

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

**DEGRADAÇÃO DE ATRAZINA EM SOLO SOB PLANTIO DIRETO
APLICADA EM FORMULAÇÕES DE LIBERAÇÃO CONTROLADA**

Daniela Bueno Piaz Barbosa

(TESE)

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

**DEGRADAÇÃO DE ATRAZINA EM SOLO SOB PLANTIO DIRETO
APLICADA EM FORMULAÇÕES DE LIBERAÇÃO CONTROLADA**

DANIELA BUENO PIAZ BARBOSA

Bióloga (FURB)

Mestre em Ciência do Solo (UFRGS)

Tese apresentada como
um dos requisitos para a obtenção do
Grau de Doutora em Ciência do Solo

Porto Alegre (RS) Brasil
Maio de 2013

*Dedicado à minha família - meu porto seguro e fonte de incentivo.
Com gratidão aos meus amados Ervino e Nilda, Cleide e Vilmar,
Marcos e Valdete, Diego, Fernanda e Juliane.*

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo pela oportunidade de realização do curso de Doutorado; e aos seus professores, Mestres ativos nesse processo;

À minha orientadora, Dra. Deborah Pinheiro Dick, e aos meus co-orientadores, Dr. Ribas Vidal (PPG Fitossanidade - UFRGS) e Dr. Peter Burauel (Forschungszentrum Jülich) pelos ensinamentos, atenção e convívio;

À banca examinadora deste trabalho pelas valiosas contribuições;

À CAPES e DAAD pela bolsa de doutorado e bolsa de doutorado sanduíche na Alemanha;

À Dra. Maria do Carmo Ruaro Peralba e ao técnico Mauro Dartora pelo auxílio nas análises cromatográficas;

Aos funcionários e técnicos laboratoristas da UFRGS, em especial ao querido “Tonho” (Luiz Antonio da Silveira) e Jader Ribeiro Amaro pela atenção e eficiência;

Aos bolsistas Augusto Schweig, Carina Drescher, Guilherme Belmonte, Mariana Kanaan e Vanessa Silva pelo auxílio nas atividades laboratoriais;

Aos colegas do PPGCS, em especial ao grupo de Manejo de Solos (Ana Cristina Ludtke, Carla Rosa, Cecília Sacramento, Daiane dos Santos, Daniel Hanke, Douglas Weiler, Eduardo Carniel, Estefânia Camargo, Fabíola Lopes, Fernando Vieiro, Genuir Denega, Graciele Santana, Janquieli Schirmann, Juliana Gomes, Laísa Pimentel, Lucía Alvarez, Michely Tomazi, Otávio Leal, Renan Vieira, Ricardo Schenato, Rosane Martinazzo e Tiago Zschornack) e do Laboratório K-104B do Instituto de Química (Anderson Leite, Francielle Bertotto, Lízia Brack, Mauro Hirsch) pela amizade e companheirismo;

Aos colegas e funcionários do Forschungszentrum Jülich, em especial a Anna Lelickens e Stephan Köeppchen pela ajuda nas atividades laboratoriais e Ulrike Lange pelos ensinamentos e “adoção”;

Ao Professor Johan Martens e Nikki Jansens da Universidade Católica de Leuven pela oportunidade de estágio e ensinamentos;

Aos amigos, de longe e de perto, em especial à Adriana Frech, Andressa Nogueira, Ana Carolina Roso, Cecília Sacramento, David Vonberg, Fernanda Lima, Giana Nogueira, Graciele Santana, Emanuela Weidlich, Juliana Kich, Marquel Holzschuh, Nicolai Jablonowski, Rosângela Andrade e Cláudio Venzke, Rosane Martinazzo, por me fazerem mais forte e feliz;

Às queridas amigas Ana Carolina Roso, Graciele Santana e Rosane Martinazzo pela ajuda, ensinamentos e discussões – campo, laboratoriais, estatísticas e disciplinas;

Ao meu amigo e companheiro Otávio Leal, pelo amor, ajuda e por dar um significado ainda mais belo a tudo;

À minha família – avós Ervino e Nilda, mãe Cleide, “pai”drasto Vilmar, pai Marcos, “boa”drasta Valdete, irmãos Diego, Fernanda e Juliane, por este elo tão forte de amor, incentivo e confiança;

A todos que encontrei nesta trajetória, que de alguma forma contribuíram para a execução deste trabalho com algum ensinamento, ajuda, convívio, incentivo ou sorriso.

DEGRADAÇÃO DE ATRAZINA EM SOLO SOB PLANTIO DIRETO APLICADA EM FORMULAÇÕES DE LIBERAÇÃO CONTROLADA ¹

AUTOR: Daniela Bueno Piaz Barbosa

ORIENTADOR: Profa. Dra. Deborah Pinheiro Dick

RESUMO

A retenção de herbicidas na palha de cobertura em lavouras sob plantio direto e o histórico de aplicação desses compostos podem reduzir a sua disponibilidade, persistência e eficácia agrônômica. Formulações de liberação controlada de pesticidas visam diminuir as perdas do produto e os riscos de contaminação ambiental. O presente estudo teve como objetivos investigar o efeito da palha de cobertura e de formulações de liberação controlada na dinâmica de atrazina (ATZ) em Argissolo de lavoura de milho sob plantio direto. Foram realizados experimentos a campo, bioensaios em casa-de-vegetação e experimentos de incubação. No Estudo I, avaliou-se o efeito da formulação xerogel (ATZ-XG) no controle de plantas daninhas (*Bidens* spp. e *Urochloa plantaginea*) e da planta bioindicadora (*Raphanus sativus*), e na persistência da ATZ na palha de aveia (*Avena strigosa*) e no solo, em comparação à formulação comercial em suspensão concentrada (ATZ-C). No Estudo II, investigou-se a mineralização e a formação de metabólitos e de resíduos extraíveis e não-extraíveis de ¹⁴C-ATZ em Argissolo com e sem histórico de aplicação de ATZ (solo cultivado e solo nativo, respectivamente), na palha de aveia e nas formulações xerogel (ATZ-XG) e nas esferas amorfas microporosas de sílica (*amorphous microporous silica spheres*) (ATZ-AMS). No Estudo I, independentemente da formulação, a ATZ controlou eficientemente (>80%) *Bidens* spp., porém para *Urochloa plantaginea* o controle foi menor (<80%) aos 60 dias após a aplicação. A ATZ-XG apresentou maior efeito residual no controle da planta bioindicadora e resultou em maior concentração de ATZ extraível com metanol na palha e no solo em comparação à ATZ-C. No Estudo II, o solo cultivado apresentou elevada mineralização (>84%) de ¹⁴C-ATZ em comparação ao solo nativo (≤10%), independentemente da formulação (ATZ-C, ATZ-XG e ATZ-AMS), aos 85 dias de incubação. A palha de cobertura reduziu a mineralização de ATZ no solo cultivado para 30% e reteve parte da ¹⁴C-ATZ aplicada. Os ¹⁴C-resíduos extraíveis e não-extraíveis e a formação de metabólitos variaram, principalmente, devido ao histórico de aplicação de ATZ. As formulações ATZ-XG e ATZ-AMS favoreceram a formação de hidroxiatrazina e de resíduos não extraíveis em água. A aplicação de ATZ em formulação de liberação controlada é uma alternativa promissora para reduzir a dissipação do herbicida em ambientes agrícolas.

¹ Tese de doutorado em Ciência do Solo. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. (90p.) Maio, 2013. Trabalho realizado com apoio financeiro da CAPES e do DAAD.

DEGRADATION OF ATRAZINE IN SOIL UNDER NO-TILLAGE APPLIED IN CONTROLLED RELEASE FORMULATION ¹

AUTHOR: Daniela Bueno Piaz Barbosa
ADVISER: Prof. Dr. Deborah Pinheiro Dick

ABSTRACT

The retention of herbicides in straw cover and its repeated application may reduce the bioavailability, persistence and agronomic efficacy of these compounds. Controlled release formulations of pesticides aim to reduce the losses and the risk of environmental contamination. The main objectives of this study were to evaluate the effects of straw cover and controlled release formulations on dynamics of atrazine (ATZ) in an Acrisol in maize crop under no-tillage. The study included field experiments, bioassays and incubation experiments. Study I evaluated the effect of xerogel formulation (ATZ-XG) on controlling weeds (*Bidens* spp. and *Urochloa plantaginea*) and bioindicator plant (*Raphanus sativus*) growth, its persistence in oat straw (*Avena strigosa*) and in soil, in comparison to commercial formulation (ATZ-C). Study II evaluated the ¹⁴C-ATZ mineralization and the formation of metabolites and extractable and non-extractable residues of an Acrisol with and without history of ATZ application (cultivated soil and native soil, respectively), in oat straw and in xerogel (ATZ-XG) and amorphous microporous silica spheres (ATZ-AMS) formulations. In the Study I, ATZ reached efficient control levels (>80%) of *Bidens* spp., but for *Urochloa plantaginea* the control levels were lower than 80% at 60 days after application, regardless the formulation. ATZ-XG presented greater residual effect on bioindicator plant growth, and higher amount of ATZ extractable by methanol from straw and soil samples, in comparison to ATZ-C. In the Study II, the cultivated soil presented higher ¹⁴C-ATZ mineralization (>84%) in comparison to the native soil (≤10%) at 85 days of incubation, regardless the formulation (ATZ-C, ATZ-XG and ATZ-AMS). Straw cover reduced the ¹⁴C-ATZ mineralization (30%) and retained part of the ¹⁴C-ATZ applied. Extractable and non-extractable ¹⁴C-residues and formation of metabolites varied, mainly, due the history of ATZ application. ATZ-XG and ATZ-AMS increased the proportion of hydroxiatrazine and water-non-extractable residues. These controlled release formulations arise as a promising alternative to reduce ATZ dissipation in agricultural environments.

