



BR0343046

INIS-BR--3826

BIODEGRADAÇÃO DE ^{14}C -ATRAZINA EM CONDIÇÕES SEMI CONTROLADAS

BRIGIDA PIMENTEL VILLAR DE QUEIROZ
Bióloga

Orientadora: Dra. Regina Teresa Rosim Monteiro

N.º 69685
USP - Campus de Piracicaba
DIVISÃO DE BIBLIOTECA
E DOCUMENTAÇÃO

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade
de São Paulo, para obtenção do título de Mestre
em Agronomia, Área de Concentração:
Microbiologia Agrícola.

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

Outubro - 1997

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	ix
RESUMO.....	xi
SUMMARY.....	xiii
1 - INTRODUÇÃO.....	1
2 - REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1 - Considerações gerais.....	3
2.2 - Degradação.....	5
2.2.1. - Degradação fotoquímica.....	5
2.2.2 - Biodegradação.....	8
2.2.2.1 - Fatores ambientais que influenciam na biodegradação.....	9
2.3 - Adsorção.....	15
2.4 - Mobilidade.....	20
2.5 - Volatilização.....	23
2.6 - Característica do herbicida atrazina	24
2.6.1 - Degradação da atrazina.....	26
3 - MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3.1 - Solo.....	35
3.2 - Herbicida.....	35
3.3 - Preparo da solução do herbicida.....	36
3.4 - Peso seco.....	37

3.5 - Determinação da capacidade de campo.....	37
3.6 - Aplicação do herbicida.....	37
3.7 - Incubação dos frascos.....	39
3.8 - Extração de $^{14}\text{CO}_2$	40
3.9 - Cálculo da meia vida.....	41
3.10 - Extração dos resíduos do solo.....	42
3.10.1 - Dessorção.....	42
3.10.2 - Extração.....	42
3.10.3 - Fracionamento da matéria orgânica.....	43
3.11 - Determinação da radioatividade.....	44
3.12 - Combustão das amostras de solo.....	46
3.13 - Concentração dos extratos.....	46
3.14 - Cromatografia de camada delgada (ccd).....	47
4. - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
4.1 - Desprendimento de $^{14}\text{CO}_2$	49
4.2 - Meia vida.....	53
4.3 - Determinação dos resíduos do solo.....	55
4.3.1 - Resíduo extraíveis.....	55
4.3.2 - Resíduos não-extraíveis (ligado).....	58
4.4 - Identificação dos resíduos extraíveis através de cromatografia de camada delgada.....	64
5 - CONCLUSÕES.....	68
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69
7 - APÊNDICE 1.....	88

8 - APÊNDICE 2.....	96
---------------------	----

LISTA DE FIGURAS

	Página
1. - Estruturas moleculares da atrazina e dos produtos de degradação ..	29
2. - Estrutura molecular da atrazina.....	36
3. - Sistema para retenção de $^{14}\text{CO}_2$ desprendido, em ensaios de biodegradação.....	39
4. - Sistema de extração do $^{14}\text{CO}_2$ das pastilhas de cal sodada.....	41
5. - Esquema do fracionamento químico do solo.....	45
6. - Porcentagem de $^{14}\text{CO}_2$ desprendido e acumulado durante 150 dias de incubação.....	52
7. - Porcentagem de ^{14}C -resíduos radiomarcado dessorvidos e extraídos a partir da aplicação de ^{14}C -atrazina, durante período de 150 dias de incubação.....	57
8. - Quantificação dos resíduos ligados recuperados nas frações pirofosfato (ácido fúlvico + húmico), em relação ao aplicado	61
9. - Recuperação dos resíduos extraíveis e ligados, durante um período de 150 dias de incubação.....	63

LISTA DE TABELAS

	Página
1. - Resíduos dos dessorvidos e extraídos, quantificados percentualmente, em relação a concentração aplicada.....	58
2. - Resíduos quantificados percentualmente de ^{14}C -atrazina, ligados nas diferentes frações do solo - pirofosfato (ácidos fúlvicos + ácidos húmicos) e humina, em relação a concentração aplicada.....	60
3. - Porcentagem de recuperação total dos resíduos ^{14}C -atrazina, em relação a concentração aplicada.....	63
4. - Recuperação percentual de resíduos dos metabólitos de ^{14}C -atrazina, obtidos por cromatografia de camada delgada, no sistema de solventes: cloroformio:metanol:ácido fórmico:água (80:15:5:1 v/v), dos extratos dessorvidos e extraídos, após diferentes períodos de incubação.....	66

BIODEGRADAÇÃO DE ^{14}C -ATRAZINA EM CONDIÇÕES SEMI-CONTROLADAS

Autora: BRIGIDA PIMENTEL VILLAR DE QUEIROZ

Orientadora: Dra. REGINA TERESA ROSIM MONTEIRO

RESUMO

A biodegradação da atrazina radiomarcada uniformemente em seus carbonos do anel, foi avaliada em condições semi controladas. Amostras de 200g do solo - Latossolo Vermelho-Escuro, Álico, A moderado, textura média, tratadas com uma solução de atrazina com atividade de 135,42kBq e dose de 2mg i.a./kg de solo (5L/ha) foram colocadas em frascos Erlenmeyers de 300ml de capacidade e a umidade ajustada para 75% da capacidade de campo. Estes frascos foram enterrados na Estação Experimental de Lisímetro do CENA/USP onde se iniciou, ao mesmo tempo, uma plantação de milho. O $^{14}\text{CO}_2$ desprendido pela ação de microrganismos degradadores de atrazina, foi avaliado a cada quinze dias, durante 150 dias. Os resíduos formados no solo durante o período de incubação, foram determinados, em termos de dessorção utilizando cloreto de cálcio, extração com os solventes acetonitrila/água (8:2 v/v) e resíduos ligados por combustão. O solo extraído foi fracionado com pirofosfato de sódio e os resíduos ligados nas frações

humina, ácidos húmico e fúlvico foram determinados por cintilometria líquida. Ao final do período de incubação de 150 dias o $^{14}\text{CO}_2$ desprendido, alcançou 36% da atividade total aplicada, os resíduos ligados no total de 34% ficaram distribuídos na fração humina 63,26%, ácido fúlvico 29,91% e ácido húmico 6,83%. Os metabólitos presentes nas frações de resíduos dessorvidos e extraídos, foram identificados através de cromatografia de camada delgada. Após 150 dias de incubação os resíduos formados nas frações dessorvidas foram 44% de hidroxiatrazina, 3,28% de desisopropilatrazina e 52,72% de atrazina e nas frações extraídas foram 16,22% de hidroxiatrazina, 2,25% de desisopropilatrazina, 2,24% de desetilatrazina e 79,29% de atrazina.

SUMMARY

BIODEGRADATION OF ^{14}C -ATRAZINE UNDER OUTDOOR CONDITIONS

Author: BRIGIDA PIMENTEL VILLAR DE QUEIROZ

Adviser: Dra. REGINA TERESA ROSIM MONTEIRO

Uniformly ^{14}C -ring labeled atrazine (5L/ha) was applied to a Typical Hapludox Brazilian Soil sample which was incubated under outdoor conditions. Samples of 200g (dry weight base) of fresh soil were distributed in Erlenmeyer flasks and the moisture was adjusted for 2/3rds of the soil field capacity. The flasks were then buried in the Lysimeter Station when they were incubated. The experiment started jointly with a corn planting. The $^{14}\text{CO}_2$ was analyzed every 15 day, during a period of 150 days. The desorbed, extracted and bound residues were analyzed. The extracted soil was fractionated and the residues in the humin, fulvic and humic acids were determined. At the end of the incubation period (150 days), the $^{14}\text{CO}_2$ evolved reached up to 36% of the total applied activity, the bound residues were detected in about the same (34%) during the inoculation period, and were distributed in the fractions of fulvic acids (29,91%), humic acids (6,83%) and humin (63,26%). The metabolites formed in the desorbed residues and in the extracted residues were determined using thin layer chromatography with ^{14}C -detector. After 150 days incubation, desorbed soil residues were

identified as atrazine (52,72%), hydroxiatrazine (44%) and desisopropil atrazine (3,28%). The extractable residues contained atrazine (79,29%), hydroxiatrazine (16,22%), desisopropil atrazine (2,25%) and desethyl atrazine (2,24%).

1. INTRODUÇÃO

A atrazina é um dos herbicidas mais utilizados em todo o globo terrestre como um agente de controle de ervas daninhas, principalmente em culturas de milho. É considerada como um herbicida moderadamente persistente, sendo ampla a literatura que trata sobre contaminações de cursos d'água, solo, ar, lençol freático, chuva, neve e neblina, principalmente nos USA e Europa. Isto se deve a processos de volatilização, lixiviação, escoamento superficial, reações químicas e, principalmente, à sua persistência no ambiente.

Atrazina é um dos herbicidas mais estudados quanto a degradação, mobilidade, comportamento e destino no ambiente. A degradação pode se dar via processos químicos e microbiológicos, originando produtos hidroxilados e desalquilados, respectivamente. Adsorção moderada da atrazina por substâncias húmicas e minerais tem sido avaliada em vários experimentos, bem como os fatores que influenciam sua persistência. A matéria orgânica vem sendo considerada o mais importante fator de retenção de pesticidas não polares – a atrazina é considerada de baixa polaridade. Entretanto, o pH pode também ter uma importante influência na sua adsorção e dessorção no ambiente do solo. Sua meia vida varia de dias à anos, dependendo das condições ambientais, e das características do solo em questão, sendo que os microrganismos têm sido considerados os principais responsáveis por sua degradação. Além disso, os fatores que mais afetam a atividade microbiana são também os que mais afetam a degradação do pesticida, como por exemplo umidade e temperatura. A umidade não só afeta

a diversidade das espécies microbianas como a biodisponibilidade dos compostos químicos à biodegradação. Da mesma forma, a temperatura ótima para ocorrer a degradação está dentro da faixa de atividade metabólica máxima dos microrganismos.

Sua mobilidade é constatada através de estudos em campo, utilizando lisímetros, ou em laboratório, através de colunas de solo. Em ambos procedimentos experimentais, a atrazina e alguns de seus produtos de degradação, são classificados como móveis e fortes contaminantes do ambiente.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar, em condições semi controladas, a mineralização de ^{14}C -atrazina em um tipo de solo intensivamente utilizado para fins agrícolas no Estado de São Paulo e a distribuição dos seus resíduos radiomarcados nas diferentes frações do solo, que foi verificada através de técnicas radiométricas, após aplicação da solução contendo atrazina (produto técnico) e ^{14}C -atrazina.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Considerações gerais

Devido ao aumento populacional e ao ataque de pragas às culturas, cientistas têm trabalhado para desenvolver produtos que possam debelar as pragas e aumentar a produtividade agrícola, satisfazendo, desta forma, as necessidades básicas de alimentação. No entanto, o uso indiscriminado, sem critérios e sem conhecimento aprofundado de sua ação e efeitos trouxeram, e estão trazendo, problemas muito sérios aos diversos ambientes e, conseqüentemente, à qualidade de vida do ser humano.

A partir de 1920 começaram a aparecer os primeiros produtos organossintéticos para o combate de pragas. Paschoal (1979) divide o uso de pesticidas na agricultura mundial em dois períodos: o período pré-guerra (antes de 1939) e o período pós-guerra (depois de 1939). A descoberta das propriedades inseticidas do organoclorado DDT, por Paul Müller em 1939, é tida como um marco de transição nas técnicas de combate às pragas nas lavouras. Até então prevalecia o uso de produtos inorgânicos e naturais e o controle biológico.

O Brasil encontra-se entre os maiores consumidores mundiais de pesticidas agrícolas, localizando-se em quinto lugar em consumo mundial, ficando atrás dos EUA, Japão, França e ex-URSS. As vendas internas no mercado nacional estão situados em torno de US\$ 1 bilhão (Paulino, 1993), e a cada dia novos compostos químicos estão sendo pesquisados e lançados no mercado pelas agroindústrias.

O aumento no consumo de pesticidas, principalmente dos herbicidas, vem assumindo nos últimos anos posição de destaque, no que se refere ao volume utilizado. Paulino (1993) constatou que no ano de 1989, as proporções de ingredientes ativos colocado no mercado, de acordo com as classes de pesticidas foram: 41,64% para os herbicidas; 23,76% para os inseticidas; 22,79% para os fungicidas e 11,60% para os acaricidas. O faturamento com a venda de pesticidas continua crescendo, sendo que, até fevereiro de 1997, o setor arrecadou cerca de US\$ 88,03 milhões contra US\$ 69,78 milhões para o mesmo período de 1996. Os herbicidas são responsáveis por 45% do total acumulado, representando mais de US\$ 20 milhões (Vendas de defensivos, 1997).

Segundo Futino & Silveira (1991) as principais lavouras consumidoras de herbicidas no Brasil são as de soja, cana-de-açúcar, laranja e arroz.

Blanco (1979) afirma que o uso seguro e eficiente de um herbicida de aplicação no solo requer o conhecimento da duração de sua atividade, dos processos que controlam sua persistência no meio, dos fatores que afetam sua disponibilidade para as plantas, de sua seletividade entre as culturas e as plantas daninhas e possíveis efeitos secundários sobre os microrganismos.

Cheng & Lehmann (1985) afirmam que uma das principais características do herbicida é sua persistência, afetando sua eficácia no controle de plantas daninhas e seu impacto no ambiente. Hance (1980) afirma que o herbicida ideal, após aplicação no solo, deve persistir por um período longo e suficientemente aceitável para o controle de ervas daninhas, mas este período não deverá ser longo a ponto de que seus resíduos no solo, após a colheita, possam se armazenar em culturas subsequentes. Entretanto,

esta persistência não é uma propriedade fixa dos compostos químicos e pode ser influenciada por fatores como o tipo de solo, condições climáticas, temperatura, umidade, conteúdo de matéria orgânica e pH.

Segundo Cheng (1990), o destino de um pesticida no ambiente é governado pela adsorção, transformação, processos de transporte e a interação entre esses processos.

Conforme Ashton & Grafts (1973), os herbicidas são inativados no ambiente por meios biológicos, químicos e físicos. Esta inativação normalmente envolve a degradação das moléculas do herbicida, e depende da natureza das mesmas e das condições do ambiente. Segundo Musumeci (1992), os compostos orgânico sintéticos podem desaparecer do solo através de vários processos como: volatilização, lixiviação e reações químicas de natureza hidrolítica ou fotolíticas. Em muitas circunstâncias o desaparecimento do pesticida é atribuído à atividade microbiana do solo.

2.2. Degradação

2.2.1. Degradação fotoquímica

A luz solar representa um importante fator a ser considerado na degradação de pesticidas, após serem introduzidos no ambiente. Moilanen et al. (1975) concluíram que os pesticidas podem sofrer reações fotoquímicas sob uma variedade de condições ambientais, que chamaram de “compartimentos”, onde as moléculas dos pesticidas ou seus subprodutos podem mover-se intercompartimentos, sugerindo que a fotodegradação, no ambiente natural, é um processo contínuo e dinâmico.

Por serem constituídos de fótons de elevada energia e fortemente adsorvidos, radiações de baixo comprimento de onda, sobretudo aquelas da região ultra-violeta, são as principais responsáveis pela fotoconversão e quebra das moléculas de pesticidas. Comprimentos de onda acima de 450nm geralmente têm pouco efeito sobre as moléculas citadas (Lynch, 1986).

Normalmente, os produtos de fotodegradação são idênticos aos produzidos pelas reações de degradação químicas e biológicas. Entretanto, a fotólise, em alguns casos, produz uma única estrutura. Para que ocorra a fotodegradação, a luz com comprimento de onda dentro da região ultra-violeta do espectro deve atingir o pesticida. Uma vez que a penetração da radiação ultra-violeta em sólidos é limitada, a fotodecomposição de pesticida no solo é restrita a resíduos sobre, ou muito próximos, à superfície. Entretanto, ela ocorre na superfície das plantas e no ar. Substâncias que absorvem a luz solar podem ser fotoquimicamente convertidas, enquanto que outras, podem aproveitar a absorção de luz por outras substâncias, como no caso os ácidos húmicos, ocorrendo uma fotodegradação indireta através de fotossensibilizadores (Ander & Hynning, 1997).

Embora a fotoconversão usualmente reduza ou destrua a atividade tóxica de um pesticida, este não é sempre o caso. Por exemplo, os fotoisômeros do dieldrin, aldrin e heptacloro são tão tóxicos quanto o composto de origem. Assim, é importante considerar o alcance e as conseqüências da fotoconversão de alguns compostos.

Os produtos da ação microbianos também podem promover reações fotoquímicas. Isto pode ocorrer de dois modos: pela atuação como fotossensibilizadores, isto é, absorvendo energia da luz e a transmitindo à

molécula do pesticida, e como doadores e aceptores de elétrons ou grupos reagentes, como por exemplo, H^+ e HO^+ , que são frequentemente necessários para as reações fotoquímicas. A energia luminosa absorvida pelas moléculas dos pesticidas pode ser dissipada de diversas formas, entre elas a liberação de energia através de reações químicas. Então, conclui-se que a fotodecomposição de um pesticida requer dois eventos: absorção da radiação (diretamente ou através de fotossensibilizadores) e a transformação da espécie eletronicamente excitada por processos químicos (Moilanen et al., 1975).

Pelizzetti et al. (1990) verificaram um grande aumento na porcentagem de fotodegradação da atrazina, quando pequenas quantidades dos semicondutores TiO_2 e ZnO foram adicionados ao solo, simulando-se uma radiação solar. Concluíram, que a adição de semicondutores óxidos possivelmente favorece a degradação de compostos presente no solo.

Ainda dentro desta linha de trabalho, Burkhard & Guth (1976) demonstraram que a porcentagem de degradação de algumas triazinas, sob condições artificiais de um reator fotoquímico, foi 3 a 11 vezes maior quando foi usado acetona como um fotossensibilizador.

2.2.2. Biodegradação.

Skladany & Metting (1992) definem biodegradação como atividade biológica resultando na quebra de um composto. Biodegradação de moléculas complexas envolve usualmente os efeitos interativos de uma mistura de populações de microrganismos e conta com a versatilidade metabólica de bactérias e fungos. Por outro lado, recalcitrância é o grau de resistência à biodegradação e pode ser uma propriedade molecular inerente, mas em geral, é definida como o resultado da inibição da atividade microbiana por condições ambientais.

Os microrganismos que agem na quebra de compostos xenobióticos podem utilizá-los para a obtenção de energia para seu crescimento ou como fonte de nutrientes (catabolismo), ou ainda possuem apenas a capacidade de quebrá-los (cometabolismo) (Alexander, 1994).

A biodisponibilidade de um pesticida é de extrema importância porque frequentemente responde pela maior ou menor persistência dos compostos no ambiente.

Adsorção de herbicidas no solo afeta sua degradabilidade, lixiviação e fitotoxicidade (Weber, 1970; Stevenson, 1972; Adams, 1973). Vários constituintes do solo, incluindo as argilas silicatadas, o alumínio, o óxido de ferro e particularmente a matéria orgânica, têm sido sugerido como responsáveis pela adsorção de atrazina e outras s-triazinas em amostras de solo (Hayes, 1970; Weber, 1970; Stevenson, 1972; Adams, 1973; Huang et al., 1984).

As porcentagens pelas quais os pesticidas são biodegradáveis, variam amplamente. Alguns pesticidas, tais como o DDT e dieldrin, têm provado serem recalcitrantes. Consequentemente, após aplicados no solo, eles permanecem no ambiente por um longo tempo e seu acúmulo é bem conhecido nas cadeias alimentares (Kannan et al., 1994).

A maioria dos estudos sobre degradação microbiana de pesticida tem focalizado a superfície do solo. Linn et al. (1993) constataram que a biodegradação de pesticidas na rizosfera de plantas e na subsuperfície do solo não tem sido muito pesquisada. Na rizosfera e em torno de raízes das plantas, a atividade microbiana é acelerada. Um exemplo é o p-nitrofenol, produto da hidrólise do paration, que foi mineralizado mais rapidamente na rizosfera do arroz do que em solo sem cultura, sob condições de solo inundado e não-inundado (Reddy & Sethunathan, 1994). Costa (1992) constatou também que a adição de solo rizosférico, previamente tratado com o herbicida ametrina, aumentou a taxa de degradação em 3,5 vezes, mostrando ter ocorrido um enriquecimento da população microbiana, onde os microrganismos foram previamente adaptados ao produto.

2.2.2.1. Fatores ambientais que influenciam na biodegradação

Vários fatores ambientais influenciam a biodegradação, tais como: temperatura, umidade, pH, matéria orgânica, atividade microbiana, além da estrutura química da molécula do pesticida.

