com a quantidade e com as características da matéria orgânica do solo (Sparks, 1995). Devido a sua alta reatividade, a matéria orgânica também apresenta importante papel na dinâmica de herbicidas no ambiente.

A contribuição da matéria orgânica do solo no processo de sorção da ATZ foi verificada por Barriuso et al. (1992), que obtiveram alta correlação entre a quantidade de herbicida ATZ sorvido com o teor de matéria orgânica em diferentes solos de região temperada. Em alguns solos de região tropical, esta correlação foi verificada também por Queiroz et al. (1997).

A contribuição da fração mineral na retenção da ATZ em solos é moderada quando comparada com o poder sorvente da matéria orgânica (Barriuso & Calvet, 1992; Laird et al., 1994; Queiroz et al., 1997; Gomes et al., 2002). No caso de minerais, a sorção de ATZ na superfície de esmectitas ocorre principalmente por pontes de hidrogênio e por interações hidrofóbicas em superfícies de baixa densidade de carga (Laird et al., 1992; Sawhney & Singh, 1997).

Solos agrícolas oxídicos, com baixo teor de matéria orgânica, não sorvem ATZ em quantidades suficientes para evitar a contaminação subsuperficial, onde a molécula não pode ser mineralizada (Albuquerque et al., 2001). Conseqüentemente os riscos à saúde pública pela contaminação do lençol freático tornam-se preocupantes.

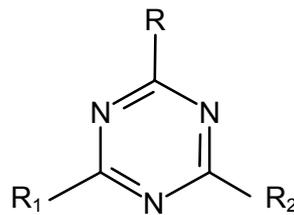
#### **2.2.4 Degradação**

Provavelmente, a baixa mineralização da ATZ está associada à grande estabilidade química e biológica do herbicida, conforme demonstram os resultados obtidos em solos de clima temperado (Kosbinen & Clay, 1997; Clark et al., 1999). A atividade microbiana mais elevada em áreas tropicais pode não ser tão efetiva no caso da ATZ, o que gera preocupação com o comportamento e o destino do herbicida em condições de solo e clima brasileiros.

A degradação microbiana pode ser bastante expressiva para a inativação da ATZ como herbicida, mas seus metabólitos podem persistir por

longo tempo no solo (Bollag & Liu, 1990; Aislabie & Lloyd-Jones, 1995). Quando ocorre a mineralização, a degradação é completa, levando à formação de CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O.

A ATZ pode degradar-se em um ou mais metabólitos, cada um variando em persistência e toxicidade. Os metabólitos mais comuns da ATZ são Hidroxiatrazina (HYA), dietilatrazina (DEA), deisopropilatrazina (DIA), didealquiltrazina (DDA) e dietilhidroxiatrazina (DEHA) (Figura 1).



Composto	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Atrazina	Cl	NHCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	NHCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
Dietilatrazina	Cl	NHCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>
Deisopropilatrazina	Cl	NH <sub>2</sub>	NHCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
Didealquiltrazina	Cl	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>
Hidroxiatrazina	OH	NHCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	NHCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
Dietilhidroxiatrazina	OH	NHCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>
Deisopropilhidroxiatrazina	OH	NH <sub>2</sub>	NHCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>

FIGURA 1. Estrutura química da ATZ e seus metabólitos (Graymore et al., 2001).

Os seguintes processos determinam o destino de degradação da ATZ no solo: hidrólise, sorção, volatilização, fotodegradação e degradação microbiana. DIA, DEA e DDA são formadas por biodegradação, enquanto HYA e DEHA podem ser formadas também por reações químicas abióticas. O pH do solo e o teor de matéria orgânica afetam a hidrólise. Solos com alto pH apresentam número reduzido de sítios nos quais as moléculas do herbicida podem ser sorvidas. Deste modo, as moléculas do herbicida podem ser livremente dispersas na água do solo e sofrerem hidrólise, que pode ser catalisada pelos ácidos húmicos e fúlvicos presentes no solo (Adams &

Thurman, 1991). A degradação microbiana é dependente da quantidade de matéria orgânica disponível no solo e constitui um processo de decomposição adicional à hidrólise, embora grande parte das reações de dealquilação seja causada pela ação de fungos ou bactérias (Kaufman & Kearney, 1970; Adams & Thurman, 1991; Mougín et al., 1994; Nagy et al., 1995).

DEA e DIA são fitotóxicas, sendo que a DEA é considerada quase tão tóxica como a ATZ (Winkelmann & Klaine, 1991). Estudos com microrganismos fotossintetizantes mostraram que a remoção do grupo propil da ATZ resulta em derivados com toxicidade 3,5 vezes menor do que removendo o grupo etil (Kotrikla et al., 1997). A ATZ ao perder o grupo etil se transforma em DEA pela degradação microbiana (Kaufman & Kearney, 1970; Winkelmann & Klaine, 1991), enquanto HYA é um produto da hidrólise resultando da degradação físico-química catalisada por sorção de ATZ na matéria orgânica (Armstrong et al., 1967; Armstrong & Chesters, 1968).

A toxidez da DEA é similar a da ATZ para animais e humanos, e tem sido frequentemente detectada na água do solo em concentrações entre 0,01 e 1  $\mu\text{g L}^{-1}$  (Brouwer et al., 1990; Kruger et al., 1993). Mills & Thurman (1994) constataram que a DEA é o principal produto de degradação da ATZ.

HYA é um metabólito não tóxico da ATZ e altas quantidades desse resíduo podem ser sorvidas nas superfícies sólidas do solo (Schiavon, 1988a, b; Brouwer et al., 1990; Pionke & Glotfelty, 1990; Mills & Thurman, 1994). DDA e HYA são considerados produtos de degradação não fitotóxicos, uma vez que HYA é absorvida menos prontamente pelas plantas do que a ATZ (Jones & Winchell, 1984), enquanto que o conhecimento a respeito da DEHA ainda é escasso.

Algumas evidências toxicológicas indicam que somente os metabólitos clorados DEA, DIA e DDA, em adição à ATZ, apresentam risco à saúde humana (Winkelmann & Klaine, 1991). Estudos de laboratório têm demonstrado que DEA é mais móvel do que ATZ. O destino destes compostos no solo pode ser afetado por muitos fatores, incluindo características físicas, químicas e mineralógicas do solo, umidade e temperatura.

Enquanto que os efeitos tóxicos da ATZ são relativamente mais pesquisados, conhecimento a respeito dos efeitos de muitos de seus metabólitos, particularmente no ambiente aquático, é ainda incipiente.

### 2.3 Atividade microbiana do solo

A atividade microbiana é reconhecida como um dos fatores mais importantes na eliminação dos produtos químicos do ambiente. A função dos microrganismos na transformação de pesticidas tem sido demonstrada em trabalhos de laboratório, comparando as taxas de degradação em solos ativos e em solos esterilizados (Lichtenstein & Schultz, 1964). O isolamento de microrganismos degradadores de pesticidas tem sido usado como evidência da ação microbiana (Racke, 1990). Outra evidência ainda é que as condições do ambiente que influenciam a atividade microbiana, tais como temperatura, umidade, pH, afetam também a degradação dos pesticidas no solo (Chapman et al., 1986).

Um método comumente utilizado, que demonstra que a biomassa microbiana influi na degradação dos produtos no solo, utiliza a adição de nutrientes em solos tratados com o pesticida. O método tem sido utilizado para acelerar a degradação tanto de pesticidas prontamente degradáveis como os mais persistentes. A razão de se adicionar resíduos de origem vegetal como nutrientes foi baseada na hipótese de que o aumento da relação carbono/nitrogênio (C:N) no solo poderia estimular a atividade microbiana e que a depleção de N no solo pode induzir o ataque microbiano a fontes menos disponíveis de N, como de alguns pesticidas. Entretanto, foi demonstrado que a degradação mais rápida de compostos na presença de restos de materiais vegetais está relacionada com a atividade microbiana (Felsot & Dzantor, 1990). A atividade microbiana é maior quando se acrescenta ao solo resíduos vegetais do que quando somente se adicionam nutrientes, como por exemplo, glicose (Anderson, 1984). A adição de resíduo vegetal demonstra também que a degradação pode ocorrer por cometabolismo. Em outras palavras, a energia derivada de outros nutrientes adicionados leva ao metabolismo de pesticidas, do qual pouca ou nenhuma energia pode ser ganha (Horvath, 1972; Anderson, 1984).

Os métodos de preparo de solo provocam diferentes modificações nos fatores ambientais em função da forma como os resíduos das culturas anteriores são depositados e do grau de revolvimento do solo (Vargas & Scholles, 2000). Com o preparo convencional, o solo é revolvido intensamente e os resíduos vegetais são incorporados, enquanto que, com o plantio direto,

os resíduos são mantidos na superfície e o revolvimento limita-se à linha de semeadura (Dick, 1984; Diekow, 2000). A manutenção dos resíduos culturais na superfície atua no regime térmico do solo e diminui as taxas de evaporação, conservando a umidade do solo (Bragagnolo & Mielniczuk, 1990). Com isso, o sistema plantio direto apresenta menor temperatura, menor amplitude térmica e maior umidade (Salton & Mielniczuk, 1995). Estas características são benéficas para a comunidade microbiana como um todo. Por outro lado, a maior umidade do solo, associada ao aumento da densidade devido à ausência de revolvimento do solo, resultam em menor aeração no sistema plantio direto (Whalley et al., 1995; Calderón et al., 2001). Entre outras conseqüências, a menor aeração do solo pode limitar a atividade microbiana, diminuindo a oxidação de compostos orgânicos (Doran, 1980). Este é um dos fatores pelos quais pode ocorrer um aumento nos teores de matéria orgânica no solo sob sistema plantio direto. Os outros fatores seriam as menores perdas de solo por erosão e a proteção física da matéria orgânica no interior dos agregados. No sistema plantio direto, também se verifica um aumento nos teores de nutrientes, especialmente de N (Dick, 1984). O aumento nos teores de matéria orgânica e de nutrientes, no entanto, é restrito às camadas superficiais do solo. Abaixo de 7,5 cm, aproximadamente, estes teores passam a ser iguais ou menores do que os do sistema convencional (Doran, 1980). Há, portanto, uma distribuição diferenciada da matéria orgânica e dos nutrientes ao longo do perfil do solo no sistema plantio direto. Já o sistema convencional caracteriza-se por uma distribuição mais uniforme da matéria orgânica e dos nutrientes no perfil, devida à inversão da camada superficial e à incorporação dos resíduos durante a aração (Alvarez et al., 1995).

Além da umidade do solo, também a ocorrência de temperaturas elevadas no solo sob sistema convencional, em contraste com temperaturas menores no plantio direto, pode explicar as diferenças na biomassa e na atividade microbiana (Cattelan & Vidor, 1990; Garcia & Rice, 1994).

Dentre todos os fatores ambientais mencionados anteriormente, a disponibilidade de carbono tem sido considerada o fator mais limitante para o crescimento e a atividade microbiaba no solo (Wheatley et al., 1990). As fontes de C orgânico em sistemas agrícolas são a matéria orgânica do solo, os resíduos adicionados ao solo e os exsudatos radiculares. Além da distribuição

da matéria orgânica e dos resíduos ao longo do perfil, os métodos de preparo de solo diferem quanto à possibilidade de acesso a estes substratos pela microbiota e, por conseqüência, influenciam a sua taxa de mineralização. O revolvimento do solo promove a ruptura dos agregados, expondo substratos orgânicos que de outra forma não estariam disponíveis para a microbiota (Salinas-Garcia et al., 1997; Kristensen et al., 2000). Isto pode resultar em um estímulo temporário à microbiota, que aumentaria a sua atividade respiratória (Silva Filho & Vidor, 1984). Tem sido observado um aumento da liberação de CO<sub>2</sub> no preparo do solo, o qual é atribuído à degradação da matéria orgânica, mais do que à degradação de resíduos vegetais (Reicosky et al., 1995). Por outro lado, o revolvimento intenso do solo em condições degradadas pode reduzir as populações microbianas e conseqüentemente a atividade respiratória (Kristensen et al., 2000; Calderón et al., 2001). Em áreas de vegetação nativa, a ausência de revolvimento do solo, tende a favorecer as populações fúngicas (Bandick & Dick, 1999), que constituem, em termos proporcionais, a maior parte da biomassa microbiana do solo. Após o preparo do solo, a maior disponibilidade de carbono de rápida metabolização pode estimular mais intensamente a população microbiana do que a fúngica (Calderón et al., 2001).

A conservação de umidade no solo também pode ser responsável por diferenças na estrutura das comunidades microbianas em solos sob diferentes sistemas de preparo. A população bacteriana é mais afetada por baixos níveis de umidade no solo. A atividade bacteriana declina rapidamente à medida que o potencial de água cai, sendo insignificante a 15 MPa. A extensão de hifas prossegue em potenciais de água mais baixos, permitindo aos fungos manterem sua atividade (Orchard & Cook, 1983).

Modificações na estrutura da comunidade microbiana, especialmente na proporção de fungos e de bactérias, podem influenciar a dinâmica e a disponibilidade de nutrientes no solo (Frey et al., 1999). Tais alterações podem ser avaliadas por diversos métodos, baseados em diferentes princípios, tais como os métodos fisiológicos, os métodos culturais, os métodos baseados em contagem direta, os que estimam constituintes da biomassa, ou por meio de técnicas moleculares.

A densidade da comunidade microbiana é um termo usado para avaliar quantitativamente a presença dos microrganismos, revelando o número deles em uma unidade definida (peso, volume) de solo (Pelczar et al., 1981). As técnicas mais freqüentemente usadas são baseadas na diluição de suspensão do solo, e entre elas, a contagem pela diluição em placa.

De acordo com Wardle (1994), as técnicas de isolamento e de cultivo permitem demonstrar indiretamente a presença de microrganismos no solo. Inoculando-se meios de cultura com uma suspensão de solo pode-se observar, após incubação, o crescimento de microrganismos. A disponibilidade dos vários meios usados na microbiologia é grande e a escolha depende do interesse do pesquisador. A aplicação dos meios seletivos permite revelar a presença no solo de microrganismos com características fisiológicas determinadas.

Os métodos culturais são os mais utilizados para o isolamento de microrganismos do solo e para determinação de células viáveis. Estes métodos vêm sendo utilizados para estimar a abundância de fungos, bactérias (Doran, 1980), actinomicetos, solubilizadores de fosfato (Silva Filho & Vidor, 1984) e celulolíticos (Cattelan & Vidor, 1990). Entretanto, as contagens de unidades formadoras de colônias, com o objetivo de avaliar a biomassa, produzem resultados subestimados. Algumas células podem permanecer aderidas às partículas de solo, outras podem morrer durante as diluições, outras podem ficar aderidas às paredes da vidraria ou podem simplesmente não se desenvolver no meio de cultura (Parkinson et al., 1971). Esta última parece ser a maior limitação dos métodos culturais. Estima-se que, no máximo, 1% dos organismos presentes no solo é cultivável (Torsvik et al., 1996). A maioria da comunidade microbiana, portanto, não é mensurada por métodos culturais. A medida da proporção de fungos e de bactérias presentes no solo por tais métodos somente seria válida se esta fosse a mesma entre os organismos cultiváveis e os não-cultiváveis, o que seria pouco provável.

Vários métodos estão disponíveis para esterilizar o solo ou inibir a atividade microbiana. Através da esterilização, procura-se eliminar completamente todos os organismos vivos, incluindo esporos. Pela desinfestação, todos os organismos em estado vegetativo são eliminados o que não inclui, necessariamente, os esporos.

O método mais comumente utilizado para esterilizar o solo tem sido a autoclavagem, com calor úmido. Métodos que utilizam irradiação gama, irradiação de microondas e compostos gasosos (óxido de etileno, óxido de propileno, brometo de metila) são considerados como menos efetivos que o método de autoclavagem (Wolf & Skipper, 1994).

Vários autores têm observado que a autoclavagem pode afetar as propriedades químicas e físicas do solo, tais como aumento na extractibilidade de Mn (Martin et al., 1973; Skipper & Westermann, 1973; Lopes & Wollum, 1976; Wolf et al., 1989), de N, P, S e de matéria orgânica (Eno & Popenoe, 1964), de nitrogênio mineral ( $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$ ) (Lopes & Wollum, 1976), de aminoácidos solúveis em água e de carboidratos (Skipper & Westermann, 1973; Ferriss, 1984). A capacidade de troca de cátions, a área superficial específica, pH (Wolf et al., 1989), teores extraíveis de Ca, Mg e K (Ferriss, 1984) não são influenciados pela autoclavagem. De acordo com Ferriss (1984) ocorre diminuição na extractibilidade de Al e Fe trocáveis.

O clorofórmio é um dos reagentes mais utilizados para reduzir a população microbiana do solo, entretanto, esse reagente não é eficiente como biocida para alguns microrganismos (Jenkinson & Powlson, 1976; Kassin et al., 1981), além de difícil obtenção comercial. Deste modo, torna-se necessário um método que seja mais adequado aos recursos existentes nos laboratórios de microbiologia. Destaca-se, neste caso, o uso do forno de microondas como uma alternativa para a substituição do clorofórmio na eliminação dos microrganismos do solo.

A atuação do forno de microondas na eliminação de microrganismos é o resultado da quantidade de irradiação eletromagnética a ser administrada, visto que os níveis têm efeito na transferência de energia e na temperatura, rompendo a parede celular e, conseqüentemente, liberando o material citoplasmático para a solução do solo. Em termos de sensibilidade, a população de fungos, em razão da sua constituição e do tamanho das hifas, é mais exposta e, com isto, mais afetada pelas microondas do que a população de bactérias (Vance et al., 1987). Neste caso, é necessária a quantificação da energia atuante sobre a biomassa ou, especificamente, sobre os grupos microbianos. Além da quantidade de energia irradiada, deve ser considerado o tempo de exposição das amostras à radiação, pois este pode afetar o material

orgânico não proveniente dos microrganismos e, com isto, levar a uma superestimativa dos valores de biomassa microbiana (Zagal, 1989; Puri & Barraclough, 1993).

Monz et al. (1991) demonstraram que o tempo de irradiação de 2 min ( $6,8 \cdot 10^4$  J) não provocou a destruição da matéria orgânica do solo. Hendricks & Pascoe (1988) recomendaram aplicações em um tempo inferior a 5 min, e em energia inferior a  $2,1 \cdot 10^5$  J para que não ocorram possíveis quebras das ligações orgânicas do solo. Segundo Roberts & Caserio (1965), devem ser utilizados níveis próximos da faixa de  $3,04 \cdot 10^5$  J para eliminação mais eficiente das populações bacterianas do solo, uma vez que as bactérias têm importante contribuição no equilíbrio dinâmico dos nutrientes do solo e contribuem com 20 a 30% da biomassa microbiana (Alexander, 1977).

A maioria dos procedimentos de esterilização resulta em algum grau de alteração das propriedades químicas ou físicas do solo. O pesquisador deve determinar qual método resulta em menores mudanças na maioria das propriedades de interesse e como estas mudanças podem interferir nos resultados da pesquisa específica.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Caracterização dos solos

Os Argissolos ocorrem em relevos suave ondulado até fortemente ondulado ocupando, em termos percentuais, a maior parte territorial do Rio Grande do Sul. São solos geralmente profundos a muito profundos e bem drenados (Streck et al., 2002). São solos de baixa fertilidade natural, forte acidez e apresentam um horizonte subsuperficial mais argiloso no perfil (Tabela 2).

O Argissolo Vermelho Distrófico típico (PV) desenvolvido a partir de uma rocha magmática (granito) foi coletado na Estação Experimental da Faculdade de Agronomia da UFRGS, no município de Eldorado do Sul, RS. As condições climáticas da região são: temperatura média anual de 18°C e precipitação média de 1310 mm ano<sup>-1</sup> (FEPAGRO, 1990).

TABELA 2. Principais características químicas e mineralógicas dos solos estudados (Almeida, 2003).