¹ Doctoral thesis in Soil Science – Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. (90p.) May, 2013.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	1
2.	CAPÍTULO I - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	Cultivo de milho e o controle de plantas daninhas no sistema plantio direto.....	3
2.2	Dinâmica do herbicida no ambiente.....	7
2.3	Atrazina.....	10
2.4	Formulações de liberação controlada de herbicidas.....	15
3.	HIPÓTESES.....	17
4.	OBJETIVOS.....	18
5.	CAPÍTULO II - ESTUDO 1: EFEITO DA FORMULAÇÃO XEROGEL NA EFICÁCIA AGRONÔMICA E PERSISTÊNCIA DA ATRAZINA APLICADA EM UM ARGISSOLO DE LAVOURA DO MILHO SOB PLANTIO DIRETO.....	19
5.1	Introdução.....	19
5.2	Sub-Estudo 1: Efeito da formulação xerogel na eficácia agronômica e persistência da atrazina aplicada em diferentes doses (safra 2009/2010).....	20
5.2.1	Material e Métodos.....	20
5.2.1.1	Síntese do xerogel de atrazina.....	20
5.2.1.2	Experimento a campo.....	21
5.2.1.2.1	Avaliação do controle de plantas daninhas a campo.....	23
5.2.1.2.2	Coleta das amostras de palha de cobertura e de solo.....	24
5.2.1.3	Bioensaio de avaliação da persistência de atrazina.....	24
5.2.1.4	Determinação de atrazina extraível com metanol.....	25
5.2.1.5	Análise estatística.....	26
5.2.2	Resultados e Discussão.....	27
5.2.2.1	Controle de plantas daninhas a campo.....	27
5.2.2.2	Persistência de atrazina no solo avaliada em bioensaio.....	29
5.2.2.3	Teores de atrazina extraível com metanol.....	32
5.3	Sub-Estudo 2: Efeito de diferentes manejos e formulações de atrazina na eficácia agronômica e persistência do herbicida em lavoura de milho sob plantio direto (safra 2010/2011).....	34
5.3.1	Material e Métodos.....	34
5.3.1.1	Síntese do xerogel de atrazina.....	34
5.3.1.2	Experimento a campo.....	34
5.3.1.3	Coleta das amostras e avaliação da persistência de atrazina.....	37
5.3.1.4	Análise estatística.....	37
5.3.2	Resultados e discussão.....	37
5.3.2.1	Controle de plantas daninhas a campo.....	37
5.3.2.2	Persistência de atrazina no solo avaliada em bioensaio.....	41
5.3.2.3	Teores de atrazina extraível com metanol.....	43
5.4	Conclusões.....	46

6.	CAPÍTULO III - ESTUDO 2: EFEITOS DE FORMULAÇÕES DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE ¹⁴C-ATRAZINA E DA PALHA DE COBERTURA NA DEGRADAÇÃO DA ATRAZINA.....	47
6.1	Introdução.....	47
6.2	Material e Métodos.....	48
6.2.1	Histórico da área e coleta das amostras de solo e de palha.....	48
6.2.2	Síntese das formulações de liberação controlada de atrazina.....	50
6.2.3	Estudos de mineralização da ¹⁴ C-atrazina.....	52
6.2.4	Extração e determinação de ¹⁴ C-atrazina e seus metabólitos.....	53
6.2.4.1	Extração com água.....	54
6.2.4.2	Extração Acelerada por Solvente (ASE)	54
6.2.4.3	Determinação dos resíduos não-extraíveis.....	55
6.2.5	Detecção e quantificação da atrazina e seus metabólitos.....	55
6.2.6	Análise dos dados.....	56
6.3	Resultados e discussão.....	57
6.3.1	Sub-Estudo 1 – Efeito da palha de cobertura na degradação de ¹⁴ C-atrazina.....	57
6.3.1.1	Mineralização de ¹⁴ C-atrazina.....	57
6.3.1.2	Resíduos extraíveis e não-extraíveis de ¹⁴ C-atrazina.....	61
6.3.1.3	Atrazina extraível e seus metabólitos.....	66
6.3.2	Sub-Estudo 2 – Efeito das formulações de liberação controlada na degradação de ¹⁴ C-atrazina.....	69
6.3.2.1	Mineralização de ¹⁴ C-atrazina.....	69
6.3.2.2	Resíduos extraíveis e não-extraíveis de ¹⁴ C-atrazina.....	71
6.3.2.3	Atrazina extraível e seus metabólitos.....	73
6.4	Conclusões.....	75
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	76
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
9.	APÊNDICES.....	88

RELAÇÃO DE FIGURAS

1.	Precipitação pluvial (mm) durante a condução do experimento a campo na EEA-UFRGS (0 a 60 DAA de ATZ).....	23
2.	Controle (% em relação à testemunha) aos 14 DAE de <i>Raphanus sativus</i> em função do período (dias) após a aplicação de ATZ-C e ATZ-XG (5400 g i.a. ha ⁻¹) em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2009/2010).....	30
3.	Estatura (cm) aos 14 DAE de <i>Raphanus sativus</i> em função do período (dias) após a aplicação de ATZ-C e ATZ-XG (5400 g i.a. ha ⁻¹) em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2009/2010).	31
4.	Massa seca (g) aos 14 DAE de <i>Raphanus sativus</i> em função do período (dias) após a aplicação de ATZ-C e ATZ-XG (5400 g i.a. ha ⁻¹) em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2009/2010)	31
5.	Concentração de ATZ na palha (A) e no solo (B) (mg kg ⁻¹) em função do período após a aplicação de ATZ-C e ATZ-XG (5400 g i.a. ha ⁻¹) em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2009/2010).....	33
6.	Precipitação pluvial (mm) durante a condução do experimento a campo na EEA-UFRGS (0 a 60 DAA de ATZ).	36
7.	Controle (A) e massa seca (B) (% em relação à testemunha) de <i>Bidens</i> spp. realizada aos 35 DAA de ATZ-C e ATZ-XG em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2010/2011).....	38
8.	Controle (A) e massa seca (B) (% em relação à testemunha) de <i>Urochloa plantaginea</i> realizada aos 35 DAA de ATZ-C e ATZ-XG em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2010/2011)....	40
9.	Estatura (cm) (A) e massa seca (g) (B) aos 12 DAE de <i>Raphanus sativus</i> ao longo do tempo após a aplicação de ATZ-C e ATZ-XG em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2010/2011)...	42
10.	Concentração de ATZ na palha (A) e no solo (B) (mg kg ⁻¹) em função do período após a aplicação do herbicida (5000 g i.a. ha ⁻¹) em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2010/2011)....	45
11.	Cinética (A) e taxa de mineralização (B) de ¹⁴ C-ATZ durante a incubação de um Argissolo Vermelho cultivado (Microcosmo 1), nativo (Microcosmo 2), cultivado com palha de cobertura (Microcosmo 3), cultivado sem palha de cobertura (Microcosmo 4)	59