•Temperatura

A temperatura exerce influência determinante no conjunto da atividade celular microbiana e, conseqüentemente, na biodegradação. O crescimento microbiano é acelerado pelo aumento de temperatura. Todavia, a partir de certas temperaturas, alguns constituintes podem sofrer alterações ou desnaturações. Desta forma, o crescimento celular fica prejudicado e mesmo se a velocidade de crescimento continuar elevada, a concentração celular não atinge seu valor máximo. A desnaturação enzimática é o fator limitante da temperatura máxima e esta varia muito entre os microrganismos do solo. A temperatura é ainda um dos fatores que influenciam a diversidade das espécies (Lynch, 1986).

Helling (1971) estudando a mobilidade no solo de vários pesticidas, inclusive atrazina, afirmou que a temperatura (2°C a 52°C) não altera significativamente a mobilidade desses pesticidas. Entretanto, a volatilização e difusão ocorreram com mais intensidade a 25°C do que a 2°C. Mandelbaum et al. (1993) constataram que a degradação da atrazina foi insignificante abaixo de 7°C mas, acima de 15°C, o metabolismo foi acelerado.

A temperatura do solo afeta muitos processos que contribuem para a dissipação dos pesticidas, além da atividade microbiana, volatilização e os processos de transportes.

A temperatura influencia a taxa de volatilização, normalmente através de seu efeito sobre a pressão de vapor. A pressão de vapor de muitos pesticidas muda com a temperatura. O aumento de um grau na pressão de

vapor equivale a um aumento na volatilização em torno de 3 a 4 vezes para cada 10°C de aumento na temperatura (Spencer, 1987).

A temperatura pode também influenciar a volatilização do pesticida incorporado ao solo, através de seu efeito sobre o movimento do pesticida na superfície, por difusão ou fluxo de massa na evaporação da água, ou ainda, através do efeito sobre o equilíbrio na adsorção-dessorção na água do solo. Para todos esses efeitos, o aumento na temperatura é usualmente associado com o aumento na taxa de volatilização (Spencer, 1987).

•Umidade

A disponibilidade de água no solo afeta a diversidade das espécies, a sobrevivência, o movimento e a atividade dos microrganismos (Lynch, 1986). Sendo assim, a umidade do solo tem um efeito direto e profundo na proliferação dos microrganismos e suas atividades.

Uma vez que a água compete pelos sítios de adsorção com o pesticida, ela pode determinar a quantidade de pesticida disponível ao ataque microbiano. Desta forma, o baixo conteúdo de umidade afeta a degradação do pesticida através da redução da biomassa microbiana e de sua atividade e também por reduzir a concentração do pesticida na solução do solo.

Andréa et. al. (1985) demonstrou a influência da umidade na degradação do ^{14}C -DDT em solo de Planaltina-Distrito Federal, sob condições de laboratório. Após um ano da aplicação do DDT ao solo, com umidade equivalente a 2/3 da capacidade de campo, obteve-se uma perda de

12%; entretanto, com 100% da capacidade de campo a perda correspondeu a apenas 5%.

Segundo Alexander (1994), o nível ótimo de umidade dependerá das propriedades do solo, do composto em questão e se a transformação é aeróbia ou anaeróbia.

•pH

O efeito do pH é o mesmo que o da temperatura, ou seja, ambos a velocidade de crescimento de um dado microrganismo em função do pH, atinge seu valor máximo em uma faixa de pH ótimo (Scriban, 1990).

De acordo com Alexander (1994) valores extremos de pH, seja alcalino ou ácido, declina a atividade microbiana. Porém, em valores moderados de pH, a biodegradação tornar-se mais rápida. As atividades de todas as enzimas microbianas, aproximadamente 1000 por célula, são dependentes do íon H^+ e portanto, o pH dos solos acaba por influenciar estas atividades. O pH do solo também governará a diversidade das espécies (Lynch, 1986).

•Matéria Orgânica

A incorporação da matéria orgânica aumenta a taxa de degradação de muitos pesticidas no solo, como afirmam muitos pesquisadores. Mas a influência dela na persistência de pesticidas em solos não é bem esclarecida. Alguns pesticidas são degradados rapidamente em solos contendo elevados

níveis de matéria orgânica, outros são degradados lentamente (Kearney et al., 1967).

Solos contendo maiores teores de matéria orgânica apresentam maior capacidade de degradação, de retenção da umidade, trocas catiônicas, maior teor de argila mineral, textura e pH (Pelissari, 1992).

A matéria orgânica nativa ou adicionada ao solo, influencia a persistência dos pesticidas pelo aumento da atividade microbiana. Muitos estudos têm indicado que a persistência, degradação, biodisponibilidade, lixiviação e a volatilização de pesticidas têm relação direta e estreita com a natureza e o conteúdo de matéria orgânica presente no solo (Khan, 1978).

Este mesmo autor citou algumas transformações abióticas de pesticidas que foram aumentadas pela adição de matéria orgânica no solo. Estas transformações incluem a hidrólise de ésteres organofosforados, deshidrocloração de hidrocarbonetos clorados como o DDT e o lindano, degradação de 3-aminotriazole, S-oxidação de forate e a conversão de aldrin para dieldrin.

Lord et al. (1978) acompanharam o comportamento do DDT em dois tipos de solos brasileiros: o gley húmico e o latossolo vermelho-amarelo (respectivamente, com alto e baixo teor de matéria orgânica). Após 256 dias da aplicação, os autores constataram que o metabolismo do DDT em DDE foi aparentemente maior no solo com maior teor de matéria orgânica. A concentração de DDE no solo gley húmico foi de 1,13mg, enquanto para o latossolo vermelho-amarelo foi de 0,83mg.

Ainda dentro deste contexto, Hirata et al. (1982) observaram que a degradação do inseticida carbaril, foi influenciada pela adição de sacarose ao

solos pobre em matéria orgânica (latossolo vermelho-amarelo), em ensaios de laboratório. Após seis semanas, todo o carbaril havia sido degradado nos solos enriquecidos, provavelmente devido ao acréscimo da atividade microbiana dos solos. Nesse mesmo solo, sem adição de nutrientes, o carbaril pôde ser ainda detectado após 10 semanas.

•Atividade Microbiana

De acordo com Aislabie & Llord-Jones (1995) os pesticidas são degradados no ambiente principalmente por ação dos microrganismos ou suas enzimas, num processo denominado biodegradação, que é definida como a quebra de um composto, formando compostos menores.

A maioria das atividades bioquímicas do solo são reações catalizadas por enzimas. Essas reações podem ser intra ou extracelulares. As enzimas extracelulares podem estar livres ou ligadas aos colóides do solo (Lynch, 1986). Johnson & Curl (1972) e Lynch (1986) descreveram mais de 50 enzimas ativas no solo, entre as quais incluem as oxido-redutase, hidrolases e transferases. As desidrogenases ou catalase total, podem fornecer informações a respeito da população microbiana como um todo, ao passo que as celulasas, sacarases e xilanases podem indicar atividade de grupos especializados de microrganismos.

Segundo Smith & Pugh (1979), a enzima desidrogenase está envolvida nas reações oxidativas do ciclo de Krebs. A mensuração da atividade da desidrogenase pode, portanto, fornecer um indicador da respiração aeróbica e por conseguinte da atividade da microflora do solo.

Um método de avaliação do herbicida na atividade microbiana do solo, que tem sido muito aceito é a radiorespirometria, cuja medida representa a atividade da microflora heterotrófica do solo. Esse método baseia-se no desprendimento de $^{14}\text{CO}_2$, devido a transformações do substrato marcado com ^{14}C , pelos microrganismos heterotróficos do solo. O uso de compostos radiomarcados podem fornecer valiosas informações a respeito da atividade metabólica do solo. Conforme Freitas et al. (1979) poucos métodos apresentam um quadro preciso da atividade microbiana de um solo em condições normais, visto que, a adição de quantidades excessivas de um substrato levam a uma proliferação e conseqüente favorecimento de alguns segmentos da microflora. Em contrapartida, a radiorespirometria permite uma rápida e confiável avaliação da microflora ativa do solo utilizando pequenas quantidades de substrato.

2.3. Adsorção

O grau de adsorção está diretamente relacionado com o comportamento dos herbicidas no solo que é influenciado por vários fatores, sendo a partição que ocorre entre o ar do solo, a fase líquida do solo e a fase sólida do solo, a mais significativa das interações. O modo como ocorre esta interação é de fundamental importância, uma vez que é ela que determina a forma do processo de transporte e o grau de disponibilidade dos herbicidas nos solos.

A biodisponibilidade de um pesticida tanto para plantas, microrganismos como para outros organismos vivos do solo é limitada pela

adsorção (Khan, 1978). Kretova et al. (1986) verificaram que a adsorção diminui consideravelmente a velocidade de degradação de ^{14}C -atrazina, quando comparado com o estado não adsorvido deste herbicida. Observaram ainda que em solos com baixos teores de matéria orgânica a velocidade de degradação foi maior que em solos com altos teores de matéria orgânica. Isto quando se adiciona fontes de nutrientes prontamente disponíveis.

Borggaard & Streibig (1988) observaram em seus experimentos, valores insignificantes da atrazina adsorvida à esmectita e óxido de ferro com pH entre 4 e 8, demonstrando a incapacidade desse composto e a possibilidade de outros óxidos e silicatos no solo, de se adsorverem à atrazina em valores de pH natural do solo. Estes resultados, entretanto, são conflitantes com outros trabalhos citados na literatura, que mostram a adsorção de atrazina e outras s-triazinas por argilas silicatadas e por alumínio e óxido de ferro (Weber, 1970; Huang et al., 1984). Laird et al. (1992) quando estudaram a adsorção de atrazina em solos com vários teores distintos de esmectitas, obtiveram valores altos de adsorção. Através de correlações entre os coeficientes de adsorção, pH e densidade superficial de cargas, os autores sugeriram que em esmectitas, e na faixa de valores de pH estudados (4,75 a 6,45), as moléculas de atrazina são preferencialmente adsorvidas como espécies neutras.

Com isso, pôde-se dizer que em argila com porcentagens de 1:1 com caulinitas, a principal via de adsorção da atrazina se dá através de formas protonadas (em pH baixo), envolvendo processos de troca de cátions. Já em argilas expandidas com porcentagens de 2:1 de montmorilonita, duas vias de adsorção são importantes. Uma na forma protonada, tal como em argilas 1:1

e outra na forma neutra (favorecida para pH neutro), competindo com as moléculas de água para a solvatação de superfícies de baixas densidades de cargas (Laird et al., 1992).

Com relação ao caráter químico da molécula do herbicida, Russel (1973) sugere que as propriedades das moléculas que mais interferem no processo de adsorção são: a sua carga molecular, sua forma e configuração, a constante de ionização e sua solubilidade em água.

Além da natureza do meio adsorvente e da molécula do herbicida, a adsorção depende ainda de várias outras características do sistema. Conteúdo de água, pH, força iônica e temperatura são fatores também importantes nos processos de adsorção da molécula em solos. O pH da solução do solo determina o grau de dissociação e associação do adsorbato, assim, dependendo da forma com que o composto estiver presente na solução, seja molecular, catiônica ou aniônica, irá afetar a extensão e magnitude da adsorção (Bailey & White, 1970).

Huang et al. (1984) investigaram a importância relativa dos sesquióxidos de ferro e alumínio, da matéria orgânica e de uma série de frações de diferentes tamanhos de partículas na adsorção da atrazina. Observaram que, ao lado das partículas de argila, os sesquióxidos do solo tiveram uma grande capacidade de reter o produto, uma vez que após a destruição da matéria orgânica, a remoção dos sesquióxidos por tratamentos com DCB (ditionito-citrato-bicarbonato de sódio) causou uma redução substancial na intensidade de adsorção do herbicida. Kwong & Huang (1979) atribuem este resultado ao fato dos componentes amorfos possuírem alta superfície específica e grupos funcionais doadores de prótons. Segundo

Weber (1972), moléculas de herbicidas básicos, como a atrazina, podem receber um íon hidrogênio (H^+) no nitrogênio do anel heterocíclico e serem desta forma, adsorvidas pelas superfícies negativas das partículas do solo.

Clay & Koskinen (1990) compilaram os trabalhos de 10 autores que investigaram o processo de adsorção-dessorção da atrazina e seus metabólitos, que demonstram a ampla diversidade de investigações a respeito desse herbicida e concluíram que maior quantidade de atrazina foi desorvida em tratamentos com alto pH do que com baixo pH. Pouca atrazina desorvida em baixo pH pode ser atribuída à grande protonação e ligação iônica desse herbicida. Também identificam a hidroxiatrazina como sendo, aparentemente, ligada ao solo de maneira irreversível. Assim, através da força de adsorção e pelas baixas características de desorção, eles explicaram o porquê da hidroxiatrazina (HA) e o S-glutathione atrazina não serem comumente lixiviados no perfil do solo. Schiavon (1988a) observaram que hidroxiatrazina aplicada a $6,7\text{kg ha}^{-1}$ não lixiviou abaixo de 24cm em colunas de solo intactas mantidas em campo. Dessorção de HA em solos, entretanto, não tem sido documentada.

Outro fator muito importante na adsorção-dessorção de herbicidas no solo é o pH. Uma revisão completa sobre este assunto foi realizada por Clay et al. (1988) onde descreveram metodologia para determinar os efeitos do pH, através da correção do solo com ácido (HCl ou H_2SO_4) para diminuir o pH, ou adição de uma base ($Ca(OH)_2$ ou $NaOH$), para aumentá-lo. Os autores verificaram que modificações no pH do solo por adição de um ácido ou uma base, podem causar mudanças que poderão afetar a adsorção do pesticida no sistema solo-solução (Clay et al., 1988). Rápida acidificação

pode aumentar a concentração de sais solúveis (Haynes & Swift, 1986), os quais aumentam a força iônica da solução do solo. Aumentando a força iônica poderá haver uma diminuição na solubilidade do herbicida (Swanson & Dutt, 1973; Gaynor & Volk, 1981). Também a adição de NaOH, comumente utilizado para ajustar o pH do solo, pode solubilizar a matéria orgânica do solo, e desta forma, afetar a avaliação da adsorção do herbicida (Clay et al., 1988).

A matéria orgânica e os minerais de argila do solo, têm papel importante na adsorção dos pesticidas, bem como na formação de resíduos ligados. A interação do pesticida com a matéria orgânica foi revisada por Stevenson (1976) e com os minerais de argila por White (1976).

A matéria orgânica é muito complexa e pode se apresentar de formas diferentes no solo. Essa matéria orgânica ou humus, tem sido subdividida em substâncias não-húmicas (carboidratos, proteínas etc.) e substâncias húmicas. Esta última consiste normalmente de ácidos húmicos, fúlvicos e humina. Ácidos húmicos são materiais extraídos dos solos com álcali e precipitados nesta solução, após acidificação. Ácido fúlvico é o material com baixo peso molecular que permanece na solução, sem precipitar. A fração humina é insolúvel em alcali, ácidos e solventes orgânicos (Calderbank, 1989).

O processo de formação dos resíduos ligados de pesticidas nos solos está relacionado principalmente com a matéria orgânica e processos de adsorção. Isto ocorre devido as frações orgânicas do solo terem potencial para formar ligações químicas estáveis com pesticidas ou seus metabólitos (Führ & Mittelstaedt, 1980).

Entende-se por resíduo extraível, aquele que pode ser removido através de processos de extração exaustiva com solventes apropriados. Resíduos não-extraíveis (muitas vezes conhecidos como resíduos ligados) são definidos pela “Comission on Pesticides Chemistry of the International Union of Pure and Applied Chemistry” (IUPAC) como espécies químicas originárias de pesticidas, usados de acordo com as boas práticas agrícolas, que não são extraíveis, tanto de plantas como de solos, por métodos que não mudem significativamente a sua natureza química.

O significado dos resíduos ligados para o ambiente é bastante discutido na literatura. Assume-se que valores acima de 10%, são indesejáveis, podendo ocasionar resíduos para culturas subsequentes, ou animais.

2.4. Mobilidade

A dessorção de um pesticida leva ao seu movimento e transporte através das partículas do solo. Esse transporte pode ser através de processos conhecidos como lixiviação, que é o transporte do pesticida através do perfil do solo, e “runoff” ou escoamento superficial, no qual o pesticida é levado pelas águas, através da superfície do solo, até áreas não alvo, podendo contaminar lagos e rios.

Constata-se na literatura que a lixiviação através do perfil do solo, tem sido identificada como a maior responsável pela ocorrência de pesticidas em águas subterrâneas, causando contaminação.

Em muitos estudos sobre pesticidas, a ênfase maior tem sido dada ao composto original, mas, os metabólitos de muitos pesticidas podem também ser tóxicos ao ambiente (Hallberg, 1989). Bottoni et al. (1996) em seus experimentos puderam demonstrar que metabólitos das triazinas têm maior capacidade de lixiviar que seu composto original. Belluck et al. (1991) citado por Roy & Karpac (1994)¹ constataram que o metabólito desetilatrazina (DEA) tem sido detectado em águas subterrâneas, em concentrações maiores que o composto original. Além disso, Erickson & Lee (1989) mostraram que a solubilidade da DEA em água é 10 vezes maior que a atrazina, sugerindo isto, como possível causa de sua presença em lenções freáticos em maiores concentrações do que atrazina.

Nakagawa et al. (1995) estudando a mobilidade da atrazina em dois tipos de solos brasileiros (Gley Húmico-GH e Latossolo Vermelho-Escuro-LE) através de percolação de água, constatou mobilidade intermediária para a atrazina (R_f 0,33) no solo GH e R_f 0,39 no LVE com apenas uma percolação de água. Entretanto, após quatro percolações, a mobilidade foi mais acentuada, e o R_f da atrazina foi de 0,66 no solo Gley Húmico e R_f 0,74 no Latossolo Vermelho-Escuro. Estes valores concordam com os valores obtidos nas isotermas de adsorção, cujos coeficientes de adsorção (K) foram de 2,6 e 2,1 para os solos GH e LE, respectivamente. Os valores obtidos em ambas análises indicam baixa adsorção da atrazina nos dois tipos de solos.

¹ BELLUCK, G.M.; BENJAMIN, S.L.; DAWSON, T. Groundwater contamination by atrazine and its metabolites: risk assessment, policy and legal implication. In: SOMASUNDARAM, COATS, J.R. (Ed) *Pesticides transformation products: fate and significance in the environment*. Washington: American Society, 1991, p.105-110.

Agências Federais têm iniciado um extenso programa de monitoramento para avaliar o conteúdo de pesticida em águas subterrâneas. Muitos pesticidas têm sido identificados em águas subterrâneas na Europa (Clark et al., 1991; Legrand et al., 1992) e nos Estados Unidos (Zaki et al., 1982; U.S. Environmental Protection Agency, 1986). Um extenso levantamento de pesticidas em águas subterrâneas foi conduzido pela agência de proteção do ambiente dos Estados Unidos (EPA), onde águas potáveis de 50 estados foram monitoradas durante 5 anos (U.S. Environmental Protection Agency, 1990, 1992). O levantamento mostrou que um número substancial de poços foram afetados pela presença de NO_3^- . Pesticidas foram encontrados em 10,4% do sistema de água da comunidade e em 4,2% em poços domésticos rurais. Os pesticidas encontrados em maiores concentrações foram identificados como sendo alaclor, atrazina, DBCP, EDB e lindane.

Buhler et al. (1993) encontraram concentrações maiores de atrazina do que de alaclor em escoamentos, e atribuíram à grande persistência da atrazina ($T_{1/2} = 60\text{d}$) em solo, quando comparada com o alaclor ($T_{1/2} = 15\text{d}$).

O escoamento superficial ou "runoff" transporta agroquímicos das lavouras do campo para águas superficiais, tais como rios e lagos. Pereira & Hostettler (1993) estimaram que o rio Mississippi carrega anualmente cerca de 160t de atrazina, 71t de simazina, 56t metalaclor e 18t de alaclor para o Golfo do México.

Lixiviação e "runoff" são processos mutuamente dependentes. Durante o escoamento superficial, uma porção da água move-se lateralmente

para a superfície e não contribui para a lixiviação. Flury (1996) relata que o aumento do “runoff” acaba por diminuir a lixiviação.

Wauchope (1978) estimou para diversas classes de pesticidas, que a perda por um simples evento de “runoff” alcança de 1 a 2% do total aplicado. O pior caso de perda por um simples evento de “runoff” pode resultar em valores acima de 17%, no caso da atrazina, ao passo que para a lixiviação este valor é, provavelmente, menor.