Solo	Camada de solo (cm)	C <sub>T</sub> (g kg <sup>-1</sup> )	pH H <sub>2</sub> O	Areia (g kg <sup>-1</sup> )	Silte (g kg <sup>-1</sup> )	Argila (g kg <sup>-1</sup> )
PV	0-20	19,3	4,7	484	280	236
	50-60	16,8	4,7	389	193	418
VE	0-30	33,2	5,1	37	573	390
	30-45	25,4	5,5	18	554	428

Os Vertissolos são encontrados em áreas planas a suavemente onduladas e apresentam perfis pouco profundos. São solos imperfeitamente ou mal drenados. Esses solos contêm argilominerais expansivos (esmetitas) em quantidade suficiente para produzir mudanças significativas de volume com a variação do teor de umidade: expandem quando úmidos e contraem quando

secos. São extremamente duros quando secos e muito plásticos e pegajosos quando úmidos (Streck et al., 2002). São solos de elevada fertilidade natural, com pH ligeiramente ácido (Tabela 2).

O Vertissolo Ebânico Órtico chernossólico (VE) desenvolvido de rochas sedimentares (folhelhos argilosos e siltosos) foi coletado no município de Bagé, RS. O solo VE está sujeito à temperatura média anual de 17°C e precipitação média de 1264 mm ano<sup>-1</sup> (FEPAGRO, 1990).

### **3.2. Coleta e preparo das amostras de solo**

Foram feitas amostragens em campo nativo nas profundidades de 0-20 cm e de 50-60 cm para o PV, e de 0-30 cm e de 30-45 cm para o VE. Todas as amostras foram coletadas em locais de campo nativo com o objetivo de evitar a influência dos diferentes manejos de solo. Após secagem ao ar, as amostras foram moídas e passadas em peneira de 4 mm. As amostras foram estocadas a temperatura ambiente em recipientes plásticos, para posteriores determinações.

### **3.3. Herbicida utilizado**

O herbicida ATZ na forma comercial contendo 500 g L<sup>-1</sup> de princípio ativo (Gesaprim 500 Ciba Geigy) foi diluído em água destilada até atingir as doses propostas em cada estudo. A aplicação nas amostras de solo (750 g) foi feita por borrifamento (0,6 mL), sendo o solo vigorosamente revolvido com espátula após aplicação, de forma a permitir melhor homogeneização.

### **3.4. Tratamentos**

#### **3.4.1. Variação dos teores de umidade do solo**

Para a avaliação do efeito da umidade do solo sobre a atividade microbiana foram utilizadas amostras da camada de 0-20 cm do solo PV não tratado. As amostras de solo foram secas ao ar até atingir 20% de umidade da capacidade de água disponível do solo (CAD) e após foi acrescentada água, por borrifamento, até atingir-se os teores de 40%, 65% e 85% da CAD. A CAD foi determinada em amostras de solo (500 g) acondicionadas em colunas de PVC (26 cm altura e 4,7 cm de diâmetro) às quais foi adicionada água

destilada, até a saturação do solo. Após um período de 48 h foi determinada a umidade do solo conforme Tedesco et al., 1995.

Aproximadamente 2 horas após a correção da umidade, foi feita a aplicação de 3,0 mg de princípio ativo  $\text{kg}^{-1}$  de solo (0,6 mL de ATZ 3,75  $\text{g L}^{-1}$ ). Esta concentração corresponde à dose mínima recomendada pelo fabricante para aplicações a campo, que é de 1,5 kg de princípio ativo  $\text{ha}^{-1}$  de solo, diluídos em 400 L de água.

O experimento foi conduzido em triplicata para cada tratamento (amostras com diferentes teores de umidade na presença de herbicida), assim como para as respectivas testemunhas (amostras com diferentes teores de umidade na ausência de herbicida). A atividade microbiana foi monitorada pela evolução de  $\text{CO}_2$  (descrito no item 3.5.1), num período de 63 dias.

#### **3.4.2. Variação das doses do herbicida ATZ**

Para a avaliação do efeito das doses do herbicida ATZ sobre a atividade microbiana e a taxa de degradação do herbicida ATZ foram colocadas, em frascos respirométricos de 1,5 litros, 750 g de amostra de solo da camada de 0-20 cm do solo PV não tratado. A umidade das amostras de solo foi regulada por borrifamento para aproximadamente 75% da CAD (faixa de umidade ótima para o desenvolvimento dos microrganismos, conforme o dado obtido no estudo 3.4.1 referente à avaliação da umidade).

Aproximadamente 2 horas após a correção da umidade, foram feitas aplicações de 3,0 mg (1x dose), 6,0 mg (2x dose), 12,0 mg (4x dose), 21,0 mg (7x dose) e 30,0 mg (10x dose) de princípio ativo  $\text{kg}^{-1}$  de solo. Para aplicar as respectivas quantidades de princípio ativo  $\text{kg}^{-1}$  de solo foram borrifados 0,6 mL de ATZ nas respectivas concentrações 3,75  $\text{g L}^{-1}$ , 7,5  $\text{g L}^{-1}$ , 15,0  $\text{g L}^{-1}$ , 26,25  $\text{g L}^{-1}$  e 37,5  $\text{g L}^{-1}$ .

O experimento foi conduzido em triplicata para cada tratamento (variação de doses de herbicida), assim como para a respectiva testemunha (ausência de herbicida). Neste estudo foram monitoradas a atividade microbiana pela evolução de  $\text{CO}_2$  (descrito no item 3.5.1) e a quantidade dessorvida do herbicida ATZ (descrito no item 3.5.2), num período de 63 dias. Todas as avaliações foram feitas concomitantemente para todas as doses de

herbicida aplicadas, de modo a evitar que possíveis diferenças ocorridas nos resultados pudessem ser atribuídas a algum procedimento experimental diferenciado.

### **3.4.3. Teste de métodos de desinfestação de solo**

Foram utilizados quatro métodos de desinfestação de solo (fumigação, tindalização, autoclavagem e irradiação em forno de microondas) a fim de verificar-se a eficiência dos mesmos em minimizar a atividade da população microbiana. O processo de escolha do melhor método de desinfestação dos solos foi realizado tanto para o solo PV (camada de 0-20 cm) como para o VE (camada de 0-30 cm). A desinfestação do solo foi feita diretamente nos frascos que receberam aplicação posterior do herbicida (0,2 mL de ATZ 37,5 g L<sup>-1</sup> em 190 g de solo), a fim de evitar possíveis contaminações na transferência das amostras. Todas as manipulações subseqüentes destas amostras foram feitas assepticamente, em câmara de fluxo e todo o material foi desinfetado com álcool comercial 70% (v/v).

Imediatamente após a desinfestação foi feita a avaliação da eficiência dos métodos pela contagem da população microbiana em alíquotas de 10 g de solo pelo método de diluições sucessivas e inoculação em placas de Petry (descritos no item 3.5.3). A quantidade de sorvida do herbicida das amostras de solo não tratado e desinfestado, após 24 horas de aplicação, foi quantificada por cromatografia gasosa (descrito no item 3.5.2).

A seguir são descritos os procedimentos utilizados para cada desinfestação testada.

#### **3.4.3.1 Método de fumigação**

Foi utilizado o procedimento de fumigação descrito por Jenkinson & Powlson (1976). Dois frascos de vidro de 400 mL contendo cada um 200 g de amostra de solo úmido (75% da CAD) foram colocados em um dessecador de 30 cm de diâmetro com as paredes forradas com papel absorvente opaco úmido, contendo um copo de bécker de 150 mL com 50 mL de clorofórmio (CHCl<sub>3</sub>) e esferas de vidro. Com o auxílio de uma bomba de vácuo, foi produzido vácuo no interior do dessecador até que o clorofórmio borbulhasse. As amostras foram mantidas no dessecador por 24 horas à temperatura

ambiente. Ao final deste período, o sistema foi submetido seis vezes consecutivas à pressão reduzida, de modo a eliminar o vapor do fumigante. Os recipientes contendo as amostras de solo foram então retirados do dessecador para serem feitas as avaliações necessárias.

#### **3.4.3.2 Método de tindalização**

Dois copos de vidro de 400 mL contendo cada um 200 g de amostra de solo úmido (75% da CAD) foram colocados em autoclave a 105°C (com válvula de vapor aberta) por 20 minutos. Este procedimento foi realizado durante três dias consecutivos. Os recipientes contendo as amostras de solo foram então retirados da autoclave para serem feitas as avaliações necessárias.

#### **3.4.3.3 Autoclavagem**

Dois copos de vidro de 400 mL contendo cada um 200 g de amostra de solo úmido (75% da CAD) foram colocados em autoclave a 121°C, com pressão de 1 atm, por 30 minutos. Em seguida os recipientes contendo as amostras de solo foram retirados da autoclave para serem feitas as avaliações necessárias.

#### **3.4.3.4 Irradiação em forno de microondas**

Foi utilizado o procedimento de irradiação em forno de microondas descrito por Ferreira et al. (1999). Dois copos de vidro de 400 mL contendo cada um 200 g de amostra de solo úmido (75% CAD) foram colocados em forno de microondas com frequência de 2450 MHz e concentração de energia de 1,35 KW em um tempo de 2 minutos. Os recipientes contendo as amostras de solo foram retirados do forno de microondas para serem feitas as avaliações necessárias.

#### **3.4.4. Variação dos teores de matéria orgânica em duas classes de solos**

Para a avaliação do efeito do teor de matéria orgânica sobre a atividade microbiana e na taxa de degradação do herbicida ATZ em duas classes de solos, foram colocadas, em frascos respirométricos de 1,5 litros,

750 g de amostras de solo com umidade de 75% da CAD. Foram utilizadas amostras de solo das camadas de 0-20 cm e de 50-60 cm do PV e de 0-30 cm e de 30-45 cm do VE, ambos não tratado e desinfestado por irradiação em forno de microondas (método escolhido em função do resultado do estudo 3.4.3).

As amostras com 750 g de solo foram submetidas à irradiação em forno de microondas diretamente nos frascos respirométricos, a fim de evitarem-se possíveis contaminações na transferência das amostras. Todas as manipulações subseqüentes destas amostras foram feitas assepticamente, em câmara de fluxo e todo o material desinfestado com álcool comercial 70% (v/v).

A umidade destas amostras foi novamente regulada para 75% da CAD, mediante a adição de água esterilizada. Aproximadamente 2 horas após a correção da umidade foi feita a aplicação de 30 mg (10x dose) de princípio ativo  $\text{kg}^{-1}$  de solo (dose que permitiu a maior taxa de degradação no estudo 3.4.2). Para aplicar a respectiva quantidade de princípio ativo  $\text{kg}^{-1}$  de solo foram borrifados 0,6 mL de ATZ 37,5 g  $\text{L}^{-1}$ .

As amostras foram protegidas da ação da luz, sendo os frascos cobertos por papel alumínio, durante todo o experimento. O experimento foi conduzido em triplicata para cada tratamento (diferentes camadas das duas classes de solo na presença de herbicida), assim como para as respectivas testemunhas (diferentes camadas das duas classes de solo na ausência de herbicida).

Neste estudo foram monitorados a atividade microbiana pela evolução de  $\text{CO}_2$  (descrito no item 3.5.1), num período de 77 dias e o pH dos solos (descrito no item 3.5.4) num período de 64 dias, em todos os tratamentos e testemunhas. Cada tratamento foi monitorado, num período de 64 dias, em relação à quantidade de herbicida desorvida em função do tempo (descrito no item 3.5.3) e a ocorrência do metabólito hidroxiatrazina (HYA) por espectrofotometria da região UV/Visível (descrito no item 3.5.5). Para uniformizar as condições operacionais, todas as avaliações foram feitas concomitantemente para os dois solos.

### 3.5. Avaliações

#### 3.5.1. Avaliação da atividade microbiana

Para a avaliação da atividade microbiana, foi utilizado o procedimento de incubação descrito por Jenkinson & Powlson (1976). Foram utilizados frascos respirométricos de 1,5 litros, nos quais foram colocados 750 g de solo para cada tratamento e suas respectivas testemunhas. No interior de cada frasco foi colocado um copo plástico contendo 20 mL de solução de NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup> para absorver o CO<sub>2</sub> evoluído. Em seguida o frasco foi hermeticamente fechado. Periodicamente, durante 77 dias, os recipientes contendo NaOH foram retirados, adicionando-se 1 mL de BaCl<sub>2</sub> 15% (m/v) e algumas gotas de fenolftaleína para titulação com solução de HCl 0,5 mol L<sup>-1</sup>. Paralelamente aos tratamentos foi feita a prova em branco, que consistiu em um frasco sem amostra de solo. A prova em branco e todos os tratamentos e testemunhas foram feitos em triplicata.

A liberação de CO<sub>2</sub> foi calculada pela fórmula (Stotzky, 1965):

$$\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ de solo} = \frac{(B - V) \cdot M \cdot E}{m}$$

em que B = volume (mL) de HCl necessário para titular o excedente de NaOH da prova em branco; V = volume (mL) de HCl necessário para titular o excedente de NaOH da amostra; M = molaridade (mol L<sup>-1</sup>) do HCl; E = peso equivalente (g mol<sup>-1</sup>) do CO<sub>2</sub>; m = massa, (kg) de solo utilizada.

#### 3.5.2. Avaliação da taxa de degradação do herbicida ATZ

##### 3.5.2.1. Dessorção do herbicida ATZ

Imediatamente antes da avaliação o solo foi revolvido com espátula para permitir uma perfeita homogeneização do mesmo e em seguida foi retirada uma amostra de 50 g de solo. A esta amostra, colocada em frasco de polietileno com tampa, foram adicionados 100 mL de metanol grau HPLC (Omnisolv), agitando-se em agitador horizontal durante 24 horas.

Após a agitação, a suspensão foi centrifugada (15 min a 3000 rpm) e o sobrenadante acondicionado em frascos escuros, sob refrigeração. A filtração, realizada em papel de filtro qualitativo, e a concentração das amostras a 10 mL em rotaevaporador a 60°C foram feitas posteriormente, conforme disponibilidade de aparelhos e tempo. Após concentração, os extratos foram

novamente acondicionados em frascos escuros e sob refrigeração a 4°C, até análise cromatográfica.

A primeira dessorção foi feita 24h após a aplicação do herbicida e as demais em intervalos de 7 a 15 dias, até que não fosse mais possível detectar ATZ no extrato, pelos os equipamentos utilizados.

### **3.5.2.2. Quantificação do herbicida ATZ no extrato**

O extrato concentrado obtido na dessorção foi centrifugado (3000 rpm, 10 min) para separar a matéria orgânica leve co-extraída com metanol grau HPLC e em seguida filtrado com filtros de nylon Supelco de 0,22 µm de diâmetro. A ATZ na amostra filtrada foi então quantificada por cromatografia gasosa.

No estudo 3.4.2 (doses) foi utilizado um cromatógrafo Shimadzu GC-17A e nos estudos 3.4.3 (métodos de desinfestação) e 3.4.4 (variação dos teores de matéria orgânica) utilizou-se um cromatógrafo Varian 3400, disponíveis no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

O cromatógrafo Shimadzu GC-17A permitiu um limite de detecção de 1,5 mg de ATZ kg<sup>-1</sup> de solo e o cromatógrafo Varian 3400 de 3,6 mg de ATZ kg<sup>-1</sup> de solo, considerando-se as condições experimentais empregadas.

As condições utilizadas no cromatógrafo Shimadzu GC-17A, foram as seguintes: temperatura da coluna: 160° C (10 min), 8° C min<sup>-1</sup> – 300° C; temperatura do injetor: 250° C; temperatura do detector: 300° C; gás de arraste: hidrogênio numa velocidade linear de 40 cm s<sup>-1</sup> e razão de split de 1:30; volume injetado: 1 µL, com calibração externa.

As condições utilizadas no cromatógrafo Varian 3400, foram as seguintes: temperatura da coluna: 70° C (1 min), 15° C min<sup>-1</sup> – 160° C, 2° C min<sup>-1</sup> – 170° C, 10° C min<sup>-1</sup> – 250° C; temperatura do injetor: 250° C; temperatura do detector: 250° C; gás de arraste: hidrogênio numa velocidade linear de 10 cm s<sup>-1</sup> e razão de split de 1:30; volume injetado: 1 µL, com calibração externa.

Os dois cromatógrafos estavam equipados com detector de ionização de chama (FID) e coluna DB 5 (5% dimetil-fenil-polisiloxana), 30 m x 0,32 mm x 0,25  $\mu$ m.

As quantidades do herbicida foram determinadas pela comparação das áreas dos picos das amostras com uma curva de calibração com  $r > 0,99$ . A curva de calibração foi preparada com ATZ comercial diluída em metanol grau HPLC e acondicionada em frascos escuros e sob refrigeração. Diariamente, para cada quantificação de ATZ nos extratos concentrados, injetavam-se alguns pontos da curva para verificar a calibração do aparelho.

### **3.5.3. Avaliação da eficiência dos métodos de desinfestação de solo**

Para avaliar a eficiência dos métodos de desinfestação foi feita a contagem da população microbiana do solo pelo método de diluições sucessivas e inoculação em placas de Petry, incubados a 28°C em estufa de culturas, durante uma semana.

Foram utilizados os meios de cultura de Thorntom para bactérias e de Martin para fungos.

Para a contagem da população microbiana utilizou-se a diluição  $10^{-3}$  para fungos e  $10^{-5}$  para bactérias. A contagem da população microbiana foi expressa em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) em uma dada massa de solo.

$$\text{UFC g}^{-1} \text{ solo} = \frac{\text{N. FDI. FDA}}{m}$$

em que N = número de colônias na placa; FDI = fator de diluição do inóculo; FDA = fator de diluição da amostra de solo utilizada; m = massa (g) de solo seco utilizada.

### **3.5.4. Determinação do pH do solo**

O pH das amostras de solos PV e VE foi medido em H<sub>2</sub>O deionizada usando-se uma relação solo:solução 1:2,5 (EMBRAPA, 1997). Foram feitas medidas de pH num intervalo de 15 dias aproximadamente.

### **3.5.5. Espectrofotometria na região do UV/Visível**

Os extratos concentrados obtidos do tratamento 3.4.4 (aplicação de ATZ em diferentes camadas dos solos PV e VE) foram diluídos 20x em metanol grau HPLC (Omnisolv) para posterior análise espectrofotométrica no aparelho Shimadzu UV-160A , disponível no Instituto de Química da UFRGS.

Foram utilizadas uma amostra da curva de calibração de ATZ e uma amostra de HYA sintetizada em laboratório (Gomes, n.p.) para fins de identificação do comprimento de onda onde ocorreria a absorvância máxima deste composto ( $\lambda_{max}$ ). Conhecendo o  $\lambda_{max}$  para ATZ (220 nm) e tendo-se determinado o  $\lambda_{max}$  para HYA (234 nm), foi feita a análise dos extratos obtidos no primeiro dia e aos 64 dias após a aplicação do herbicida.