12.	¹⁴ C-resíduos extraíveis em água e por ASE e ¹⁴ C-resíduos não-extraíveis de um Argissolo Vermelho cultivado (Microcosmo 1) (A), nativo (Microcosmo 2) (B), cultivado com palha de cobertura (Microcosmo 3) (C), cultivado sem palha de cobertura (Microcosmo 4) (D).	64
13.	¹⁴ C-resíduos extraíveis em água e não-extraíveis em água da palha de cobertura sob Argissolo Vermelho cultivado (Microcosmo 3) e da palha (Microcosmo 5).	66
14.	Proporção de ATZ e de seus metabólitos extraíveis de um Argissolo Vermelho cultivado (Microcosmo 1) (A), nativo (Microcosmo 2) (B), cultivado com palha de cobertura (Microcosmo 3) (C), cultivado sem palha de cobertura (Microcosmo 4) (D), palha de cobertura sob solo cultivado (Microcosmo 3) (E), somente palha (Microcosmo 5) (F)....	68
15.	Cinética (A) e taxa de mineralização (B) de ¹⁴ C-ATZ durante a incubação de um Argissolo Vermelho cultivado com aplicação de ATZ-XG (Microcosmo 6), nativo com aplicação de ATZ-XG (Microcosmo 7), cultivado com aplicação de ATZ-AMS (Microcosmo 8), nativo com aplicação de ATZ-AMS (Microcosmo 9).....	70
16.	¹⁴ C-resíduos extraíveis em água e por ASE e ¹⁴ C-resíduos não-extraíveis de um Argissolo Vermelho cultivado com aplicação de ATZ-XG (Microcosmo 6) (A), nativo com aplicação de ATZ-XG (Microcosmo 7) (B), cultivado com aplicação de ATZ-AMS (Microcosmo 8) (C), nativo com aplicação de ATZ-AMS (Microcosmo 9) (D).	72
17.	Proporção de ATZ e de seus metabólitos extraíveis de um Argissolo Vermelho cultivado com aplicação de ATZ-XG (Microcosmo 6) (A), nativo com aplicação de ATZ-XG (Microcosmo 7) (B), cultivado com aplicação de ATZ-AMS (Microcosmo 8) (C), nativo com aplicação de ATZ-AMS (Microcosmo 9) (D).....	74

RELAÇÃO DE TABELAS

1.	Propriedades físico-químicas do herbicida atrazina.....	10
2.	Estrutura química de atrazina (ATZ) e de seus metabólitos hidroxiatrazina (HA), deetilatrazina (DEA) e deisopropilatrazina (DIA).....	13
3.	Controle (35 e 60 DAA) e massa seca em relação à testemunha (60 DAA) de <i>Bidens</i> spp. em função das doses de ATZ-C e ATZ-XG aplicadas em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2009/2010).....	28
4.	Controle (35 e 60 DAA) e massa seca em relação à testemunha (60 DAA) de <i>Urochloa plantaginea</i> em função das doses de ATZ-C e ATZ-XG aplicadas em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2009/2010).....	29
5.	Tratamentos aplicados em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2010/2011).....	35
6.	Informações dos produtos comerciais de atrazina aplicados em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2010/2011).....	35
7.	Principais características de um Argissolo Vermelho coletado em lavoura sob plantio direto e em campo nativo com diferentes históricos de aplicação de atrazina.....	50

RELAÇÃO DE APÊNDICES

1.	Curva padrão de ATZ obtida por cromatografia gasosa nas concentrações de 100 (A) e 35 (B) mg L ⁻¹	88
2.	Resumo da análise de variância do controle (35 e 60 DAA) e da massa seca (60 DAA) de <i>Bidens</i> spp. e <i>Urochloa plantaginea</i> avaliados no Estudo 1 - Sub-Estudo 1 (safra 2009/2010).....	89
3.	Resumo da análise de variância do controle, massa seca e estatura de <i>Raphanus sativus</i> avaliados no Estudo 1 - Sub-Estudo 1 (safra 2009/2010).....	89
4.	Resumo da análise de variância da concentração de ATZ na palha e no solo (mg kg ⁻¹) em função do período após a aplicação de ATZ-C e ATZ-XG em lavoura de milho sob plantio direto no Estudo 1 - Sub-Estudo 1 (safra 2009/2010) e Sub-Estudo 2 (safra 2010/2011).....	90
5.	Resumo da análise de variância da estatura e massa seca de <i>Raphanus sativus</i> avaliadas no Estudo 1 - Sub-Estudo 2 (safra 2010/2011).....	90
6.	Resumo da análise de variância da concentração de ATZ na palha e no solo (mg kg ⁻¹) em função do período após a aplicação de ATZ-C e ATZ-XG em lavoura de milho sob plantio direto no Estudo 1 - Sub-Estudo 2 (safra 2010/2011).....	90

LISTA DE ABREVIÇÕES

- ¹⁴C-ATZ - atrazina radiomarcada
- Al - alumínio
- ALS - acetolactato sintase
- AMS - amorphous microporous silica spheres
- ASE - extração acelerada por solvente
- ATZ - atrazina
- ATZ-C - formulação comercial de atrazina
- ATZ-XG - atrazina na formulação xerogel
- ATZ-XG+C - mistura de atrazina na formulação xerogel e formulação comercial
- Ca - cálcio
- Ce - concentração na solução de equilíbrio
- CO - carbono orgânico
- CTC - capacidade de troca catiônica
- DAA - dias após a aplicação
- DAE - dias após a emergência
- DEA - deetilatrazina
- DIA - deisopropilatrazina
- EEA - Estação Experimental Agronômica
- EPSPS - enolpiruvil-shiquimato fosfato sintase
- ESI+ - positive electrospray ionization
- FID - detector de ionização de chama
- HA - hidroxiatrazina
- IBG-3 - Instituto de Bio e Geociências
- K - potássio
- Kd - coeficiente de distribuição
- Koc - coeficiente de partição do carbono orgânico
- Kow - coeficiente de partição octanol-água
- KU Leuven - Faculdade de Engenharia de Biociências da Universidade Católica de Leuven

LC-MS/MS - liquid chromatography mass spectrometry - cromatografia líquida
acoplada a espectrômetro de massas

LSC - Liquid Scintillation Counter

Mg - magnésio

MOS - matéria orgânica do solo

MRM - multiple reaction monitoring

N - nitrogênio

NaF - fluoreto de sódio

P - pressão de vapor

pKa - constante de equilíbrio de ionização ácida

pKb - constante de equilíbrio de ionização básica

Qs - quantidade sorvida por massa de solo

RNE - resíduos não-extraíveis

RNEA - resíduos não-extraíveis em água

RS - Rio Grande do Sul

S - solubilidade em água

SDB - estireno divinil-benzeno

SPC - sistema de preparo convencional

SPD - sistema plantio direto

SPE - extração em fase sólida

sol - suspensão coloidal

$t_{1/2}$ - reatividade ou meia vida

TEOS - tetraetil-orto-silicato

1. INTRODUÇÃO

O cenário da agricultura brasileira na safra 2011/2012 totalizou 50,86 milhões de hectares em área cultivada e 165,9 milhões de toneladas de grãos produzidos, o que representa aumento de 2,0 e 1,9%, respectivamente, à safra 2010/11 (CONAB, 2012). Simultaneamente ocorreu o recorde de faturamento de defensivos agrícolas que em 2011 foi de US\$ 8,5 bilhões, correspondendo a um aumento de 16,3% em relação ao ano de 2010 (Sindag, 2012).

A cultura do milho (*Zea mays* L.) ocupa lugar de destaque no consumo de defensivos agrícolas e no cenário do agronegócio brasileiro (CONAB, 2012). Dentre os herbicidas registrados para a cultura do milho destaca-se a atrazina (ATZ), que atua na inibição da fotossíntese, em particular ao nível do fotossistema II, podendo ser aplicado em pré e pós-emergência (Vidal e Merotto Jr., 2001).

No Brasil a área plantada sob SPD tem aumentado rapidamente principalmente nos últimos anos. Estima-se que o SPD cubra mais de 25 milhões de hectares, ou seja, cerca de 50% da área com culturas anuais no país (Embrapa, 2011). Este sistema conservacionista de manejo do solo tem gerado discussão entre pesquisadores, técnicos e agricultores no que se refere aos efeitos contrastantes da palha de cobertura no controle de plantas daninhas. Alguns autores observaram redução no desenvolvimento das plantas daninhas na presença da palhada (Fornarolli et al., 1998). Enquanto Rodrigues et al. (1998) relataram a redução da disponibilidade do herbicida trifluralin devido à retenção na palha. Dados apontam para a maior utilização de pesticidas nesses sistemas de manejo com cultivo intensivo, em grande escala e em condições tropicais (Huggins et al., 2008; Sindag, 2012). Aumentos de doses de herbicidas aumentam os custos de produção e riscos de contaminação.

Estudos sobre a dinâmica de ATZ em solos tropicais realizados pelo nosso grupo de pesquisa apontam como fatores que influenciam a sorção deste herbicida: o tipo de solo, bem como o teor e a qualidade da matéria orgânica do solo (MOS) (Gomes et al., 2002; Dick et al., 2010), o sistema de manejo do solo (Santos, 2005), a presença da palha de cobertura e a decomposição deste material vegetal (Kleinschmitt, 2007). O histórico de aplicação de herbicida na lavoura como fator que influencia a degradação de ATZ (Martinazzo et al., 2010).

A aplicação repetida de um mesmo agrotóxico ou de uma molécula estruturalmente similar é o principal fator responsável pela adaptação dos microrganismos à degradação de um dado composto, acarretando no fenômeno conhecido como degradação acelerada (Arbeli e Fuentes, 2007). Os primeiros relatos na literatura de degradação acelerada de ATZ datam de 1995 (Shaner et al., 2007). Desde então, estudos mostram a redução da persistência e da eficácia no controle das plantas daninhas e a alta mineralização de ATZ a campo, em bioensaios e em experimentos de incubação associada à adaptação da microbiota (Vanderheyden et al., 1997; Abdelhafid et al., 2000; Krutz et al., 2007, 2008, 2009; Martinazzo et al., 2010).