2.5. Volatilização

A volatilização é o processo pelo qual um pesticida passa para a fase de vapor, proveniente de uma fase original líquida e vai para a atmosfera. É um importante mecanismo de perda de pesticida do solo para o ar. Os métodos para estimar a volatilização de um pesticida do solo para a atmosfera são, na sua maioria, modelos matemáticos do processo físico da volatilização baseados nas leis de Raoult e Henry.

Muitos autores concordam que a velocidade com que um pesticida volatiliza do solo é afetada por diversos fatores, tais como, as propriedades do solo, as propriedades do produto químico e as condições ambientais. Algumas das propriedades do pesticida envolvidas na volatilização são sua pressão de vapor, solubilidade em água, características estruturais básicas (tipos de núcleos, ex: fenil, alquila, piridina etc.), natureza, número e posição dos grupos funcionais.

A volatilização de um composto no solo é muito mais complicada e difícil de prever, devido aos muitos parâmetros que afetam a adsorção, movimento e persistência do pesticida (Bottoni et al., 1996).

Este processo tem trazido atualmente, uma importante questão a respeito a depleção da camada de ozônio do planeta. Emissão de brometo de metila, vinda de solos fumigados em campos, é suspeito de ser a maior fonte de depleção do ozônio na estratosfera (Singh & Kanakidou, 1993; Yagi et al., 1993).

2.6. Características do herbicida Atrazina

As propriedades herbicidas das s-triazinas foram descobertas em 1950 por J.R. Geigy, Basel, Switzerland (Gysin, 1974). Em torno de 1955, foram registradas as propriedades das cloro-triazinas e desde então, numerosos derivados das triazinas foram registrados e apresentados por suas propriedades herbicidas (Esser et al., 1975).

Dentre as triazinas, a atrazina é o composto mais utilizado na agricultura (Shahamat, 1980). Atrazina é o nome mais comum para o 2-cloro-4-etil-6-isopropil-s-triazina, um sólido cristalino branco, com solubilidade em água de 33 mg/L à 27°C.

Quimicamente, as triazinas são derivados nitrogenados heterocíclicos (estrutura de anel com átomos de diferentes tipos), que no caso das triazinas, é composto de átomos de nitrogênio e carbono. A maioria das triazinas são simétricas (s-triazinas), ou seja, possuem átomos de N e C alternadamente no anel.

Segundo Klingman et al. (1982) a atrazina é largamente utilizada no controle anual de gramíneas e ervas daninhas de folhas largas em cultura de milho, sorgo, cana-de-açúcar, pinus, entre outras, com aplicações de pré-emergência e, eventualmente, de pós-emergência.

A atrazina é classificada como um herbicida de caráter básico (Bailey et al., 1968) e portanto, pode ser adsorvida pelas argilas pelo processo de adsorção catiônica.

Devido à sua baixa reatividade e solubilidade em água, a atrazina é razoavelmente estável e persistente em água e solo (Meli et al., 1992), de tal modo que, resíduos e metabólitos já foram encontrados em água subterrânea após um longo período da sua aplicação (Wilson et al., 1987). Atrazina e simazina são biodegradáveis em baixas taxas, podendo desta forma, serem lixiviados através do perfil do solo para águas subterrâneas, causando contaminação do abastecimento de água potável (Kookanna & Aylmore, 1994).

O destino dos pesticidas no meio ambiente é determinado pelos fatores bióticos e abióticos. Por exemplo: o maior caminho de degradação abiótica da atrazina é a hidrólise para hidroxiatrazina em solos ácidos (Skipper et al., 1967). Quanto a degradação biótica, cita-se processos como desalquilação, desetilação e desisopropilação feita por bactérias e fungos (Kaufman & Kearney, 1970).

De acordo com Gaynor et al. (1992) sua meia vida (tempo para dissipação da metade da quantidade inicialmente aplicada) varia de 20 a mais de 100 dias. Existem casos citados na literatura, onde a meia vida pode ser superior a 300 dias, dependendo das condições ambientais.

2.6.1. Degradação da Atrazina

A degradação de pesticidas *in situ* é usualmente realizada por um consorcio de micróbios, ao invés de uma simples espécie. Estudos com culturas puras, permitem que se conheça os mecanismos pelos quais os pesticidas podem ser metabolizados, e também a localização dos genes envolvidos na degradação do pesticida. Isto auxilia no estudo de genes específicos para a detecção desses organismos *in situ*, predizendo a necessidade principal para seu cultivo (Pickup, 1991).

Atrazina tem sido classificada como um herbicida moderadamente persistente, com meia vida de dias em sedimentos de estuário (Jones et al., 1982) e de muitos meses em solos (Khan & Saidak, 1981; Swain, 1992; Capriel et al., 1985).

Conforme McMahon et al. (1992) o metabolismo da atrazina tem sido detectado em subsolos, mas os microrganismos envolvidos ainda não foram isolados.

Os herbicidas cloro-s-triazina, tais como a atrazina, parecem ser degradados de modo complexo. O passo inicial na degradação da atrazina resulta em metabólitos N-desalquilados, os quais podem ser encontrados no solo, subsolo e águas subterrâneas (Khan & Saidak, 1981; Schiavon, 1988b; Adams & Thurman, 1991). Foi observada a desisopropilação da atrazina em culturas isoladas de *Pseudomonas* sp capaz de efetuar a desalquilação e a deshalogenação (Behki & Khan, 1986). Duas destas bactérias descritas por Behki & Khan (1986) poderiam também desclorinar a desetilatrizona e desisopropilatrizona.

A incapacidade da comunidade microbiana do solo em degradar o anel, é evidenciado pela pequena quantidade de $^{14}\text{CO}_2$ produzido após adição de ^{14}C -atrazina (Wolf & Martin, 1975), embora outros estudos reportem mais que 25% de mineralização do anel em 180 dias (Wilkemann & Klaine, 1991).

Kaufman & Kearney (1970) citam 32 referências que evidenciam a utilização de compostos s-triazinas como fonte de energia para os microrganismos. O incentivo bioenergético para a biodegradação, da atrazina e simazina é encontrado na cadeia lateral alquil. Quando as s-triazinas são utilizadas como fonte de energia, o carbono radioativo marcado na cadeia lateral é geralmente mais detectado como dióxido de carbono radioativo do que quando o carbono marcado está no anel, sob as mesmas condições experimentais. Desalquilação, portanto, fornece um "feedback" positivo, que promove o crescimento microbiano, com fornecimento de energia tanto para o crescimento como para a reprodução.

Atrazina pode ser degradada, gerando no solo, muitos tipos de metabólitos (Wilkemann & Klaine, 1991). Alguns deles são: desetilatrazina (DEA, 2-cloro-4-amino-6-isopropilamino-1,3,5-triazina), desisopropilatrazina (DIA, 2-cloro-4-etilamino-6-amino-1,3,5-triazina), desalquilatrazina (DAA, 2-cloro-4,6-diamino-1,3,5-triazine) e hidroxiatrazina (HA, 2-cloro-4-etilamino-6-isopropil-1,3,5-triazina). Estes autores, descreveram a desetilatrazina (DEA) e desisopropilatrazina (DIA) como produtos de degradação fitotóxicos. A desetilatrazina é mais fitotóxica que a atrazina, enquanto a desisopropilatrazina é 5 vezes menos fitotóxica. Desalquilatrazina tem se comportado como não-fitotóxica em bioensaios

com aveia. Hidroxiatrazina é também um produto de degradação não-fitotóxico. Descloração e subsequente hidroxilação da atrazina para hidroxiatrazina são considerados passos para a desativação do herbicida.

Ainda dentro deste contexto, Armstrong et al. (1967) e Skipper et al. (1967) descrevem a hidrólise química da atrazina, resultando na formação de hidroxiatrazina (HA), Behki & Khan (1986) e Kaufman & Blake (1970) descreveram a degradação microbiana resultando em N-desalquilação, formando desetilatrazina (DEA), desisopropilatrazina (DIA) e desetildesisopropilatrazina (DEDIA). Nova desalquilação de produtos desalquilados, resulta na formação de 4-amino-2-cloro-1,3,5-triazina (Giardina et al., 1980). A hidroxilação de produtos desalquilados ou desalquilação de produtos hidroxilados, resulta na formação de desetilhidroxiatrazina (DEHA), desisopropilhidroxiatrazina (DIHA) e desetildesisopropilhidroxiatrazina (DEDIHA) (Behki & Khan, 1986; Kaufman & Blake, 1970). Completa degradação de atrazina a CO_2 tem sido observada através de contínuas hidroxilações do anel das triazinas, formando anilina, amelide e ácido cianúrico.

A Figura 1 mostra as estruturas moleculares da atrazina e dos produtos de degradação química (hidroxiatrazina) e microbiana (desetilatrazina e desisopropilatrazina) do herbicida atrazina.

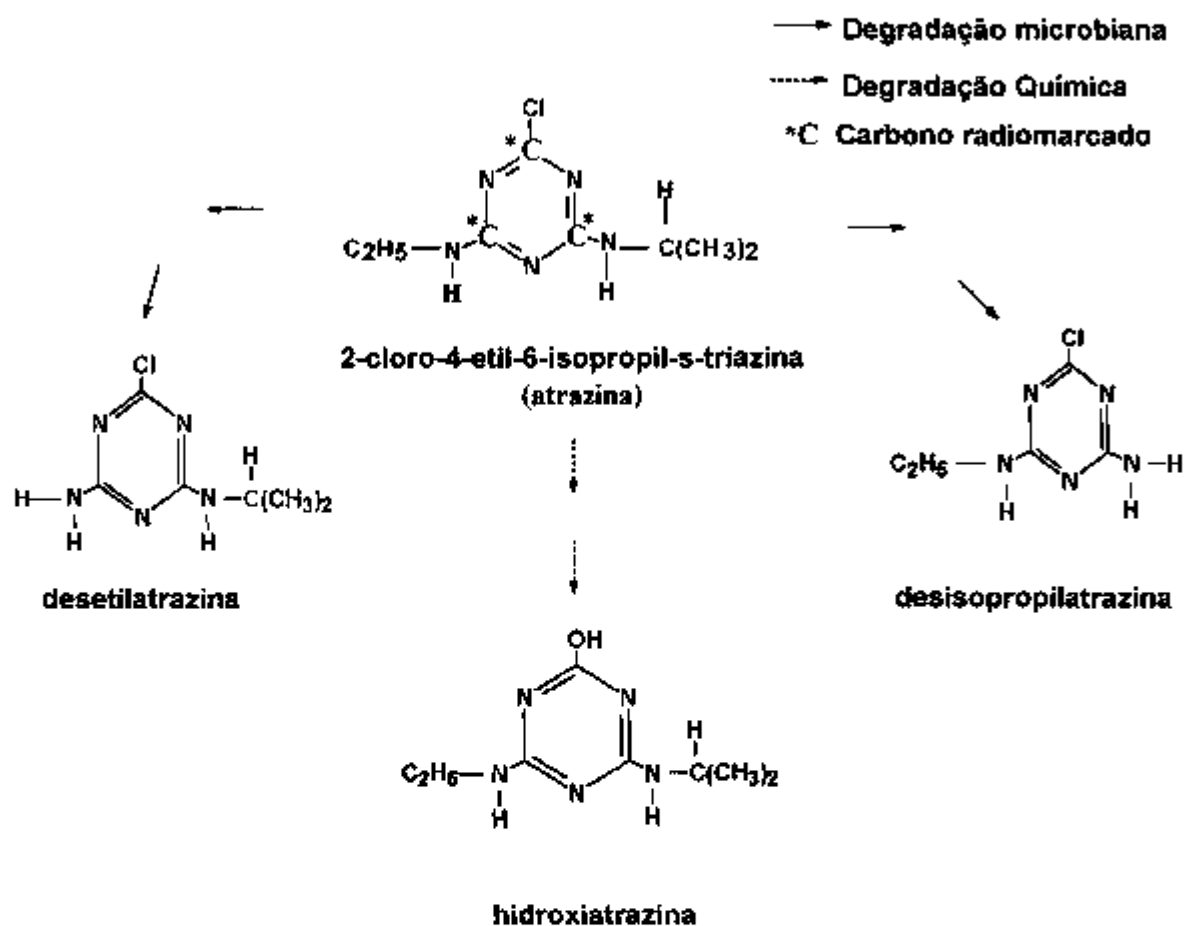


Figura 1. Estruturas moleculares da atrazina e dos produtos de degradação química e microbiana. *Carbonos do anel da atrazina marcada com ^{14}C

N-desalquilação, descloração e hidroxilação na posição 2, além da desaminação e clivagem do anel, são processos degradativos que contribuem para a mineralização da atrazina. Bactérias e fungos isolados de culturas

enriquecidas de solos, têm-se demonstrado capazes de converter a atrazina em vários metabólitos.

Giardina et al. (1980) isolaram uma espécie de *Nocardia* que foi capaz de realizar N-desalquilação. Kaufman & Blake (1970) isolaram dois fungos, *Aspergillus fumigatus* e *Rhizopus stolonifer*, que produzem desetilatrazina e deisopropilatrazina quando incubados com atrazina.

Atrazina pode também ser utilizada como fonte de carbono e/ou nitrogênio por bactérias (Giardina et al., 1980; Behki & Khan, 1986).

Mandelbaum et al. (1993) demonstraram conversão de mais que 80% da ^{14}C -atrazina a $^{14}\text{CO}_2$ em culturas enriquecidas com citrato como única fonte de carbono. Eles encontraram uma *Pseudomonas* linhagem ADP, capaz de mineralizar a atrazina, utilizando-a como fonte de nitrogênio e o citrato de sódio como fonte de carbono. Conforme os autores, a adição de *Pseudomonas* ADP foi de alguma forma efetiva na degradação do herbicida, indicando que estes organismos podem sobreviver e metabolizar atrazina no ambiente do solo. Descreveram ainda que, mais de 1000 ppm de atrazina foi removida do solo pela adição combinada de *Pseudomonas* ADP e citrato de sódio, em um solo onde o herbicida foi aplicado por dez anos, ao passo que em muitos casos, solos com aplicações antigas são difíceis de tratar biologicamente.

Rhodococcus spp., que degrada o herbicida EPTC, tem sido demonstrado também como efetivo na degradação da atrazina (Behki et al., 1993; Behki & Khan, 1994). A linhagem *Rhodococcus* TE1 degrada várias triazinas incluindo simazina, propazina e cianazine. Foi identificado um gene

plasmidial de *Rhodococcus* TE1 com capacidade para desalquilar atrazina (Behki et al., 1993).

Vários autores tem demonstrado a mineralização e persistência utilizando a atrazina radiomarcada com ^{14}C no anel (Skipper & Volk, 1972; Goswami & Green, 1973). Entretanto, pouco estudo têm focalizado a mineralização dos metabólitos desalquilados. Esses metabólitos são difíceis de serem recuperados do solo, devido ao fato de estarem intimamente associados com o solo e não serem recuperáveis por técnicas padrões de extração com solventes.

Radosevich et al. (1995) constataram a mineralização parcial da atrazina pela espécie M91-3 (bactéria gram-negativa, anaeróbica facultativa) em conjugação com a atividade degradativa de outros microrganismos do solo, os quais podem ter aplicações nos métodos de tratamento biológico para a completa mineralização da atrazina em solos e águas contaminadas com o herbicida. Estes autores obtiveram a distribuição do ^{14}C da seguinte forma: 3% estava associado à biomassa, 40 a 50% foram recuperados como $^{14}\text{CO}_2$ e o restante como ^{14}C -metabólitos.

Esser et al. (1975) e Lamoureux et al. (1972) encontraram o metabólito da atrazina S-glutatione, que é solúvel em água, em plantas, animais e insetos. Identificaram ainda em plantas, a enzima S-glutatione transferase específica que pode converter atrazina à S-glutatione atrazina (GSHA).

Schiavon (1988b) examinou a persistência de alguns metabólitos da atrazina baseou-se na extração e concentração de resíduos ligados e no movimento da radioatividade através de uma coluna de solo. Verificou que a

matéria orgânica e a perda da cadeia alquil foram os fatores que aumentaram a formação de resíduo ligado, e a hidroxilação diminuiu este processo. Este mesmo autor detectou somente traços de radioatividade no lixiviado após a aplicação de ^{14}C -hidroxiatrazina no solo, o que, portanto, indica que a hidroxiatrazina não é móvel no solo. Há ainda outros estudos que indicam que hidroxiatrazina é fortemente adsorvida ao solo, podendo não ser lixiviada (Brouwer et al., 1990; Clay & Koskinen, 1990). Sorenson et al. (1993) também constataram que a proporção detectada em diferentes camadas de solo de hidroxiatrazina diminui, enquanto a de atrazina, desetilatrazina e desisopropilatrazina aumentam, sugerindo que a atrazina, desetilatrazina e desisopropilatrazina tem maior mobilidade que a hidroxiatrazina.

Sabe-se que muitos xenobióticos são degradados cometabolicamente. O cometabolismo definido por Alexander (1994) como sendo um processo no qual os microrganismos transformam compostos orgânicos por oxidação sem os utilizarem como fonte de nutrientes ou energia para seu crescimento. Tais substratos co-oxidados servem como análogos para enzimas não-específicas. Assim, a decomposição de herbicidas recalcitrantes é largamente dependente da atividade microbiana (Schmidt et al., 1985).

Muitos trabalhos têm reportado a ocorrência de cometabolismo no processo de mineralização da atrazina. Entretanto, Horswell et al. (1997), estudaram a adição de diferentes frações, solúveis e insolúveis em água, de resíduos de plantas (broto e raiz) sobre a mineralização de resíduos de atrazina, em um solo onde era aplicado o herbicida há 15 anos. Obtiveram um aumento inicial (0-2 dias) na mineralização da hidroxiatrazina com

adição de frações de resíduos insolúveis e uma inibição pela adição de frações solúveis. Entretanto no final do experimento (10^o dia), somente adição de broto não fracionado causou aumento na degradação da hidroxiatrazina. Diante disso, eles concluíram que a adição de corretivos orgânicos no solo resultou em diferenças consideráveis na dinâmica de mineralização da atrazina. Os autores sugerem que, a presença de compostos facilmente metabolizáveis no solo, tais como frações de plantas, causaram uma repressão inicial na mineralização de compostos realmente metabolizáveis como a hidroxiatrazina. Concluíram também, que a mineralização microbiana de atrazina neste solo, não foi mediada por cometabolismo e a repressão na mineralização é, possivelmente, devido a seleção de uma classe funcional diferenciada de microrganismos, ou seja, adição de material de planta causou repressão inicial na mineralização da atrazina devido às mudanças de atividade entre os microrganismos. Os estudos de Barriuso et al. (1992) mostram que a adsorção de atrazina e mais dois outros herbicidas não-iônicos aumentou na presença de material de origem vegetal solúveis na água. Portanto, a adsorção do composto dificultou a sua metabolização por microrganismos.

De acordo com Kunc (1992), fontes orgânicas metabolizáveis de C e energia podem estimular a degradação microbiana de herbicidas. A adição de nutrientes ou fontes de energia utilizáveis para o crescimento e reprodução dos microrganismos do solo, incluindo aqueles que tomam parte no processo degradativo, geralmente levam à maior degradação de herbicidas no solo.

Nakagawa et al. (1995) estudando o metabolismo da atrazina em solos do Estado de São Paulo (solos Gley Húmico (GH) e Latossolo Vermelho-Escuro (LE)), através da técnica de cromatografia em camada delgada dos extratos, puderam observar um decréscimo na atividade da atrazina ao longo do experimento. Para o solo GH, a atrazina diminuiu de 95,2% para 10,6% no período de 180 dias. As quantidades detectadas dos metabólitos desisopropilatrazina e desetilatrazina se mantiveram em níveis baixos, porém houve aumento significativo na formação de hidroxiatrazina, atingindo 26,2% aos 180 dias. Quanto ao LE, houve um decréscimo na atrazina de 91,1% para 7,4%, ocorrendo um pequeno aumento nos metabólitos desisopropilatrazina e desetilatrazina, após o período total do experimento. A hidroxiatrazina apresentou um pico máximo aos 60 dias, mas decresceu após esse período. Estes autores concluíram que a hidroxiatrazina formou-se em maior porcentagem no solo GH, cujo pH 4,6 é mais ácido do que o pH do LE (5,4), o que favorece a hidrólise das cloroatrazinas (Obien & Green, 1993).

3. Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido na Estação Experimental de Lisímetro do Centro de Energia Nuclear na Agricultura - CENA - USP, Piracicaba-SP, e as amostras foram analisadas nos laboratórios de Ecotoxicologia do mesmo centro.