### **3.6. Tratamento dos resultados**

#### **3.6.1. Cálculo do percentual de ATZ dessorvida ( $ATZ_{DS}$ )**

O percentual de  $ATZ_{DS}(\%)$  foi calculado pela razão entre a maior quantidade dessorvida ( $ATZ_{DM}$ ) e o total aplicado ( $ATZ_{TA}$ ) , multiplicado por 100:

$$ATZ_{DS}(\%) = (ATZ_{DM}) / (ATZ_{TA}) \times 100$$

#### **3.6.2. Cálculo do percentual de ATZ degradada a partir do maior percentual dessorvido ( $ATZ_{DG/DS}$ )**

O percentual de  $ATZ_{DG/DS}(\%)$  foi calculado pela razão da diferença entre a maior quantidade dessorvida ( $ATZ_{DM}$ ) e a quantidade recuperada no final do experimento ( $ATZ_T$ ) e a maior quantidade dessorvida ( $ATZ_{DM}$ ), multiplicado por 100:

$$ATZ_{DG/DS}(\%) = (ATZ_{DM} - ATZ_T) / (ATZ_{DM}) \times 100$$

#### **3.6.3. Cálculo do percentual de ATZ degradada a partir do total aplicado ( $ATZ_{DG/TA}$ )**

O percentual de  $ATZ_{DG/TA}(\%)$  foi calculado pela razão da diferença entre a maior a quantidade dessorvida ( $ATZ_{DM}$ ) e a quantidade recuperada no final do experimento ( $ATZ_T$ ) e o total aplicado ( $ATZ_{TA}$ ) , multiplicado por 100:

$$ATZ_{DG/TA}(\%) = (ATZ_{DM} - ATZ_T) / ATZ_{TA} \times 100$$

### **3.6.4. Cálculo do percentual de ATZ lábil ao final do experimento a partir do total aplicado ( $ATZ_{RE/LA}$ )**

O percentual de  $ATZ_{RE/LA}(\%)$  foi calculado pela razão entre a quantidade de ATZ recuperada no final do experimento ( $ATZ_T$ ) e o total aplicado ( $ATZ_{TA}$ ), multiplicado por 100:

$$ATZ_{RE/LA}(\%) = ATZ_T / ATZ_{TA} \times 100$$

### **3.6.5. Cálculo do percentual de ATZ ligada ao solo ( $ATZ_{RE/RL}$ )**

O percentual de  $ATZ_{RE/RL}(\%)$  foi calculado pela razão da diferença entre o total aplicado ( $ATZ_{TA}$ ) e a maior a quantidade de ATZ desorvida ( $ATZ_{DM}$ ) e o total aplicado ( $ATZ_{TA}$ ), multiplicado por 100.

$$ATZ_{RE/RL}(\%) = (ATZ_{TA} - ATZ_{DM}) / ATZ_{TA} \times 100$$

### **3.6.6 Cálculo da meia-vida ( $t_{1/2}$ )**

A  $t_{1/2}$  da ATZ foi calculada pela razão entre a maior quantidade de ATZ desorvida ( $ATZ_{DM}$ ), obtida do valor “a” da equação linear ( $ATZ_{DS} = a + b$ ) e a taxa de degradação ( $2k$ ) obtida através do valor de “b” desta mesma equação:

$$t_{1/2} \text{ (dias)} = ATZ_{DM} / 2k$$

### **3.6.7 Análises estatísticas**

Os resultados das variáveis estudadas foram analisados como um delineamento completamente casualizado. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de significância de 5%.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Atividade microbiana em diferentes níveis de umidade do solo e doses de herbicida aplicado

#### 4.1.1 Atividade microbiana em diferentes níveis de umidade

A atividade da população microbiana do solo, estimada pela produção de CO<sub>2</sub>, foi influenciada pela variação dos teores de umidade (Figura 2).

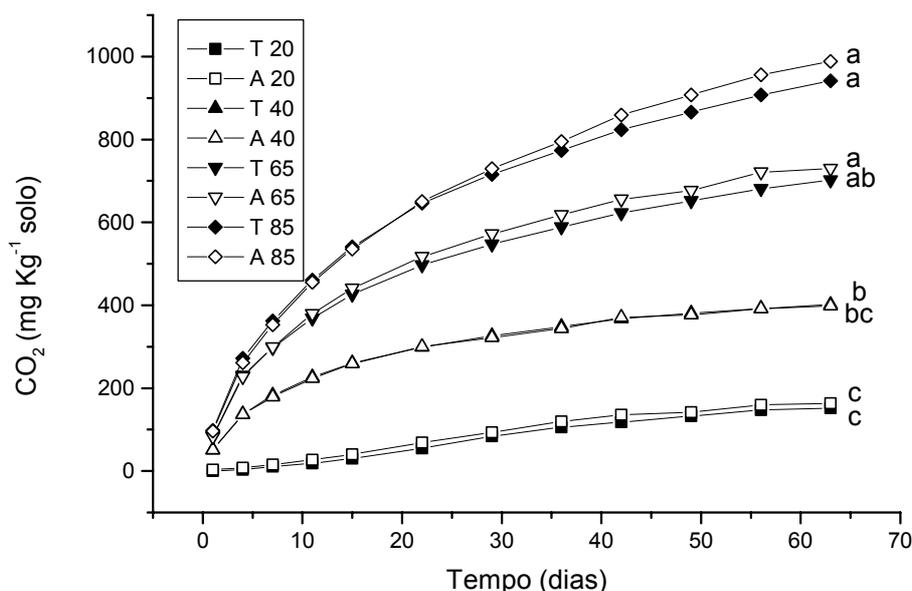


FIGURA 2. Evolução de CO<sub>2</sub>, ao longo do tempo, em diferentes níveis de umidade (20, 40, 65 e 85% da CAD), na ausência do herbicida (T) e, em presença de 1x dose do herbicida ATZ (A), na camada de 0-20 cm do solo PV. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

Os menores valores de C mineralizado após 63 dias foram obtidos nos teores de umidade entre 20 e 40% da CAD (150 a 390 mg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> de solo). Para os níveis de umidade de 65 e 85% da CAD, os valores alcançados foram 700 e 950 mg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> de solo, respectivamente. Estes resultados

concordam com os dados obtidos por Tsai et al. (1992) onde, em condições ótimas de temperatura, pH, nutrientes, entre outros, os microrganismos aeróbios do solo se desenvolveram bem, apresentando aumento da densidade populacional para níveis de umidade de 50 a 70% da CAD. De acordo com os mesmos autores, no solo, quando ocorre a substituição do O<sub>2</sub> presente nos poros pela água, verifica-se, de modo geral, a modificação da microbiota aeróbia (fungos e actinomicetos, principalmente) e a predominância das cianobactérias e das bactérias anaeróbias que se beneficiam deste ambiente. Neste estudo, entretanto, a mineralização de C a 85% da CAD, não diferiu estatisticamente daquela obtida em amostras de solo com 65% da CAD. Este fato indica que esta variação de umidade não exerceu efeito negativo sobre a população aeróbia do solo.

As curvas de mineralização de C da Figura 2 foram semelhantes à curva de crescimento da população microbiana usualmente observada em solos. Na curva de 20% da CAD verificou-se uma fase inicial (fase “lag”) durante os primeiros de 15 dias, que pode ser relacionada à adaptação gradativa da microbiota do solo ao estresse hídrico. A seguir ocorreu uma fase exponencial até os 36 dias, tendendo à estabilização após este período. Nos teores mais elevados de umidade (40, 65 e 85% da CAD) não se evidenciou a presença de uma fase “lag” e sim, uma produção acelerada do 1º ao 4º dia, normalizando para uma atividade exponencial da população microbiana até os 22 dias. Dos 22 aos 42 dias iniciou-se a fase estacionária e após este período observou-se um declínio da mineralização com tendência da curva de se tornar constante, ou seja, com redução da mineralização.

Não houve diferença significativa pelo teste de Tukey, a 5%, para a mineralização de C, na ausência do herbicida e, em presença do mesmo, na camada de 0-20 cm do solo PV para todos níveis de umidade.

O aporte de carbono através da adição de 1,5 kg de princípio ativo. ha<sup>-1</sup> de ATZ (cerca de 665 g C ha<sup>-1</sup>) não foi suficiente para estimular a atividade microbiana. Incremento na atividade microbiana é observado para adições maiores de C através de substratos orgânicos. Albuquerque et al. (2001), mediante adição de 60 Mg C ha<sup>-1</sup> de substratos orgânicos (composto orgânico e amido solúvel), após 100 dias de incubação, observaram um aumento na taxa de mineralização de ATZ por <sup>14</sup>C mineralizado a <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>. A curva de

crescimento já estabilizada aos 100 dias, voltou novamente a apresentar uma fase exponencial e com tendência a uma fase estacionária aos 140 dias. De acordo com os autores, a adição destes substratos ativou a população microbiana por causa da introdução de nutrientes para os microrganismos, provocando o crescimento da população microbiana mais adaptada a mineralizar a ATZ sem que houvesse uma competição entre espécies microbianas. Resultado semelhante foi determinado por Goring & Hamaker (1972), ao observarem que o enriquecimento do solo com glicose provocou uma aceleração na velocidade de degradação de ATZ.

Por outro lado este resultado mostra que o herbicida ATZ, nas concentrações aplicadas no solo, não exerceu efeito nocivo na atividade microbiana.

#### **4.1.2 Efeito de doses crescentes de ATZ na atividade microbiana e degradação da ATZ**

A atividade da população microbiana do solo, estimada pela produção de CO<sub>2</sub>, não foi influenciada pela variação das doses aplicadas na camada de 0-20 cm do solo PV, comparadas pelo teste de Tukey, a 5% (Figura 3).

Após 63 dias, o teor de CO<sub>2</sub> formado variou entre 700 e 770 mg de CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> de solo. Uma fase inicial de adaptação dos microrganismos (fase “lag”) não foi evidenciada para as diferentes doses de ATZ aplicadas. Do 1º ao 4º dias ocorreu uma atividade acelerada, tendendo a uma atividade exponencial até os 22 dias. Após a fase exponencial, observou-se um declínio da mineralização de C a CO<sub>2</sub> com tendência da curva em tornar-se constante, indicando mineralização praticamente nula aos 63 dias de incubação. Comportamento similar foi constatado no presente trabalho no estudo 4.1.1, para teores de umidade superiores a 40% da CAD.

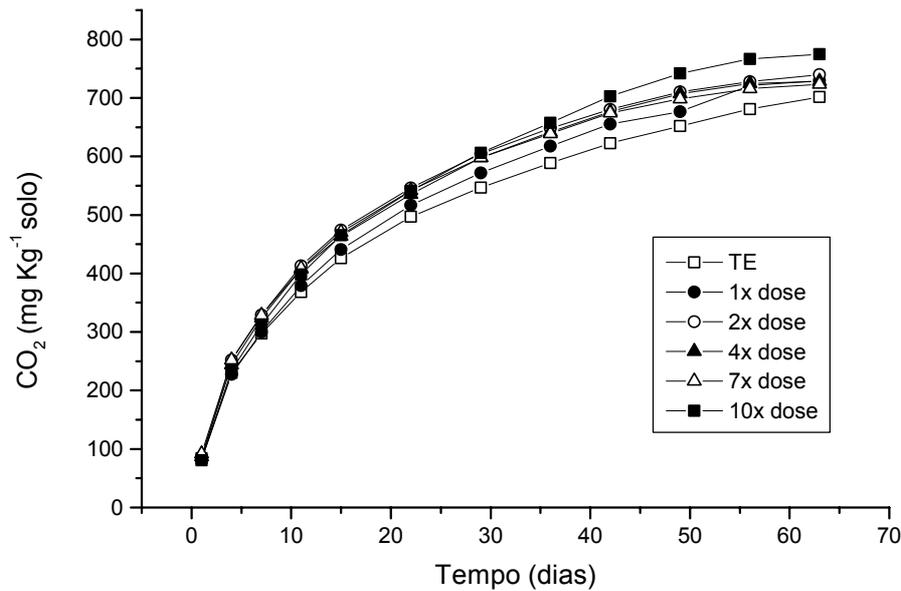


FIGURA 3. Evolução de CO<sub>2</sub>, ao longo do tempo, na ausência do herbicida (TE) e com variação das doses aplicadas (1, 2, 4, 7 e 10x dose), na camada de 0-20 cm do solo PV.

Araújo et al. (2001) determinaram dados semelhantes ao estudarem a mineralização de C e N em solo PV com cultivo de cana-de açúcar em Goiânia (PE), onde as maiores taxas de mineralização de C e de N ocorreram nas primeiras semanas de incubação, diminuindo sensivelmente após este período. Esse comportamento foi atribuído ao rápido esgotamento da fração da matéria orgânica facilmente mineralizável. Segundo Pottker & Tedesco (1979), após as 3 primeiras semanas, ocorre uma redução das quantidades de compostos orgânicos de fácil decomposição, restando os resíduos orgânicos de alta estabilidade, provocando, assim, uma diminuição nas taxas de mineralização.

Altas taxas de mineralização de N e de C nos períodos iniciais, seguidos de uma diminuição gradativa, foram determinados por outros autores em solos brasileiros (Kinjo et al., 1978; Pottker & Tedesco, 1979; Lima Jr., 1982; Salcedo et al., 1985; Lemos, 1986; Minhoni & Cerri, 1987; Alves, 1989).

O aumento da dose de herbicida aplicado (1,5 a 15 kg de princípio ativo ha<sup>-1</sup> de solo), não provocou um aporte de carbono, via herbicida (0,665 a 6,65 kg C ha<sup>-1</sup>), suficiente para estimular a população microbiana a utilizá-lo como fonte de carbono. Tampouco, um efeito nocivo da ATZ sobre microrganismos foi observado.

Com a utilização de técnicas avançadas de rastreamento de  $^{14}\text{C}$ , a mineralização de ATZ marcada pela evolução de  $\text{CO}_2$  tem sido acompanhada (Albuquerque et al., 2001; Anderson et al., 2002; Ostrofsky et al., 2002). Albuquerque et al. (2001) estudaram a mineralização da ATZ em um Latossolo Roxo, no município de Guaíra (SP), utilizando juntamente com ATZ comercial-Ciba Agro, a ATZ- $^{14}\text{C}$  marcada no anel de triazina para aumentar a exatidão nas análises da mineralização a  $^{14}\text{CO}_2$ . Os autores verificaram que após 62 dias, houve uma baixa mineralização da ATZ (< 1%) em relação ao total aplicado (2,0 mg ATZ  $\text{kg}^{-1}$  de solo).

Anderson et al. (2002) monitoraram a mineralização de ATZ pela evolução de  $^{14}\text{CO}_2$  em amostras de sedimento e água do Rio Olentangy (Ohio), as quais receberam a aplicação de 2,55 mg de ATZ  $\text{kg}^{-1}$  e 2,8 mg de ATZ  $\text{L}^{-1}$ , respectivamente. A mineralização de 70-80% de ATZ ocorreu num período de 30 dias. Este alto percentual de mineralização, conforme os mesmos autores, ocorreu devido à presença do gene *atzA* (atrazina clorohidrolase) nas amostras analisadas, constatado pelas análises de PCR (reação em cadeia da polimerase) e amplificação de seqüências de DNA.

Ostrofsky et al. (2002) aplicaram 1,0 mg de ATZ  $\text{kg}^{-1}$  de solo em várias amostras de solo de Ohio e acompanharam a mineralização de ATZ pela evolução de  $^{14}\text{CO}_2$ , num período de 30 dias. Em amostras de solo que nunca haviam recebido aplicação de ATZ a mineralização foi de 3%. Para as amostras que recebem uma aplicação de 2,5 kg de ATZ  $\text{ha}^{-1}$  a cada 3 anos a mineralização foi de 35% e, para as amostras de solo com aplicações anuais de 2,5 kg de ATZ  $\text{ha}^{-1}$ , a mineralização foi de 85%.

O aumento da mineralização de ATZ em função da quantidade crescente de aplicação do herbicida não foi constatado neste estudo pelo monitoramento da evolução de  $\text{CO}_2$ .

A quantidade de ATZ dessorvida para as diferentes doses de aplicação do herbicida na camada de 0-20 cm do solo PV foi monitorada ao longo do tempo (Figura 4).

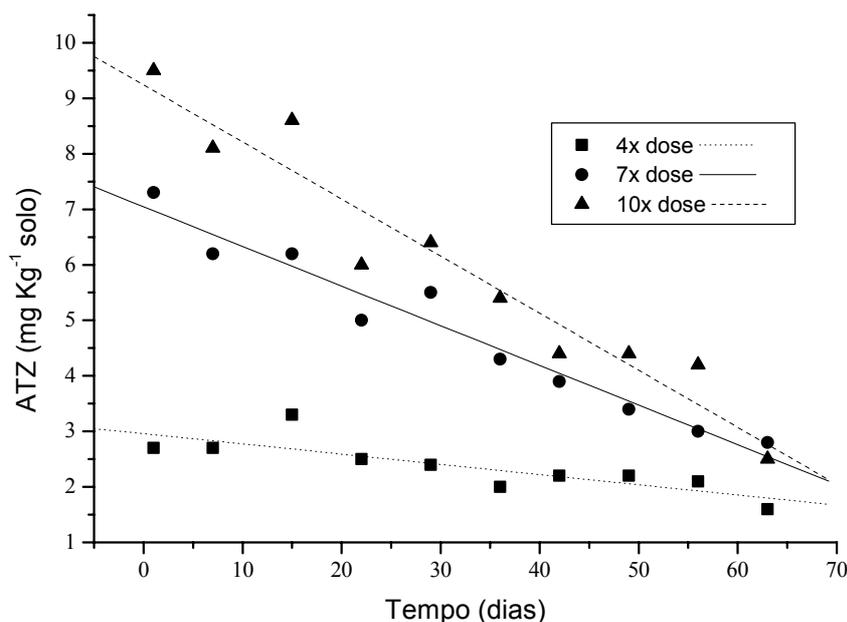


FIGURA 4. Quantidade de ATZ dessorvida em função do tempo, para diferentes doses de aplicação do herbicida na camada de 0-20 cm do solo PV.

Pela equação de regressão linear foi possível determinar as taxas de degradação para cada dose aplicada e, por meio destas, estimar os períodos de meia-vida da ATZ lábil. As taxas de degradação aumentam à medida que aumentam as doses aplicadas: 0,02, 0,07 e 0,10 mg de ATZ kg<sup>-1</sup> de solo dia<sup>-1</sup> para 4, 7 e 10x dose, respectivamente (Tabela 3). Entretanto, observou-se que a taxa de degradação foi baixa para todas as doses, quando se comparam com os dados obtidos por Ostrofsky et al. (2002).

TABELA 3. Parâmetros obtidos para as quantidades de ATZ dessorvida nas diferentes doses aplicadas na camada de 0-20 cm do solo PV.

Dose	Equação	R <sup>1</sup>	Sd <sup>2</sup>	P <sup>3</sup>
4x	Y= 2,958 – 0,018X	- 0,8217	0,282	0,00354
7x	Y= 7,045 – 0,071X	- 0,9778	0,339	< 0,0001
10x	Y= 9,240 – 0,103X	- 0,9656	0,614	< 0,0001

<sup>(1)</sup> R= coeficiente de correlação; <sup>(2)</sup> Sd= Erro padrão; <sup>(3)</sup> P= probabilidade

Ostrofsky et al. (2002) determinaram taxas de degradação entre 0,04 e 0,14 mg de ATZ kg<sup>-1</sup> de solo dia<sup>-1</sup> em estudos de amostras de solo que receberam adição de 1,0 mg de ATZ kg<sup>-1</sup> de solo (0,3x dose). A maior taxa de degradação obtida por estes autores provavelmente esteja relacionada com a

adaptação da microbiota destes solos em degradar ATZ, uma vez que os solos estudados pelos autores recebem a adição anual de 2,5 kg de ATZ ha<sup>-1</sup>. No presente estudo foram aplicadas, em amostras de solo de campo nativo, 12, 21 e 30 mg de ATZ kg<sup>-1</sup> de solo, correspondendo a 4, 7 e 10x dose recomendada. Tendo em vista que estas amostras de solo nunca haviam recebido a aplicação de ATZ, conseqüentemente a microbiota do solo não está adaptada a utilizar a ATZ como substrato, implicando numa baixa taxa de degradação. Por outro lado, esta baixa taxa de degradação poderia estar relacionada com as elevadas concentrações de ATZ aplicadas ao solo, sugerindo um efeito nocivo da ATZ sobre a microbiota do solo. No entanto, este efeito nocivo não ocorreu, de acordo com os dados de evolução de CO<sub>2</sub> obtidos neste estudo, onde testemunha e amostras com doses crescentes de herbicida apresentaram similar quantidade de C mineralizado (Figura 3).

A quantidade do herbicida ATZ dessorvida (ATZ<sub>DS</sub>) em geral foi baixa (27 a 35%), sugerindo uma sorção significativa do herbicida no solo (Tabela 4).

TABELA 4. Quantidades de ATZ dessorvida, degradada e residual do solo PV, em função das doses de ATZ aplicadas.

Dose	ATZ <sub>DS</sub> <sup>1</sup> (%)	ATZ <sub>DG/DS</sub> <sup>2</sup> (%)	ATZ <sub>DG/TA</sub> <sup>3</sup> (%)	ATZ <sub>RE/LA</sub> <sup>4</sup> (%)	ATZ <sub>RE/RL</sub> <sup>5</sup> (%)	t <sub>1/2</sub> <sup>6</sup> (dias)
4x	27,5 b	51,5 b	14,2 b	13,3 a	72,5 a	80
7x	34,8 a	61,6 ab	21,4 a	13,3 a	65,2 b	49
10x	31,8 ab	73,7 a	23,3 a	8,3 b	68,3 ab	45

(1) ATZ<sub>DS</sub>= maior percentual dessorvido; (2) ATZ<sub>DG/DS</sub>=, degradação após 63 dias a partir do maior percentual dessorvido (3) ATZ<sub>DG/TA</sub>= degradação após 63 dias a partir do total de herbicida aplicado; (4) ATZ<sub>RE/LA</sub>= quantidade de ATZ residual lábil após 63 dias de aplicação; (5) ATZ<sub>RE/RL</sub>= resíduo ligado; (6) t<sub>1/2</sub>= período de meia-vida da ATZ lábil. Médias seguidas por letras distintas, nas colunas, diferem estatisticamente entre doses, pelo teste de Tukey a 5%.