Com o intuito de estudar alternativas para mitigar o impacto ambiental causado pela intensa utilização de herbicidas na agricultura brasileira, o nosso grupo de pesquisa vem desenvolvendo estudos sobre síntese e caracterização de ATZ associada a sistemas carreadores de liberação controlada (Ávila et al., 2009; Hirsch, 2011). Estes estudos constataram que o herbicida ATZ apresentou menor sorção no solo e taxa de liberação mais lenta na formulação xerogel (ATZ-XG) em comparação à formulação comercial (ATZ-C). No entanto, informações relacionadas à dinâmica de ATZ-XG em palha de cobertura e em solos sob uso agrícola, à eficácia no controle de plantas daninhas e à degradação pela microbiota do solo são incipientes.

Neste contexto, o presente trabalho avaliou a eficiência agronômica e a persistência de formulações de liberação controlada de ATZ aplicadas em lavoura de milho sob plantio direto; além do monitoramento da mineralização e formação de resíduos de ATZ radiomarcada (^{14}C -ATZ) em experimentos de incubação.

2. CAPÍTULO I - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cultivo de milho e o controle de plantas daninhas no sistema plantio direto

O milho é uma planta monóica, anual, ereta com um a quatro metros de altura, pertencente à família Poaceae. Destaca-se pela sua eficiente capacidade reprodutiva e armazenadora de energia, produzindo de 600 a 1.000 sementes, pesando em torno de 0,3 g cada (Magalhães et al., 2002). O milho é cultivado em regiões cuja precipitação varia de 300 a 5.000 mm anuais, sendo que a quantidade de água consumida por uma lavoura de milho durante o seu ciclo está em torno de 600 mm (Magalhães & Durães, 2006).

Historicamente, o milho é um dos principais e mais tradicionais cereais cultivados em todo o Brasil. Do total de 165,9 milhões de toneladas de grãos produzidos na safra 2011/2012, 72,7 milhões de toneladas correspondem à produção de milho, sendo a primeira e segunda safra de 33,9 e 38,9 milhões de toneladas, respectivamente. Comparando-se à safra anterior, em 2012 a área total cultivada alcançou 15,2 milhões de hectares, o que representa um crescimento de 9,8%, e média da produtividade nacional de milho de 4,8 kg ha⁻¹. O cultivo nacional de milho na safra 2011/2012 foi recorde tanto em área como em produção, apesar da quebra do milho na primeira safra registrada no sul do país, principalmente no Rio Grande do Sul (RS). Esta produção recorde se deve a fatores como aumento da área semeada, maior uso de tecnologia e condições climáticas favoráveis na maioria dos estados produtores (CONAB, 2012).

As perdas no rendimento das culturas pela ocorrência de plantas daninhas na lavoura dependem da espécie e do grau de infestação, das condições climáticas, bem como do espaçamento, da variedade e do estágio

fenológico da cultura. Para tornar o manejo de plantas daninhas na cultura do milho mais econômico e ambientalmente correto, recomenda-se a adoção de espaçamentos mais reduzidos entre fileiras na cultura de milho, com maior grau de equidistância entre plantas, aliada à utilização de genótipos mais competitivos (Balbinot Jr. e Fleck, 2004).

Dentre as plantas infestantes da cultura do milho destacam-se espécies dicotiledôneas, como *Amaranthus* spp., *Cardiospermum halicacabum*, *Bidens* spp., *Euphorbia heterophylla*, *Ipomoea* spp., *Raphanus sativus*, *Richardia brasiliensis*, *Commelina benghalensis* e *Sida* spp. e monocotiledôneas, como *Urochloa* spp., *Cenchrus echinatus*, *Digitaria* spp., *Echinochloa* spp., *Eleusine indica* e *Panicum maximum* (Embrapa, 2011).

Das plantas daninhas infestantes da cultura do milho, *Urochloa plantaginea* e *Bidens* spp. destacavam-se na área de estudo (item 5) do presente trabalho. *U. plantaginea* é uma gramínea anual, pertencente à família Poacea, que apresenta reprodução por sementes e se desenvolve principalmente nos períodos de primavera e verão em áreas ocupadas com culturas anuais. Esta espécie destaca-se pela sua competitividade e prejuízos causados ao rendimento e à qualidade de grãos e ocorre com frequência em áreas cultivadas das regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil (Vidal et al., 2010). O gênero *Bidens* é composto por espécies dicotiledôneas, herbáceas, anuais, pertencentes à família Asteraceae, que apresentam propagação por meio de sementes. O controle químico de *Bidens* spp. é realizado predominantemente por herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS), porém a ocorrência de populações resistentes a estes compostos tem aumentado gradativamente. Para o controle de *Bidens* spp. na cultura de milho, destacam-se os herbicidas mesotrione (inibidor de caroteno) e ATZ (inibidor do fotossistema II), além das práticas culturais como rotação de culturas, manejo integrado de plantas daninhas e rotação dos métodos de controle (Hernandes et al., 2005, Christoffoleti, 2008).

O SPD fundamenta-se em três princípios básicos de manejo do solo: o não-revolvimento do solo, a cobertura permanente e a rotação de cultura, que resultam principalmente na redução da erosão e em benefícios para os atributos físicos, químicos e biológicos do solo. Este sistema de manejo consolidou-se como uma tecnologia conservacionista no Brasil e abrange cerca

de 50% da área plantada com culturas anuais. A cultura do milho deixa uma grande quantidade de restos culturais no solo, por isso sua inclusão em um esquema de rotação é considerada fundamental (Embrapa, 2011).

Os herbicidas utilizados no manejo das plantas daninhas antes da semeadura da cultura para a formação da palhada são muito importantes no SPD, com destaque para os dessecantes sem efeito residual e bom controle como o glifosato. O glifosato é um herbicida pós-emergente, pertencente ao grupo químico das glicinas substituídas, classificado como não-seletivo e de ação sistêmica, que inibe a enzima enolpiruvil-shiquimato fosfato sintase (EPSPS). Este herbicida apresenta amplo espectro de ação, com excelente controle de plantas daninhas anuais ou perenes, tanto de folhas largas como estreitas. O controle das plantas daninhas em SPD é realizado com uma aplicação de glifosato antes da semeadura e outra aplicação de herbicida residual, seletivo à cultura, em pré-emergência, ou com aplicações de produtos seletivos em pós-emergência da cultura e das plantas daninhas (Galli e Montesuma, 2005; Constantin et al., 2008). No cultivo de milho, destaca-se o uso de herbicidas do grupo das triazinas, que inibem o fluxo de elétrons no fotossistema II e podem ser aplicados em pré ou em pós-emergência inicial para o controle de plantas daninhas dicotiledôneas e monocotiledôneas (Fleck e Vidal, 2001).

Associações entre dois ou mais herbicidas é prática comum e tem como objetivo aumentar o espectro de espécies controladas e/ou aumentar o período de controle (Vidal et al., 2003). Desta maneira, a semeadura logo após a operação de manejo pelo uso de herbicidas seletivos possui a vantagem de explorar ao máximo o efeito residual dos herbicidas e, conseqüentemente, melhorar as condições de competitividade para a cultura (Carvalho, 2002).

Estudos a cerca da dinâmica e da eficácia dos herbicidas em SPD são muitas vezes controversos. Ferri e Vidal (2002, 2003) avaliaram o controle das plantas daninhas com aplicação de cloroacetamidas em Argissolo Vermelho sob SPD e SPC. Os autores verificaram maior eficácia dos herbicidas no solo sob SPC. Estudos a campo com aplicação de ATZ (Fornarolli et al., 1998), trifuralin (Rodrigues et al., 1998) e das misturas metolachlor+ATZ e ATZ+isoxaflutole (Rodrigues et al., 2000) em solo com cobertura de palha de aveia preta relatam diferentes comportamentos na

lixiviação destes herbicidas da palha para o solo após irrigação de 20 mm. O herbicida ATZ foi interceptado pela cobertura morta, porém a irrigação foi suficiente para lixiviar praticamente todo o herbicida para o solo. Já o herbicida trifluralin não foi detectado no solo após irrigação. No caso das misturas de herbicidas, metade da dose aplicada de metolachlor+ATZ, 10% de ATZ e 30% do isoxaflutole da mistura ATZ+isoxaflutole foram detectados no solo. Nesse sentido, deve-se considerar que a retenção dos herbicidas na palha de cobertura varia principalmente de acordo com as características de cada herbicida, quantidades e tipo de material vegetal, intensidades e épocas de ocorrência de chuvas após a aplicação desses produtos.