3.1. Solo

Amostras de solo classificadas como Latossolo Vermelho-Escuro, distrófico, A moderado, textura média foram coletadas na profundidade de 0-20cm em 10 pontos diferentes em área de cultivo de cana-de-açúcar localizado no município de Rio das Pedras-SP. As características físico-químicas do solo estudado são: 70% de areia, 20% de argila, 10% de silte, pH 4,8 (CaCl₂), Capacidade de Troca Catiônica 4,8meq/100g⁻¹, Saturação de Bases(V) 5% e Matéria Orgânica 1,5%. Estas análises foram realizadas pelo Departamento de Ciência do Solo da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - ESALQ/USP, Piracicaba-SP.

Todo o experimento foi realizado com amostras peneiradas em malha de 2mm.

3.2. Herbicida

O herbicida utilizado no experimento foi atrazina técnica e ¹⁴C-atrazina (2-cloro-4-etil-6-isopropil-s-triazina) radiomarcada uniformemente nos carbonos do anel, com atividade específica de 3,21MBq/mg e pureza

radioquímica de 99%. Ambos produtos foram doados por CIBA-GEIGY QUÍMICA S.A. A Figura 2 representa a estrutura molecular do herbicida utilizado.

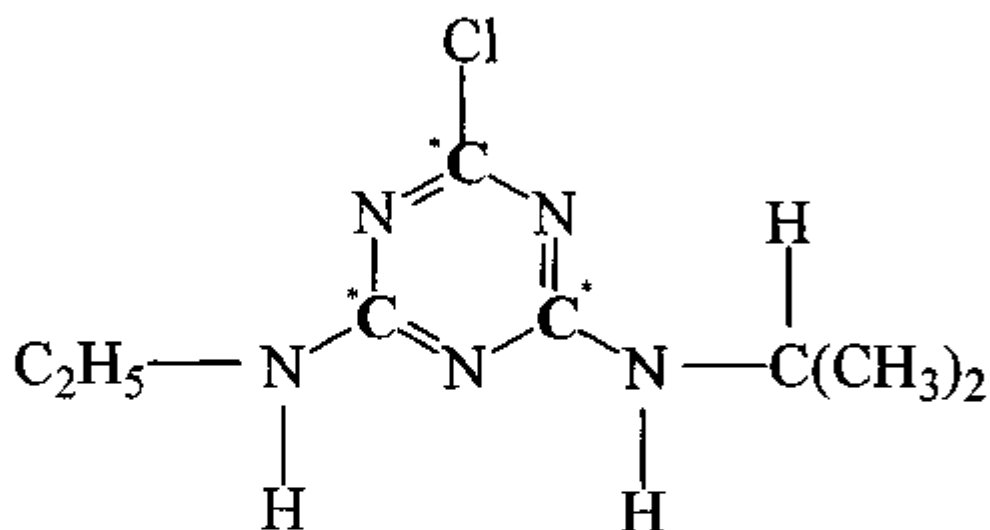


Figura 2. Estrutura molecular da atrazina (2-cloro-4-etil-6-isopropil-s-atrazina). *Carbonos do anel radiomarcados com ^{14}C .

3.3. Preparo da solução de aplicação

A solução de aplicação do herbicida foi preparada tomando-se 0,22mL da solução de atrazina técnica, contendo 178,77mg de atrazina/mL em acetona. Da solução de ^{14}C -atrazina, contendo 399,6MBq diluída em 10mL de acetona, foi retirada 3,78mL para resultar em 4,4mg de atrazina e 1.500KBq/mL.

3.4. Peso seco

Três amostras de 10g de solo foram secas em estufa à 100°C, por 24 horas. A umidade foi determinada pela diferença dos pesos das amostras de solo antes e após a secagem em estufa, com 3,4% de umidade.

3.5. Determinação da capacidade de campo

A capacidade de campo foi determinada pela técnica descrita por Costa (1983) denominado TSFM (torrão separado pela frente de molhamento). Amostras de 150g de solo foram colocados em um béquer de 500mL de capacidade e adicionou-se 2mL de água destilada por gotejamento, com auxílio de uma pipeta, no tempo de 40 segundos. Em seguida o torrão úmido formado (separado do resto do solo pela frente de molhamento) foi colocado em uma placa de Petri e levado à estufa 100°C, por 24 horas. O torrão foi então pesado e a capacidade de campo calculada pela diferença dos pesos entre as amostras úmidas e secas, verificou-se que 39mL de água foram necessários para 75% da capacidade de campo para as 200g de solo.

3.6. Aplicação do herbicida

A aplicação da atrazina foi realizada utilizando 1mL da solução de aplicação, em 20g de amostra de solo seco e moído em almofariz e pestilo. Após evaporação do solvente esta amostra de 20g foi misturada, com ajuda de batedeira, por 15 minutos, em 2.200g de solo recém-coletado. A dose

utilizada, foi a máxima recomendada pelo fabricante, ou seja, 5L ha⁻¹ ou 2mg i.a.(ingrediente ativo)kg⁻¹ de solo.

Amostras de 206,8g correspondentes a 200g (peso seco) foram distribuídas em Erlenmeyers de 300mL de capacidade. A umidade foi ajustada para 75% da capacidade de campo e os frascos foram pesados para posterior acerto da umidade durante o decorrer do período de incubação.

Em cada frasco foi ajustado um sistema em forma de torre de vidro com 10g de cal sodada, para retenção do ¹⁴CO₂ desprendido. Este sistema (Figura 3) para estudo da biodegradabilidade de produtos radiomarcados, é recomendado pela "Organization for Economic Cooperation and Development"(OECD) e foi descrito por Anderson (1989). As torres do sistemas foram cobertas com papel alumínio, deixando uma pequena entrada de ar, para trocas gasosas entre o sistema e o ambiente, de tal forma que não houvesse a entrada de água de chuva, uma vez que a incubação foi feita no campo da Estação Experimental de Lisímetro no CENA.

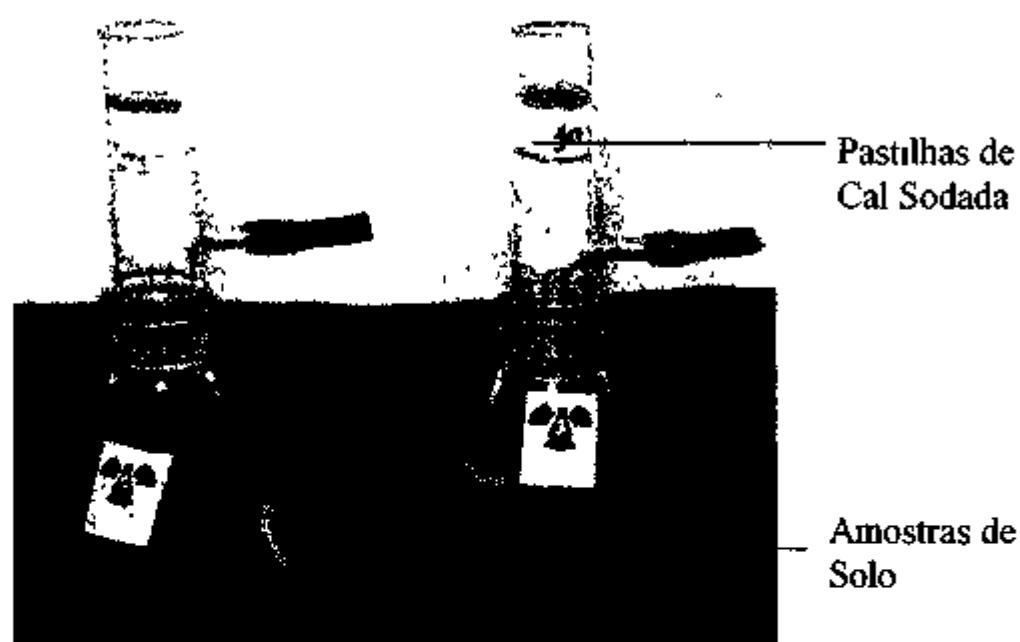


Figura 3 Sistema para retenção de CO_2 desprendido (torres de cal sodada) em ensaios de biodegradação (Anderson, 1989)

3.7. Incubação dos frascos

Dez frascos Erlenmeyers contendo o solo em estudo e a atrazina radiomarcada na dosagem especificada, foram enterrados em setembro de 1994 no solo da Estação do Lisímetro do CENA, Piracicaba-SP, até a altura do sistema de retenção do $^{14}\text{CO}_2$, isto é, nas torres com cal sodada. Na mesma época em que foi iniciado o período de incubação, semeou-se milho, em 4 fileiras com espaçamento de 0,5m cada e uma semente a cada 8cm. Os frascos foram enterrados entre as fileiras, para simular, aproximadamente, as condições de temperatura que estaria recebendo o herbicida se tivesse sido

aplicado em pré-plantio no campo. A cada 15 dias realizou-se troca dos sistemas de retenção do $^{14}\text{CO}_2$ e ajuste da umidade por pesagem, e retirado um frasco para análise dos resíduos no solo, durante um período de 20 semanas.

3.8. Extração de $^{14}\text{CO}_2$

A extração do $^{14}\text{CO}_2$ adsorvido na cal sodada foi realizada pela acidificação e captura do gás em um sistema fechado (Figura 4). Para isto, os 10g de cal sodada das armadilhas de cada Erlenmeyer foram transferidos para um Kitassato de 250mL, onde foi injetado 50mL de ácido clorídrico fumegante (Merck) diluído a 6 Molar. A cal sodada foi dissolvida com auxílio de um agitador magnético. Após total dissolução, um fluxo leve de ar comprimido foi passado, durante 15 minutos, através deste sistema. O $^{14}\text{CO}_2$ desprendido através do ataque ácido à cal sodada foi arrastado pelo fluxo de ar comprimido em direção a dois compartimentos, contendo cada um, 20mL de uma solução de etanolamina-metanol (30:70v/v), que retém o $^{14}\text{CO}_2$ extraído. Amostras de 1mL da solução de cada armadilha foram transferidas para frascos de cintilação (em duplicata) e adicionou-se 10mL de solução cintiladora (4g PPO; 0,2g POPOP; 340mL Renex 95 e 660mL de tolueno), descrita por Mesquita & Ruegg (1984), para posterior avaliação da radioatividade.

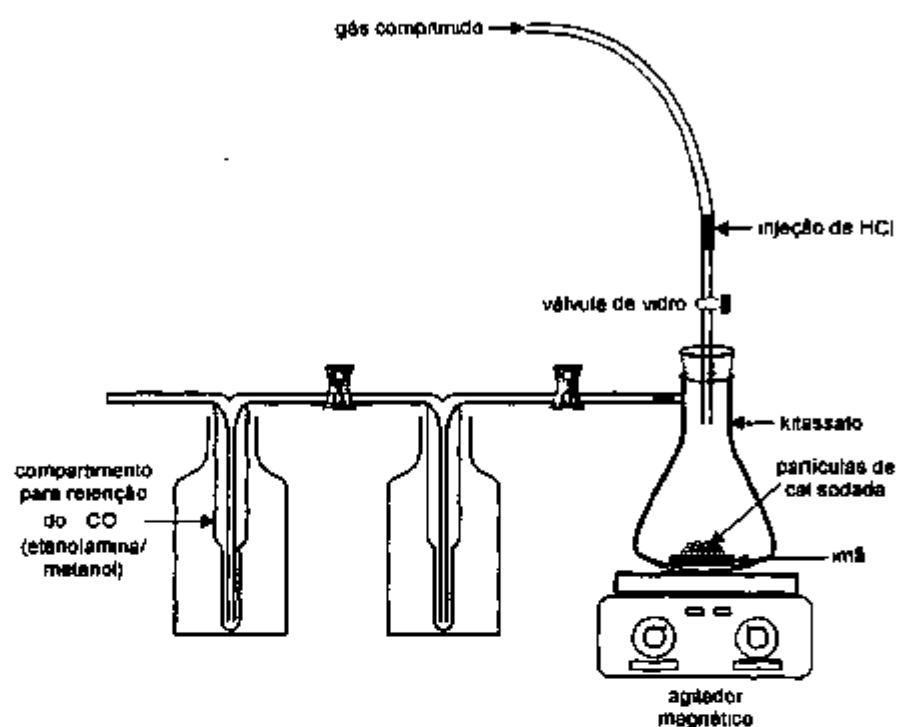


Figura 4 - Sistema de extração do $^{14}\text{CO}_2$ das partilhas de cal sodada

3.9. Cálculo da meia vida

Os cálculos foram feitos de acordo com a seguinte fórmula:

$\text{Log } A = \text{Log } A_0 - \text{Log } 2 \times t / T_{1/2}$, onde:

A = atividade encontrada no tempo t ,

A_0 = atividade aplicada,

t = tempo (dias) e

$T_{1/2}$ = meia vida.

3.10. Determinação dos resíduos do solo

Foram avaliados os resíduos dessorvidos, extraíveis e resíduos não-extraíveis, nos diferentes intervalos de tempos de incubação, isto é, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135 e 150 dias.

3.10.1. Dessorção

O processo de dessorção foi verificado em duas amostras de 25g de solo, retirados de cada um dos Erlenmeyers. As amostras foram colocadas em tubos de aço-inox de centrifuga, onde foram adicionados 50ml de cloreto de cálcio (CaCl_2 - 0,01M). O cloreto de cálcio foi utilizado para simular a força iônica da solução do solo. Estes tubos foram agitados a 120rpm por 1 hora, em agitador rotatório. Seus pesos foram ajustados adicionando-se solução de CaCl_2 aos mais leves e, em seguida, centrifugados a 13.000rpm por 15 minutos.

Retirou-se duas amostras de 1mL do sobrenadante, e adicionou-se 10mL do líquido cintilador (Mesquita & Ruegg, 1984), para quantificação da radioatividade.

3.10.2. Extração

Para extração da atrazina e seus metabólitos do solo, foram acrescentados 100ml de acetonitrila:água (80:20v/v) aos tubos de aço-inox de centrifuga, contendo as amostras de solo úmido após o processo de dessorção. Seguiu-se mais três vezes o mesmo procedimento utilizado na dessorção. Os sobrenadantes foram retirados com ajuda de uma pipeta, para

não perturbar os depósitos ("pellets") formados. Os sobrenadantes foram transferidos para uma proveta e após medir o volume final dos sobrenadantes combinados, duplicatas de amostras de 1mL, foram transferidas para frascos de cintilação onde 10mL de líquido cintilador foram adicionados (Mesquita & Ruegg, 1984). O restante do sobrenadante foi mantido na geladeira para posterior concentração e análise qualitativa por cromatografia de camada delgada (ccd).

3.10.3. Fracionamento da matéria orgânica

Os precipitados de solo resultante da extração foram secos ao ar de um dia para outro, no mesmo tubo de aço-inox de centrifuga. Em seguida foram adicionados 50mL de pirofosfato de sódio (0,1M), com borbulhamento de gás nitrogênio por 3 minutos, para troca da atmosfera. Os tubos foram hermeticamente fechados e agitados a 120rpm, por 16 horas, e, a seguir, foram centrifugados a 13.500rpm, durante 15 minutos. O processo foi repetido 3 vezes e os sobrenadantes combinados. Ao final de cada processo foram retiradas amostras de 1mL, medindo-se o volume a cada etapa e dos sobrenadantes combinados. Foram adicionados 10mL do líquido cintilador (Mesquita & Ruegg, 1984) para quantificação da radioatividade.

Os precipitados que permaneceram nos tubos foram transferidos para placas de Petri e secos à temperatura ambiente. A atividade dos mesmos, foi determinada através de combustão de 5 repetições de 1g de amostra. Esta fração foi denominada resíduo ligado à humina.

Os sobrenadantes foram acidificados com ácido clorídrico (HCl) concentrado até pH 1,5 e, a seguir, transferidos para tubos de centrifuga, e seus pesos foram ajustados com água deionizada e, em seguida foram centrifugados a 13.500rpm por 15 minutos.

Desta centrifugação foram obtidas duas frações: a) ácido fúlvicos que correspondiam ao sobrenadante e b) ácidos húmicos que correspondiam ao precipitado. Este último foi ressuspensionado por adição de 10mL de NaOH 6M e colocado em banho de ultrasom para completa dissolução. Aliquotas de 0,5mL e 0,2mL das frações dos ácidos fúlvicos e húmicos respectivamente, foram retiradas, acrescentado 10mL de líquido cintilador para quantificação da radioatividade.

Um esquema dos passos seguidos na determinação da distribuição dos resíduos nas diferentes frações do solo é mostrado na Figura 5.

3.11. Determinação da radioatividade

A atividade de cada amostra foi determinada em espectrômetro de cintilação líquida (Packard Tri-Carb 1600 TR), durante 15 minutos.

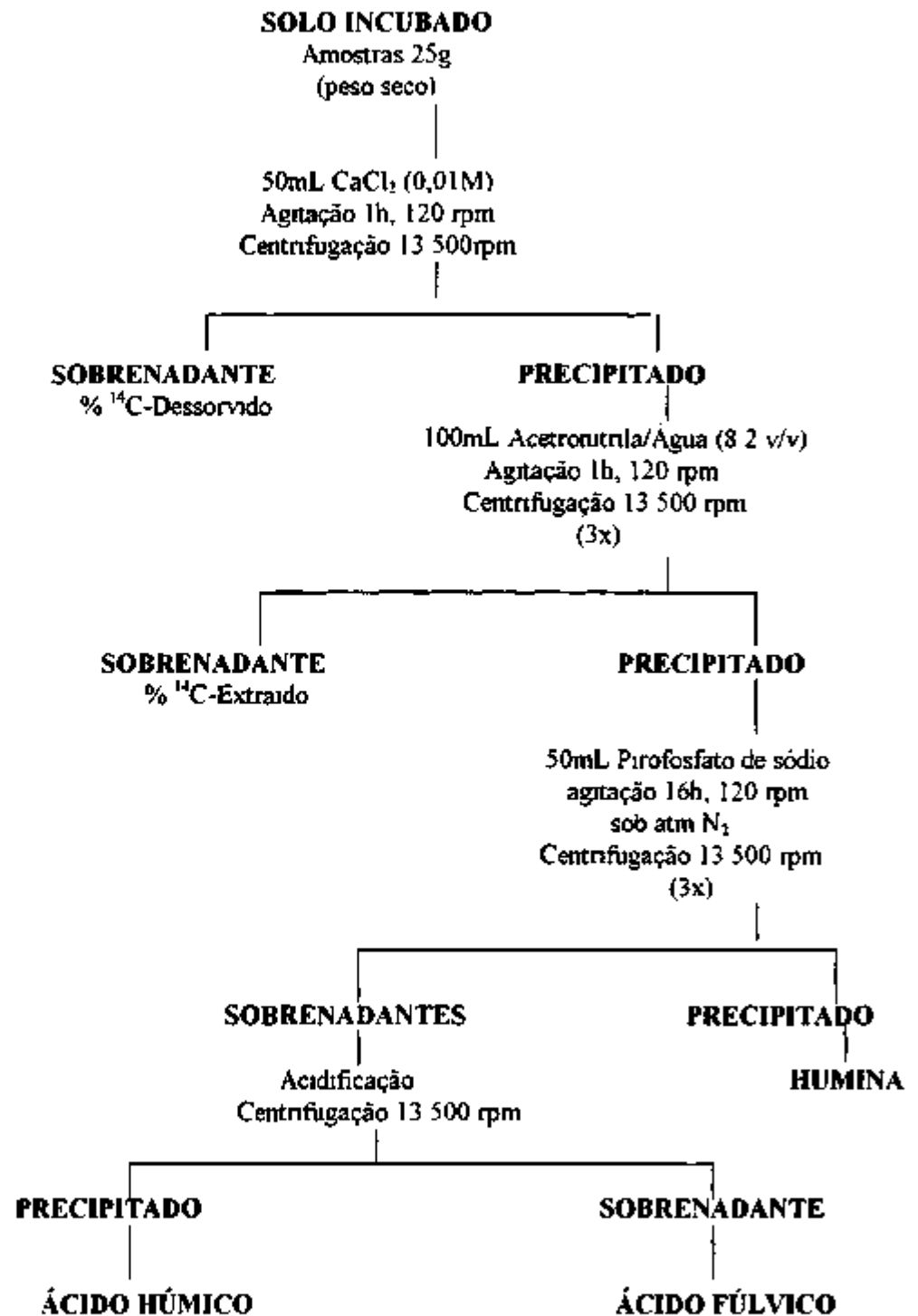


Figura 5. Esquema do fracionamento químico do solo.