A degradação do herbicida disponível na solução do solo, após 63 dias de aplicação (ATZ<sub>DG/DS</sub>), foi superior a 50% na dose mais baixa (4x dose) e aumentou consideravelmente nas doses mais elevadas (Tabela 4). No entanto, este percentual de degradação, aparentemente elevado, se refere somente àquela quantidade de herbicida que não se encontra fortemente sorvida ao solo (ATZ lábil), onde o ataque dos microrganismos ao herbicida é facilitado. Se for avaliado o percentual de degradação do total de herbicida

aplicado ao solo, percebe-se que estes valores são muito baixos ( $ATZ_{DG/TA} \leq 23\%$ ) e que, somente uma pequena quantidade do total aplicado, ( $ATZ_{RE/LA}$ ), após 63 dias, ainda poderá sofrer degradação. A maior parte do herbicida aplicado, cerca de 70%, permanece sorvido ao solo ( $ATZ_{RE/RL}$ ), dificultando a ação dos microrganismos.

Quanto maior a quantidade de ATZ na solução do solo ( $ATZ_{DS}$ ), maior a capacidade dos microrganismos em degradar a ATZ ( $ATZ_{DG/TA}$ ), comprovada pela diminuição da quantidade de ATZ residual lábil no solo ao longo do tempo ( $ATZ_{RE/LA}$ ) e os períodos de meia-vida obtidos (Tabela 4).

O período de meia-vida da ATZ lábil na camada 0-20 cm do solo PV variou em função das doses aplicadas, sendo menor (45 dias) na maior dose (10x dose). Para 7x e 4x dose a meia-vida da ATZ lábil foi estimada em 49 e 80 dias, respectivamente (Tabela 4).

A maior disponibilidade do herbicida na solução do solo pode estar relacionada à saturação dos sítios de sorção na matéria orgânica, nas doses mais elevadas. Estando livre na solução, o ataque dos microrganismos ao herbicida é facilitado, resultando num percentual de degradação maior (Tabela 4). Além disso, provavelmente, ao serem aplicadas doses mais elevadas, o comportamento dos microrganismos frente ao herbicida seja semelhante ao apresentado frente a repetidas aplicações (Racke & Coats, 1990). Segundo Albuquerque (1995), a taxa de mineralização da ATZ é maior em solos freqüentemente tratados com este herbicida, devido a maior adaptação dos microrganismos em metabolizá-lo. Este resultado também foi confirmado por Vanderheyden et al. (1997) e Barriuso & Houot (1996), que, similarmente, encontraram rápida dissipação da ATZ em numerosos solos freqüentemente tratados com ATZ em condições de campo.

Considerando-se os resultados obtidos com o monitoramento da atividade microbiana (Figura 3), infere-se que a degradação de ATZ resulta, principalmente, na formação de metabólitos. Estes produtos infelizmente não foram quantificados no presente trabalho devido à difícil aquisição dos padrões para cromatografia gasosa no mercado. Por outro lado, o método da determinação de  $CO_2$  evoluído talvez não apresente sensibilidade suficiente para detectar uma possível mineralização de ATZ em  $CO_2$  e  $H_2O$ .

A quantidade de ATZ dessorvida em função do tempo foi maior na dose mais elevada, até os 56 dias. Entretanto, aos 22 e 42 dias não ocorreu diferença significativa entre 10x e 7x dose, provavelmente devido ao maior desvio padrão das repetições em relação à média apresentado nas amostras 7x dose nestes períodos. Aos 63 dias, a concentração dessorvida em 4x dose foi similar a 10x dose, que por sua vez não diferiu de 7x dose, comparadas pelo teste de Tukey, a 5% (Apêndice 1).

Aplicando-se teste de Tukey a 5% nas quantidades de ATZ dessorvida ao longo do tempo (Apêndice 1), foi possível estabelecer períodos distintos de degradação para cada dose aplicada. Uma real diminuição da quantidade de ATZ dessorvida, em 4x dose ocorreu somente aos 29 dias, permanecendo inalterada até os 63 dias de análise (Tabela 5). Para 7x dose, 3 períodos foram identificados e para 10x dose, 4 períodos.

TABELA 5. Período, em dias, onde ocorreu efetiva diminuição da concentração de ATZ no solo, para as diferentes doses aplicadas na camada de 0-20 cm do solo PV, comparadas pelo teste de Tukey a 5%.

Dose	Período (dias)			
	1º	2º	3º	4º
4x	29	---	---	---
7x	7	22	49	---
10x	7	22	36	63

Os resultados deste estudo mostraram que as determinações da dessorção de ATZ não precisam ser realizadas com tanta frequência (a cada 7 dias), visto que a diminuição da quantidade de ATZ após o período inicial ocorreu, em média, entre 15 e 27 dias. Esta constatação faz com que se diminua consideravelmente o consumo de reagentes, bem como o trabalho de laboratório.

#### 4.2 Métodos de desinfestação de solos e dessorção de ATZ

A avaliação da eficiência dos métodos de desinfestação nas amostras de solo das camadas de 0-20 cm do solo PV, pela contagem da população microbiana do solo pelo método de diluições sucessivas e inoculação em placas de Petry, revelou que todos os métodos testados

reduziram a população microbiana do solo, quando comparados com a testemunha (solo não desinfestado) (Tabela 6).

TABELA 6. Número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) na testemunha e nas amostras da camada de 0-20 cm do solo PV determinado por diferentes métodos de desinfestação.

Tratamentos	UFC (g <sup>-1</sup> solo seco)	
	Bactérias	Fungos
Testemunha	10,1.10 <sup>5</sup>	9,20.10 <sup>3</sup>
Irradiação em forno de microondas	< 10 <sup>5</sup>	< 10 <sup>3</sup>
Fumigação com clorofórmio	3,6.10 <sup>5</sup>	< 10 <sup>3</sup>
Tindalização	7,2.10 <sup>5</sup>	3,6.10 <sup>3</sup>
Autoclavagem	3,6.10 <sup>5</sup>	< 10 <sup>3</sup>

A intensidade de energia de microondas a que as amostras de solo foram irradiadas no presente trabalho (1,62.10<sup>5</sup> J, 2 min) reduziu a população microbiana até < 10<sup>3</sup> para fungos e < 10<sup>5</sup> para bactérias (Tabela 6). Os grupos microbianos são afetados de forma diferente pela quantidade de irradiação a que são submetidos. Em geral, os níveis de 2.10<sup>4</sup> J a 1,2.10<sup>5</sup> J reduzem significativamente a população de fungos, enquanto níveis mais elevados de energia eliminaram totalmente esse grupo microbiano (Zagal, 1989). No entanto, as bactérias apresentam maior resistência às microondas, necessitando de níveis de energia mais elevados para que haja redução significativa (Vela et al., 1976; Wainwright et al., 1980). Esses mesmos autores observaram que a exposição do solo a 1,2.10<sup>5</sup> J reduz grande parte da população bacteriana, mas a 4,8.10<sup>5</sup> J, foram ainda detectadas algumas células viáveis no solo. Entretanto, Vela & Wu (1979) e Speir et al. (1986) demonstraram que as bactérias e fungos do solo são igualmente suscetíveis à radiação de microondas.

Os métodos que empregam calor úmido na desinfestação (tindalização e autoclavagem) não apresentaram resultados diferentes da testemunha.

Neste estudo foi utilizada somente uma autoclavagem de 30 min (AC 121), observando-se a sobrevivência de 3,6.10<sup>5</sup> UFC de bactérias g<sup>-1</sup> de solo seco. Este resultado comprova a constatação de Wolf et al. (1989) que somente uma autoclavagem (vapor sob pressão) de 1 h não é suficiente para a

esterilização do solo. O mesmo autor recomenda que o solo seja incubado por 2 dias, após a primeira autoclavagem, devendo-se então fazer nova autoclavagem de 1h para eliminar os microrganismos que não foram eliminados na primeira autoclavagem. Procedimento semelhante foi utilizado no método de tindalização (vapor sem pressão), onde foram feitas 3 autoclavagens (AC 105) de 20 min durante 3 dias consecutivos. Entretanto, este método foi menos eficiente do que o AC 121, provavelmente devido à menor temperatura atingida utilizando vapor sem pressão.

O tratamento com clorofórmio reduz apenas parte da população microbiana responsável pela mineralização da matéria orgânica (Shields et al., 1974; Jenkinson & Powlson, 1976; Kassin et al., 1981). No presente estudo o clorofórmio permitiu a sobrevivência de  $3,6 \cdot 10^5$  e  $< 10^3$  UFC de bactérias e fungos  $g^{-1}$  de solo seco, respectivamente, corroborando os resultados de Kassin et al. (1981), que constataram que este método reduz a população de fungos mais eficientemente. A justificativa para a ausência de fungos e a presença de bactérias está relacionada com o período de incubação de 7 dias. Um curto período de incubação ( $< 10$  dias) favorece o estabelecimento dos grupos bacterianos, pois estes possuem maiores taxas de crescimento comparadas às dos demais grupos microbianos do solo (Drozdowicz, 1991).

O percentual de ATZ desorvida 24 horas após a aplicação, das amostras dos solos PV e VE tratados por diferentes métodos de desinfestação, variou de 25 a 45% e 22 a 45%, respectivamente (Figura 5).

No VE, as amostras submetidas a uma atmosfera de clorofórmio ( $CHCl_3$ ) e irradiação em forno de microondas apresentaram desorção de ATZ similar à testemunha. A maior desorção observada nas amostras do VE, tratadas em autoclave a  $105^\circ C$  e a  $121^\circ C$  (45,2 e 38,2%), possivelmente se deva a uma alteração morfológica dos minerais 2:1 e da matéria orgânica com o aumento de temperatura, formando ATZ mais lábil.

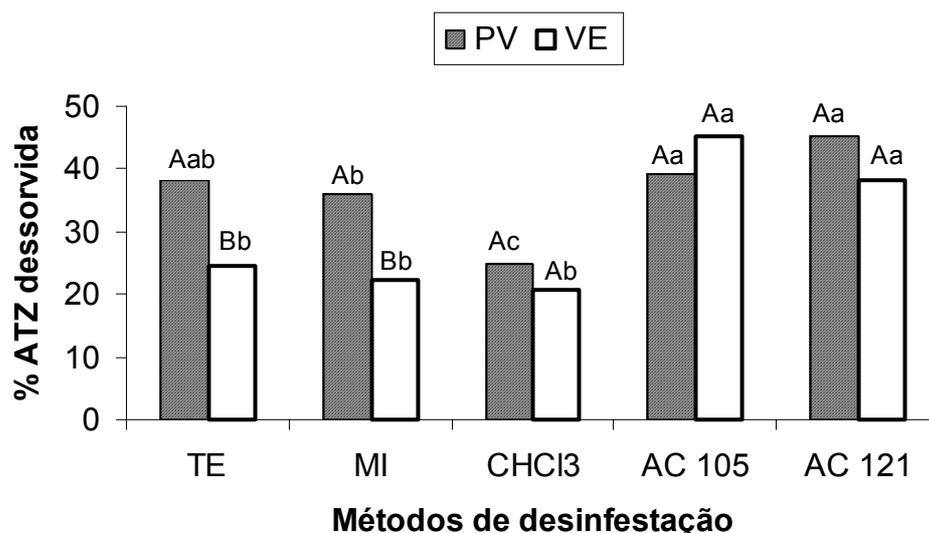


FIGURA 5. Percentual de ATZ desorvida, após 24 horas da aplicação nos solos PV e VE tratados por diferentes métodos de desinfestação: testemunha (TE), microondas (MI), clorofórmio (CHCl<sub>3</sub>), autoclave a 105°C (AC 105) e autoclave a 121°C (AC 121). Médias seguidas por letras distintas diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5%. Letras maiúsculas comparam tipos de solo dentro de cada método de desinfestação. Letras minúsculas comparam métodos de desinfestação para cada tipo de solo.

As amostras do solo PV tratadas em autoclave a 105° C e a 121° C e irradiação em forno de microondas não diferiram significativamente da testemunha, comparadas pelo teste de Tukey, a 5%. A menor recuperação de ATZ neste solo obtida no método de CHCl<sub>3</sub> (25%) provavelmente se deva ao aumento de sítios hidrofóbicos de sorção com a adição do reagente orgânico. No VE este efeito não se manifestou devido ao elevado teor de matéria orgânica existente neste solo.

Tanto para o PV quanto para o VE, o método de irradiação em forno de microondas ( $1,62 \cdot 10^5$  J, 2 min) mostrou resultados de desorção de ATZ similares à testemunha, não sendo detectadas alterações relevantes na matéria orgânica do solo. Resultado similar foi obtido por Ferreira et al. (1999) que compararam os teores de C e N microbianos determinados após irradiação em forno de microondas ( $1,62 \cdot 10^5$  J, 2 min) e após fumigação e incubação com clorofórmio. Segundo Roberts & Caserio (1965), energias da ordem de  $3,04 \cdot 10^5$  J,  $3,16 \cdot 10^5$  J e  $3,58 \cdot 10^5$  J seriam os níveis máximos para a não ocorrência de quebras das ligações simples de C-N, C-C e C-O da matéria orgânica do solo, respectivamente.

No caso de determinação do C e do N microbianos, a limitação do uso de microondas para a poderia estar relacionada com as possíveis quebras de ligações com carbono e nitrogênio presentes na matéria orgânica do solo, sendo a quebra promovida pela exposição a maiores quantidades de energia, superestimando, dessa forma, os valores da biomassa microbiana (Zagal, 1989; Puri & Barraclough, 1993). Analogamente, estas quebras de ligações da matéria orgânica do solo poderiam alterar o comportamento sortivo da ATZ ao solo, após a exposição do mesmo à irradiação em forno de microondas.

Quando se compara a quantidade de ATZ desorvida nas testemunhas, observa-se que ocorreram recuperações mais elevadas de ATZ no PV. Este fato possivelmente tenha relação com o menor teor de matéria orgânica e com a mineralogia 1:1 deste solo, o que faz com que a quantidade de ATZ aplicada sature rapidamente os sítios de sorção da matéria orgânica. A elevada capacidade sortiva da matéria orgânica já foi comprovada por outros autores (Stevenson, 1972; Karickhoff et al., 1979; Barriuso et al., 1992; Senesi, 1992; Martin-Neto et al., 1994; Queiroz et al., 1997; Piccolo et al., 1998.; Gomes et al., 2002).

Segundo Duncan & Scifres (1983) além do teor de carbono orgânico, a sorção depende do teor de argila. Solos com maior teor de argila sorvem maiores quantidades de herbicida. Recentemente foi verificado que a fração inorgânica do VE contribui até 12% da quantidade de ATZ sorvida, enquanto os minerais do PV pouco afetam a retenção deste herbicida (Almeida, 2003).

De acordo com os dados obtidos nesta avaliação, o método de desinfestação mais indicado para a realização de estudos posteriores é o método de irradiação em forno de microondas. Este método apresentou um comportamento de sorção do herbicida similar à testemunha e se demonstrou eficiente na diminuição da população microbiana do solo, além de ser prático e rápido.

### **4.3 Teor de matéria orgânica e atividade microbiana em duas classes de solo**

O pH pode variar ao longo do perfil do solo e afetar seletivamente a microbiota do solo, que não tolera valores extremos de pH. De forma geral, as

bactérias e actinomicetos são dominantes em pH próximo à neutralidade, enquanto os fungos, em pH mais ácido (Alexander, 1977).

A aplicação de ATZ, bem como a desinfestação através da radiação do forno de microondas não influenciaram o pH das amostras de solos PV (Apêndice 2) e VE (Apêndice 3). Foram observadas pequenas variações de pH entre camadas do mesmo solo, bem como ao longo do tempo. Os valores de pH e sua variação foram de  $5,0 \pm 0,2$  e de  $4,7 \pm 0,3$  nas camadas 0-20 e 50-60 cm do solo PV, respectivamente (Apêndice 2). No solo VE os valores de pH e sua variação foram de  $4,9 \pm 0,3$  e de  $5,3 \pm 0,3$  nas camadas 0-30 e 30-45 cm do solo, respectivamente (Apêndice 3).

Variando-se a mineralogia do sorvente e o teor de carbono orgânico total dentro de cada tipo de solo, e mantendo-se constantes a umidade (75% da CAD) e a dose de herbicida aplicada (10x dose), foi acompanhada a atividade microbiana pela evolução de  $\text{CO}_2$  (Figura 6).

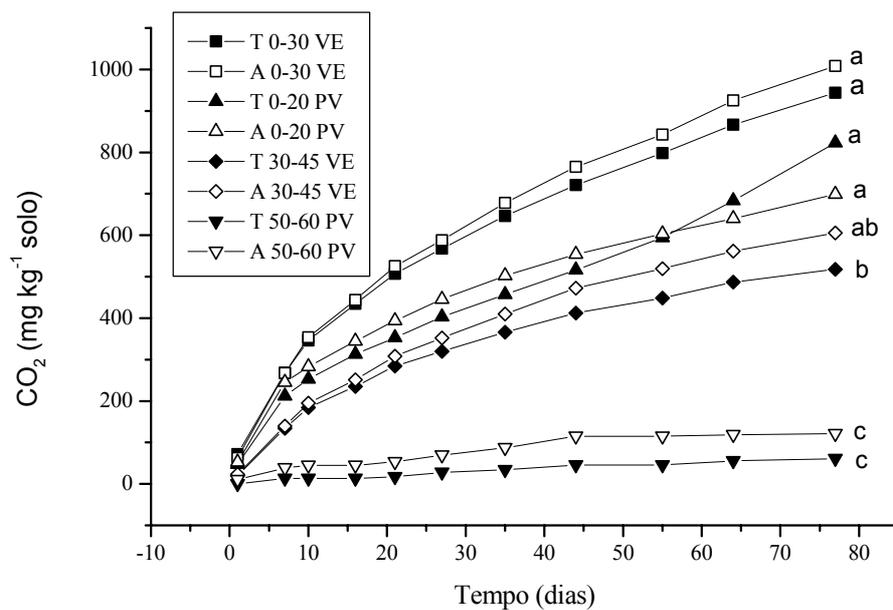


FIGURA 6. Evolução de  $\text{CO}_2$ , ao longo do tempo, dos solos PV e VE na ausência do herbicida (T) e na aplicação de 10x dose (A), em diferentes camadas de solo (0-20, 50-60, 0-30 e 30-45 cm). Médias seguidas por letras distintas diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

Não houve diferença significativa pelo teste de Tukey, a 5%, para a mineralização de C, na ausência do herbicida e, em presença do mesmo, para todas as camadas dos dois solos.

As amostras das camadas 0-20 cm do solo PV, 0-30 e 30-45 cm do solo VE apresentaram atividade acelerada do 1º ao 7º dia, mantiveram uma atividade exponencial até os 35 dias, tendendo a uma fase estacionária após este período. Observou-se um declínio da mineralização de C a CO<sub>2</sub> aos 64 dias, no entanto, a curva ainda não atingiu patamar aos 77 dias de observação. A mineralização de C a CO<sub>2</sub> nas amostras da camada 50-60 cm do PV foi muito baixa. Provavelmente o baixo teor de C desta camada tenha limitado a atividade microbiana.

Nos dois solos, a atividade microbiana foi superior nas camadas superiores do solo (Figura 6) o que foi relacionado ao teor de carbono mais elevado nestas amostras (Tabela 2). Resultados semelhantes foram obtidos anteriormente por outros autores (Lima Jr, 1982; Salcedo et al., 1985; Lemos, 1986; Alves, 1989; Fraga, 1989; Araújo et al., 2001) e justificados pela maior quantidade de matéria orgânica nas camadas superficiais, resultando em maior atividade metabólica dos microrganismos nessas camadas.