Sob outra perspectiva, alguns pesquisadores justificam o maior controle de plantas daninhas no SPD pela supressão da germinação e da emergência destas espécies pela presença da palha de cobertura (Fornarolli et al., 1998; Oliveira et al., 2001). A palhada reduz o potencial competitivo das plantas daninhas por determinado período por alterar a umidade, luminosidade e temperatura do solo, que são os principais elementos no controle da dormência e germinação de sementes (Theisen e Vidal, 1999; Azania et al., 2002). Em contrapartida, o maior aporte de resíduos no solo em SPD tende a aumentar a biomassa e a atividade microbiana que podem reduzir a persistência de herbicidas (Prata e Lavorenti, 2000).

Neste contexto, o controle mecânico com a prática de capina manual apresenta controle eficiente de plantas daninhas e não interfere diretamente no metabolismo da planta. Porém, a alta demanda de mão-de-obra resulta em custos elevados, além da baixa eficiência nas linhas da cultura e perda de água do solo por evaporação, devido ao revolvimento e à maior exposição da superfície do solo aos efeitos do sol e do vento (Merotto Jr. et al., 2000). Já o controle químico de plantas daninhas na cultura do milho se destaca pela eficácia, rendimento operacional e melhor relação custo/benefício. A utilização de herbicidas pré-emergentes com efeito residual prolongado tem sido um dos fatores associados à elevada eficácia no controle de plantas daninhas durante o período crítico de competição (Monquero et al. 2008). Dessa maneira, o conhecimento dos fatores que influenciam a disponibilidade e a persistência desses herbicidas no solo e na palha de cobertura é fundamental a fim de

evitar perdas econômicas, danos às culturas subsequentes e riscos ambientais de contaminação.

2.2 Dinâmica do herbicida no ambiente

A produção agrícola em escala comercial está associada ao uso de agrotóxicos, uma vez que estes defensivos agrícolas evitam e combatem pragas e doenças que geram perdas quantitativas e qualitativas das culturas. O maior prejuízo causado pelas plantas daninhas está relacionado à redução no rendimento de grãos das culturas devido à competição por água, luz e nutrientes, além do favorecimento da propagação de pragas e doenças que dificultam a colheita e a secagem de grãos (Vidal e Merotto Jr., 2001).

Os herbicidas são substâncias químicas produzidas com a finalidade de controlar plantas espontâneas que se desenvolvem concomitantemente com as culturas. O método químico que envolve a utilização de herbicidas é o mais utilizado por controlar o crescimento das plantas daninhas desde o início da cultura e em épocas chuvosas, sem danos à estrutura do solo como ocorre nos métodos físicos de controle e devido à rapidez e facilidade de aplicação e à relação custo/benefício. Frente a essas vantagens, os herbicidas são intensivamente usados na agricultura mundial (Ferri e Rizzardi, 2001).

O comportamento de um herbicida no ambiente é um processo dinâmico, caracterizado por diferentes rotas que ocorrem simultaneamente e com intensidades variadas, determinado principalmente pelas propriedades físico-químicas da molécula; pelas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo e pelas condições meteorológicas. As principais características físico-químicas do herbicida que influenciam sua dinâmica no ambiente são: a solubilidade em água, a pressão de vapor, o coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}), a constante de equilíbrio de ionização ácida (pK_a) ou básica (pK_b), a constante de Henry e a meia vida ($t_{1/2}$) (Lavorenti et al, 2003).

O processo de dissipação do herbicida no ambiente se inicia no momento da aplicação. Pela ação do vento há o deslocamento físico do herbicida na forma de partículas ou gotas do local alvo, no processo denominado deriva (Ferri e Rizzardi, 2001). O herbicida ao atingir o solo pode sofrer os seguintes processos: absorção pelas plantas - manifestando seus

mecanismos de ação; transformações químicas - que promovem sua volatilização e degradação abiótica; biodegradação - degradação pela microbiota, principal via de dissipação da maioria dos herbicidas no solo; sorção aos colóides do solo ou a resíduos vegetais; lixiviação para camadas subsuperficiais do solo e escoamento superficial - importantes vias de contaminação dos recursos hídricos. A retenção das moléculas dos herbicidas pelos colóides do solo reduz a sua presença na solução do solo, e conseqüentemente, sua disponibilidade para absorção pelas plantas (Lavorenti et al, 2003).

O processo de sorção pode retardar ou impedir o movimento dos herbicidas no solo, sendo a MOS e a solubilidade em água do composto os principais fatores determinantes. O processo de sorção pode ser caracterizado quantitativamente pelo coeficiente de distribuição (K_d), obtido a partir da relação linear entre a quantidade sorvida por massa de solo (Q_s) e a concentração na solução de equilíbrio (C_e). Normalmente, a variabilidade no K_d de herbicida entre solos é atribuída a diferenças no teor de carbono orgânico (CO) no solo e pode-se reduzir esta variabilidade relacionando-se o K_d ao teor de CO do solo, obtendo-se o coeficiente de partição do carbono orgânico (K_{oc}). Em geral, solos com maior teor de MOS tendem a sorver herbicida em maiores quantidades. A diversidade estrutural da MOS gera elevada afinidade química por muitos herbicidas. Porém, em solos cujos teores de MOS são baixos, a contribuição da fração inorgânica pode ser relevante para a sorção (Weber et al., 2000; Oliveira Jr. et al, 2001).

O mecanismo de ligação e as características do sorvente e do sorbato influenciam na completa reversibilidade ou na total irreversibilidade da sorção dos herbicidas no solo. Em alguns casos pode haver a remobilização deste composto para a solução do solo. Conceitualmente, resíduo-ligado, também chamado de resíduo não-extraível, representa os compostos em solos, plantas ou animais que persistem na matriz após a extração, na forma de molécula original ou seus metabólitos, não podendo o método de extração alterar significativamente a natureza da molécula nem a estrutura da matriz (Führ et al., 1996). Sob uma perspectiva toxicológica, a formação de resíduo ligado diminui a disponibilidade do composto (Gevão et al., 2003; Burauel e Baßmann, 2005). Entretanto, uma vez no ambiente, alguns compostos podem

persistir por longos períodos, e caso ocorra remobilização efeitos ao ecossistema em longo prazo poderão ser observados. Neste sentido, Jablonowski et al. (2009) relatam a detecção de ATZ no solo 22 anos após sua aplicação.

A intensidade do processo de biodegradação depende, entre outros fatores, da composição química do herbicida, do tipo de formulação e dos ingredientes 'inertes' utilizados no produto comercial, além das condições edafoclimáticas, como temperatura, umidade, pH, potencial redox e MOS, que interferem no crescimento e metabolismo da microbiota do solo. A transformação completa do composto em CO₂, água e íons minerais é denominada mineralização; enquanto, a metabolização seria a transformação incompleta, com geração de metabólitos. Alguns metabólitos apresentam efeito tóxico similar ou até mesmo maior que o composto original (Prata, 2002).

A biodegradação é sensivelmente reduzida pela sorção das moléculas aos colóides do solo. Em alguns casos, um composto torna-se completamente resistente ao ataque microbiano quando sorvido. Entretanto, existem evidências de que algumas espécies de microrganismos são capazes de degradar os compostos sorvidos (Guerin e Boyd, 1992). A degradação de ATZ na forma sorvida depende principalmente da sua concentração na forma sorvida e da presença de bactérias degradadoras, tais como *Pseudomonas* sp., *Agrobacterium radiobacter* e *Ralstonia* sp. nas superfícies das partículas do solo, que podem utilizar diretamente a molécula ou facilitar a dessorção (Park et al., 2003).

A adaptação da microbiota ao xenobiótico ocorre tanto pela aplicação repetida do composto como por moléculas estruturalmente similares. A degradação acelerada afeta diretamente a eficácia e a persistência dos pesticidas e tem sido detectada em solos de diversas regiões do mundo (Arbeli & Fuentes, 2007). No Brasil, destacam-se os trabalhos sobre degradação acelerada de clorosulfuron (Ravelli et al., 1997), glyphosate (Araújo et al., 2003), diuron (Dellamatrice et al., 2004) e ATZ (Martinazzo et al., 2010).

2.3 Atrazina

A ATZ [2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-s-triazina] ($C_8H_{14}ClN_5$) (Tabelas 1 e 2), registrada em 1958, destaca-se como herbicida seletivo com aplicação recomendada em pré ou pós-emergência para o controle das plantas infestantes nas culturas de abacaxi, cana-de-açúcar, milho, pinus, seringueira, sisal e sorgo (Agrofit, 2013).

TABELA 1. Propriedades físico-químicas do herbicida atrazina.