3.12. Combustão das amostras de solo (Determinação dos resíduos não-extraíveis)

A atividade de amostras sólidas foram determinadas através de combustão em "Biological Oxidizer" (Harvey Instrument). Assim foram avaliadas a atividade aplicada ao solo no início do experimento e após incubação e fracionamento do mesmo. A atividade remanescente no solo correspondem aos resíduos não-extraíveis.

Cinco repetições de amostras de 1g de solo foram colocadas em barquinhas de cerâmica e submetidas à combustão a 900°C com fluxo de O₂, durante 3 minutos. Para coleta do ¹⁴CO₂ resultante, utilizou-se monoetanolamina misturada ao coquetel de cintilação na proporção: 3,3g PPO, 600mL tolueno, 300mL de etilenoglicol monometílico éter e 100mL de monoetanolamina.

A eficiência da combustão foi de 98%, de acordo com testes controle, realizados com amostras de ¹⁴C-glicose, antes da combustão das amostras, em cinco repetições.

A atividade foi também determinada em espectrômetro de cintilação líquida.

3.13. Concentração dos extratos

O volume total do extrato dessorvido (aproximadamente 50mL) de cada tratamento foi transferido para um funil de separação e misturado com 10mL de diclorometano. A mistura foi fortemente agitada, manualmente, por 2 minutos. Deixou-se decantar, a fração diclorometano foi filtrada em papel

de filtro contendo 2g de sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) e coletada em balão de fundo chato. O filtrado foi, então, concentrado em rotoevaporador (Modelo Heidolph 2000). O processo de extração com diclorometano foi repetido três vezes. O concentrado (1mL) foi armazenado em frascos de 2mL de capacidade e estocado a -17°C , para posterior análise por cromatografia em camada delgada (ccd).

As frações extraídas com o sistema acetonitrila:água foram transferidas para balão de fundo redondo. Após evaporação do acetonitrila em rotoevaporador, adicionou-se 13mL de diclorometano e procedeu-se como descrito para o extrato do dessorvido.

A atividade de cada amostra foi determinada por cintilação líquida, durante 15 minutos.

3.14. Cromatografia de camada delgada (ccd)

Os extratos concentrados obtidos da dessorção e extração, foram analisados qualitativamente por ccd, em placas de sílica gel 60 F₂₅₄ (Merck).

Os extratos foram aplicados nas placas utilizando-se o aplicador Camag-Linomat IV. Com auxílio de uma microseringa foram aplicados 100µl dos extratos e 5µl dos padrões de atrazina e seus metabólitos: hidroxiatrazina, desetilatrazina, desisopropilatrazina.

O sistema de solventes utilizado para o desenvolvimento das placas, foi cloroformio:metanol:ácido fórmico:água (80:15:5:1v/v).

As manchas desenvolvidas foram visualizadas em luz UV, demarcadas a lápis e, em seguida, foram analisadas quanto à radioatividade em

analisador linear de Cromatografia de Camada Delgada, (Berthold), o qual permite a análise quanto ao Rf e radioatividade de cada mancha.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Desprendimento de $^{14}\text{CO}_2$

O desprendimento de $^{14}\text{CO}_2$, a partir da aplicação de ^{14}C -atrazina, foi quantificado durante o período de incubação. Os valores acumulados de $^{14}\text{CO}_2$ desprendido mostram que ocorreu um desprendimento gradativo nos primeiros períodos de 15, 30 e 45 dias, chegando a um limiar de desprendimento no nonagésimo dia (Figura 6). Portanto até 45 dias ocorreu, mais acentuadamente, a clivagem do anel da atrazina, provavelmente, pela ação microbiana do solo. Em seguida ocorreu uma estabilização, e, ao final do período de incubação de 150 dias, a quantidade total de $^{14}\text{CO}_2$ desprendido atingiu 36,15% da atividade inicialmente aplicada.

A mineralização da atrazina pelos microrganismos para obtenção de energia ou fonte de nutrientes foi anteriormente observada por Mandelbaum et al. (1995) que trabalharam com *Pseudomonas* linhagem ADP, a qual utiliza atrazina como única fonte de nitrogênio para seu crescimento. Os autores constataram um aumento na concentração de proteínas com concomitante aumento do metabolismo da atrazina e liberação de $^{14}\text{CO}_2$, como consequência da clivagem do anel.

Observando-se a Figura 6 pode-se visualizar uma fase inicial de degradação lenta, possivelmente de adaptação microbiana denominada "fase lag", seguida por um aumento gradativo com formação de um pico de formação máxima de $^{14}\text{CO}_2$ aos 90 dias. Esta é a fase de crescimento exponencial, na qual os microrganismos estão em plena atividade

microbiana. Este comportamento é descrito por Kaufman & Kearney (1970) como sendo típico de degradação microbiana. Nakagawa et al. (1995) também observaram o mesmo comportamento em seus experimentos, sendo que até aos 90 dias, ocorreu um aumento significativo de $^{14}\text{CO}_2$ desprendido do anel radiomarcado de atrazina aplicada a um Latossolo Vermelho-Escuro coletado na região de Campinas-SP. Ao final de 180 dias de incubação, à temperatura de 25°C, o $^{14}\text{CO}_2$ desprendido correspondeu a 28% da atividade total aplicada.

A importância dos microrganismos na degradação de pesticidas foi também discutida por Munnecke et al. (1982) e Alexander (1977), entre outros.

Kaufman & Blake (1970) estudaram uma grande variedade de fungos que foram capazes de degradar atrazina por desalquilação, cujo processo foi evidenciado pelo desprendimento de $^{14}\text{CO}_2$ do etil e isopropil atrazina. Já MacMahon et al. (1992) reportaram que a cadeia lateral etil da atrazina, mas não o anel, foi degradada por processos microbianos em sedimentos de aquíferos-aluviais. Mas, Nair & Schnoor (1992) observaram pequena e lenta degradação do anel da atrazina em bioreatores com solo. Menos que 10% do anel uniformemente marcado da ^{14}C -atrazina foram convertidos em $^{14}\text{CO}_2$, no prazo de 125 dias.

Korpraditskul et al. (1993) identificaram a degradação microbiana de atrazina como tendo início somente após 20 dias da incubação, e supuseram que o período anterior tenha sido de adaptação microbiana. Mirgain et al. (1993) também estudando a degradação de atrazina, constataram a presença das três fases de crescimento microbiano. Na segunda fase, detectaram

consumo de 80% do pesticida em poucos dias e, identificaram com a fase de crescimento exponencial.

A temperatura e umidade são as principais variáveis abióticas que afetam a mineralização da atrazina (Wolf & Martin, 1975). Em nossos laboratórios, os experimentos de degradação da atrazina foram realizados com o mesmo solo e mesma umidade usado no experimento de campo (Villar et al., 1996). No laboratório a temperatura foi mantida constante a 20°C, obtendo-se 0,6% de $^{14}\text{CO}_2$ desprendido, num período de 32 dias (Villar et al., 1996). Já em campo, os frascos com o mesmo solo e a mesma umidade, porém, com a temperatura variável, característica das condições naturais, resultou em 9% de $^{14}\text{CO}_2$ desprendido. Portanto esta diferença na mineralização da atrazina, deveu-se, provavelmente, à temperatura. Sabe-se que temperaturas mais altas favorecem a atividade microbiana e ainda, que a variação de temperatura entre dia e noite, favorece diferentes grupos de microrganismos. Ambos fatores podem, portanto, ter influenciado este aumento de 15 vezes na mineralização da atrazina.

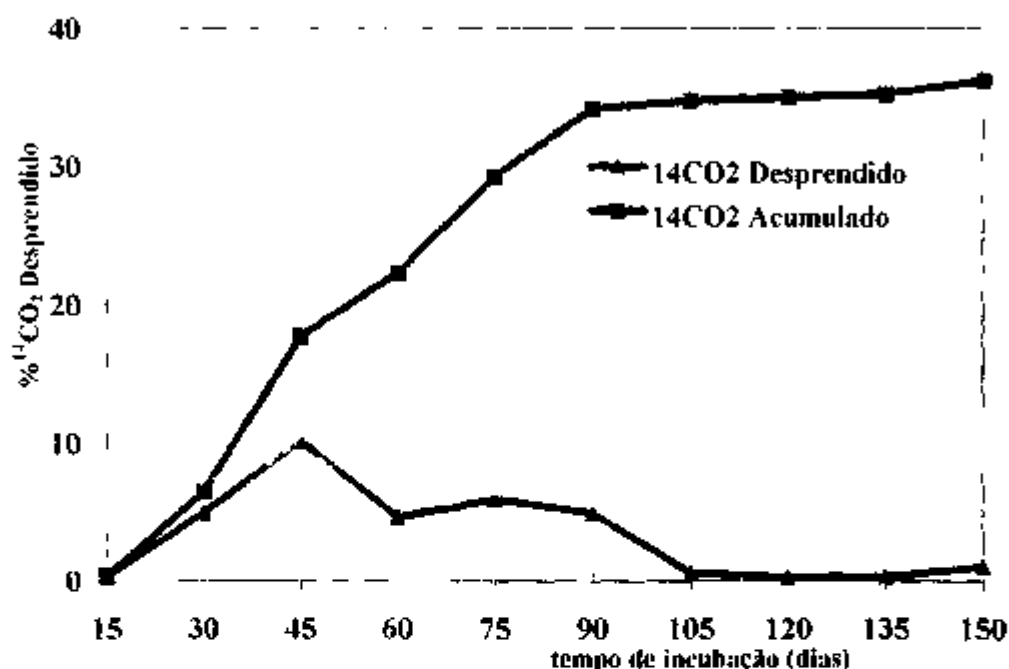


Figura 6: Porcentagem de $^{14}\text{CO}_2$ desprendido e acumulado durante 150 dias de incubação

Führ & Mittelstaedt (1979) estudaram o efeito da temperatura de incubação (0, 10 e 20°C) na mineralização e formação de resíduos de três herbicidas diferentes, em um mesmo solo. Para os três compostos observou-se drástica redução na mineralização a 10°C e 0°C, onde praticamente não ocorreu mineralização. A 20°C, entretanto, a evolução de $^{14}\text{CO}_2$ variou de 8% a 25% do aplicado, após 80 dias de incubação. Estes autores mostraram ainda, que a degradação dos compostos estudados, estava intimamente relacionada com a atividade microbiana.

4.2. Meia Vida

De acordo com os critérios propostos pelo IBAMA (1990), o herbicida atrazina, nas condições estudadas, apresentou persistência média (meia vida entre 90 e 180 dias), uma vez que apresentou desprendimento de $^{14}\text{CO}_2$ entre 1-10% no período de 28 dias de incubação. O cálculo da meia vida da atrazina através da fórmula indicada no item (3.9), utilizando o período de 45 a 90 dias, resultou em uma meia vida de 168 dias.

Conforme Mandelbaum et al. (1993), a meia vida da atrazina em solos é da ordem de meses, enquanto que em meios de cultura é de algumas semanas, sendo isto observado frequentemente com bactérias que são capazes de utilizar atrazina como única fonte de nitrogênio.

Vários autores afirmam que a persistência da atrazina em solos é influenciada por uma grande variedade de fatores físicos, químicos e biológicos. Em sistemas aquáticos, a taxa de degradação hidrolítica e fotolítica é afetada pela degradação química (Huber, 1993). Quando ela está presente na atmosfera, as reações com radicais hidroxila, produzidos fotoquimicamente, podem ser importantes (Atkinson et al., 1987).

Bintein & Devillers (1996) compilaram da literatura valores de meia vida da atrazina em vários ecossistemas, como segue:

meia vida em solos: 1440h	(60 dias)
meia vida em sedimentos: 420h	(17,5 dias)
meia vida em água: 180h	(7,5 dias)
meia vida no ar: 19h	(0,7 dias)

Os autores ressaltam a importância de não esquecermos que esses valores de meia vida, acima citados, variam de local para local, tendo como por exemplo, a influência direta da temperatura.

Korpraditskul et al. (1993) trabalharam com solos de clima temperado e tropical observando a influência do pH na meia vida da atrazina. Eles estimaram a meia vida média da atrazina entre de 20 a 150 dias, e concluíram que o pH do solo foi um fator significativo na correlação com a meia vida do herbicida. Eles também constataram que a meia vida foi menor em baixo valores de pH. Esta observação também é válida para solos brasileiros, que geralmente apresentam pH baixos. Em solos ácidos a atrazina pode sofrer degradação química formando hidroxiatrazina (Vaz, 1994).

4.3. Determinação dos resíduos do solo

4.3.1. Resíduos extraíveis

A biodisponibilidade de um herbicida é de extrema importância, porque freqüentemente é responsável pela persistência de compostos que são biodegradáveis e que deveriam ser rapidamente dissipados. A indisponibilidade de uma molécula pode ser resultado de sua adsorção aos sólidos do solo, como a matéria orgânica ou frações minerais, ou sua oclusão nestes componentes. Para os solos e seus constituintes, adsorção é a passagem de um soluto da fase aquosa para a superfície de um adsorvente sólido, sendo a dessorção o processo inverso. A maioria dos principais processos de adsorção ocorrem na superfície de argilas e materiais húmicos, os quais têm grande superfície específica por unidade de área (Ahlrichs, 1972).

Neste experimento, após incubação em diferentes períodos, os resíduos dessorvidos com CaCl_2 (0,01M) foram avaliados, sendo que a média de 5,16% foram detectados como resíduos dessorvidos, em relação ao aplicado. A Figura 7 mostra a pequena porcentagem de resíduos dessorvidos comparada com uma liberação de resíduos extraídos mais significativa. Aos 15 dias, a quantidade de resíduos dessorvidos está em torno de 15%, diminuindo gradativamente com o período de incubação e, aos 150 dias, representaram somente 1,5% do aplicado (Figura 7).

Já com relação aos resíduos extraídos com o sistema de solventes acetonitrila:água (80:20v/v), detectou-se maior porcentagem de radiocarbono

(62,01%) aos 30 dias, em relação à quantidade dessorvida. Após esse período houve uma diminuição e a quantidade extraída manteve-se constante, abaixo de 28% do aplicado, no período de 90 a 150 dias.

Sorenson et al. (1993) também constataram significantes níveis de resíduos de atrazina 16 meses após o início do tratamento nos solos estudados. Eles concluíram que a longa permanência desses resíduos no solo pode provocar contaminação de águas subterrâneas.

Borggaard & Streibig (1988) estudaram a adsorção de atrazina em 11 amostras de solos da Filipinas e Dinamarca e mostraram que a matéria orgânica do solo (M.O.S.) adsorve atrazina rapidamente. Quantidades consideráveis de atrazina foram adsorvidas na M.O.S., entretanto, muito pouco foi adsorvido por outras partículas constituintes do solo. A importância da matéria orgânica na adsorção da atrazina é também discutida por outros autores, mas estes sugerem que outros materiais constituintes do solo sejam também importantes (Weber, 1970; Huang et al., 1984).

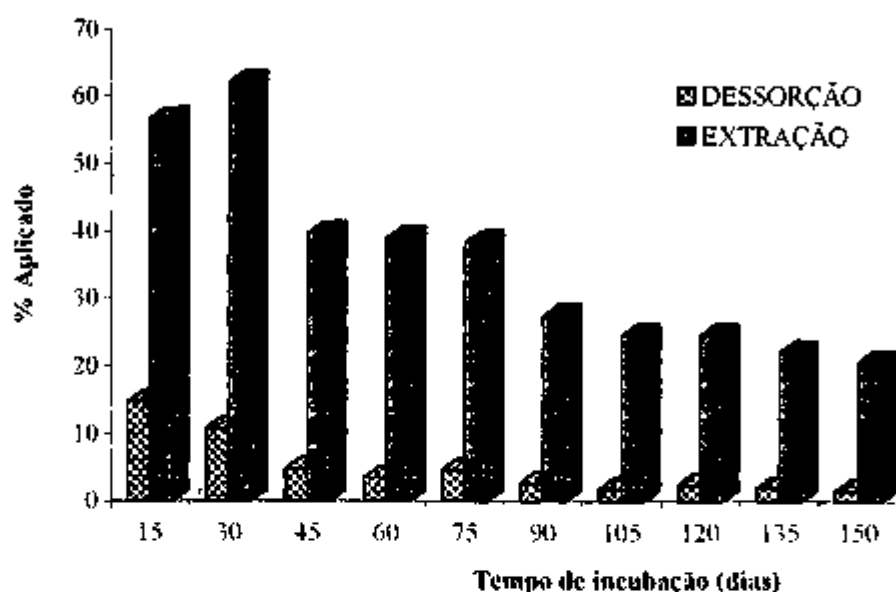


Figura 7: Porcentagem de ^{14}C -resíduos radiomarcados do dessorvidos e extraídos a partir da aplicação de ^{14}C -atrazina, durante o período de 150 dias de incubação (100% aplicado = 135,42473kBq/200g).

Os dados na Figura 7 mostram 3 fases: uma primeira, dos 15 aos 30 dias, em que ambos processos, dessorção e extração, apresentam maiores quantidades de resíduos extraíveis, comparados com o restante do período de incubação. Na segunda fase (45 a 90 dias), observa-se uma redução significativa na porcentagem de resíduos dessorvidos e extraídos, e na última fase (105 aos 150 dias), a liberação dos resíduos é ainda menor, chegando a uma porcentagem média de aproximadamente 2% e 24% de dessorvidos e extraídos, respectivamente.

Estas três etapas podem estar relacionadas aos três períodos observados na mineralização (Figura 6) e já descritos como fase de adaptação, fase exponencial de crescimento e de estabilização dos

microrganismos responsáveis pela degradação deste herbicida. Portanto, com o passar do tempo a quantidade de resíduos extraíveis diminuiu. Observando-se a Tabela 1, verificamos claramente que as quantidades de resíduos extraídos foi maior que os resíduos dessorvidos. Aos 15 e 30 dias foram encontrados as maiores porcentagens de resíduos dessorvido e extraído respectivamente. Isto sugere uma mais intensa atividade microbiana.

Tabela 1. Resíduos dos dessorvidos e extraídos, quantificados percentualmente, em relação a concentração aplicada (135,42473KBq/200g solo)

DIAS	DESSORÇÃO	EXTRAÇÃO	RES.EXTRAÍVEIS
15	14,77	56,58	71,35
30	10,72	62,00	72,72
45	4,74	39,68	44,42
60	3,45	39,00	42,45
75	4,67	38,43	43,10
90	2,69	27,42	30,11
102	1,78	24,65	26,43
120	2,45	24,55	27,00
135	1,91	22,15	24,06
150	1,54	20,67	22,21

4.3.2. Resíduos não-extraíveis (ligado)

Os resíduos não-extraíveis ou resíduos ligados são resultantes da ligação do pesticida ou de seus metabólitos com componentes do solo, planta ou animais, que não podem ser removidos da matriz com solventes polares e apolares (Kaufman, 1976; Kovacs, 1986).

Neste experimento, o total de resíduos ligados, calculado através da soma dos resíduos encontrados na fração pirofosfato e humina, praticamente não variou durante todo o período de incubação. Entretanto, observa-se que os resíduos solúveis em álcali (pirofosfato) aumentaram até aos 45 dias, e depois diminuíram, alcançando 5,57% ao final do período de incubação (Tabela 2).

O posterior fracionamento do pirofosfato em ácidos húmicos e fúlvicos, mostrou que a recuperação dos resíduos diminuíram na fração dos ácidos fúlvicos e aumentou na fração dos ácidos húmicos. Este fenómeno concorda com os resultados encontrados por Bertin et al. (1991). Na fração humina não houve variação significativa durante o período de incubação, ou seja, os valores encontrados permaneceram muito próximos entre 18% e 23% (Tabela 2).

Maiores concentrações de resíduos foram encontradas na fração de ácidos fúlvicos do que nos ácidos húmicos. Isto também foi observado por Valla et al. (1983) para o clortoluron.

Observando-se a Figura 8, podemos visualizar que os resíduos ligado na fração humina se manteve constante durante todo o período do experimento. Enquanto a fração pirofosfato diminuiu após o 75º dia e se manteve constante até o final. Das frações solúveis em álcali, a dos ácidos fúlvicos foi onde se detectou o maior percentual de resíduo ligado, inicialmente com 11,83%, podendo-se observar um aumento até os 45 dias (18,38%) e então decrescendo, chegando aos 150 dias com 6,58% (Tabela 2).