A diminuição da mineralização de C da camada superior para a camada inferior, foi mais acentuada no PV, devido ao baixo teor de C (16,8 g kg<sup>-1</sup>) observado na camada de 50-60 cm. No VE o teor de C varia de 33,2 g kg<sup>-1</sup> (0-30 cm) a 25,4 g kg<sup>-1</sup> (30-45 cm), e o decréscimo da atividade microbiana foi mais brando.

Ao final de 77 dias de incubação (11 semanas), a produção de C mineralizado foi da ordem de 800 e 60 mg kg<sup>-1</sup> para as camadas 0-20 e 50-60 cm do solo PV, e 950 e 500 mg kg<sup>-1</sup> para as camadas 0-30 e 30-45 cm do solo VE, respectivamente.

Interessante observar que o efeito do teor de matéria orgânica na mineralização de C se manifestou diferentemente nos dois solos. A camada 0-20 cm do PV, que contém 19,3 g C kg<sup>-1</sup> de solo, produziu maior quantidade de CO<sub>2</sub> do que a camada 30-45 cm do VE, que apresenta 25,4 g C kg<sup>-1</sup> de solo. A diversidade da microbiota dos dois solos possivelmente seja responsável por este comportamento.

Araújo et al. (2001) ao estudarem a mineralização de C nas camadas de 0-20 e 20-60 cm de um solo PV com cultivo de cana-de açúcar em Goiânia (PE), encontraram, no mesmo período, taxas de mineralização da ordem de 500 e 330 mg kg<sup>-1</sup> de solo, respectivamente. Salcedo et al. (1985) em

amostras da camada de 0-20 cm desse mesmo solo, incubadas por 11 semanas, obteve a mineralização de  $280 \text{ mg kg}^{-1}$  de solo. Araújo et al. (2001) atribuíram a evidente diferença observada na mineralização de C, para amostras do mesmo solo, à maior temperatura de incubação (em casa de vegetação), oscilando entre 22 e  $35^\circ\text{C}$  ao longo do dia, contra  $26 \pm 2^\circ\text{C}$  na incubação em laboratório no trabalho realizado por Salcedo et al. (1985). Vários trabalhos têm demonstrado o efeito da temperatura na mineralização de C e permitindo o cálculo de coeficientes de temperatura (Stanford et al., 1973; 1975; Cassman & Munns, 1980; Campbell et al., 1981; Nira & Nishimune, 1993). A temperatura mínima de incubação em laboratório neste estudo foi de  $22 \pm 4^\circ\text{C}$  e a máxima de  $29 \pm 2^\circ\text{C}$ . Esta variação de temperatura foi intermediária às temperaturas dos estudos de Salcedo et al. (1985) e Araújo et al. (2001).

O baixo teor de carbono ( $7,0 \text{ g kg}^{-1}$ ) na camada de 0-20 cm do solo PV cultivado com cana-de-açúcar em Goiânia (PE) estudado por Salcedo et al. (1985) e Araújo et al. (2001) justifica a menor quantidade de C mineralizado determinada por estes autores, quando comparada com a taxa obtida no presente estudo, onde o teor de C é mais elevado ( $19,3 \text{ g kg}^{-1}$ ). O menor teor de carbono no solo estudado por Salcedo et al. (1985) e Araújo et al. (2001), possivelmente esteja relacionado com o cultivo intenso da área com cana-de-açúcar (10 anos), enquanto que a amostra do PV deste estudo encontrava-se sob campo nativo.

Paralelo ao estudo anterior, foi medida a evolução de  $\text{CO}_2$  em amostras de solo submetidas à desinfestação em forno de microondas a fim de distinguir a degradação da ATZ microbiana da degradação química.

Contrariamente ao verificado no estudo anterior (Figura 6) a atividade da população microbiana das amostras submetidas a desinfestação foi superior à observada nas amostras não desinfestadas, nas camadas superiores dos dois solos, na ausência do herbicida e, em presença do mesmo (Figuras 7 e 8). Nas camadas inferiores, com menor teor de matéria orgânica e, conseqüentemente, menor densidade da microbiota do solo, este efeito não foi tão evidente.

Após 77 dias não houve diferença significativa no teor de  $\text{CO}_2$  liberado entre tratamentos e testemunhas do solo PV, entretanto foram obtidos

teores mais elevados de C mineralizado nas amostras da camada de 0-20 cm submetidas a desinfestação (1200 mg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> de solo), quando comparadas com as amostras não tratadas (750 mg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> de solo). Na camada inferior do mesmo solo (50-60 cm) o teor de CO<sub>2</sub> médio foi de 90 mg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> de solo não havendo diferença significativa entre amostras não tratadas (ND) e desinfestadas (D) (Figura 7).

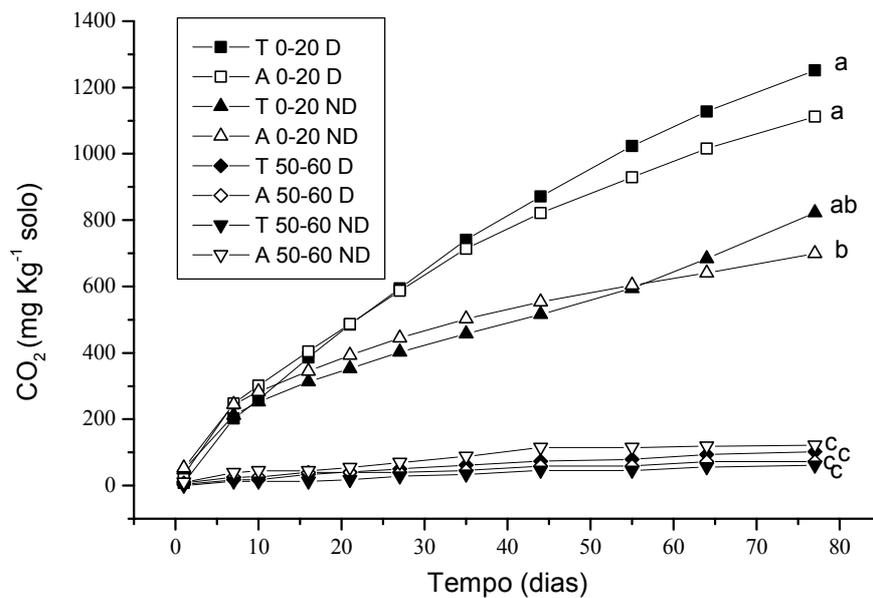


FIGURA 7. Evolução de CO<sub>2</sub>, na ausência do herbicida (T) e na aplicação de 10x dose (A), com variação das camadas do solo PV (0-20, 50-60 cm), não tratado (ND) e desinfestado em forno de microondas (D). Médias seguidas por letras distintas diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

No VE, assim como no PV, não houve diferença significativa no teor de CO<sub>2</sub> liberado entre tratamentos e testemunhas. O VE, após 77 dias, apresentou teores mais elevados de C mineralizado nas amostras D da camada de 0-30 cm (1500 mg de CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> de solo), quando comparadas com as amostras ND (970 mg de CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> de solo). Na camada inferior do mesmo solo (30-45 cm) o teor de CO<sub>2</sub> médio foi de 600 mg de CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> de solo não havendo diferença significativa entre amostras ND e D (Figura 8).

A maior atividade microbiana nas camadas superiores das amostras submetidas a desinfestação em forno de microondas, tanto para o PV quanto para o VE, possivelmente é devida ao fato de que, a irradiação do forno de microondas tenha atingido somente a parte externa das amostras do solo.

Desta forma, os microrganismos da parte interna, que não foram atingidos, utilizaram os microrganismos mortos como fonte de carbono prontamente disponível. Este comportamento pode estar relacionado com a maior massa de solo utilizada (750 g) neste estudo, quando comparada com a massa de 200 g no teste dos métodos de desinfestação (Estudo 4.2).

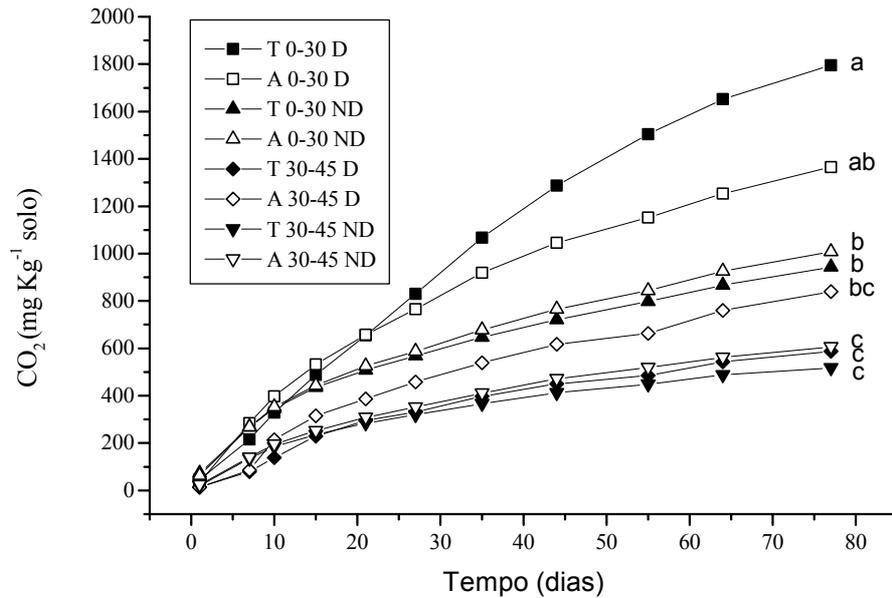


FIGURA 8. Evolução de CO<sub>2</sub>, na ausência do herbicida (T) e na aplicação de 10x dose (A), com variação das camadas do solo VE (0-30, 30-45 cm), não tratado (ND) e desinfestado em forno de microondas (D). Médias seguidas por letras distintas diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

#### 4.4 Teor de matéria orgânica e dessorção de ATZ em duas classes de solos

A formação de HYA como produto de degradação química da ATZ é influenciada pelo pH do solo (Armstrong et al., 1967), o qual apresentou pequenas variações ao longo do tempo no presente estudo (Apêndice 2). Neste estudo não foi observada a formação da hidroxiatrazina (HYA) nos extratos concentrados e monitorados ao longo do tempo, provavelmente devido ao pH dos solos, cujos valores não foram inferiores a 4,4 (Apêndices 2 e 3). Armstrong et al. (1967) observaram a formação da HYA em percolados de colunas de solo a pH 3,9.

A quantidade do herbicida ATZ dessorvida nas amostras de solo PV (Figura 9) e VE (Figura 11) não tratado e submetido a desinfestação em forno de microondas foi monitorada ao longo do tempo.

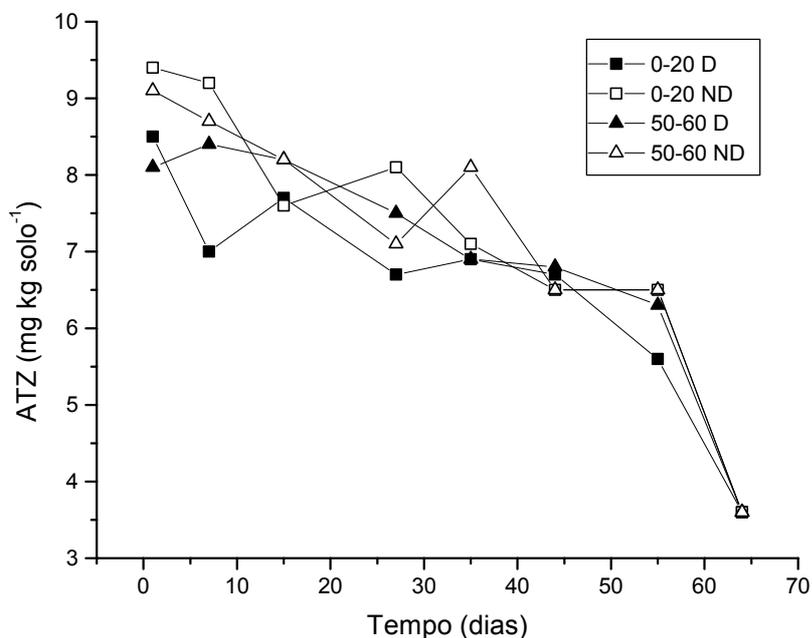


FIGURA 9. Quantidade de ATZ dessorvida em função do tempo, para diferentes camadas do solo PV (0-20 e 50-60 cm), não tratado (ND) e desinfestado em forno de microondas (D).

Comparando as médias através do teste de Tukey, a 5%, no solo PV no mesmo tempo, a quantidade de ATZ dessorvida nas diferentes camadas e na condição D e ND foram similares no primeiro e aos 15 e 44 dias (Apêndice 3). Nos demais dias, menores quantidades de ATZ foram dessorvidas da camada 0-20 D. A amostra da camada 0-20 ND apresentou quantidades intermediárias de ATZ dessorvida das camadas 50-60 D e ND e 0-20 D.

Na camada de 0-20 cm, os valores de desvio padrão para ATZ dessorvida foram mais elevados na amostra 0-20 D, sugerindo que a irradiação do forno de microondas não atingiu uniformemente a matéria orgânica do solo, alterando diferentemente o comportamento de sorção do herbicida ATZ ao solo (Apêndice 4). Vários autores têm comprovado que a intensidade de energia irradiada pelas microondas a que o solo foi exposto no presente trabalho ( $1,62 \cdot 10^5$  J) não afeta a matéria orgânica do solo (Roberts & Caserio, 1965; Hendricks & Pascoe, 1988; Monz et al., 1991; Ferreira et al., 1999).

Na amostra 0-20 D não ocorreu diferença estatisticamente significativa entre a quantidade de ATZ desorvida 24 h após aplicação até os 55 dias. Nas amostras 0-20 ND e 50-60 D e ND foram obtidas reduções na quantidade de ATZ aos 15, 44 e 35 dias, respectivamente, mantendo-se constante após estes períodos, até os 55 dias. Entre 55 e 64 dias ocorreu uma redução significativa da quantidade de ATZ desorvida em todas as amostras (Apêndice 4). Não foi possível quantificar a ATZ aos 64 dias devido ao limite inferior de detecção do aparelho utilizado ( $3,6 \text{ mg kg}^{-1}$  de solo). Adotou-se este limite de detecção como valor estimado da quantidade desorvida aos 64 dias.

O ajuste linear em função das quantidades de ATZ desorvida foi traçado do primeiro aos 64 dias (Figura 10).

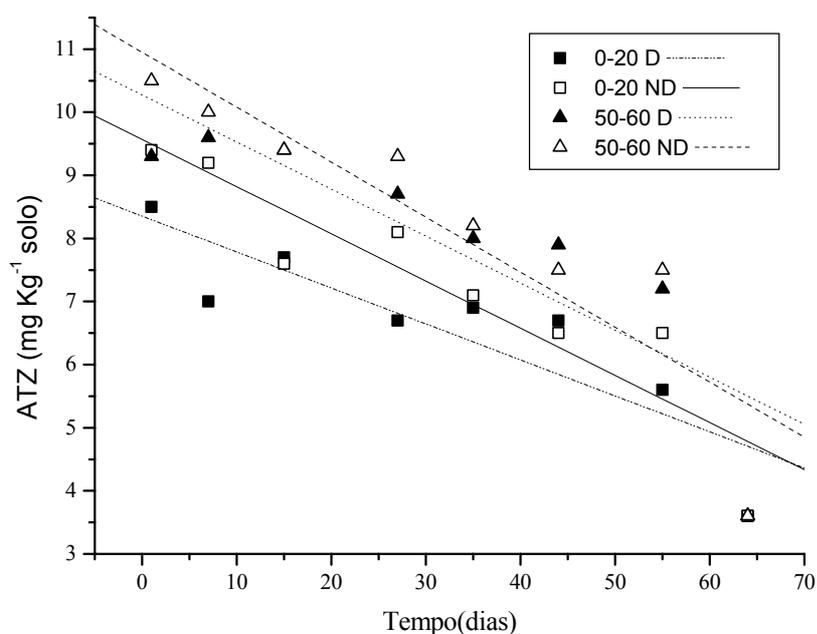


FIGURA 10. Ajuste linear traçado aos dados obtidos na desorção de ATZ até 64 dias nas diferentes camadas do solo PV (0-20 e 50-60 cm), não tratado (ND) e desinfestado em forno de microondas (D).

Como a desinfestação não foi eficiente, conforme já discutido na avaliação da atividade microbiana no início deste estudo, para fins de discussão das taxas de degradação dos solos PV e VE serão consideradas somente as amostras ND.

As taxas de degradação obtidas do solo PV através da equação da regressão linear (Tabela 7) foram similares ( $0,08 < \text{mg de ATZ kg}^{-1} \text{ de solo dia}^{-1}$

< 0,09) para as duas camadas. Esperava-se uma diferença significativa entre estas camadas, tendo em vista que a maior degradação ocorre nas camadas superiores do solo, onde os teores de matéria orgânica são mais elevados (Johnson & Fuhrman, 1993; Monteiro et al., 1995; Albuquerque et al., 2001). Possivelmente a pequena variação na quantidade de carbono das camadas 0-20 e 50-60 cm (19,3 e 16,8 g kg<sup>-1</sup>, respectivamente), não exerceu um efeito mais pronunciado na taxa de degradação da ATZ nestas duas camadas do solo PV.

TABELA 7. Parâmetros obtidos para as quantidades de ATZ desorvida ao longo do tempo nas diferentes camadas do solo PV não tratado e desinfestado.

Amostra	Equação	R <sup>1</sup>	Sd <sup>2</sup>	P <sup>3</sup>
0-20 D	Y= 8,355 – 0,057X	- 0,8802	0,752	0,00392
0-20 ND	Y= 9,568 – 0,075X	- 0,9208	0,776	0,00117
50-60 D	Y= 10,274 – 0,074X	- 0,8656	1,056	0,00547
50-60 ND	Y= 10,951 – 0,087X	- 0,9057	0,998	0,00195

<sup>(1)</sup> R= coeficiente de correlação; <sup>(2)</sup> Sd= Erro padrão; <sup>(3)</sup> P= probabilidade

Com base nos dados obtidos neste estudo pode-se estimar a meia-vida da ATZ lábil do solo PV em 63 e 64 dias, para as camadas 50-60 e 0-20 cm, respectivamente (Tabela 8). Este tempo de meia-vida da ATZ lábil na camada 0-20 cm foi superior ao encontrado no estudo 4.1.2 do presente trabalho (45 dias) para a mesma dose de ATZ aplicada e a mesma camada do solo PV.

O maior tempo de meia-vida, assim como a estabilidade da quantidade de ATZ ao longo do tempo neste estudo (quando comparado ao estudo 4.1.2) pode estar relacionada com a realização deste experimento na ausência da luz, o que pode ter acarretado uma menor degradação da ATZ. No experimento anterior (4.1.2), realizado na presença de luz, pode ter ocorrido fotodegradação do produto.

De acordo com Armstrong et al. (1967) a permanência da ATZ no solo é variável, com valores de meia-vida entre 37 dias até 3-5 anos. Essa variabilidade é atribuída às diversas condições e classes de solos estudados.

A recuperação do herbicida no solo PV foi baixa (31 a 35%), sugerindo uma sorção significativa do herbicida no solo (Tabela 8).

TABELA 8. Quantidade de ATZ dessorvida, degradada e resíduo ligado nas diferentes camadas do solo PV não tratado e desinfestado.

Amostra	ATZ <sub>DS</sub> <sup>1</sup>	ATZ <sub>DG/DS</sub> <sup>2</sup>		ATZ <sub>DG/TA</sub> <sup>3</sup>		ATZ <sub>RE/LA</sub> <sup>4</sup>		ATZ <sub>RE/RL</sub> <sup>5</sup>	t <sub>1/2</sub> <sup>6</sup>
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	dias
		55	64	55	64	55	64		
0-20 D	28,3	34,1	>57,6	9,7	>16,3	18,7	<12,0	71,7	73
0-20 ND	31,3	30,8	>61,7	9,7	>19,3	21,7	<12,0	68,7	64
50-60 D	32,0	25,0	>62,5	8,0	>20,0	24,0	<12,0	68,0	69
50-60 ND	35,0	28,6	>65,7	10,0	>23,0	25,0	<12,0	65,0	63

(1) ATZ<sub>DS</sub>= maior percentual dessorvido; (2) ATZ<sub>DG/DS</sub>=, degradação após 55 e 64 dias a partir do maior percentual dessorvido (3) ATZ<sub>DG/TA</sub>= degradação após 55 e 64 dias a partir do total de herbicida aplicado; (4) ATZ<sub>RE/LA</sub>= quantidade de ATZ residual lábil após 55 e 64 dias de aplicação; (5) ATZ<sub>RE/RL</sub>= resíduo ligado; (6) t<sub>1/2</sub>= período de meia-vida da ATZ lábil.