Nome comum	PM ¹	Solub.(H ₂ O) ² a 20-25 °C	Pressão de vapor a 20 °C	pK _a ³ a 21°C	Kow ⁴	Koc ⁵
Atrazina	215,69 g.mol ⁻¹	33 mg.L ⁻¹	2,9. 10 ⁻⁷ mm Hg	1,7	481	100

⁽¹⁾ peso molecular; ⁽²⁾ solubilidade em água; ⁽³⁾ constante de dissociação; ⁽⁴⁾ coeficiente de partição octanol:água; ⁽⁵⁾ coeficiente de partição de carbono orgânico. Adaptado de Vidal e Merotto Jr. (2001).

Atualmente, de acordo com o Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, são 38 produtos formulados por nove empresas titulares de registro. Os produtos formulados com misturas de outros grupos químicos incluem alacloro e s-metolacloro (cloroacetanilidas), glifosato (glicina substituída) e nicossulfurom (sulfoniluréia). Estes produtos são indicados para o controle das principais espécies de plantas daninhas ocorrentes (ver Agrofit, 2013): *Acanthospermum australe*, *Acanthospermum hispidum*, *Achyrocline satureioides*, *Ageratum conyzoides*, *Alternanthera tenella*, *Amaranthus deflexus*, *Amaranthus hybridus*, *Amaranthus retroflexus*, *Amaranthus spinosus*, *Amaranthus viridis*, *Avena strigosa*, *Bidens pilosa*, *Blainvillea latifolia*, *Urochloa decumbens*, *Urochloa plantaginea*, *Brassica rapa*, *Cenchrus echinatus*, *Chamaesyce hyssopifolia*, *Commelina benghalensis*, *Coronopus didymus*, *Croton glandulosus*, *Cyperus sesquiflorus*, *Desmodium adscendens*, *Desmodium tortuosum*, *Digitaria ciliaris*, *Digitaria horizontalis*, *Digitaria sanguinalis*, *Echinochloa colona*, *Eleusine indica*, *Emilia sonchifolia*, *Euphorbia heterophylla*, *Galinsoga parviflora*, *Glycine max*, *Gnaphalium spicatum*, *Hyptis lophanta*, *Hyptis suaveolens*, *Indigofera hirsuta*, *Ipomoea aristolochiaefolia*, *Ipomoea grandifolia*, *Ipomoea purpurea*, *Ipomoea quamoclit*, *Leonurus sibiricus*, *Lepidium virginicum*, *Melampodium divaricatum*,

Melampodium perfoliatum, *Murdannia nudiflora*, *Nicandra physaloides*, *Panicum maximum*, *Pennisetum setosum*, *Portulaca oleracea*, *Raphanus raphanistrum*, *Richardia brasiliensis*, *Senna obtusifolia*, *Sida cordifolia*, *Sida rhombifolia*, *Solanum americanum*, *Sonchus oleraceus*, *Spermacoce alata*, *Spermacoce latifolia*, *Tagetes minuta*, *Triticum aestivum*, *Xanthium strumarium*.

O herbicida ATZ é comercialmente disponível na forma de grânulos dispersíveis em água ou na forma de suspensão concentrada, com doses recomendadas de 2 a 8 kg ou L ha⁻¹ (Agrofit, 2013). A recomendação da dose a ser aplicada leva em consideração o teor de argila do solo, o tipo de cultura e plantas daninhas presentes (Compêndio de defensivos agrícolas, 1999).

O ingrediente ativo da ATZ aplicado em pré-emergência é absorvido pelas plantas através das raízes e se transloca via xilema até os cloroplastos nas folhas, onde provoca a inibição da fotossíntese. Os sintomas se manifestam através da clorose, da necrose e da morte das plantas daninhas. O produto ao ser aplicado em pós-emergência é absorvido através das folhas, onde penetra rapidamente nos cloroplastos e neste caso atua por contato. O local de ação deste herbicida é a membrana do cloroplasto, onde ocorre a fase luminosa da fotossíntese, mais especificamente o transporte de elétrons. Uma planta é suscetível à ATZ se o herbicida acopla-se ao composto Q_b (proteína do fotossistema II) e, assim, impossibilita o transporte de elétrons até a plastoquinona. Desta forma, não ocorre a produção de ATP e NADPH₂, pois a transferência de elétrons é interrompida. O bloqueio do fluxo de elétrons no fotossistema II impede a transferência de energia da clorofila para o centro de reação P680, originando uma clorofila altamente reativa, a clorofila triplete. Esta clorofila reage com o oxigênio molecular, gerando espécies reativas de oxigênio. Todas essas moléculas altamente reativas reagem com os lipídios formadores das membranas, resultando na peroxidação lipídica, que, além de formar novos radicais lipídicos, danificam irreversivelmente as membranas celulares. A consequência direta do dano às membranas celulares pela peroxidação lipídica é o extravasamento do conteúdo celular para o meio que estiver envolvendo os tecidos danificados e a produção do metabólito malondialdeído. O estresse oxidativo gerado por esse mecanismo de ação do herbicida é normalmente amenizado por ação das defesas naturais da planta, destacando-se o papel dos carotenóides que são capazes de reagir com as

espécies reativas de oxigênio, dissipando sua energia na forma de calor (Fleck e Vidal, 2001).

A seletividade das culturas ao produto é alcançada pela capacidade de rápida detoxificação do composto químico absorvido. Dentre as reações mais comuns de inativação de triazinas pelas plantas estão: a descloração, a desmetoxilação, a desmetiltiolação e a subsequente hidroxilação; a desalquilação das cadeias alquilas laterais e a conjugação com glutatona (Fleck e Vidal, 2001). A ATZ se destaca como opção para o manejo de plantas resistentes aos herbicidas inibidores da enzima ALS no Brasil. O uso repetitivo de ATZ nas lavouras de milho nos Estados Unidos da América levou ao surgimento de diversos biótipos de plantas daninhas resistentes (Christoffoleti, 2008).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a ATZ é um produto agrotóxico pertencente à classe III - Medianamente Tóxico. Este sistema de classificação toxicológica abrange da classe I - Extremamente Tóxico à classe IV - Pouco Tóxico. Porém, há uma variação na classificação toxicológica entre os produtos comerciais, podendo ser enquadrados nas classes I, II ou IV. Com relação à classificação ambiental, os produtos comerciais se enquadram nas classes II - Produto Muito Perigoso ao Meio Ambiente e III - Produto Perigoso ao Meio Ambiente (Agrofit, 2013).

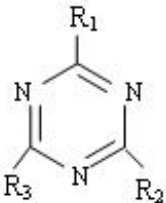
A ATZ tem sido considerada um composto potencialmente cancerígeno e desregulador hormonal para anfíbios, peixes e ratos (Giusi et al., 2006; Hayes et al., 2010, 2011), muito tóxico para organismos aquáticos (Graymore et al., 2001). Estudos de caráter toxicológico geram resultados contrastantes e grandes discussões principalmente entre pesquisadores e fabricantes (Hayes, 2004; Ackerman, 2007; Jablonowski et al., 2011).

Na literatura encontram-se valores de meia-vida ($t_{1/2}$) da ATZ de 21 a 330 dias (Barbash et al. 2001), os quais variam de acordo com a profundidade (Miller et al., 1997), o teor de umidade (Kruger et al., 1993), a temperatura (Dinelli et al., 2000), o pH (Mueller et al., 2010) e os teores N e C do solo (Abdelhafid et al., 2000) e podem ser inferiores a 21 dias devido ao histórico de aplicação do herbicida e adaptação da microbiota (Shaner e Henry, 2007).

A ATZ apresenta mais de 15 metabólitos que possuem diferentes graus de toxidez, persistência e mobilidade no solo (Mudhoo and Graig, 2011).

Os metabólitos mais comuns são a hidroxiatrazina (HA), deetilatrazina (DEA) e deisopropilatrazina (DIA) (Tabela 2). A transformação biótica é considerada a principal rota de degradação de ATZ na maioria dos solos. Entretanto, a descloração deste herbicida por hidrólise química leva à formação de HA, processo considerado como importante via de dissipação deste metabólito em solos ácidos (Barriuso e Houot, 1996). As reações de dealquilação das cadeias laterais geram os metabólitos DEA e DIA que apresentam toxicidade similar à ATZ (Mudhoo e Graig, 2011).

TABELA 2. Estrutura química de atrazina (ATZ) e de seus metabólitos hidroxiatrazina (HA), deetilatrazina (DEA) e deisopropilatrazina (DIA).

s-triazinas			
	Posição		
	R1	R2	R3
ATZ	-cloro	-isopropil	-etil
HÁ	-hidroxila	-isopropil	-etil
DEA	-cloro	-isopropil	-amino
DIA	-cloro	-amino	-isopropil

*Adaptado de Abate e Masini (2005).