Calculando-se os percentuais médios de resíduos ligados ao longo do experimento, obteve-se valores de 21,13% de resíduos na fração humina, 11,52% na do ácido fúlvico e 2,28% na do ácido húmico. Capriel et al. (1985) observaram as seguintes proporções de resíduos em cada fração da matéria orgânica do solo, 7% nos ácido húmico, 17% nos ácido fúlvico e 22% na humina, nove anos após aplicação da atrazina sob condições de campo. Os mesmos autores afirmam também, que a presença de material húmico pode limitar a extensão pela qual o herbicida ou seus produtos de degradação podem ser novamente metabolizados. Desta forma, a formação de resíduos ligados estar acompanhada de permanente perda de fitotoxicidade.

Tabela 2. Resíduos quantificados percentualmente de ^{14}C -atrazina, ligados nas diferentes frações do solo - pirofosfato (ácido fúlvicos + ácidos húmicos) e humina, em relação a concentração aplicada (135,42473KBq/200g solo).

tempo dias	Pirofosfato	Ácidos		Humina	resíduo ligado
		Fúlvico	Húmico		
15	12,42	11,83	1,66	21,20	34,69
30	12,00	14,12	1,52	19,85	35,49
45	13,63	18,38	1,86	18,07	38,31
60	13,74	15,32	2,13	22,56	40,01
75	12,97	10,00	2,49	20,84	33,33
90	9,29	10,23	2,19	22,42	34,84
102	5,81	11,33	1,82	23,06	36,21
120	6,00	9,81	3,08	23,05	35,94
135	4,95	7,59	2,74	19,95	30,28
150	5,57	6,58	3,32	20,26	30,16

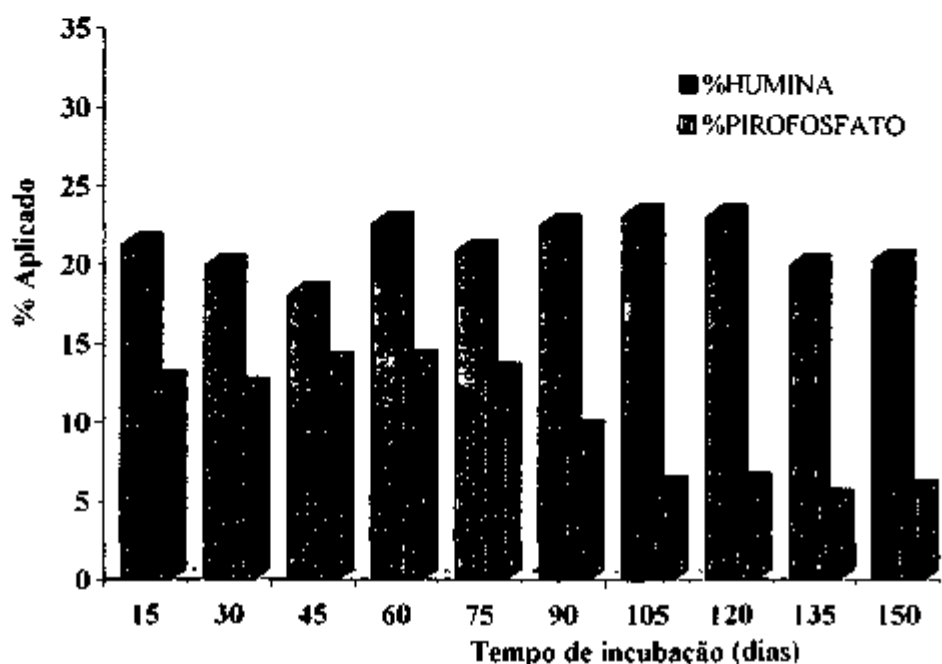


Figura 8: Quantificação dos resíduos ligados recuperada nas frações pirofosfato (ácidos fúlvico + húmico) e humina, em relação ao aplicado (135,4247 kBq/200g)

A porcentagem média de formação de resíduos ligado foi em torno de 34%, em relação ao aplicado, durante o período do experimento.

Observando-se a Figura 8 verificamos que na fração pirofosfato, que contém os ácidos húmicos e fúlvicos, a quantidade de resíduos radiomarcados diminuiu com o período de incubação, enquanto que, na fração humina, que contém também a fração mineral, houve uma tendência de aumento de resíduos. Estes resultados concordam com os de Xie et al. (1997), que constatarem que os resíduos de atrazina se distribuíram nas três frações da matéria orgânica, sendo a fração humina a de maior percentual,

envolve o anel aromático. Estes mesmos autores fracionaram a fração humina e detectaram que as maiores quantidades de resíduos ligados formados na fração humina, estava associado a sua fração mineral. Talbert & Fletchall (1965) reportaram que a s-triazina adsorve preferencialmente à superfície mineral do solo. Isto pode explicar o fato do maior percentual de resíduo ligado se formar na fração mineral, isto pode ser devido à superfície mineral ser tipicamente carregada negativamente e à atrazina ser carregada positivamente em muitos níveis de pH do solo. Walter & Crawford (1968) mostraram em seus experimentos, que a adsorção da atrazina envolve a superfície mineral e orgânica do solo.

A Tabela 3 mostra a recuperação total dos resíduos, durante o período de incubação, confirmando a validade deste experimento. A Tabela 3 também mostra que os resíduos extraídos diminuíram com o tempo de incubação, enquanto a porcentagem de resíduos ligado permaneceram constantes. O $^{14}\text{CO}_2$ aumenta com o tempo de incubação, portanto a fração inicialmente mineralizada foi a dos resíduos extraíveis (dessorvido e extraído).

Tabela 3: Porcentagem de recuperação total de ^{14}C -atrazina, em relação a concentração aplicada (135,42473KBq)

dias	resíduo extraíveis	resíduo ligado	CO_2 acumulado	total recuperação
15	71,35	34,69	0,31	106,35
30	72,72	35,49	6,44	114,65
45	44,42	38,31	17,66	100,39
60	42,45	40,01	22,22	104,68
75	43,10	33,33	29,23	105,66
90	30,11	34,84	34,09	99,04
105	26,43	36,21	34,67	97,31
120	27,00	35,94	34,90	97,84
135	24,06	30,28	35,16	89,50
150	22,21	30,16	36,15	88,52

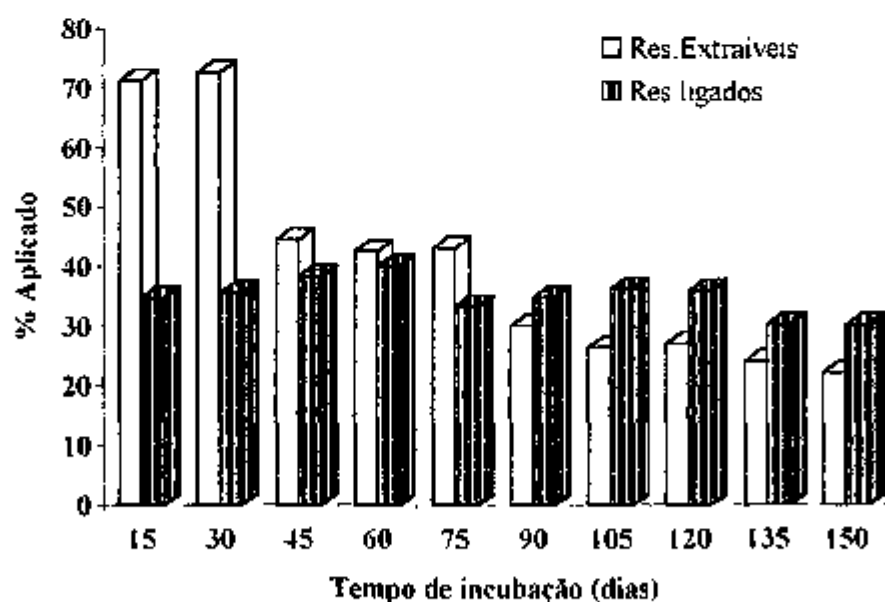


Figura 9. Recuperação de resíduos extraíveis e ligados, durante 150 dias de incubação. (100% aplicado = 135,42473kBq/200g)

Observando-se a Figura.9, pode-se constatar que os resíduos ligados formaram-se logo após o tratamento e a quantidade se manteve constante até o final do experimento. Já os resíduos extraíveis diminuíram com o tempo de incubação, concluindo-se que estes foram os primeiros a serem mineralizados. Este fenômeno concorda com os resultados encontrado por Barriuso & Koskinen (1996) que obtiveram 22% de resíduo ligado logo após a aplicação do herbicida no solo, relacionando essa rápida formação do resíduo ligado, ao grande conteúdo de matéria orgânica do solo.

4.4. Identificação dos resíduos extraíveis através de cromatografia de camada delgada (ccd)

A Tabela 4 apresenta os dados obtidos por cromatografia em camada delgada dos extratos dessorvidos e extraídos do solo.

Winkelmann & Klaine (1991) descreveram a DEA (desetilatrizona) e DIA (desisopropilatrizona) como produtos de degradação fitotóxicos. A DEA é mais fitotóxica que a atrizona, enquanto que a DIA é 5 vezes menos fitotóxica.

A hidroxiatrizona (HA) (R_f 0,36) apareceu em quase todo o período de incubação, e em maior percentagem nos extratos dessorvidos do que no extraídos, contrariando outros autores que afirmam ter observado a hidroxiatrizona somente como resíduo ligado ou não-extraível (Brouwer et al., 1990; Clay & Koskinen, 1990). Devido ao baixo pH do solo é justificável sua presença pela degradação química.

Adams & Thurman (1991) demonstraram a influência do tipo de solo na adsorção da atrazina e seus metabólitos, e constataram que a atrazina e desetilatrizona foram mais fortemente adsorvidas em solos argilosos que em arenosos. Também constataram que 15 semanas após a aplicação de atrazina, as concentrações de desetilatrizona excederam a concentração de atrazina em amostras de água do lisímetro em todas as profundidade.

Clay et al. (1988) estudando o processo de adsorção-dessorção de atrazina e hidroxiatrizona em 2 tipos de solos, constataram que a hidroxiatrizona é mais fortemente adsorvida ao solo do que atrazina.

Barriuso & Koskinen (1996) constataram em seus experimentos que a proporção de atrazina diminuiu durante os primeiros quatro meses após o início do tratamento, enquanto que a hidroxiatrizona aumentou. Desetilatrizona e desisopropilatrizona também foram identificados, mas representaram menos de 20% da radioatividade recuperada.

Tabela 4. Recuperação percentual de resíduos dos metabólitos de ^{14}C -atrazina obtidos por cromatografia de camada delgada, no sistema de solventes: cloroformio:metanol:ácido fórmico:água (80:15:1 v/v), dos extratos dessorvidos e extraídos, após diferentes períodos de incubação.

tem- po dias	Valores de Rfs							
	Metabólitos de ^{14}C -atrazina em %							
	Hidroxiatrazina		Desisopropilatrazina		Desetilatrazina		Atrazina	
	0,36		0,64		0,72		0,90	
	dessorção	extração	dessorção	extração	dessorção	extração	dessorção	extração
15	22,34	9,94	3,72	nd	nd	5,25	73,93	84,81
30	7,93	13,76	3,91	nd	nd	4,07	88,17	82,18
45	29,67	11,23	4,88	nd	nd	3,79	65,45	84,98
60	46,12	13,27	7,36	nd	nd	2,35	46,52	84,38
75	31,75	33,65	6,20	nd	nd	nd	62,05	66,35
90	37,49	-	6,63	-	nd	-	55,88	-
105	71,45	13,47	nd	3,10	nd	nd	28,57	83,42
120	61,63	15,93	nd	6,56	nd	nd	38,37	83,42
135	50,88	14,41	nd	7,38	nd	2,18	49,12	76,04
150	82,46	21,27	nd	3,26	nd	2,71	17,54	72,73

nd = não detectado; (-) = não observado.

O produto de degradação microbiana desetilatrazina (Rf 0,72) começou a aparecer já aos 15 dias, coincidindo com fase exponencial de

Desetilatrizona e desisopropilatrizona foram os principais metabólitos não-polares encontrados nesse solo. De acordo com Gan et al. (1996) estes dois produtos desalquilados nunca acumularam mais que 6,5%, indicando que desalquilação microbiana não é o mais importante caminho de degradação. Adams & Thurman (1991) observaram que a concentração de desisopropilatrizona foi sempre menor que a de desetilatrizona nos solos estudados. Schiavon (1988a) observou a predominância da desetilatrizona em relação a outros produtos desalquilados. Ainda, Skipper & Volk (1972) estudando a degradação da atrizona em três solos do estado de Oregon (E.A.U.), encontraram que a cadeia lateral etil sofreu mais ataque microbiano do que a cadeia lateral isopropil.

De acordo com os dados apresentados aqui (Tabela 4), a proporção de desetilatrizona e desisopropilatrizona são menores do que atrizona e hidroxiatrizona, nas condições estudadas. Estes resultados concordam com os de Sorenson et al. (1993), que estudaram a degradação da atrizona na camada de 0-10cm. Estes autores observaram a mobilidade da atrizona e seus metabólitos em outras profundidades, e constataram que a proporção de atrizona, desetilatrizona e desisopropilatrizona aumentou enquanto que hidroxiatrizona diminuiu na camada de 10 a 40cm, indicando que desetilatrizona e desisopropilatrizona tem igual ou maior potencial para lixiviar e contaminar o lençol freático do que a atrizona. Já a hidroxiatrizona, como já foi descrito anteriormente, não tem mobilidade no solo, e portanto, não tem potencial para lixiviar (Clay et. al., 1988).

5. CONCLUSÕES

- O herbicida atrazina, nas condições estudadas, apresentou 8% de $^{14}\text{CO}_2$ desprendido no período de 28 dias, sendo classificado, segundo o manual do IBAMA, como moderadamente persistente. Os cálculos matemáticos resultaram em meia vida de mineralização em torno de 168 dias.
- As quantidades de resíduos dessorvidos e extraídos diminuíram durante o período de incubação. Já os resíduos ligados se formaram e se mantiveram praticamente constantes durante todo o período do experimento.
- Neste estudo foram observadas as três fases distintas de atividade microbiana: a fase inicial, a fase exponencial e a fase estacionária, sendo que o comportamento desta última é justificado pela falta de nutrientes ou pela falta de disponibilidade do herbicida ao ataque microbiano.
- A degradação da atrazina nas condições estudadas, ocorreu tanto por processos químicos quanto por ação de microrganismos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS Jr., R.S. Factors influencing soil adsorption and bioactivity of pesticide. **Residue Reviews**, v.47, p.1-54, 1973.
- ADAMS, C.D.; THURMAN, E.M. Formation and transport of deethylatrazine in the soil and vadose zone. **Journal of Environmental Quality**, v.20, p540-547, 1991.
- AHLRICHS J.L. The soil environment. In: GORING, C.A.I.; HAMAKER, J.W. (Ed.). **Organic chemicals in the soil environment**. New York: Marcel Dekker, 1972. v.1, p.3-46.
- AISLABIE, J.; LLORD-JONES. A review of bacterial degradation of pesticides. **Australian Journal of Soil Research**, v.33, n.6, p.925-942, 1995.
- ALEXANDER, M, **Introduction to soil microbiology**. 2. ed. New York: John Willey, 1977. 467p.
- ALEXANDER, M. **Biodegradation and biorremediation**. San Diego: Academic Press, 1994. 302p.
- ANDER, S.; HYNNING, P. Increased aquatic toxicity following photolitic conversion of an organochlorine pollutant. **Chemosphere**, v.34, n.8, p.1685-1692, 1997.
- ANDERSON, J.P.E. Principles of an assay systems for biodegradation. In: KAMELY, D; CHAKRABARTY, A.; OMENN, G.S. (Ed.)

- Biotechnology and biodegradation.** Houston: guelf publishing, 1989. p.129-145. (Advances in Applied Biothechnology. Series, 4).
- ANDRÉA, M.M.; LORD, K.A.; RUEGG, E.F. Efeito do conteúdo de água na persistência do DDT-14C em solo sob Cerrado. *Ciência e Cultura*, São Paulo, n.37 (11), p. 1855-1858. 1985.
- ARMSTRONG, D.E.; CHESTERS, G.; HARRIS, R.F. Atrazine hydrolysis in soil. *Soil Science Society America Proceeding*, v.31, p.61-66, 1967.
- ASHTON, F.M.; GRAFTS, A.S.. **Mode of action of herbicides.** New York: John Wiley, 1973. p.310-346: Triazine
- ATKINSON, R.; TUAZON, E.C.; WALLINGTON, T.J.; ASCHMANN, S.M.; AREY, J.; WINER, A.M.; PITTS, J.N. Atmospheric chemistry of aniline, N,N-dimethylaniline, pyridine, 1,3,5-triazine, and nitrobenzene. *Environment Science and Technology*, v.21, p.64-72, 1987.
- BAILEY, G.W.; HITE, J.L.; ROTHBERG, T. Adsorption of organic herbicides by montmorillonite: role of pH and chemical character of adsorbate. *Soil Science Society America Proceedings*, v.32, n.2, p.222-234, 1968.
- BAILEY, G.W.; WHITE, J.L. Factors influencing the adsorption, desorption and movement of pesticides in soil. *Residue Reviews*, v.32, p.29-92, 1970.
- BARRIUSO, E.; BAER, U.; CALVET, R. Dissolved organic matter and adsorption-desorption of dimefuron, atrazine, and carbetamide by soils. *Journal of Environmental Quality*, v. 21, p.359-367, 1992.

- BARRIUSO, E.; KOSKINEN, W.C. Incorporating nonextractable atrazine residues into soil size fractions as a function of time. **Soil Science Society of America Journal**, v.60, p.150-157, 1996.
- BEHKI, R.M.; KHAN, S.U. Degradation of atrazine by *Pseudomonas*: N-dealkylation and dehalogenation of atrazine and its metabolites. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.34, p.746-749, 1986.
- BEHKI, R.M.; KHAN, S.U. Degradation of atrazine, propazine, and simazine by *Rhodococcus* strain B-30. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.42, p.1237-1241, 1994.
- BEHKI, R.M.; TOPP, E.; DICK, W.; GERMON, P. Metabolism of the herbicide atrazine by *Rhodococcus* strains. **Applied and Environmental Microbiology**, v.59, p.1955-1959, 1993.
- BERTIN, G.M.; SHLAVON F.; PORTAL, J.M.; ANDREUX, F. Contribution to the study of nonextractable pesticides residues in soils: Incorporation of atrazine in model humic acids prepared from catechol. In: BERTHELIN, J. (Ed). **Diversity of environmental biogeochemistry**., Amsterdam: Elsevier, 1991, p.105-110.
- BINTEIN, S.; DEVILLERS, J. Evaluating the environmental fate of atrazine in France. **Chemosphere**, v.32, n.12, p.2441-2456, 1996.
- BLANCO, H.G. Destino, comportamento e resíduos dos herbicidas no solo. **O Biológico**, v.45, n. 11/12, p.225-248, 1979.

- BORGGAARD, O .K.; STREIBIG, J.C. Atrazine adsorption by some soil samples in relation to their constituents. **Acta Agricultural Scandinavica**, v.38, p.293-301, 1988.
- BOTTONI, P.; KEIZER, J.; FUNARI, E. Leaching indices of some major triazine metabolites. **Chemosphere**, v.32, n.7, p.1401-1411, 1996.
- BROUWER, W.W.M.; BOESTEN, J.J.T.I., SIEGERS, W.G. Adsorption of transformation products of atrazine by soil. **Weed Research**, v.30, p.123-128, 1990.
- BUHLER, D.D.; RANDALL, G.W.; KOSKINEN, W.C. and WYSE, D.L. Atrazine and alachlor losses from subsurface tile drainage of a clay loam soil. **Journal of Environment Quality**, v.22, p.583-588, 1993.
- BURKHARD, N.; GUTH, J.A. Photodegradation of atrazine, atratron and ametryne in aqueous solution with acetone as a photosensitizer. **Pesticide Science**, v.7, p.65-71, 1976.
- CALDERBANK, A. The occurrence and significance of bound pesticide residues in soil. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v.108, p.71-103, 1989.
- CAPRIEL, P.; HAISCH, A.; KHAN, S.U. J. Distribution and nature of bound (nonextractable) residues of atrazine in a mineral soil nine years after herbicide application. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.33, p.567-569, 1985.
- CHENG, H.H. Pesticide in the soil environment: processes impacts, and modeling. Madison: Soil Science Society of America, 1990. 530p.