A degradação do herbicida disponível na solução do solo (ATZ<sub>DG/DS</sub>), da amostra não tratada (ND) após 55 dias de aplicação foi de 30,8% e 28,6% e aos 64 dias este índice aumentou para 61,7% e 65,7%, para as amostras das camadas 0-20 e 50-60 cm, respectivamente (Tabela 8). No entanto, este percentual de degradação, se refere somente àquela quantidade de herbicida que não se encontra fortemente sorvida ao solo, ou seja, o herbicida lábil. O percentual de degradação da quantidade total de herbicida aplicado ao solo (ATZ<sub>DG/TA</sub>), após 64 dias, é baixo, entre 19,3 e 23,0%, nas camadas 0-20 e 50-60 cm, respectivamente. Somente uma pequena quantidade do total aplicado (ATZ<sub>RE/LA</sub>), após 64 dias, ainda poderá sofrer degradação (< 12%). Os dados sobre o resíduo ligado (ATZ<sub>RE/RL</sub>) deste estudo foram similares aos obtidos no estudo das doses, onde para a mesma dose (10x dose) e camada do solo PV (0-20 cm) 68,3% da ATZ aplicada ficou fortemente retida no solo.

O formato das curvas obtidas para dessorção da ATZ em função do tempo para os diferentes tratamentos do VE mostra que a maior quantidade de ATZ dessorvida ocorreu aos 15 dias em todas as camadas (Figura 11), diferindo do comportamento observado para o PV (Figura 9). Este comportamento foi relacionado com o processo de umedecimento do solo, realizado previamente à aplicação da ATZ.

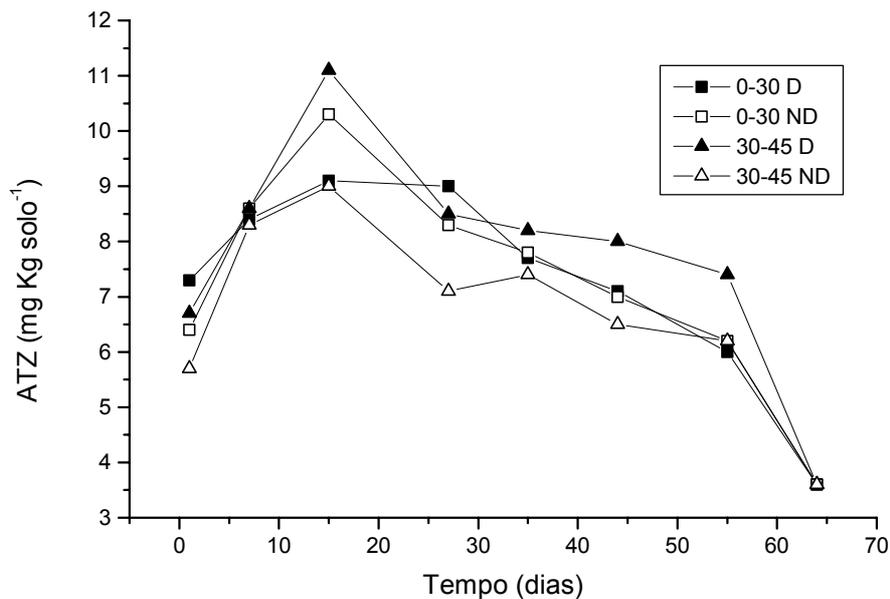


FIGURA 11. Quantidade de ATZ desorvida em função do tempo, para diferentes camadas do solo VE (0-30 e 30-45 cm), não tratado (ND) e desinfestado em forno de microondas (D).

No solo VE, provavelmente a difusão da água no solo é mais lenta do que no PV, devido à presença de minerais 2:1. Ao regular a umidade do solo VE para 75% da CAD, a mesma pode não ter sido atingida em 2 horas, ocasião em que foi realizada a aplicação da ATZ. A ATZ, sendo hidrofóbica, ao ser aplicada no solo, migraria para os sítios menos hidrofílicos das entrecamadas do VE, simulando uma sorção mais pronunciada ao solo logo após a aplicação. Conforme a água foi penetrando no solo, esta iria deslocando a ATZ, tornando-a gradualmente mais lábil. Como resultado, a desorção de ATZ aumentaria. Quando a CAD foi atingida em 15 dias, a H<sub>2</sub>O já haveria deslocado a ATZ dos sítios hidrofóbicos do mineral para a solução do solo, resultando num percentual de sorção menor e, conseqüentemente, num percentual de desorção maior do que os percentuais obtidos 24 horas a aplicação.

Nesse contexto, Dao & Lavy (1968) observaram uma relação inversa entre sorção de ATZ e o conteúdo de água no solo. Os autores observaram que baixas condições de umidade do solo favorecem a sorção da ATZ e, à medida que aumenta o conteúdo de água, diminui a competição pelos sítios ativos do solo, reduzindo a sorção das moléculas orgânicas. Comportamento similar foi obtido por Deuber (1992) e Laird et al. (1994) que obtiveram baixo

teor de ATZ sorvida em meio aquoso, onde as moléculas de H<sub>2</sub>O competiam com as do herbicida pelos mesmos locais de sorção.

Green & Karikhoff (1990) relatam que o equilíbrio de sorção em 24 h pode não ser alcançado, quando se leva em consideração a sorção nos locais internos dos colóides. De acordo com os autores o processo de sorção ao longo do tempo apresenta um componente rápido e outro mais lento, conforme o movimento do soluto para pontos de sorção menos acessíveis dos colóides do solo. Khan (1973), estudando a cinética de sorção do herbicida 2,4-D pela fração ácido húmico, encontrou resultados semelhantes. Esse autor atribuiu a sorção inicial à interação das moléculas do herbicida sobre a superfície do colóide. Após um período de tempo, o processo tornou-se mais lento, graças à difusão do composto para o interior das partículas da fração ácido húmico.

A sorção do herbicida ao solo é o principal fator na determinação das doses a serem utilizadas (Bailey & White, 1970). No caso do VE, a recomendação da dose baseada na sorção após 24 h levaria a um valor mais elevado do que o necessário. Este fato traria prejuízos em termos econômicos e ambientais.

Os valores de ATZ dessorvida no VE em um dado tempo para os diferentes tratamentos (Figura 11) não são estatisticamente diferentes, comparados pelo teste de Tukey, a 5% (Apêndice 5). Este comportamento pode estar relacionado aos elevados valores de desvio padrão obtidos em cada ponto das curvas (Apêndice 5).

A amostra 0-30 D apresentou valores de desvio padrão mais elevados do que a camada 0-30 ND, sugerindo que o comportamento de sorção da ATZ ao solo foi influenciado pela irradiação do forno de microondas (Apêndice 5). Nas camadas 30-45 D e ND outro fator parece ter influenciado o processo de dessorção, tendo em vista que os valores de desvio padrão, em média, foram similares, porém elevados.

A amostra 0-30 ND apresentou redução na quantidade de ATZ dessorvida aos 27 e 44 dias, enquanto nas demais amostras esta redução ocorreu somente aos 44 dias (Apêndice 3). Uma diminuição significativa ocorreu, para todas as amostras entre 56 e 64 dias. Não foi possível quantificar a ATZ aos 64 dias devido ao limite inferior de detecção do aparelho utilizado

(3,6 mg de ATZ kg<sup>-1</sup> de solo). Adotou-se este limite de detecção como valor da quantidade dessorvida aos 64 dias.

Para traçar o ajuste linear foram desconsideradas as quantidade de ATZ dessorvidas no primeiro e aos 7 dias, onde ocorreu uma superestimativa de sorção devido ao fato do solo não ter atingido a CAD.

A amostra 0-30 ND (Tabela 9) apresentou taxa de degradação superior (0,12 mg de ATZ kg<sup>-1</sup> solo dia<sup>-1</sup>) à da amostra 30-45 (0,09 mg de ATZ kg<sup>-1</sup> de solo dia<sup>-1</sup>), sendo similar a maior taxa obtida por Ostrofsky et al. (2002) que foi de 0,14 mg de ATZ kg<sup>-1</sup> de solo dia<sup>-1</sup>.

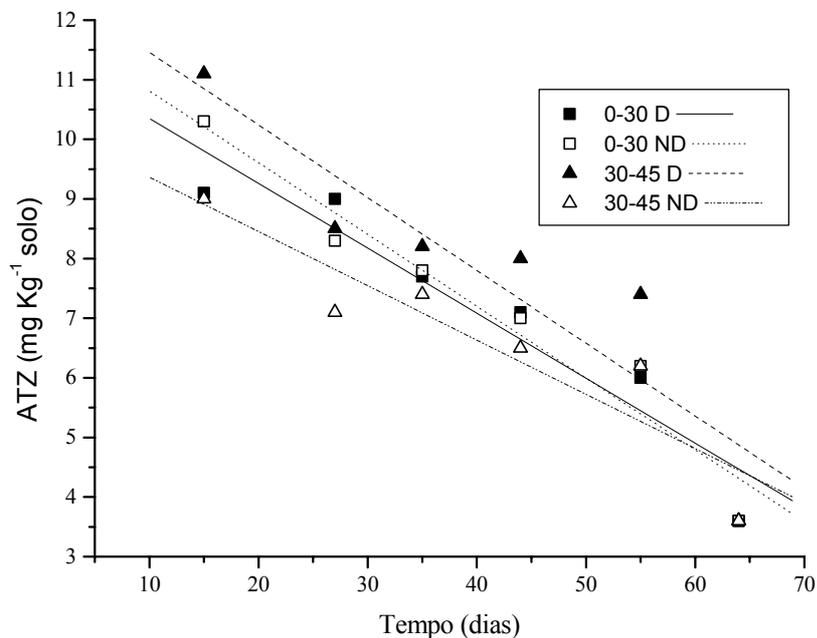


FIGURA 12. Ajuste linear traçado aos dados obtidos na dessorção de ATZ dos 15 aos 64 dias nas diferentes camadas do solo VE (0-30 e 30-45 cm), não tratado (ND) e desinfestado em forno de microondas (D).

TABELA 9. Parâmetros obtidos para as quantidades de ATZ dessorvida ao longo do tempo nas diferentes camadas do solo VE não tratado e desinfestado.

Amostra	Equação	R <sup>1</sup>	Sd <sup>2</sup>	P <sup>3</sup>
0-30 D	Y= 11,440 – 0,109X	- 0,9517	0,710	0,00344
0-30 ND	Y= 12,016 – 0,120X	- 0,9706	0,604	0,00128
30-45 D	Y= 12,680 – 0,122X	- 0,9104	1,121	0,01168
30-45 ND	Y= 10,273 – 0,091X	- 0,9257	0,752	0,00807

<sup>(1)</sup> R= coeficiente de correlação; <sup>(2)</sup> Sd= Erro padrão; <sup>(3)</sup> P= probabilidade

Em geral, as taxas de degradação do solo PV foram levemente inferiores às taxas do solo VE (0,07 a 0,09 e 0,09 a 0,12 mg de ATZ kg<sup>-1</sup> de solo dia<sup>-1</sup>, respectivamente) (Tabelas 7 e 9). Este comportamento pode ser relacionado com maior quantidade de matéria orgânica presente no solo VE que estimulou a atividade microbiana (Tabela 2).

O período de meia-vida da ATZ lábil foi diferenciado para as duas camadas do VE, estimado em 50 e 56 dias para a camada 0-30 e 30-45 cm ND, respectivamente (Tabela 10). O menor período de meia-vida na camada 0-30 cm ND do solo VE (50 dias), quando comparado com as amostras 30-45 cm ND do mesmo solo e 0-20 e 50-60 cm ND do PV, é explicado pelo maior atividade microbiana (Figura 6) nesta camada de solo.

Interessante observar que o período de meia-vida da camada 30-45 cm do VE (56 dias) foi similar ao período de meia-vida obtido nas camadas 50-60 cm do PV (63 dias). Esta similaridade possivelmente é devida a maior quantidade de ATZ na solução do solo na amostra 50-60 cm (35%) quando comparada com a amostra 30-45 cm (30%), tendo em vista que a maior atividade microbiana (Figura 6) favoreceria a degradação da ATZ na amostra 30-45 cm do VE. Embora não se tenha realizado um levantamento da diversidade da microbiota dos dois solos, a presença de uma microbiota mais adaptada em degradar ATZ no solo PV poderia justificar este comportamento.

A recuperação do herbicida no solo VE foi baixa (30 a 34%), sugerindo uma sorção significativa do herbicida no solo (Tabela 10). No solo PV, com menor teor de C e mineralogia 1:1, a recuperação foi semelhante (31 a 35%).

A degradação do herbicida disponível na solução do solo (ATZ<sub>DG/DS</sub>), após 55 dias de aplicação foi de 31,1% e 37,9%, e aos 64 dias este percentual passa a ser maior, da ordem de 60 a 65%, para as amostras das camadas 30-45 e 0-30 cm ND, respectivamente (Tabela 10). O percentual de degradação do total de herbicida aplicado ao solo (lábil + resíduo ligado, ATZ<sub>DG/TA</sub>), após 64 dias, foi baixo nas camadas 30-45 e 0-30 cm ND (18 e 22%), respectivamente. Somente uma pequena quantidade do total aplicado, (ATZ<sub>RE/LA</sub>), após 64 dias, ainda poderá sofrer degradação (< 12%). A maior parte do herbicida aplicado (66 a 70%) permanece sorvido ao solo (ATZ<sub>RE/RL</sub>), inviabilizando a degradação microbiana. Comportamento semelhante foi observado no solo PV.

TABELA 10. Quantidade de ATZ dessorvida, degradada e resíduo ligado nas diferentes camadas do solo VE não tratado e desinfestado.

Amostra	ATZ <sub>DS</sub> <sup>1</sup>	ATZ <sub>DG/DS</sub> <sup>2</sup>		ATZ <sub>DG/TA</sub> <sup>3</sup>		ATZ <sub>RE/LA</sub> <sup>4</sup>		ATZ <sub>RE/RL</sub> <sup>5</sup>	t <sub>1/2</sub> <sup>6</sup>
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	dias
		55	64	55	64	55	64		
0-30 D	30,3	34,1	>60,4	10,3	>18,3	20,0	<12,0	69,7	52
0-30 ND	34,3	36,9	>65,0	13,7	>22,3	21,7	<12,0	65,7	50
30-45 D	37,0	33,3	>67,6	12,3	>25,0	24,7	<12,0	63,0	52
30-45 ND	30,0	31,1	>60,0	9,3	>18,0	20,7	<12,0	70,0	56

(1) ATZ<sub>DS</sub>= ATZ maior percentual dessorvido; (2) ATZ<sub>DG/DS</sub>=, degradação após 55 e 64 dias a partir do maior percentual dessorvido (3) ATZ<sub>DG/TA</sub>= degradação após 55 e 64 dias a partir do total de herbicida aplicado; (4) ATZ<sub>RE/LA</sub>= quantidade de ATZ residual lábil após 55 e 64 dias de aplicação; (5) ATZ<sub>RE/RL</sub>= resíduo ligado; (6) t<sub>1/2</sub>= período de meia-vida da ATZ lábil.

A partir dos dados obtidos neste estudo pode-se inferir que a degradação da ATZ até os 64 dias foi influenciada pela atividade microbiana, que por sua vez é favorecida pelo maior teor de matéria orgânica e a disponibilidade do herbicida na solução do solo.

## 5. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos e considerando as condições em que os experimentos foram conduzidos, pode-se concluir que:

1. A atividade microbiana foi estimulada pelo aumento da umidade e de matéria orgânica do solo.
2. A contribuição da matéria orgânica na atividade microbiana se manifestou diferentemente nas duas classes de solos estudadas.
3. A atividade da população microbiana foi indiferente à aplicação de doses do herbicida ATZ até 10 vezes superiores à dose recomendada.
4. O método utilizado para avaliar a mineralização de carbono não foi suficientemente sensível para monitorar a mineralização da ATZ.
5. Aproximadamente 70% do herbicida aplicado ao solo, independentemente de dose e classe de solo, ficou sorvido ao solo.
6. A taxa de degradação da ATZ lábil foi diferenciada para doses e classes de solos, onde doses elevadas permitiram a maior taxa de degradação.
7. A técnica de irradiação por microondas foi a mais indicada para a desinfestação das amostras dos solos estudados.

## **6. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Pesticidas são e continuarão a ser ferramentas valiosas no controle de pragas, porém seu uso deve estar associado a uma análise de custo/benefício social e ambiental mais preciso e realístico, para que se possam minimizar os riscos e maximizar o retorno de benefícios dessa estratégia de controle de pragas, tanto para a sociedade quanto para o ambiente.

As conclusões obtidas em estudos de laboratório nos fornecem um indicativo de comportamento no ambiente, no entanto estas informações são limitadas. A utilização de herbicidas sempre deve ser planejada, implementada e avaliada em função do trinômio: planta, ambiente, herbicida. Estudos em nível de campo, onde o comportamento do herbicida é também influenciado pelos fatores ambientais, são necessários para otimizar a seletividade, a eficácia, a economicidade e a segurança dos herbicidas.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, C.D.; THURMAN, E.M. Formation and transport of the deethylatrazine in the soil and the vadose zone. **J. Environ. Qual.**, Madison, v.20, n.3, p.540-547, 1991.

AISLABIE, J.; LLOYD-JONES, G. A review of bacterial degradation of pesticides. **Aust. J. Soil Res.**, Collingwood, v.33, n.6, p.925-942, 1995.

ALBUQUERQUE, M.A. **Degradation of atrazine in soil and subsurface.** 1995. 164f. Tese (Doutorado) - University of Reading, Reading, 1995.

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. **R. Bras. Ci. Solo**, Viçosa, v.25, n.1, p.179-188, 2001.

ALEXANDER, M. **Introduction to soil microbiology.** 2.ed. New York: John Wiley & Sons, 1977. 467p.

ALMEIDA, P.S.G de. **Sorção de atrazina em solos de diferentes classes** 2003, 108f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

ALVAREZ, R.; DÍAZ, R.A.; BARBERO, N. et al. Soil organic carbon, microbial biomass and CO<sub>2</sub>-C production from three tillage systems. **Soil Tillage Res.**, Amsterdam, v.33, n.1, p.17-28, 1995.

ALVES, G.D. **Mineralização de carbono e nitrogênio em 20 solos do Estado de Pernambuco e absorção de nitrogênio pelo sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench).** 1989. 75f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 1989.

ALVORD, H.H.; KADLEC, R.H. The interaction of atrazine with wetland sorbents. **Ecol. Engin.**, Amsterdam, v.5, n.4, p.469-479, 1995.

ANDERSON, J.P.E. Herbicide degradation in soil: influence of microbial biomass. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, v. 16, n.5, p.483-489, 1984.

ANDERSON, K.L.; WHEELER, K.A.; ROBINSON, J.B.; TUOVINEN, O.H. Atrazine mineralization potential in two wetlands. **Water Res.**, Oxford, v.36, n.19, p.4785-4794, 2002.

ARAÚJO, A.M.S.; SAMPAIO, E.V.S.B.; SALCEDO, I.H. Mineralização do C e do N em amostras armazenadas de solo cultivado com cana-de-açúcar, ao longo de dez anos, com e sem fertilização nitrogenada. **R. Bras. Ci. Solo**, Viçosa, v.25, n.1, 43-53, 2001.

ARMSTRONG, D.E.; CHESTERS, G.; HARRIS, R.F. Atrazine hydrolysis in soil. **Soil Sci. Soc Am. Proc.**, Madison, v.31, n.1, p.61-66, 1967.

ARMSTRONG, D.E.; CHESTERS, G. Adsorption catalysed chemical hydrolysis of atrazine. **Environ. Sci. Technol.**, Washington, v.2, p.683-689, 1968.

ASPELIN, A.L.; GRUBE, A.H.; TORLA, R. **Pesticide industrial sales and usage 1990-1991 marked estimates**. Washington: EPA, 1992.

AUDUS, J.L. **Herbicides and the soil**. Oxford:Blackwell, 1960. p.1-19.

BAILEY, G.W.; WHITE, J.L. Review of adsorption and desorption of organic pesticides by soil colloids, with implications concerning pesticide bioactivity. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, v.12, n.4, p.324-332, 1964.

BAILEY, G.W.; WHITE, J.L. Factors influencing the adsorption, desorption and movement of pesticide in soil. **Res. Ver.**, Madison, v.32, p.29-92, 1970.

BANDICK, A.K.; DICK, R.P. Field management effects on soil enzyme activities. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, v.31, n.11, p.1471-1479, 1999.

BARRIUSO, E.; CALVET, R. Soil type and herbicides adsorption. **Intern. J. Environ. Anal. Chem.**, Reading, v.46, n.1-3, p.117-128, 1992.

BARRIUSO, E.; BAER, U.; CALVET, R. Dissolved organic matter and sorption desorption of dimefuron, atrazine and carbetamide by soils. **J. Environ. Qual.**, Madison, v.21, p.359-367, 1992.

BARRIUSO, E.; HOUOT, S. Rapid mineralization of the herbicide adsorption. **Intern. J. Environ. Chem.**, Madison, v.46, p.117-128, 1996.

BASKARAN, S.; BOLAN, N.S.; RAHMAN, A.; TILLMAN, R.W. Effect of exogenous carbon on the sorption and movement of atrazine and 2,4-D by soils. **Aust J. Soils Res.**, Collingwood, v.34, n.4, p.609-622, 1996.

BLANCHARD, P.E.; DONALD, W.W. Herbicide contamination of groundwater beneath claypan soils in north-central missouri. **J. Environ. Qual.**, Madison, v.26, p.1612-1621, 1997.

BOLLAG, J.M.; LIU, S.Y. Biological transformation processes of herbicides. In: CHENG, H.H., (Ed.). **Pesticides in the soil environment: processes, impacts and modelling**. Madison: Soil Science Society of America, 1990. p.169-203.

BRAGAGNOLO, N.; MIELNICZUK, J. Cobertura do solo por palha de trigo e seu relacionamento com a temperatura e umidade do solo. **R. Bras. Ci. Solo**, Campinas, v.14, n.3, p.369-374, 1990.

BROUWER, W.W.M.; BOESTEN, J.J.; SIEGERS, W.G. Adsorption of transformation products of atrazine by soil. **Weed Res.**, Oxford, v.30, n.2, p.123-128, 1990.

CALDERÓN, F.J.; JACKSON, L.E.; SCOW, K.M. et al. Short-term dynamics of nitrogen, microbial activity, and phospholipid fatty acids after tillage. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, Madison, v.65, n.1, p.118-126, 2001.

CAMPBELL, C.A.; MYERS, R.S.K.; WEIER, K.L. Potentially mineralizable nitrogen, decomposition rates and their relationship to temperature for five Queensland soils. **Aust. J. Soil Res.**, Collingwood, v.19, n.4, p.323-332, 1981.

CASSMAN, K.G.; MUNNS, D.N. Nitrogen mineralization as affected by soil moisture, temperature and depth. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, Madison, v.44, p.1233-1237, 1980.

CATTELAN, A.J.; VIDOR, C. Flutuações na biomassa, atividade e população microbiana do solo, em função de variações ambientais. **R. Bras. Ci. Solo**, Campinas, v.14, n.2, p.133-142, 1990.

CHAPMAN, R.A.; HARRIS, C.R.; HARRIS, C.J. Observations on the effect of soils type, treatment intensity, insecticide formulation, temperature and moisture on the adaptation and subsequent activity of biological agent associated with carbofuron degradation in soil. **J. Environ. Sci. and Health**, New York, v.B21, p.125-141, 1986.

CHAPMAN, R.N.; STRANGER, J.W. **Horticultural pesticide residues in water: a review of potential for water contamination by pesticides used in the vegetable industry in Victoria**. Melbourne, Australia: Department of Food and Agriculture, 1992. 137p.

CHENG, H.H.; LEHMANN, E.L. Characterization of herbicides degradation under field conditions. **Weed Sci.**, Washington, v.33, p.7-10, 1985.

CIÊNCIAS DE PLANTAS DANINHAS. **Métodos de controle de plantas daninhas**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 1992. P.48-109.

CLARK, G.M.; GOOLSBY, D.A.; BATTAGLIN, W.A. Seasonal and annual load of herbicides from the Mississippi River to the Gulf of Mexico. **Environ. Sci. Technol.**, Washington, v.33, n.7, p.981-986, 1999.

CHRISTOPHER, S.V.; BIRD, K.T. The effects of herbicides on development of *Myriophyllum spicatum* L. cultured in vitro. **J. Environ. Qual.**, Madison, v.21, n.2, p.203-207, 1992.

COLOMBINI, M.P.; FUOCO, R.; GIANNARELLI, S.; POSPISIL, L.; TRSKOVA, R. Protonation and degradation reactions of s-triazine herbicides. **Microchem. J.**, San Diego, v.59, n.2, p.239-245, 1998.

COGGER, C.G.; BRISTON, P.R.; STARK, J.D. Transport and persistence of pesticides in alluvial soils: I. Simazine. **J. Environ. Qual**, Madison, v.27, n.3, p.543-550, 1998.

COMBER, S. Abiotic persistence of atrazine and simazine in water. **Pestic Sci.**, W Sussex, v.55, n.7, p.596-702, 1999.

DAO, T.H.; LAVY, T.L. Atrazine adsorption on soil as influenced by temperature, moisture content, and electrolyte concentration. **Soil Sci. Soc. Am. Proc.**, Madison, v.32, p.629-633, 1968.

DAVIES, P.E.; COOK, L.S.J.; BARTON, J.L. Triazine herbicide contamination of Tasmanian streams: sources, concentrations and effects on biota. **Aust. J. Mar. Freshwater Res.**, Collingwood, v.45, n.2, p.209-226, 1994.

deNOYELLES, F.; KETTLE, W.D.; SÍNN, D.E. The responses of plankton communities in experimental ponds to atrazine, the most heavily used pesticide in the United States. **Ecology**, Washington, v.63, n.5, p.1285-1293, 1982.

DEWEY, S.L. Effects of the herbicide atrazine on aquatic insect community structure and emergence. **Ecology**, Washington, v. 67, n.1, p.148-162, 1986.

DICK, W.A. Influence of long-term tillage and crop rotation combinations on soil enzyme activities. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, Madison, v.48, n.3, p.569-574, 1984.

DIEKOW, J. **Antecipação da adubação nitrogenada em milho cultivado no sistema plantio direto, em sucessão à aveia preta.** 2000. 74 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.

DORAN, J.W. Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, Madison, v.44, n.3, p.765-771, 1980.

DORFLER, U.; FRIECHT, E.A.; SCHEUNERT, I. S-triazine residues in groundwater. **Chemosphere**, Oxford, v.35, n.1-2, p.99-106, 1997.

DOUGLAS, W.S.; MELNTOH, A.; CLAUSEN, J.C. Toxicity of sediments containing atrazine and carbofuran to larvae of the midge *Chironomus tentans*. **Environ. Toxic. Chem.**, Pensacola, v.12, n.5, p.847-853, 1993.

DROZDOWICZ, A.G. Microbiologia do Solo. In: ROITMAN, I; TRAVASSOS, L.R.; AZEVEDO, J.L. **Tratado de Microbiologia II.** São Paulo: Manole, 1991. p.19-57.

DUNCAN, K.W.; SCIFRES, C.J. Influence of clay and organic matter of rangeland soils on tebuthiuron effectiveness. **J. Range Manag.**, Denver, v.36, n.3, p.295-297, 1983.

EDWARDS, C.A. The impact of pesticides on the environment. In: PIMENTEL, D.; LEHMAN, H. Ed. **The pesticide question: environment, economics and ethics**. London: Chapman and Hall, 1993. p.13-46.

EDWARDS, W. M.; SHIPITALO, M.J.; OWENS, L.B. DICK, W.A. Factors affecting preferential flow of water and atrazine through earthworm burrows under continuous no-till corn. **J. Environ. Qual.**, Madison, v.22, n.3, p.453-457, 1993.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solos**. 2 ed. Rio de Janeiro, 1997. 212p.

ENO, C.F.; POPENOE, H. Gamma radiation compared with steam and methyl bromide as a soil sterilizing agent. **Soil Sci. Am. Proc.**, Madison, v.28, p.533-535, 1964.

FAY, E.F.; SILVA, C.M.M.S. ; MELO, I.S. de. Degradação abiótica de xenobióticos. In: MELO, I.S. de; AZEVEDO, J.L. de. **Microbiologia ambiental**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1997.p.125-140.

FELSOT, A.S.; DZANTOR, E.K. Enhancing biodegradation for detoxification of herbicide waste in soil. In: RACKE, K.D.; COATS, J.R. **Enhanced biodegradation of pesticides in the environment. american chemical society**. Washington:ACS, 1990. p.249-268.

FEPAGRO. **Atlas agroclimático**. Dados climáticos do Estado do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 1990.

FERREIRA, A.S.; CAMARGO, F.A.O.; VIDOR, C. Utilização de microondas na avaliação da biomassa microbiana do solo. **R. Bras.Ci. Solo**, Viçosa, v.23, n.4, p.991-996, 1999.

FERRISS, R.S. Effects of microwave oven treatment on microorganisms in soil. **Phytopathology**, St. Paul, v.74, n.1, p.121-126, 1984.

FRAGA, V.S. **Utilização de N proveniente de uréias pela cana-de-açúcar em solos tropicais**. 1989. 127f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 1989.

FRANK, R.; SIRONIS, G.J. Atrazine: its use in corn production and its loss to stream water in southern Ontario. **Sci Total Environ.**, Amsterdam, v.12, n.3, p.223-239, 1979.

FREY, D.; ELLIOTT, E.T.; PAUSTIAN, K. Bacterial and fungal abundance and biomass in conventional and no-tillage agroecosystems along two climatic gradients. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, v.31, n.4, p.573-585, 1999.

GARCIA, F.O.; RICE, C.W. Microbial biomass dynamics in tallgrass prairie. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, Madison, v.58, n.3, p.816-823, 1994.

GARMOUMA, M.; BLANCHARD, M.; CHESTERIKOFF, A.; ANSART, P.; CHEVREUIL, M. Seasonal transport of herbicides (triazine and phenylureas) in small stream draining and agricultural basin-Melarchez (France). **Water Res.**, Oxford, v.31, n.6, p.1489-1503, 1997.

GISH, T.J.; HELLING, C.S.; MOJASEVIC, M. Preferential movement of atrazine and cyanazine under field conditions. **Trans. Am Soc. Agric. Eng.**, St. Joseph, v.34, n.4, p.1699-1705, 1991.

GLOTFELTY, D.E.; TAYLOR, A.W.; ESENSEE, A.R.; CLENN, S. Atrazine and simazine movement to wye river estuary. **J. Environ. Qual.**, Madison, v.13, n.1, p.115-121, 1984.

GOMES, J.; DICK, D.P.; SOUZA, R.F. Sorção de atrazina em Cambissolo Húmico do Rio Grande do Sul sob vegetação nativa. **R. Bras. Ci. Solo**, Viçosa, v.26, p. 521-528, 2002.

GORING, C.A.I.; HAMAKER, J.W. **Organic chemicals in the environment**. New York:M. Dekker, 1972. 440p.

GRAYMORE, M.; ALLINSON, G.; ALLINSON, M.; STAGNITTI, F.; SHIBATA, Y.; MORITA, M.; Environmental fate of pesticide used in Australian viticulture: V. Behaviour of atrazine in the soil of the south Australian Riverland. **Toxicol. Environ. Chem.**, Amsterdam, v.70, p.427-439, 1999.

GRAYMORE, M.; STAGNITTI, F.; ALLINSON, G. Impacts of atrazine in aquatic ecosystems. **Environ. Intern.**, Oxford, v.26, n.7-8, p.483-495, 2001.

GREEN, R.E.; KARICKHOFF, S.W. Sorption estimates for modelling. In: CHENG, H.H. (ed.). **Pesticides in the soils environment**. Madison: Soil Soc. of Am.,1990. p.169-203.

GUZZELLA, L.; DEPAOLIS, A. BARTONI, C.; POZZONI, F. GIULIANO, G. Migration of pesticides-residues from agricultural soil to groundwater. **Int. J. Environ. Anal. Chem.**, Madison, v.65, p.261-275, 1996.

HAMILTON, P.B; JACKSON, G.; KAUSHIK N.K.; SOLOMON, K.R. The impact of atrazine on lake periphyton communities including carbon uptake dynamics using track autoradiography. **Environ. Pollut.**, Oxford, v.46, n.2, p.83-103, 1987.

HENDRICKS, C.W.; PASCOE, N. Soil microbial biomass estimates using 2.450 MHz microwave irradiation. **Plant Soil**, Dordrecht, v.110, n.1, p.39-47, 1988.

HERWING, U.; KLUMPP, E.; NERRES, H.D. SCHWUGER, M.J. Phiscochemical interactions between atrazine and clay minerals. **Appl. Clay Sci.**, Amsterdam, v.18, p.211-222, 2001.

HORVATH, R.S. Microbial co-metabolism and degradation of organic compost in nature. **Bacteriolog. Rev.**, Washington, v.36, n.2, p.146-155, 1972.

JAVARONI, R.C.; LANDGRAF, M.D; REZENDE, M.O. Comportamento dos herbicidas atrazina e alachlor aplicados em solo preparado para o cultivo de cana-de-açúcar. **Química Nova**, São Carlos, v.22, p.58-64, 1999.

JENKINSON, D.S.; POWLSON, D.S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. Method for measuring soil biomass. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, v.8, p.209-213, 1976.

JOHNSON, R.M.; FHURMANN, J.J. Degradation of atrazine and metilachlor in subsoils from an Atlantic Coastal Plain Watershed. **Soil Sci. Soc. of Am.**, Madison, v.32, p.27-31, 1993.

JONES, T.W.; WINCHELL, L. Uptake and photosynthetic inhibition by atrazine and its degradation products of four submerged vascular plants. **J. Environ. Qual.**, Madison, v.13, p.242-247, 1984.

KASSIN, G.; MARTIN, J.P.; HAIDER, K. Incorporation of a wide variety of organic substrate carbons into soil biomass as estimated by the fumigation procedure. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, Madison, v.45, p.1106-1112, 1981.

KAUFMAN, D.; KEARNEY, P.C. Microbial degradation of s-triazine herbicides. **Residue Rev.**, [s.l.], v.32, p.235-265, 1970.

KHAN, S.U. **Pesticides in the soils environment**. Amsterdam: Elsevier Scientific, 1980. 240p.

KINJO, T.; MARCOS, Z.Z.; JACOB, O.M. Produção de nitrato por incubação de amostras do horizonte AP de solos da região canavieira de Piracicaba. **R. Bras. Ci. Solo**, Campinas, v.2, p.103-106, 1978.

KOOKANA, R.S.; BASKARAN, S.; NAIDU, R. Pesticide fate and behavior in Australian soils in relation to contamination and management of soil and water: a review. **Aust. J. Soil Res.**, Collingwood, v.36, p.715-764, 1998.

KOSBINEN, W.C.; CLAY, S.A. Factors affecting atrazine fate in north central U.S. **Ver. Environ. Contam. Toxicol.**, Pensacola, v.151, p.117-165, 1997.

KOTRIKLA, A.; LEKKAS, T.; BLETSA, G. Toxicity of the herbicide atrazine, two of its degradation products and the herbicide metolachlor of photosynthetic microorganisms. **Environ. Biol.**, Amsterdam, v.6, p.502-527, 1997.

KRISTENSEN, H.L.; McCARTY, G.W.; MEISINGER, J.J. Effects of soil disturbance on mineralization of organic soil nitrogen. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, Madison, v.64, n.1, p.371-378, 2000.

KRUGER, E.L.; SOMASUNDARAM, L.; KANWAR, R.S.; COATS, J.R. Persistence and degradation of [<sup>14</sup>C] atrazine and [<sup>14</sup>C] deisopropylatrazine as affected by soil depth and moisture conditions. **Environ. Toxicol. Chem.**, Pensacola, v.12, p.1959-1967, 1993.

LAIRD, D.A.; YEN, P.Y.; KOSKINEN, W.C.; STEINHEIMER, T.R.; DOWDY, R.H. Sorption of atrazine on soil clay components. **Environ. Sci. Technol.**, Washington, v.28, p.1054-1061, 1994.

LAVORENTI, A. Comportamento dos Herbicidas no Solo. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS, 3., 1999, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria: Programa de Pós-Graduação em Agronomia da UFSM, 1999. p.145-152.

LEMOS, E.E.P. **Mineralização do carbono e do nitrogênio em dois sistemas de incubação em solo cultivado com cana-de-açúcar.** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 1986. 102f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 1986.

LIMA Jr., M. **Nitrogen nutrition of sugar cane in NE Brazil.** Saskatoon: Saskatoon, 1982. 172f. Tese (Doutorado)- University of Saskatchewan, Saskatoon, 1982.

LICHTENSTEIN, E.P.; SCHULTZ, K.R. The effects of moisture and microorganisms on the persistence and metabolism of some organophosphorus insecticides in soils, with special emphases on parathion. **J. Econ. Entom.**, Lanham, Madison, v.57, p.618-627, 1964.

LLOYD-SMITH, J.; ALLINSON, G.; STAGNITTI, F.; COLVILLE, S.; CORDELL, S. The fate of atrazine in forestry soil and groundwater. **Geophys. Res.**, Amsterdam, v.1, p. 322-329, 1999.

LOCKE, M.A.; BRYSON, C.T. Herbicide-soil interactions in reduced tillage and plant residue management systems. **Weed Sci.**, Washington, v.45, p.307-320, 1997.

LOPES, A.S.; WOLLUM. Comparative effects of methyl bromide, propylene oxide, and autoclave sterilization on specific soil chemical characteristics. **Turrialba**, Costa Rica, v.26, p.351-355, 1976.

LUCHINI, L.C. **Adsorção-dessorção dos herbicidas paraquat, diuron e 2,4-D em seis solos brasileiros.** Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 1987. 91f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 1987.

MARTIN, J.P.; FARMER, W.J.; ERVIN, J.O. Influence of steam treatment and fumigation of soil on growth and elemental composition of avocado seedlings. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, Madison, v.37, p.56-60, 1973.

MARTIN-NETO, L.; VIEIRA, E.N.; SPOSITO, G.L. Mechanism of atrazine sorption by humic acid: a spectroscopic study. **Environ. Sci. Technol.**, Washington, v.28, p.1867-1873, 1994.

MASSE, L.; PATNI, N.K.; JUI, P.Y.; CLEGG, B.S. Groundwater quality under conventional and no-tillage-II atrazine, deethylatrazine and metolachlor. **J. Environ. Qual.**, Madison, v.27, p.877-883, 1998.

MILLS, M.S.; THURMAN, E.M. Preferential dealkylation reactions of s-triazine herbicides in the unsaturated zone. **Environ. Sci. Technol.**, Washington, v.26, p.2296-2300, 1994.

MINHONI, M.T.A.; CERRI, C.C. Decomposição de vinhaça em solo sob diferentes níveis de umidade: liberação de CO<sub>2</sub>, formação de biomassa microbiana e imobilização do nitrogênio adicionado. **R. Bras. Ci. Solo**, Campinas, v.11, p.25-30, 1987.

MONTEIRO, R.T. Degradação de pesticidas. In: MELO, I.S. de; AZEVEDO, J.L. de. **Microbiologia Ambiental**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1997.p.107-124.

MONTIEL, A.; WELTÉ, B. Alternative à l'utilisation de l'atrazine. La cyanazine: moyens d'élimination. **Environ. Technol.**, Washington, v.13, p.719-725, 1992.

MONZ, C.A.; REUSS, D.E.; ELLIOTT, E.T. Soil microbial biomass and nitrogen estimates using 2.450 MHz microwave irradiation or chloroform fumigation followed by direct extraction. **Agric. Ecosyst. Environ.**, Amsterdam, v.34, n.1-4, p.55-63, 1991.

MOORMAN, T.B. Adaption of microorganisms in subsurface environments: significance to pesticide degradation. In: RACKE, K.D.; COATS, J.R. **Enhanced biodegradation of pesticides in the environment**. Washington: ACS, 1990. p.167-180.