- CHENG, H.H.; LEHMANN, R.G. Characterization of herbicide degradation under field condition. **Weed Science**, v.33, p.7-10, 1985. Supl.2
- CLARK, L.; GOMME, J.; HENNINGS, S. Study of pesticides in water from a chalk catchment. **Pesticide Science**, v.32, p.15-33, 1991.
- CLAY, S.A.; KOSKINEN W.C. Adsorption and desorption of atrazine, hydroxyatrazine, and S-glutathione atrazine on two soils. **Weed Science**, v.38, p.262-266, 1990.
- CLAY, S.A.; KOSKINEN, W.C.; ALLMARAS, R.R.; DOWDY, R.H., Differences in herbicide adsorption on soil using several soil pH modification techniques. **Journal of Environmental Science Health**, v.B23, n.6, p.559-573, 1988.
- COOK, A.M.; HUTTER, R. S-triazines as nitrogen source for bacteria. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.29, p.1135-1143, 1981.
- COSTA, M. P. Efeito da matéria orgânica em alguns atributos do solo. Piracicaba, 1983, 137p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- COSTA, M. P. Biodegradação de ^{14}C -ametrina em areia quartzosa com adição de palha de cana e solo rizosférico. Piracicaba, 1992. 107p. Dissertação (Mestrado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo.
- ERICKSON, L.E.; LEE, K.H.. Degradation of atrazine and related s-triazine. **Critical Reviews in Environmental Control**, v.19, p.1-14, 1989.

- ESSER, H.O.; DUPUIS, G.; EDERT, E.; MARCO, G.; VOGUEL, C. S-triazine. In: KEARNEY, P.C.; KAUFMAN, D.D. (Ed) **Herbicides**. New York: Marcel Decker, 1975. p.129-208.
- FLURY, M. Experimental evidence of transport of pesticides through field soils - a review. **Journal of Environmental Quality**, v.25, p.25-45, 1996.
- FREITAS, J.R.; NASCIMENTO FILHO, V.F.; VOSE, P.B.; RUCHEL, A.P. Estimativa da microflora heterotrófica do solo TRE usando respirometria com glicose ^{14}C . **Energia Nuclear e Agricultura**, v.1, p.123-130, 1979.
- FÜHR, R.; MITTELSTAEDT, W. J. Effect of varying soil temperatures on the degradation of methabenzthiazuron, isocarbamid and metamitron. **Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde**, v.142, n-5. p. 657-668, 1979.
- FÜHR, R.; MITTELSTAEDT, W. J. Plant experiments on the bioavailability of unextracted (carbonyl- ^{14}C) methabenzthiazuron residues from soil. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, American Chemical Society, n.28, v.1, p.122-125, 1980.
- FUTINO, A.M.; SILVEIRA, J.M.J.F. A indústria de defensivos agrícolas no Brasil. **Agricultura em São Paulo**, v.38, p.1-43, 1991.
- GAN, J.; BECKER, R.L.; KOSKINEN, W.C.; BUHLER, D.D. Degradation of atrazine in two soils as a function of concentration. **Journal of Environmental Quality**, v.25, p.1064-1072, 1996.

- GAYNOR, J.D.; MACTAVISH, D.C.; FINDLAY, W.I. Surface and subsurface transport of atrazine and alachlor from a Brookdton clay loam under continuous corn production. **Archives of Environmental Contamination and Technology**, v.23, n.2, p.240-245, 1992.
- GAYNOR, J.D.; VOLK, J.V., S-triazine solubility in chloride salt solution. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.29, p.1143-1146, 1981.
- GIARDINA, M.C.; GIARDI, M.T.; FILACCHIONI, G. 4-Amino-2-chloro-1,3,5-triazine: a new metabolite of atrazine by a soil bacterium. **Agricultural and Biological Chemistry Journal**, v.44, p.206-207, 1980.
- GOSWANI, K.P.; GREEN, R.E. Simultaneous extraction of hydroxyatrazine, atrazine and ametryne from some Hawaiian soils. **Soil Science Society of America Proceedings**, v.37, p.702-707, 1973.
- GYSIN, H. International challenges in weed science. **Weed Science**, v.22, n.5, p.523-527, 1974.
- HALLBERG, G.R. Pesticide pollution of groundwater in the humid United States. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.26, p.299-367, 1989.
- HANCE, R.J. **Interations between herbicides and the soil**. New York: Academic Press, 1980. 349p.

- HAYES, M.H.B. Adsorption of triazine on soil organic matter, including a short review on soil organic matter chemistry. **Residue Reviews**, v.32, p.131-174, 1970.
- HAYNES, R.J.; SWIFT, R.S. Effects of soil acidification and subsequent leaching on levels of extractable nutrients in a soil. **Plants and Soil**, v. 95, p.327-336, 1986
- HELLING, C.S. Pesticides mobility in soils I. Parameters of thin-layer chromatography. **Soil Science Society America Proceedings**, v.35, p.732-737, 1971.
- HIRATA, R.; LUCHINI, L.C.; MESQUITA, T.B.; RUEGG, E.F. Influência de nutrientes orgânicos na persistência do carbaril em solos. **Turrialba**, v.32, p.441-445, 1982.
- HORSWELL, J.; HODGE, A; KILLHAM, K. Influence of plant carbon on the mineralization of atrazine residues in soils. **Residue Reviews**, v.32, p.267-286, 1997.
- HUANG, P.M.; GROVER, R.; McKERCHER, R.B. Components and particle size fractions involved in atrazine adsorption by soils. **Soil Science**, v.138, p.20-24, 1984.
- HUBER, W. Ecotoxicological relevance of atrazine in aquatic systems. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.12, p.1865-1881, 1993.
- IBAMA -INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE. **Manual de testes para avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos**. 2.ed. Brasília: IBAMA, 1990. 351p.

- JOHNSON, L.F.; CURL, E.A.. **Methods for research on the ecology of soil borne plant pathogens**. Minneapolis: Burgess Publishing Company, 1972. p.102-115. Respiration and enzyme activity
- KANNAN, K.; TANABE, S.; WILLIAMS, R. J.; TATSUKAWA, R. Persistent organochlorine residues in foodstuffs from Australia, Papua New Guinea and the Solomon Islands: contamination levels and dietary exposure. **Science of the Total Environment**, v.153, p.29-49, 1994.
- KAUFMAN, D.D.. In: KAUFMAN, D.D.; STILI, G.G.; PAULSON, G.D.; BANDAL, S.K., (Ed.). **Bound and conjugated pesticides residues** Washington: ACS, 1976. p.1-10. (ACS Symposium Series, 29)
- KAUFMAN, D.D.; BLAKE, J. Degradation of atrazine by soil fungi. **Soil Biology and Biochemistry**, v.2, p.73-80, 1970.
- KAUFMAN, D.D.; KEARNEY, P.C. Microbial degradation of triazine herbicides. **Residue Reviews**, v.32, p.235-265, 1970.
- KEARNEY, P.C.; KAUFMAN, D.D.; ALEXANDER, M. Biochemistry of herbicide decomposition in soil. In: McLaren, A.D.; Peterson, G.H. (ed) **Soil biology and Biochemistry**, Oxford, 1967, p.318-340.
- KHAN, S.U. The interation of organic matter with pesticides. In: SCHNITZER, M.; KHAN, S.U. (Ed.). **Soil organic matter**. Amsterdam: Elsevier, 1978. p.137-173. (Development in Soil Science, 8).
- KHAN, S.U.; SAIDAK W.J. Residues of atrazine and its metabolites after prolonged usage. **Weed Research**, v.21, p.9-12, 1981.

- KLINGMAN, G.C.; ASHTON, F.M.; NOORDHOFF, L.J. **Weed science: principles and practices.** New York, John Wiley, 1982.
- KOOKANA, R.S.; AYLMOORE, L.A.G. Estimating the pollution potential of pesticides to ground water. **Australian Journal of Soil Research**, v.32, p.1141-1155, 1994.
- KORPRADITSKUL, R.; KATAYAMA, A.; KUMATSUKA, S. Chemical and microbial degradation of atrazine in japanise and thai soils. **Journal of Pesticide Science**, v. 18, p.77-83, 1993.
- KOVACS Jr., M.F. Regulatory aspects of bound residues (chemistry). **Residue Reviews**, v.97, p.1-17, 1986.
- KRETOVA, L.G.; KHEGAY, T.A.; RACHINSKY, V.V.; FOKIN, A.D. Study of ¹⁴C-atrazine sorbed by various soils components decomposition. **Pochvovedenie**, v.10, p.21-27, 1986.
- KUNC, F. Organic substracts and microbial conversion of herbicides in soil. In: KUBAT, J. (Ed) In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON HUMUS ET PLANTS, 10., Prague, 1992. **Humus.** Its structure and role in agriculture and environment; proceedings, Amsterdam: Elsevier, 1992. p.155-164.
- KWONG, N.K.K.F.; HUANG, P. M. Surface reactivity of aluminum hydroxides precipitated in the presence of low molecular weight organic acids. **Soil Science Society of America Journal**, v.43, p.1107-1113, 1979.

- LAIRD, D.A.; BARRIUSO, E.; DOWDY, R.H.; KOSKINEN, W.C.
Adsorption of atrazine on smectites. **Soil Science Society of America Journal**, v.56, p.62-67, 1992.
- LAMOUREUX, G.L.; STAFFORD, L.E.; SHIMABUKURO, R.H.
Conjugation of 2-chloro-4,6-bis(alkylamino)-s-triazine in higher plants. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.20, p.1004-1010, 1972.
- LEGRAND, M.F.; COSTENTIN, E.; BRUCHET, A. Occurrence of 38 pesticides in various French surface and ground waters. **Environmental Technology**, v.12, p.985-996, 1992.
- LINN, D.M.; CARSKI, T.H.; BRUSSEAU, M.L.; CHANG, F-H. **Sorption and degradation of pesticides and organic chemicals in soils**. Madison: Soil Science Society of America, 1993. (SSSA. Special Publication, 32).
- LORD, K.A.; ANDRÉA, M.M. de; HELENE, C.G.; RUEG, E.F.
Laboratory test of the persistence in two Brazilian soils. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.45, p.197-200, 1978.
- LYNCH, J.M. **Biotecnologia do solo: fatores microbiológicos na produtividade agrícola**. São Paulo: Manole, 1986. 209p.
- MacMAHON, P.B.; CHAPELLE, F.H.; JAGUCKI, M.L. Atrazine mineralization potencial of alluvial-aquifer sediments under aerobic conditions. **Environmental Science and Technology**, v.26, p.1556-1559, 1992.

- MANDELBAUM, R.T.; ALLAN, D.L.; WACKETT, L. P. Isolation and characterisation of a *Pseudomonas* spp. that mineralizes the s-triazine herbicide atrazine. **Applied and Environmental Microbiology**, v.61, n.4, p.1451-1457, 1995.
- MANDELBAUM, R.T.; WACKETT, L.P.; ALLAM,D.L. Mineralization of the s-triazine ring of atrazine by stable bacterial mixed cultures. **Applied and Environmental Microbiology**, v.59,n.6, p.1695-1701, 1993.
- MELI, G.; BAGNATI, R.; FANELLI, R; BENFENATI, E; AIROLDI, L. Metabolic profile of atrazine and N-nitrosoatrazine in rat urine. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.48, n.5, p.701-708, 1992.
- MESQUITA, T.B.; RUEGG, E.F. Influência de agentes tensoativos na detecção da radiação Beta. **Ciência e Cultura**, v.9. p.583-591, 1984.
- MIRGAIN, I.; GREEN, G.A.; MONTEIL, H. Degradation of atrazine in laboratory microcosms: isolation and identification of biodegradating bacteria. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.12, p.1627-1634, 1993.
- MOILANEN, K.W.; CROSBY, D.G.; SODERQUIST, C.J.; WONG, A.,S. Dynamics aspects of pesticides photodecomposition. In: HAQUE, R.; FREED, V.H. (Ed.). **Environmental Dynamics of Pesticides**. New York: Plenum Press, 1975. p.45-60.
- MUNNECKE, D.M.; JOHNSON, L.M.; TALBOT, H.W.; BARIK, S. Microbial metabolism and enzymology of selected pesticides.. In:

- CHAKRABARTY, A.M. (Ed) **Biodegradation and detoxification of environmental pollutants**. Boca Raton: CRC Press, 1982. p.1-32.
- MUSUMECI, M.R. Defensivos agrícolas e sua interação com a microbiota do solo. In: CARDOSO, E.J.B.N. **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p.341-360.
- NAIR, D.R.; SCHNOOR, J.L. Effects of two electron acceptors on atrazine mineralization rates in soil. **Environmental Science and Technology**, v. 26, p. 2298-2300, 1992.
- NAKAGAWA, L.E.; LUCHINI, L.C.; MUSUMECI, M.R.; ANDREA M.M. Comportamento da atrazina em solos brasileiros em condições de laboratório. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.30, n. 4, p.471-476, 1995.
- OBIEN, S.R.; GREEN, R.E. Degradation of atrazine in four Hawaiian soils. **Weed Science**, v.10, n.1, p.45-49, 1993.
- PASCHOAL, A.D. **Pragas, praguicidas & a crise ambiental: problemas e soluções**. Rio de Janeiro: Fundação Getúlio Vargas, 1979. 102p.
- PAULINO, S.R. A indústria de pesticidas agrícolas no Brasil: dinâmica inovadora e demandas ambientais. Campinas, 1993. 171p. Dissertação (Mestrado)- Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas.
- PELISSARI, A. Efeitos do uso contínuo de herbicidas sobre fungos micorrízico vesículo-arbusculares em citros, e na atividade microbiana. Piracicaba, 1992. Tese (Doutorado), Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

- PELIZZETI, E.; CARLIN V.; MAURINO, V.; MINERO, C.; DOLCI, M.; MARCHESINI, A. Degradation of atrazine in soil through induced photocatalytic processes. **Soil Science**, v.150, n. 2, p.523-526, 1990.
- PEREIRA, W.E.; HOSTETTLER, F.D. Nonpoint source contamination of the Mississippi river and its tributaries by herbicides. **Environmental Science Technology**, v.27, p.1542-1552, 1993.
- PICKUP R.W. Development of molecular methods for the detection of specific bacteria in the environment. **Journal of General Microbiology**, v.137, p.1009-1019, 1991.
- RADOSEVICH, M.; TRAINA, S.J.; YUE-LI HAO; TUOVINEN, H.O. Degradation and mineralization of atrazine by a soil bacterial isolate. **Applied and Environmental Microbiology**, v.61, n.1, p.297-302, 1995.
- REDDY, R.; SETHUNATHAN, N. Mineralization of p-nitrophenol in the rhizosphere of rice. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.47, p.313-317, 1994.
- ROY, W.R.; KARPAC, G.I. Adsorption and desorption of atrazine and deethylatrazine by low organic carbon geologic materials. **Journal of Environmental Quality**, v.23, p. 446-549, 1994.
- RUSSEL Jr., S.A. Factors influencing soil adsorption and bioactivity of pesticides. **Residue Reviews**, v.47, p.1-54, 1973.
- SCHIAVON, M. Studies of the leaching of atrazine, of its chlorinated derivatives, and of hydroxiatrazine from soil using ^{14}C ring-labeled

- compounds under outdoor conditions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.15, p.46-54, 1988a.
- SCHIAVON, M. Studies of the movement and the formation of bound residues of atrazine, of its chlorinated derivatives, and of hydroxiatrazine in soil using ^{14}C -ring labeled compounds under outdoor conditions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.15, p.55-61, 1988b.
- SCHMIDT, S.K.; SIMKINS, S.; ALEXANDER, M. Models for the kinetics of biodegradation of compounds not supporting growth. **Applied and Environmental Microbiology**, v.50, p.323-331, 1985.
- SCRIBAN, R. **Biotecnologia**. São Paulo: Manole, 1990.
- SHAHAMAT, U.K. **Pesticides in the soil environment**. Amsterdam: Elsevier, 1980.
- SKIPPER, H.D.; GILMOUR, C.M.; FURTICK, W.T. Microbial versus chemical degradation of atrazine in soils. **Soil Science Society America Proceeding**, v.31, p.653-656, 1967.
- SKIPPER, H.D.; VOLK, V.V. Biological and chemical degradation of atrazine in three Oregon soils. **Weed Science**, v.20, p.344-347, 1972.
- SINGH, H.B.; KANAKIDOU, M. An investigation of atmospheric sources and sinks of methyl bromide. **Geography Research Letters**, v.20, p.133-136, 1993.
- SKLADANY, G.J.; METTING Jr., F.B. Bioremediation of contaminated soil. In: METTING Jr, F.B. (Ed.). **Soil microbial ecology: application**

- in agricultural and environmental management. New York: Marcel Dekker, 1992. p.483-513.
- SMITH, S.N.; PUGH, G.J. Evaluation of dehydrogenase as a suitable indicator of soil microflora activity. **Enzyme Microbial Technology**, v.1, p.279-281, 1979.
- SORENSEN, B.A.; WYSE, D.L.; KOSKINEN, W.C.; BUHLER, D.D.; LUESCHEN, W.E.; JORGENSEN, M.D. Formation and movement of ^{14}C -atrazine degradation products in a sandy loam soil under field conditions. **Weed Science**, v.41, p.239-245, 1993.
- SPENCER, W.F. **Fate of Pesticides in the environment**. Oakland, California. Agricultural Experiment Station. University of California. Division of Agriculture and Natural Resources. 1987. cap.6, p.61-68: Volatilization of pesticides residues.
- STEVENSON, F.J. Organic matter reaction involving herbicides in soil. **Journal of Environmental Quality**, v.1, p.333-343, 1972.
- STEVENSON, F.J. Organic matter reactions involving pesticides in soil. In: KAUFMAN, D.D.; STILL, G.G.; PAULSON G. D.; BANDAL, S.N.K. (Ed.) **Bound and conjugated pesticides residues**. Washington: ACS, 1976. (Symposium Series, 29), p.180-207, 1976.
- SWANSON, R.A. & DUTT, G.R. Chemical and physical process that affect atrazine and distribution in soil systems **Soil Science Society America Proceedings**, v.37, p.872-876, 1973.

- SWAIN, D.J. Atrazine dissipation in irrigated sorghum cropping in southern New South Wales. **Weed Research**, v.21, p.13-21, 1992.
- TALBERT, R.E.; FLETCHALL, O.H. The adsorption of some s-triazine in soils. **Weeds**, v.13, p.47-52, 1965.
- U.S. ENVIRONMENT PROTECTION AGENCY. **Pesticides in ground water: Background.**, Washington: USDA. 1986. (Doc. EPA 440/6-86-001).
- U.S. ENVIRONMENT PROTECTION AGENCY. **National survey of pesticide in drinking water wells: phase I report.** Washington: USDA, 1990.
- U.S. ENVIRONMENT PROTECTION AGENCY. **National survey of pesticide in drinking water wells: phase II report.** Washington: USDA, 1992.
- VALLA, M.; KOZAK, I.; PAUEL, L.; BILKOVÁ, H. Adsorption of Chlortoluron by humic and fulvic acids. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON HUMUS ET PLANTS, 8, Prague, 1983. **Studies about humus**; transactions. Prague, p115-118, 1983.
- VAZ, C.M. Metodologia eletroanalítica para medidas de atrazina em águas e solução do solo. Piracicaba, 1994. 97p. Dissertação (Mestrado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo.
- VENDAS de defensivos. **O Estado de São Paulo. Suplemento Agrícola**, São Paulo, 09 de abr. 1997. p.11.

VILLAR, B.P.Q.; MONTEIRO, R.T.R.; BURAUUEL, P.; WAIS, A.

Degradação de ^{14}C -atrazina em condições de campo e laboratório. In: ENCONTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGIA AMBIENTAL, 5 /ENCONTRO NORDESTINO DE MICROBIOLOGIA AMBIENTAL, 1, Fortaleza, 1996. Resumos. Fortaleza: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1996. p.110.

WALKER, A.; CRAWFORD, D.V. The role of organic matter in adsorption of three triazine herbicides by soils. In: INTERNATIONAL ENERGY AGENCY. **Isotopes and radiation in soil organic matter studies** Vienna: IAEA, 1968. pp.91-105.

WAUCHOPE, R.D. The pesticide content of surface water draining from agricultural fields - a review. **Journal Environment Quality**, v.7, p.459-472, 1978.

WEBER, J.B. Mechanisms of adsorption of s-triazines by clay colloids and factors affecting plant availability. **Residue Reviews**, v.32, p.93-130, 1970.

WEBER, J.B. Interaction of organic pesticides with particulate matter in aquatic and soil systems. **Advances in Chemistry Series**, v.55, p.55-120, 1972.

WHITE, J.L. Clay-pesticides interactions. In: KAUFMAN, D.D.; STILL, G.G.; PAULSON G. D.; BANDAL, S.N.K. (Ed). **Bound and conjugated pesticides residues**. Washington: ASC, 1976. (Symposium Series 29) p.208-218.