MOUGIN, C.; LAUGERO, C.; ASTHER, M.; DUBROCA, J.; FRASSE, P. Biotransformation of the herbicide atrazine by the white rot fungus *phanerochaete-chrysosporium*. **Appl. Environ. Microbiol.**, Washington, v.60, n.2, p.705-708, 1994.

NAGY, I.; COMPERNOLLE, F.; GUYS, K.; VANDERLEYDEN, J.; DE MOT, R. A single cytochrome P-450 system is involved in degradation of the herbicide EPTC (s-ethyl dipropylthiocarbamate) and atrazine by *Rhodococcus* sp. Strain N186/21. **Appl. Environ. Microbiol.**, Washington, v.61, n.5, p.2056-2060, 1995.

NIRA, R.; NISHIMUNE, A. Studies in nitrogen mineralization properties of Tokachi soils by kinetic analysis. **Soil Sci. Plant Nut.**, Tokyo, v.39, n.2, p.321-329, 1993.

ORCHARD, V.A.; COOK, F.J. Relationship between soil respiration and soil moisture. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, v.15, n.4, p.447-453, 1983.

OSTROFSKY, E.B.; ROBINSON, J.B.; TRAINA, S.J.; TUOVINEN, O.H. Analysis of atrazine-degrading microbial communities in soils using most-probable-number enumeration, DNA hybridization, and inhibitors. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, v.34, p.1449-1459, 2002.

PARKINSON, D.; GRAY, T.R.G; WILLIAMS, S.T. **Methods for studying the ecology of soil microorganisms**. Oxford: Blackwell, 1971. 116p.

PARSONS, B.; WITT, J.M. **Pesticides in groundwater in the USA**. A report of a 1988 survey of US States. Eugene: Oregon State University Extension Service, 1989.

PELCZAR, M.J.; REID, R.; CHAN, E.C.S. **Microbiologia**. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1981. v.1.

PICOLLO, A.; CONTE, P.; SHEURENERT, I.; PAZI, M. Atrazine interactions with soil humic substances of different molecular structure. **J. Environ. Qual.**, Madison, v.27, p.1324-133, 1998.

PIONKE, H.B.; GLOTFELTY, D.W. Contamination of groundwater by atrazine and selected metabolites. **Chemosphere**, Oxford, v. 21, n.6, p.813-822, 1990.

POTTKER, D.; TEDESCO, M.J. Efeito do tipo e tempo de incubação sobre a mineralização da matéria orgânica e nitrogênio total em solos do Rio Grande do Sul. **R. Bras. Ci. Solo**, Campinas, v.3, p.20-24, 1979.

PURI, G.; BARRACLOUGH, D. Comparison of 2.450 MHz microwave radiation and chloform fumigation-extraction to estimate soil microbial biomass nitrogen using <sup>15</sup>N-labelling. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, v.25, p.521-522, 1993.

QUEIROZ M.E.C.; LANÇAS, F.M. HRGC. Study of sorption and desorption of atrazine, ametryn and metolachor on Brazilian Soils. **J. Braz. Chem. Soc.**, São Paulo, v.8, p.1-6, 1997.

RACKE, K.D. Pesticide in the soils microbial ecosystem. In: RACKE, K.D.; COATS, J.R. **Enhanced biodegradation of pesticides in the environment**. **american chemical society**. Washington:ACS, 1990. p.1-12.

REICOSKY, D.C.; KEMPER, W.D.; LANGDALE, G.W. et al. Soil organic matter resulting from tillage and biomass production. **J. Soil and Water Cons.**, Ankeny, v.50, n.3, p.253-261, 1995.

REICOSKY, D.C.; DUGAS, W.A.; TORBET, H.A. Tillage-induced soil carbon dioxide loss from different cropping systems. **Soil Tillage Res.**, Amsterdam, v.41, n.1-2, p. 105-118, 1997.

ROBERTS, J.D.; CASERIO, C.M. **Basic principles of organic chemistry**. New York:Benjamin Cummings, 1965. 1315p.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. de (Ed). **Guia de herbicidas**. 4 ed. Londrina: Iapar, 1998. 647p.

ROTHSTEIN, E.; STEENHUIS, T.S.; PEVERLY, J.H.; GEOHRING, L.D. Atrazine fate on a tile trained field in northern New York: a case study. **Agric. Water Man.**, Washington, v.31, p.195-203, 1996.

SALCEDO, I.H.; SAMPAIO, E.V.S.B.; ALVES, G.D. Mineralização do carbono e do nitrogênio em solo cultivado com cana-de-açúcar. **R. Bras. Ci. Solo**, Campinas, v.9, p.33-38, 1985.

SALINAS-GARCIA, J.R.; HONS, F.M.; MATOCHA, J.E. Long-term effects of tillage and fertilization on soil organic matter dynamics. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, Madison, v.61, n.1, p.152-159, 1997.

SALTON, J.C.; MIELNICZUK, J. Relações entre sistemas de preparo, temperatura e umidade de um Podzólico vermelho-escuro de Eldorado do Sul (RS). **R. Bras. Ci. Solo**, Campinas, v.19, n.2, p.313-319, 1995.

SAWHNEY, B.L.; SINGH, S.S. Sorption of atrazine by Al- and Ca- saturated smectite. **Clays and clay Minerals**, London, v.45, p.333-338, 1997.

SCHIAVON, M. Studies of the leaching of atrazine, of its chlorinated derivates and of hydroxyatrazine from soil using  $^{14}\text{C}$  ring-labelled compound under outdoor conditions. **Ecotox. Environ. Safety**, San Diego, v.15, n.1, p.46-54, 1988a.

SCHIAVON, M. Studies of the movement and the formation of bound residues of atrazine, of its chlorinated derivates and of hydroxyatrazine from soil using  $^{14}\text{C}$  ring-labelled compound under outdoor conditions. **Ecotox. Environ. Safety**, San Diego, v.15, p.55-61, 1988b.

SCHIELDS, J.A.; PAUL, E.A.; LOVE, W.E. Factors influencing the stability of labelled microbial materials in soil. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, v.6p.31-37, 1974.

SENESI, N. Binding mechanisms of pesticides to soil humic substances. **The Sci. Total Environ.**, Amsterdam, v.124, p. 63-76, 1992.

SENSEMAN, S.A.; LAVY, T.L.; DANIEL, T.C. Monitoring groundwater for pesticides at selected mixing/loading sites in Arkansas. **Environ. Sci. Technol.**, Washington, v.31, p.283-288, 1997.

SHELTON, D.R.; SADEGHI, A.M.; ISENSEE, A. Effect of tillage on atrazine bioavailability. **Soil Sci.**, Baltimore, v.63, n.11, p.891-896, 1998.

SILVA FILHO, G.N.; VIDOR, C. As práticas de manejo de solo na população microbiana. **R. Bras. Ci. Solo**, Campinas, v.8, n.2, p.291-296, 1984.

SKIPPER, H.D.; WESTERMANN, D.T. Comparative effects of propylene oxide, sodium azide, and autoclaving on selected soil properties. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, v.5, p.409-414, 1973.

SPARKS, D.L. **Environmental of Soil Chemistry**. San Diego: Academic Press, 1995. 336p.

SPIER, T.W.; COWLING, J.C.; SPARLING, G.P.; WESR, A.W.; CORDEROY, D.M. Effects of microwave radiation on the microbial biomass, phosphatase

activity and levels of extractable N and P in a low fertility soil under pasture. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, v.18, p.377-382, 1986.

STAGNITTI, F.; SHERWOOD, J.; ALLINSON, G.; EVANS, L.; ALLINSON, M.; LIL; PHILLIPS, I. An investigation of localised soil heterogeneities on solute transport using a multisegment percolation system. **NZ J. Agric. Res.**, Melbourne, v.41, p.603-612, 1998.

STANFORD, G.; FRERE, M.H.; SCHWANINGER, D.H. Temperature coefficient of soil nitrogen mineralization. **Soil Sci**, Merborne, v.115, p.321-323, 1973.

STANFORD, G.; FRERE, M.H.; VANDER POL, R.A. Effect of fluctuating temperatures on soil nitrogen mineralization. **Soil Sci**, Baltimore, v.119, p.222-226, 1975.

STEHOUWER, R.C.; DICK, W.A.; TRAINA, S.J. Characteristics of earthworm burrow lining affecting atrazine sorption. **J. Environ. Qual.**, Madison, v.22, p.181-5, 1993.

STEINBERG, C.E.W.; LORENS, R.; SPIESER, O.H. Effects of atrazine on swimming behaviour of zebrafish, *Brachydanio rerio*. **Water Res.**, Oxford, v.29, n.3, p.981-985, 1995.

STEVENSON, S.J. Organic matter reactions involving herbicides in soil. **J. Environ. Qual.**, Madison, v.1, n.4, p.333-343, 1972.

STOTZKY, G. Microbial respiration. In: BLACK, C.A (eds.). **Methods of soils analysis**. Part 2. Madison: American Society of Agronomy, 1965. p.1550-1572.

STRECK, E.V.; KÄMPF, N.; DALMOLIN, R.S.D.; KLAMT, E.; NASCIMENTO, P.C. do; SCHNEIDER, P. **Solos do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: EMATER/RS: UFRGS, 2002. 126p.

TEDESCO, M.J.; BOHNEN, H.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; VOLKWEISS, S.J. Análise de solo, plantas e outros materiais. 2 ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995. 174p. (Boletim Técnico, 5).

THURMAN, E.M.; MEYER, M.T.; MILLS, M.S; ZIMMERMAN, L.R.; PERRY, C.A. Formation and transport of desethylatrazine and deisopropylatrazine in surface water. **Environ. Sci. Technol.**, Washington, v.28, p.2267-2277, 1994.

TSAI, S.M.; BARAIBAR, A.A.L.; ROMANI, V.L. Efeito de fatores do solo. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P.(Coord.) **Microbiologia do Solo**. Campinas: SBCS, 1992. p.59-72.

TORSVIK, V.; SORHEIN, R.; GOKSOYR, J. Total bacterial diversity in soil and sediment communities – a review. **J. Industrial Microbiol.**, New York, v.17, n.1, p.170-178, 1996.

TRIEGEL, E.K.; GUO, L. Overview of the fate of pesticides in the environment, water balance: runoff vs. leaching. In: HONEYCUTT, R.C.; SCHALACKER, D.J.

**Mecanismos of pesticide movement into groundwater.** Boca Raton: CRC Press, 1994. p.1-13.

VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, v.19, p.703-707, 1987.

VANDERHEYDEN, V.; DEBONGNIE, P.; PUSSEMIER, L. Accelerated degradation and mineralization of atrazine in surface and subsurface soil materials. **Pest. Sci.**, W Sussex, v.49, n.3, p.237-242, 1997.

VARGAS, L.K.; SCHOLLES, D. Biomassa microbiana e produção de C-CO<sub>2</sub> e N mineral de um solo Podzólico vermelho-escuro submetido a diferentes sistemas de manejo. **R. Bras. Ci. Solo**, Viçosa, v.24, p.35-42, 2000.

VELA, G.R.; WU, J.F.; SMITH, D. Effect of 2.450 MHz microwave radiation on some soil microorganisms in situ. **Soil Sci.**, Baltimore, v.121, n.1, p.44-51, 1976.

VELA, G.R.; WU. Mechanism of lethal action of 2.450 MHz radiation on microorganisms. **Appl. Environ. Microbiol.**, Washington, v.37, n.3, p.550-553, 1979.

VIDAL, R.A.; MEROTTO JR., A. (Eds.). **Herbicidologia**. Porto Alegre: Ed. autor, 2001. 152p.

ZAGAL, E. Effects of microwave radiation on carbon and nitrogen mineralization in soil. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, v.21, p.603-605, 1989.

WAINWRIGHT, M; KILLHAM, K.; DIPROSE, M.F. Effects of 2.450 MHz microwave radiation of nitrification and S-oxidation in soil. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, v.12, p.489-493, 1980.

WALKER, A. Herbicide persistence in soil. **Rev. Weed Sci.**, Champaign, v.3, p.1-17, 1987.

WARDLE, D.A. Técnicas de isolamento de microrganismos. In: HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R.S. (Eds.). **Manual de Métodos Empregados em Estudos de Microbiologia**. Brasília: Embrapa, 1994.

WEBER, J.B. Properties and behavior of pesticide in soil. In: HONEYCUTT, R.C.; SCHALACKER, T.J. **Mecanismos of pesticide movement into groundwater**. Boca Raton: CRC Press, 1994. p.15-41.

WHALLEY, W.R.; DUMITRU, E.; DEXTER, A.R. Biological effects of soil compactation. **Soil Tillage Res.**, Amsterdam, v.35, n.1, p.53-68, 1995.

WHEATLEY, R.; RITZ, K.; GRIFFITHS, B. Microbial biomass and mineral N transformations in soil planted with barley, ryegrass, pea or turnip. **Plant Soil**, Dordrecht, v.127, n.1, p.157-167, 1990.

WINKELMANN, D.A.; KLAINÉ, S.J. Degradation and bound residue formation of four atrazine metabolites, deethylatrazine, deisopropylatrazine and hydroxyatrazine, in a western Tennessee soil. **Environ. Toxicol. Chem.**, Pensacola, v.10, p.347-54, 1991.

WOLF, D.C.; DAO, T.H.; SCOTT, H.D.; LAVY, T.L. Influence of sterilization methods on selected soil microbiological, physical, and chemical properties. **J. Environ. Qual.**, Madison, v.18, p.39-44, 1989.

WOLF, D.C.; SKIPPER, H.D. Soil sterilization. In: **Methods of soil analysis**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. Part 2. p.41-51.

WORTHING, C.R.; HANCE, R.J. **The pesticide manual**. UK: Surrey: Crop Protection Council, 1991. 350p.

## 8. APÊNDICES

APÊNDICE 1. Quantidade de ATZ desorvida em função do tempo, para diferentes doses de aplicação do herbicida na camada de 0-20 cm do solo PV.

Doses	ATZ <sub>DS</sub> (mg Kg solo <sup>-1</sup> )									
	Tempo (dias)									
	1	7	15	22	29	36	42	49	56	63
4x	2,7 ± 0,6 Ca	2,7 ± 0,3 Ca	3,3 ± 0,1 Ca	2,5 ± 0,4 Ba	2,4 ± 0,3 Cab	2,0 ± 0,2 Cb	2,2 ± 0,2 Bb	2,2 ± 0,2 Cb	2,1 ± 0,2 Cb	1,6 ± 0,2 Bb
7x	7,3 ± 0,6 Ba	6,2 ± 0,6 Bab	6,2 ± 0,6 Bab	5,0 ± 0,9 Abc	5,5 ± 0,2 Bb	4,3 ± 0,4 Bc	3,9 ± 1,1 Ac	3,4 ± 0,2 Bcd	3,0 ± 0,5 Bd	2,8 ± 0,1 Ad
10x	9,5 ± 0,3 Aa	8,1 ± 0,1 Ab	8,6 ± 0,8 Aab	6,0 ± 0,6 Ac	6,4 ± 0,2 Ac	5,4 ± 0,3 Acd	4,4 ± 0,5 Ad	4,4 ± 0,1 Ad	4,2 ± 0,2 Ad	2,5 ± 0,6 ABe

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5%. Letras maiúsculas comparam diferentes doses no mesmo tempo, nas colunas. Letras minúsculas comparam a mesma dose em diferentes tempos, nas linhas.

APÊNDICE 2. Valores de pH em função do tempo para as camadas 0-20 e 50-60 cm do solo PV na ausência do herbicida (T) e na aplicação de 10x dose (A) herbicida, irradiadas em forno de microondas (D) e não tratado (ND).

Amostras	Valores de pH						
	Tempo (dias)						
	1	10	27	35	44	55	64
T 0-20 D	5,2	5,2	5,4	5,0	5,0	4,7	4,8
A 0-20 D	5,0	5,0	5,2	4,9	4,8	4,8	4,8
T 0-20 ND	5,2	5,2	5,1	4,9	4,8	4,7	4,7
A 0-20 ND	5,2	5,2	5,2	5,0	4,9	4,7	4,6
T 50-60 D	4,9	4,9	5,2	4,7	4,6	4,4	4,5
A 50-60 D	4,8	4,8	5,0	4,8	4,6	4,4	4,5
T 50-60 ND	4,9	4,9	5,1	4,8	4,6	4,5	4,4
A 50-60 ND	5,0	5,0	5,1	4,7	4,6	4,6	4,6

APÊNDICE 3. Valores de pH em função do tempo para as camadas 0-30 e 30-45 cm do solo VE na ausência do herbicida (T) e na aplicação de 10x dose (A) herbicida, irradiadas em forno de microondas (D) e não tratado (ND).

Amostras	Valores de pH						
	Tempo (dias)						
	1	10	27	35	44	55	64
T 0-30 D	5,4	5,4	5,3	5,3	4,9	4,9	4,9
A 0-30 D	5,4	5,4	5,3	5,3	5,0	4,9	5,0
T 0-30 ND	5,1	5,1	4,8	4,7	4,4	4,2	4,3
A 0-30 ND	5,1	5,1	4,7	4,7	4,4	4,2	4,3
T 30-45 D	5,5	5,5	5,4	5,5	5,2	5,1	5,1
A 30-45 D	5,6	5,5	5,4	5,4	5,2	5,1	5,1
T 30-45 ND	5,7	5,7	5,6	5,6	5,2	5,1	5,1
A 30-45 ND	5,6	5,6	5,4	5,5	5,2	5,0	5,1

APÊNDICE 4. Quantidade de ATZ desorvida em função do tempo, para diferentes camadas do solo PV.

Amostras	ATZ <sub>DS</sub> (mg Kg solo <sup>-1</sup> )							
	Tempo (dias)							
	1	7	15	27	35	44	55	64
0-20 D	8,5±2,3 Aa	7,0±1,3 Ba	7,7±0,7 Aa	6,7±0,5 Ba	6,9±0,7 Ba	6,7±1,0 Aa	5,6±0,2 Ba	<3,6 b
0-20 ND	9,4±1,3 Aa	9,2±0,2 ABa	7,6±0,1 Ab	8,1±0,4 Aab	7,1±0,2 Bb	6,5±0,5 Ab	6,5±0,3 ABb	<3,6 c
50-60 D	9,3±1,0 Aa	9,6±1,1 Aa	9,4±0,6 Aa	8,7±0,7 Aa	8,0±0,8 ABa	7,9±0,5 Aab	7,2±0,4 Ab	<3,6 c
50-60 ND	10,5±1,2 Aa	10,0±1,0 Aa	9,4±0,9 Aa	8,2±0,2 Aa	9,3±1,1 Aab	7,5±0,3 Ab	7,5±0,7 Ab	<3,6 c

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5%. Letras maiúsculas comparam diferentes amostras no mesmo tempo, nas colunas. Letras minúsculas comparam a mesma amostra em diferentes tempos, nas linhas.

APÊNDICE 5. Quantidade de ATZ desorvida em função do tempo, para diferentes camadas do solo VE.

Amostras	ATZ <sub>DS</sub> (mg Kg solo <sup>-1</sup> )							
	Tempo (dias)							
	1	7	15	27	35	44	55	64
0-30 D	7,3±1,0 Aa	8,4±0,7 Aa	9,1±1,6 Aa	9,0±0,7 Aa	7,7±0,8 Aa	7,1±0,2 Aab	6,0±0,6 Ab	<3,6 c
0-30 ND	6,4±0,5 Ac	8,6±0,1 Ab	10,3±0,5 Aa	8,3±0,2 Ab	7,8±0,4 Ab	7,6±1,0 Abc	6,5±0,7 Ac	<3,6 d
30-45 D	6,7±0,5 Ab	8,6±1,4 Aa	11,1±2,2 Aa	8,5±0,8 Aa	8,2±0,6 Aab	8,0±0,4 Ab	7,4±0,1 Ab	<3,6 c
30-45 ND	5,7±0,5 Ab	8,3±0,8 Aa	9,0±1,4 Aa	7,1±1,0 Aa	7,4±0,7 Aa	6,5±0,4 Aab	6,2±1,2 Ab	<3,6 c

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5%. Letras maiúsculas comparam diferentes amostras no mesmo tempo, nas colunas. Letras minúsculas comparam a mesma amostra em diferentes tempos, nas linhas.