- WINKELMANN, D.A.; KLAINE, S.J. Atrazine metabolite behaviour in soil-core microcosms. In: SOMASUNDARAM, L.; COATS, J.R. **Pesticide transformations products fate and significance in the environment**. Washington: ACS, 1991. (ACS Symposium Series, 459)
- WILSON, M.P.; SAVAGE, E.P.; ADRIAN, D.D.; AARONSON, M.L.; KEEFE, T.J.; HAMAR, D.H.; TESSARI, J.T. Groundwater transport of the herbicide atrazine, weld County, Colorado. **Bulletin of the Environmental Contamination and Toxicology**, v.39, p.807-814, 1987.
- WOLF, D.C.; MARTIN, J.P. Microbial decomposition of ring ¹⁴C-atrazine, cyanuric acid, and 2-chloro-4,6-diamino-s-triazine. **Journal of Environmental Quality**, v.4, p.134-139, 1975.
- YAGI, K.; WILLIAMS, N.Y.; CICERONE, R.J. Agricultural soil fumigation as a source of atmospheric methyl bromide. **Proceedings of the National Academy of Science**, v.90, p.8420-8423, 1993.
- XIE, H.; GUETZLOFF, T.F.; RICE, J.A. Fractionation of pesticides residues bound to humin. **Soil Science**, v.162, n.6, p.421-429. 1997.
- ZAKI, M.H.; MORAN, D.; HARRIS, D. Pesticides in groundwater: The aldicarb story in Suffolk country, New York. **American Journal of Public Health**, v.72, p.1391-1395, 1982.

APÊNDICE I

**TABELA I: Despreendimento de $^{14}\text{CO}_2$, durante o período de 150 dias de incubação
Bq Aplicado em 200µg de solo = 135.424,73Bq**

15 dias - 1ª troca - dia 25/11/94						
ASPERIÇÃO	DN	Bq/ml	VOLUME	Bq/20ml	APLICADO	MÉDIA
1a	1248,35	20,81	20	416,12	0,31	MÉDIA TOT
1b	1348,18	22,47	20	449,39	0,33	0,3354
1.1	64,22	1,07	20	21,41	0,02	
1.2	64,14	1,07	20	21,38	0,02	
2a	1335,09	22,25	20	445,03	0,33	0,3458
2b	1359,01	22,65	20	453,00	0,33	
2.1	56,62	0,94	20	18,87	0,01	
2.2	58,78	0,98	20	19,59	0,01	
3a	931,52	13,86	20	277,17	0,20	0,2233
3b	847,49	14,12	20	282,53	0,21	
3.1	60,71	1,01	20	20,25	0,01	
3.2	75	1,25	20	25,00	0,02	
4a	1048,3	17,47	20	349,43	0,26	0,2767
4b	1074,69	17,91	20	358,23	0,26	
4.1	61,97	1,03	20	20,66	0,02	
4.2	63,34	1,06	20	21,11	0,02	
5a	1251,58	20,86	20	417,19	0,31	0,3249
5b	1272,26	22,20	20	424,09	0,31	
5.1	60,74	1,01	20	20,25	0,01	
5.2	55,04	0,92	20	18,35	0,01	
6a	1717,42	28,62	20	572,47	0,42	0,4398
6b	1731,63	28,86	20	577,21	0,43	
6.1	63,14	1,05	20	21,05	0,02	
6.2	61,21	1,02	20	20,37	0,02	
7a	948,73	15,81	20	316,24	0,23	0,2450
7b	909,64	15,16	20	303,21	0,22	
7.1	61,4	1,02	20	20,47	0,02	
7.2	70,93	1,18	20	23,64	0,02	
8a	1105,93	18,43	20	368,64	0,27	0,2918
8b	1143,64	19,06	20	381,21	0,28	
9.1	59,94	1,00	20	19,98	0,01	
9.2	61,41	1,02	20	20,47	0,02	
9a	1261,89	21,03	20	420,63	0,31	0,3175
9b	1170,52	19,51	20	390,17	0,29	
9.1	68,81	1,15	20	22,94	0,02	
9.2	78,58	1,31	20	26,19	0,02	
10a	1306,67	22,78	20	435,56	0,32	0,3333
10b	1259,09	20,98	20	419,70	0,31	
10.1	69,97	1,17	20	23,32	0,02	
10.2	72,71	1,21	20	24,24	0,02	

30 DIAS - 2ª TROCA -
29/12/94

REPETIÇÃO	CEM	Bq/ml	VOLUME	Bq/L/ml	APLICADO	MÉDIA	MÉDIA TOT
2a	8349,99	139,17	20	2783,33	2,06	2,1335	6,1349
2b	8872,06	147,87	20	2957,35	2,18		
2.1	57,08	0,95	20	19,03	0,01		
2.2	56,42	0,94	20	18,81	0,01		
3a	21540,5	359,01	20	7180,17	5,30	5,3567	
3b	21803,5	363,39	20	7267,63	5,37		
3.1	89,01	1,48	20	29,67	0,02		
3.2	92,96	1,55	20	30,99	0,02		
4a	3114,64	151,91	20	3038,11	2,24	2,9929	
4b	15011,6	250,19	20	5003,87	3,69		
4.1	98,74	1,65	20	32,91	0,02		
4.2	93,34	1,56	20	31,11	0,02		
5a	23801	396,68	20	7933,67	5,86	5,9392	
5b	24088	401,47	20	8029,33	5,93		
5.1	180,75	3,01	20	60,25	0,04		
5.2	189,27	3,15	20	63,09	0,05		
6a	46954,3	782,57	20	15651,43	11,00	11,2269	
6b	43904	731,73	20	14634,67	10,00		
6.1	187,05	3,12	20	62,35	0,05		
6.2	147,5	2,46	20	49,17	0,04		
7a	34771,7	579,63	20	11590,57	8,56	8,4994	
7b	34157,3	569,29	20	11385,77	8,41		
7.1	67,26	1,12	20	22,42	0,02		
7.2	65,29	1,09	20	21,76	0,02		
8a	25911,4	431,86	20	8637,13	6,38	6,5817	
8b	27036,5	450,64	20	9012,83	6,66		
8.1	244,41	4,07	20	91,47	0,06		
8.2	374,38	6,24	20	124,79	0,09		
9a	22987,9	393,13	20	7662,63	5,66	5,7943	
9b	23854,9	397,58	20	7951,63	5,87		
9.1	118,55	1,98	20	39,52	0,03		
9.2	120,23	2,00	20	40,08	0,03		
10a	26407,9	440,13	20	8802,60	6,50	6,6793	
10b	27603	460,05	20	9201,00	6,79		
10.1	123,03	2,05	20	41,01	0,03		
10.2	139,01	2,32	20	46,34	0,03		

45 DIAS - 3a TROCA -
26/12/94

REPETIÇÃO	CPM	Bq/mL	VOLUME	Bq/20mL	%APLICADO	MÉDIA	MÉDIA TOT
3a	14270,90	137,88	20	4757,63	3,51	3,5490	11,2299
3b	14369,10	139,49	20	4789,70	3,54		
3.1	91,09	1,82	20	20,36	0,02		
3.2	104,58	1,74	20	34,86	0,03		
4a	54559,40	909,32	20	18186,47	13,43	13,48	
4b	53254	887,57	20	17751,33	13,11		
4.1	836,95	13,95	20	278,98	0,21		
4.2	16966,60	282,78	20	5655,60	0,21		
5a	26766,40	446,11	20	8922,13	6,59	6,7027	
5b	27445,70	457,43	20	9148,57	6,76		
5.1	133,78	2,23	20	44,59	0,03		
5.2	116,62	1,94	20	38,87	0,03		
6a	78051,40	1300,86	20	26017,13	18,21	18,9546	
6b	75049,20	1250,82	20	25016,40	18,47		
6.1	464,60	7,74	20	154,87	0,11		
6.2	449,83	7,50	20	149,94	0,11		
7a	13058,70	217,65	20	4352,90	3,21	3,2930	
7b	13456,80	224,28	20	4485,60	3,31		
7.1	121,61	2,03	20	40,54	0,03		
7.2	120,28	2,00	20	40,09	0,03		
8a	7468,54	124,46	20	2489,51	1,84	*1,8671	
8b	7435,41	123,92	20	2478,47	1,83		
8.1	135,62	2,26	20	45,21	0,03		
8.2	131,91	2,20	20	43,97	0,03		
9a	63645,40	1060,76	20	21215,13	15,67	15,5816	
9b	62516,60	1041,94	20	20838,87	15,39		
9.1	267,78	4,46	20	89,26	0,07		
9.2	178,43	2,97	20	59,48	0,04		
10a	69668,90	1161,15	20	23222,97	17,15	17,0485	
10b	68388,80	1139,81	20	22796,27	16,83		
10.1	239,25	3,99	20	79,75	0,06		
10.2	230,02	3,83	20	76,67	0,06		

* valor descartado

60 DIAS - 1a TROCA -
06/01/95

REPETIÇÃO	CPM	Bq/ml	VOLUME	Bq/20ml	APLICACO	MÉDIA	MÉDIA TOT
4a	8147,92	135,40	20	2715,97	2,01	2,0406	4,5652
4b	8283,60	136,39	20	2727,87	2,01		
4.1	125,43	2,09	20	41,81	0,03		
4.2	123,74	2,06	20	41,25	0,03		
5a	20456	340,93	20	6818,67	5,04	5,2690	
5b	21989,10	366,49	20	7329,70	5,41		
5.1	184,56	3,08	20	61,62	0,05		
5.2	183,66	3,06	20	61,20	0,05		
6a	12203,10	203,39	20	4067,70	3,00	3,0462	
6b	12342,10	205,70	20	4114,03	3,04		
6.1	108,07	1,80	20	36,02	0,03		
6.2	98,96	1,65	20	32,99	0,02		
7a	18008,1	300,14	20	6002,70	4,43	4,5090	
7b	18171,1	302,85	20	6057,03	4,47		
7.1	221,7	3,70	20	73,90	0,05		
7.2	236,69	3,94	20	78,90	0,06		
8a	22516	375,27	20	7505,33	5,54	5,6285	
8b	22774,1	379,57	20	7591,37	5,61		
8.1	226,95	3,78	20	75,65	0,06		
8.2	217,4	3,62	20	72,47	0,05		
9a	25140	419,00	20	8380,00	6,19	6,1699	
9b	24748,2	412,47	20	8249,40	6,09		
9.1	130,45	2,17	20	43,48	0,03		
9.2	114,58	1,91	20	38,19	0,03		
10a	21158,3	352,64	20	7052,77	5,21	5,2931	
10b	21555,6	359,26	20	7185,20	5,31		
10.1	136,03	2,27	20	45,34	0,03		
10.2	159,2	2,65	20	53,07	0,04		

75 DIAS - 5a TROCA -
30/01/95

REPETIÇÃO	DPM	Bq/ml	VOLUME	Bq/20ml	*APLICADO	MEDIA	MEDIA TOT
5a	34161,4	569,36	20	11367,13	9,41	9,4166	7,0100
5b	33461,4	557,69	20	11153,80	8,24		
5.1	418,32	6,97	20	139,44	0,10		
5.2	347,86	5,80	20	115,95	0,09		
6a	19664,7	327,75	20	6554,90	4,84	5,2664	
6b	22852,3	380,87	20	7617,43	5,62		
6.1	137,93	2,30	20	45,98	0,03		
6.2	137,11	2,29	20	45,70	0,03		
7a	822,34	13,71	20	274,11	0,20	0,2284	
7b	885,97	14,77	20	295,32	0,22		
7.1	76,75	1,28	20	25,58	0,02		
7.2	70,66	1,18	20	23,55	0,02		
8a	31730,9	528,85	20	10576,97	7,81	7,6224	
8b	29865,7	497,76	20	9955,23	7,35		
8.1	166,56	2,78	20	55,52	0,04		
8.2	172,63	2,88	20	57,54	0,04		
9a	28596,4	476,61	20	9532,13	7,04	7,2050	
9b	29538,4	492,31	20	9846,13	7,27		
9.1	208,52	3,48	20	69,51	0,05		
9.2	5498,34	91,64	20	**1832,78	0,05		
10a	26145,3	435,76	20	8715,10	6,44	6,5387	
10b	26774,4	446,24	20	8924,80	6,59		
10.1	99,55	1,66	20	33,18	0,02		
10.2	110,66	1,84	20	36,89	0,03		

** valor alterado * valor descartado

90 DIAS - 6a TROCA -
03/02/95

REPETIÇÃO	DPM	Bq/ml	VOLUME	Bq/20ml	*APLICADO	MEDIA	MEDIA TOT
6a	18937,1	315,62	20	6312,37	4,66	4,6745	4,8679
6b	18576,1	309,6	20	6192,03	4,57		
6.1	220,68	3,68	20	73,56	0,05		
6.2	248,4	4,14	20	82,9	0,06		
7a	14934,6	248,91	20	4978,20	3,68	3,7763	
7b	15542,2	259,04	20	5180,73	3,83		
7.1	105,24	1,75	20	35,06	0,03		
7.2	102,34	1,71	20	34,11	0,03		
8a	20806,1	346,77	20	6935,37	5,12	5,2758	
8b	21776,9	362,95	20	7258,97	5,36		
8.1	136,04	2,27	20	45,35	0,03		
8.2	149,1	2,49	20	49,70	0,04		
9a	23711,6	395,19	20	7903,87	5,84	5,8614	
9b	23469,3	391,16	20	7823,10	5,78		
9.1	95,72	1,60	20	31,91	0,02		
9.2	100,78	1,68	20	33,59	0,02		
10a	19269,7	321,16	20	6423,23	4,74	4,7515	
10b	18968,2	316,14	20	6322,73	4,67		
10.1	267,47	4,46	20	89,16	0,07		
10.2	102,47	1,71	20	34,16	0,03		

105 DIAS - 7ª TROCA -
17/02/95

REPETIÇÃO	CPM	Bq/ml	VOLUME	Bq/20ml	%APLICADO	MÉDIA	MÉDIA TOT
7a	1596,48	25,61	20	512,16	0,39	0,4065	0,5699
7b	1557,81	25,96	20	519,27	0,38		
7.1	82,13	1,37	20	27,38	0,02		
7.2	66,78	1,11	20	22,26	0,02		
8a	6093,13	101,55	20	2031,04	1,50	1,4227	
8b	5319,27	98,65	20	1773,09	1,31		
8.1	75,4	1,26	20	25,13	0,02		
8.2	72,7	1,21	20	24,23	0,02		
9a	1081,71	18,03	20	360,57	0,27	0,2798	
9b	1050,17	17,50	20	350,06	0,26		
9.1	65,82	1,10	20	21,94	0,02		
9.2	75,41	1,26	20	25,14	0,02		
10a	597,28	9,95	20	199,09	0,15	0,1706	
10b	660,87	11,01	20	220,29	0,16		
10.1	62,03	1,03	20	20,68	0,02		
10.2	66,15	1,10	20	22,05	0,02		

120 DIAS - 8ª TROCA -
03/03/95

REPETIÇÃO	CPM	Bq/ml	VOLUME	Bq/20ml	%APLICADO	MÉDIA	MÉDIA TOT
8a	94,33	1,57	20	31,44	0,02	0,0411	0,23415
8b	95,41	1,59	20	31,80	0,02		
8.1	69,1	1,15	20	23,03	0,02		
8.2	75,23	1,25	20	25,08	0,02		
9a	876,99	14,62	20	292,33	0,22	0,2407	
9b	890,64	14,84	20	296,88	0,22		
9.1	110,55	1,84	20	36,85	0,03		
9.2	77,62	1,29	20	25,87	0,02		
10a	831,84	13,86	20	277,28	0,20	0,2276	
10b	877,23	14,62	20	292,41	0,22		
10.1	60,23	1,00	20	20,08	0,01		
10.2	80,39	1,34	20	26,80	0,02		

* valor descartado

135 DIAS - 9ª TROCA - 17/03/95

REPETIÇÃO	CPM	Bq/ml	VOLUME	Bq/20ml	%APLICADO	MÉDIA	MÉDIA TOT
9a	623,63	10,39	20	207,88	0,15	0,1727	0,2600
9b	634,68	10,58	20	211,56	0,16		
9.1	68,4	1,14	20	22,80	0,02		
9.2	76,77	1,28	20	25,59	0,02		
10a	1384,93	23,08	20	461,64	0,34	0,3473	
10b	1262,12	21,04	20	420,71	0,31		
10.1	82,62	1,38	20	27,54	0,02		
10.2	92,51	1,54	20	30,84	0,02		

150 DIAS - 10ª TROCA - 31/03/95

REPETIÇÃO	DPM	Bq/ml	VOLUME	Bq/20ml	APLICADO	MÉDIA	MÉDIA TOT
10a	3987,61	66,46	20	1329,20	0,98	0,9871	0,9871
10b	3907,43	65,12	20	1302,48	0,96		
10.1	63,6	1,06	20	21,20	0,02		
10.2	62,21	1,04	20	20,74	0,02		

TABELA 2: $^{14}\text{CO}_2$ DESPRENDIDO EM Bq/20mL

amostras	período de incubação (dias)									
	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150
1	454,15									
2	468,25	2889,26								
3	302,46	7254,33	4806,28							
4	374,72	4053,05	18108,39	2763,45						
5	439,94	8043,17	9077,08	7136,59	11398,16					
6	595,55	15198,76	25669,17	4125,37	7132,01	6330,38				
7	331,78	11510,26	4459,57	8106,27	309,28	5114,06	550,56			
8	365,15	8928,11	2528,58	7622,41	10322,63	7144,69	1926,75	55,66		
9	429,97	7846,93	21101,37	8365,54	9723,88	7896,23	378,85	325,97	233,92	
10	461,41	9045,47	23087,83	7168,19	8854,99	6434,64	231,05	308,3	470,36	1336,81
SOMA	4243,38	74769,34	105538,27	43276,82	47740,95	32920	3087,2	669,83	704,28	1336,81
MÉDIA	424,34	8307,70	13604,78	6182,40	7958,63	6584,00	771,80	229,98	352,14	1336,81
ACUM	424,34	8732,04	22336,83	28519,23	36476,06	43060,06	43631,86	44061,83	44413,97	45750,78

TABELA 3: PORCENTAGEM DE $^{14}\text{CO}_2$ DESPRENDIDO DA ^{14}C -ATRAZINA, ACUMULADO

DIAS/ AMOSTRA	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150
1	0,34									
2	0,35	3,13								
3	0,22	5,36	3,55							
4	0,28	2,99	13,37	2,04						
5	0,32	5,94	6,70	5,27	8,42					
6	0,44	11,22	18,95	3,05	5,27	4,67				
7	0,24	8,5	3,29	4,51	*	3,79	0,41			
8	0,29	6,59	*	5,63	7,62	5,28	1,42	*		
9	0,32	5,79	15,58	6,17	7,18	5,83	3,32	0,24	0,17	
10	0,33	6,68	17,05	5,29	6,54	4,75	0,16	0,23	0,35	0,99
média	0,31	6,13	11,21	4,57	7,01	4,66	3,58	3,24	0,26	0,99
média Acum	0,31	6,44	17,66	22,22	29,23	34,09	34,67	34,90	35,16	36,15

* valores descartados

APÊNDICE 2

TABELA 1: MEIA VIDA DE MINERALIZAÇÃO DA ATRAZINA

Dias	Ao(Bq/g)	A(BqCO2/200g)cal	log2	logAo	log A	(-log2*T)	(logA- logAo)	T1/2 dias	
15	135424,7	424,34	135000,4	0,30103	5,132	5,130	-4,51545	-0,001	3312,98
30	135424,7	8732,04	126692,7	0,30103	5,132	5,103	-9,0309	-0,029	311,99
45	135424,7	22336,82	113087,9	0,30103	5,132	5,053	-13,5463	-0,078	173,05
60	135424,7	28519,23	106905,5	0,30103	5,132	5,029	-18,0618	-0,103	175,87
75	135424,7	36476,08	98948,67	0,30103	5,132	4,995	-22,5772	-0,136	165,66
90	135424,7	43060,08	92364,67	0,30103	5,132	4,966	-27,0927	-0,166	163,02
105	135424,7	43831,86	91592,87	0,30103	5,132	4,962	-31,6081	-0,170	166,11
120	135424,7	44061,83	91362,9	0,30103	5,132	4,961	-36,1236	-0,171	211,34
135	135424,7	44413,97	91010,76	0,30103	5,132	4,959	-40,639	-0,173	235,45
150	135424,7	45750,78	89673,95	0,30103	5,132	4,953	-45,1545	-0,179	252,22