A moderada solubilidade ATZ em água (33 mg L^{-1}) e os valores de K_d (0,20 a 12,6) e K_{oc} (40 a 394), considerados relativamente baixos, conferem ao herbicida mobilidade no solo (Giddins et al., 2005). Além dessa característica, o uso intensivo e a persistência ATZ têm contribuído para que seja um dos herbicidas mais detectados em águas de superfície e subterrâneas na Europa e nos Estados Unidos. Em função de sua elevada toxicidade e persistência no ambiente, o uso de ATZ é proibido desde 2004 em todos os países pertencentes à União Européia, sendo desde 1991 vetado na Alemanha (Arias-Estévez et al., 2008). Os valores permitidos de ATZ nas águas potáveis são 3,0; 0,1 e $2,0 \mu\text{g i.a. L}^{-1}$ nos Estados Unidos, países europeus e Brasil, respectivamente (EPA 1990; European Commission, 1998, 2004; Ministério da Saúde, 2004).

Os microrganismos são capazes de utilizar a molécula de ATZ como fonte de C, N e energia devido ao seu sistema enzimático específico que mineraliza rapidamente o anel triazínico (Barriuso e Houot, 1996; Abdelhafid et al., 2000). A degradação acelerada apresenta benefícios ambientais por diminuir a persistência do herbicida, porém afeta negativamente a sua eficácia agronômica (Hang et al., 2011). Diversos trabalhos relatam a degradação acelerada de ATZ em diferentes tipos de solo do mundo, entre estes: França (Barriuso e Houot, 1996), Bélgica (Vanderheyden et al., 1997), Estados Unidos da América (Krutz et al., 2007, 2008, 2009; Zablutowicz et al., 2006, 2007) e Brasil (Martinazzo et al., 2010), apontando a aplicação repetida de ATZ em lavouras de milho como principal causa da adaptação da microbiota.

Mueller et al. (2010) atribuem a redução no controle de plantas daninhas em lavouras sob plantio direto com histórico de aplicação de ATZ em pré-emergência ao efeito do pH do solo, aos maiores teores de MOS na camada superficial e à degradação acelerada pela microbiota. A maior taxa de degradação de ATZ em solos com pH em torno de 5,5 pode ser atribuída à hidrólise química, em comparação a solos com pH acima de 6,1.

O comportamento em longo prazo de ATZ e seus metabólitos no ambiente é de grande interesse em termos de avaliação de risco e monitoramento da qualidade do solo e da água. Para se monitorar com maior precisão os processos dissipativos dos herbicidas no ambiente, tais como degradação, sorção e transporte, bem como avaliar sua persistência e remobilização de resíduo ligado diversos estudos já foram realizados com a aplicação de herbicidas radiomarcados, como é o caso do radioisótopo ^{14}C (Queiroz e Monteiro, 2000; Prata et al., 2003; Peixoto et al., 2005; Jablonowski et al., 2008a,b, 2009, 2010).

Como ferramenta para avaliar a degradação dos herbicidas, a taxa de evolução de CO_2 do solo tem sido utilizada como índice da atividade e da biomassa microbiana do solo (Jakelaitis et al., 2007). No entanto, tais estudos ainda são escassos em condições tropicais. Martinazzo et al. (2010) conduziram experimentos de incubação em Latossolos brasileiros com aplicação de ATZ por mais de 20 anos. A adaptação da microbiota resultou em taxas de mineralização, medidas pelo $^{14}\text{C-CO}_2$, acima de 74% e $t_{1/2}$ de 21 dias.

Em comparação aos solos sem histórico de aplicação de ATZ, a taxa de mineralização foi de 5% e o $t_{1/2}$ de 46 dias.

Dentre as alternativas que têm sido propostas para diminuir as perdas e dissipação de ATZ, destacam-se: a aplicação simultânea de ATZ e de fonte alternativa de nitrogênio lábil (Abdelhald et al., 2000; Zablutowicz et al., 2008), dividir a aplicação de ATZ (Hang et al., 2007), aplicação de ATZ em pós emergência (Mueller et al., 2010) e o uso de híbridos de milho mais competitivos com as plantas daninhas (Williams et al., 2010). Entretanto, Hang et al. (2011) afirmam que a determinação da dose adequada de ATZ para solos que apresentam degradação acelerada permanece sem definição.

2.4 Formulações de liberação controlada de herbicidas

O desenvolvimento de sistemas de liberação controlada a partir de matrizes inertes aumentam a eficiência e direcionamento do ativo (Benvenuti et al., 2009). Diferentes pesticidas e matrizes de suporte já foram estudados *in vitro*, em colunas de solo e em bioensaios (Goldreich et al., 2011). A utilização destas formulações diminuíram as perdas por biodegradação (Airoidi e Prado, 2002) e lixiviação (González-Pradas et al., 1999).

Estudos com o herbicida alachlor em formulações de liberação controlada avaliaram sua extração em água (Pepperman e Kuan, 1995), em colunas de solo com aplicação do herbicida marcado (^{14}C -alachlor) (Johnson e Pepperman, 1996) e em bioensaios para avaliar sua eficácia e persistência (Sopeña et al., 2009). Os pesquisadores relataram redução na taxa de liberação, maior retenção na superfície do solo, diminuição do potencial de lixiviação e maior eficácia no controle de plantas daninhas nas formulações de liberação controlada em comparação à formulação comercial.

O uso intensivo de ATZ, principalmente nos EUA e Brasil, aliado às problemáticas ambientais e perdas da eficácia do produto nas lavouras tornam este herbicida de interesse em estudos com formulações de liberação controlada. Diferentes matrizes já foram testadas, tais como alginatos, argilas, sílica e alguns polímeros sintéticos biodegradáveis (Johnson e Pepperman, 1998; Fernandez-Pérez et al., 2001, 2004; Akelah et al., 2008; Sánchez-Verdejo et al., 2008; Trigo et al., 2010; Touloupakis et al., 2011).

A síntese de matrizes inorgânicas pelo método sol-gel consiste na formação de uma suspensão coloidal (sol) que através do processo de policondensação forma uma matriz sólida tridimensional (gel), realizado à temperatura ambiente. O termo sol é empregado para definir uma dispersão estável de partículas coloidais em um fluido, enquanto o termo gel define um sistema formado pela estrutura rígida de partículas coloidais ou de cadeias poliméricas que imobiliza a fase líquida nos seus interstícios. Após a evaporação espontânea dos solventes, obtém-se um material sólido de estrutura porosa e amorfa (Hench e West, 1990).

Estudos de síntese e caracterização de formulações de liberação controlada de ATZ pelo método sol-gel realizados pelo nosso grupo de pesquisa constataram, em experimentos *in vitro*, taxas de liberação mais lentas do herbicida quando ancorado na matriz de sílica (Ávila et al., 2009; Hirsch, 2011). Estes estudos constataram que o herbicida ATZ apresentou menor sorção no solo e taxa de liberação mais lenta na formulação xerogel (ATZ-XG) em comparação à formulação comercial (ATZ-C). Variações no método de carregamento do ativo nas matrizes de sílica já foram testadas para fármacos (Verraedt et al., 2011) e, possivelmente, podem apresentar melhores perfis de liberação para ATZ.

O desenvolvimento de um sistema de liberação controlada à base de sílica porosa foi recentemente relatado (Aerts et al., 2007, 2010; Verraedt et al., 2010, 2011). Sílica microporosa amorfa (AMS) é um material de sílica altamente poroso com tamanho dos poros entre 0,4-0,6 nm. Os compostos podem ser introduzidos nos poros por meio de adsorção ou de impregnação. A liberação desses compostos da AMS ocorre por processo de difusão nos poros (Verraedt et al., 2011).

Estudos demonstram o potencial dessas formulações de liberação controlada para futuramente serem aplicadas em grande escala e reduzir as doses de pesticidas recomendadas. Entretanto, a maioria destes estudos é realizada em experimentos *in vitro* ou em bioensaios. Adicionalmente, outro processo a ser melhor estudado é a dinâmica dos herbicidas em lavouras sob plantio direto, especialmente no que se refere à retenção na palha de cobertura e posterior remobilização para o solo.

3. HIPÓTESES

A atrazina quando aplicada em formulações de liberação controlada apresenta maior persistência, resultando em disponibilidade e efeito biocida prolongados em comparação à atrazina na forma líquida.

A adição de atrazina durante a síntese da matriz de sílica promove uma liberação mais gradual do herbicida em comparação ao carreamento posterior à síntese da matriz.

4. OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivos investigar o efeito da palha de cobertura e de formulações de liberação controlada na dinâmica de atrazina em um Argissolo de lavoura de milho sob plantio direto. Este trabalho incluiu experimentos em lavoura de milho sob plantio direto, bioensaios em casa de vegetação e experimentos de incubação com aplicação de herbicida radiomarcado; e está estruturado em dois estudos fundamentais:

- ESTUDO 1: Efeito da formulação xerogel na eficácia agronômica e persistência da atrazina aplicada em um Argissolo de lavoura do milho sob plantio direto.
- ESTUDO 2: Efeitos das formulações de liberação controlada de ^{14}C -atrazina e da palha de cobertura na degradação da atrazina

5. CAPÍTULO II - ESTUDO 1: EFEITO DA FORMULAÇÃO XEROGEL NA EFICÁCIA AGRONÔMICA E PERSISTÊNCIA DA ATRAZINA APLICADA EM UM ARGISSOLO DE LAVOURA DO MILHO SOB PLANTIO DIRETO

5.1 Introdução

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, seguindo os EUA e a China (FAO, 2010). No cenário brasileiro cerca de 50% da produção de grãos encontra-se sob SPD (Embrapa, 2011). O SPD modificou a forma de controle de plantas daninhas. O controle mecânico foi substituído pelo manejo químico por meio de aplicações de herbicidas.

Na cultura de milho, o controle das plantas daninhas no SPD passou a ser realizado com herbicidas residuais aplicados em pré ou pós-semeadura (Vidal et al., 2003). Nas lavouras de milho no Brasil, o controle de plantas daninhas é baseado principalmente na aplicação de ATZ (Arraes et al., 2008). Este herbicida é também amplamente usado nos EUA, entretanto seu uso é proibido na Europa desde 2004 devido a sua persistência no solo e detecção em corpos hídricos (Mudhoo e Graig, 2011).

Formulações comerciais de herbicidas contem o ingrediente ativo em uma forma facilmente liberada e disponível no ambiente. Diferentemente, nas formulações de liberação controlada apenas parte do composto está na forma prontamente disponível, sendo o restante liberado gradualmente da matriz inerte. Estudo realizado *in vitro* com xerogéis de ATZ, sintetizados pelo método sol-gel, mostrou que o herbicida estava fisicamente disperso na matriz inorgânica, apresentando menor sorção no solo e taxa de liberação mais lenta (Ávila et al., 2009). Para se avaliar a aplicabilidade destas formulações a campo, dois sub-estudos foram conduzidos em lavoura de milho sob plantio direto:

- SUB-ESTUDO 1: EFEITO DA FORMULAÇÃO XEROGEL NA EFICÁCIA AGRONÔMICA E PERSISTÊNCIA DA ATRAZINA APLICADA EM DIFERENTES DOSES (SAFRA 2009/2010) (item 5.2);
- SUB-ESTUDO 2: EFEITO DE DIFERENTES MANEJOS E FORMULAÇÕES DE ATRAZINA NA EFICÁCIA AGRONÔMICA E PERSISTÊNCIA DO HERBICIDA EM LAVOURA DE MILHO SOB PLANTIO DIRETO (SAFRA 2010/2011) (item 5.3).

No estudo realizado na safra 2009/2010 (item 5.2) foram comparadas seis doses de ATZ-XG e de ATZ-C. No estudo realizado na safra 2010/2011 (item 5.3) foram avaliados 11 manejos de plantas daninhas, os quais englobaram controle mecânico por capina manual e controle químico com aplicação de três formulações ATZ-C, de ATZ-XG e da mistura ATZ-XG e ATZ-C. Nos dois estudos foram avaliadas a eficiência agronômica (controle de *Bidens* spp. e *Urochloa plantaginea*) e a persistência na palha de cobertura e no solo de ATZ-XG e de ATZ-C. Também foi avaliada a persistência no solo de ATZ-XG e ATZ-C em bioensaios realizados em casa de vegetação por determinação de variáveis morfológicas da espécie indicadora (*Raphanus sativus*).

5.2 Sub-Estudo 1: Efeito da formulação xerogel na eficácia agronômica e persistência da atrazina aplicada em diferentes doses (safra 2009/2010)

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da formulação de liberação controlada de ATZ no controle de plantas daninhas a campo em diferentes doses, na sua persistência na palha e no solo e no seu efeito residual.

5.2.1 Material e Métodos

5.2.1.1 Síntese do xerogel de atrazina

A síntese das formulações, realizada segundo o método sol-gel com secagem através da evaporação do solvente à temperatura ambiente foi realizada empregando-se os seguintes reagentes: tetraetil-orto-silicato (TEOS)

- (*Acros Organics* 98%), álcool etílico 99,5% (*Ecibra* - grau PA), água deionizada, fluoreto de sódio (NaF - Nuclear) e ATZ 98,7% (cedida pela Milênia).

A fase orgânica contendo o precursor, o ativo e solvente e a fase aquosa/catalítica constituída de NaF e água, foram preparadas em recipientes de vidro (50 mL) e mantidas sob agitação magnética até completa homogeneização. Na sequência, a fase orgânica foi adicionada gota a gota na solução aquosa, sendo o sistema mantido sob agitação magnética até formação do gel, em torno de 6 h. Após a formação do gel, a agitação foi desativada e o solvente evaporado por 24 h em capela, sob temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) e pressão atmosférica, até a obtenção do pó fino (xerogel). Para eliminação de traços do solvente, o xerogel foi mantido em estufa a vácuo por 48 h.

Foram realizadas diversas sínteses da formulação xerogel para obter-se a quantidade final necessária para aplicação a campo. As formulações obtidas em cada síntese foram homogeneizadas e o teor de ATZ determinado em analisador elementar (*Perkin Elmer 2400*). Considerando-se a proporção ponderal teórica de 32,47% de nitrogênio (N) presente na molécula de ATZ, e com base na proporção de N determinada pela análise elementar, calculou-se a proporção de ATZ na formulação ATZ-XG (lote 2009) pela equação (1). Os teores de C, N e ATZ desta formulação determinados pela análise elementar foram: 11,33%, 7,53% e 232 mg g⁻¹, respectivamente.

$$\text{ATZ (mg g}^{-1}\text{)} = \frac{\text{N}\%}{32,47} \times 1000 \quad \text{Equação (1)}$$

5.2.1.2 Experimento a campo

O experimento a campo foi conduzido de outubro a dezembro de 2009, na Estação Experimental Agronômica (EEA) da UFRGS, no município de Eldorado do Sul, região fisiográfica da Depressão Central do estado do Rio Grande do Sul (RS) (30° 05' 22" sul e 51° 39' 08" oeste). O solo da região é Argissolo Vermelho distrófico típico (EMBRAPA, 2006), derivado de granito, com 240 g kg⁻¹ de argila com predominância de caulinita (720 g kg⁻¹) e óxidos de ferro (109 g kg⁻¹) (Lovato et al., 2004). O clima é subtropical úmido (Cfa),

segundo a classificação de Köeppen, com temperatura média anual de 19,4°C, variando de 9 a 25°C de acordo com as estações do ano. A precipitação média é de 1.440 mm, com curtos períodos de déficit hídrico no verão.

Primeiramente, procedeu-se à dessecação da cobertura vegetal constituída por azevém (*Lolium multiflorum*) com aplicação do herbicida glyphosate, seguido da semeadura do milho (híbrido Pioneer 30R50H) e adubação de N, P₂O₅ e K₂O (400 kg ha⁻¹) com a formulação 5-20-10.

O delineamento experimental estabelecido foi de blocos casualizados, constituído por 28 parcelas subdivididas, com quatro repetições. Cada parcela era composta por seis linhas de milho com espaçamento de 40 cm entre si. A dimensão das parcelas foi de 7 x 2,4 m. Nas parcelas principais foram alocadas as doses de ATZ (2400; 3200; 3600; 4200; 5400 e 8000 g i.a. ha⁻¹) e nas subparcelas as formulações (ATZ-XG e ATZ-C) e uma testemunha (sem aplicação de ATZ). O herbicida foi aplicado em pré-emergência.

A ATZ-XG foi aplicada manualmente na forma de pó. Primeiramente, a ATZ-XG foi homogeneizada com 2 kg de solo para evitar perdas, devido à leveza do pó, e manter a uniformidade da aplicação. O solo utilizado foi coletado em área adjacente à do experimento. A ATZ-C foi aplicada nas parcelas por meio de pulverizador costal pressurizado a CO₂ após diluição em volume de água equivalente a 160 L ha⁻¹.

O sistema de irrigação na área do experimento foi ativado apenas uma vez durante a condução do experimento devido à ocorrência de precipitação pluviométrica distribuída entre o período de aplicação dos tratamentos até a última avaliação visual de controle aos 60 dias após a aplicação (DAA) de ATZ, totalizando um volume de 600 mm (Figura 1). No período compreendido entre a primeira e a última coleta das amostras de palha e de solo (1 aos 35 DAA de ATZ) a precipitação foi de 375 mm, representando 63% da precipitação total ocorrida nos 60 dias de duração do experimento. Houve intervalos sem ocorrência de chuvas do 1 aos 6 DAA, dos 10 aos 17 DAA, dos 23 aos 26 DAA, dos 52 aos 54 DAA e dos 57 aos 60 DAA. As chuvas foram mais concentradas dos 18 aos 39 DAA, com maiores intensidades registradas, acima de 90 mm, aos 22 e 28 DAA de ATZ (Figura 1).

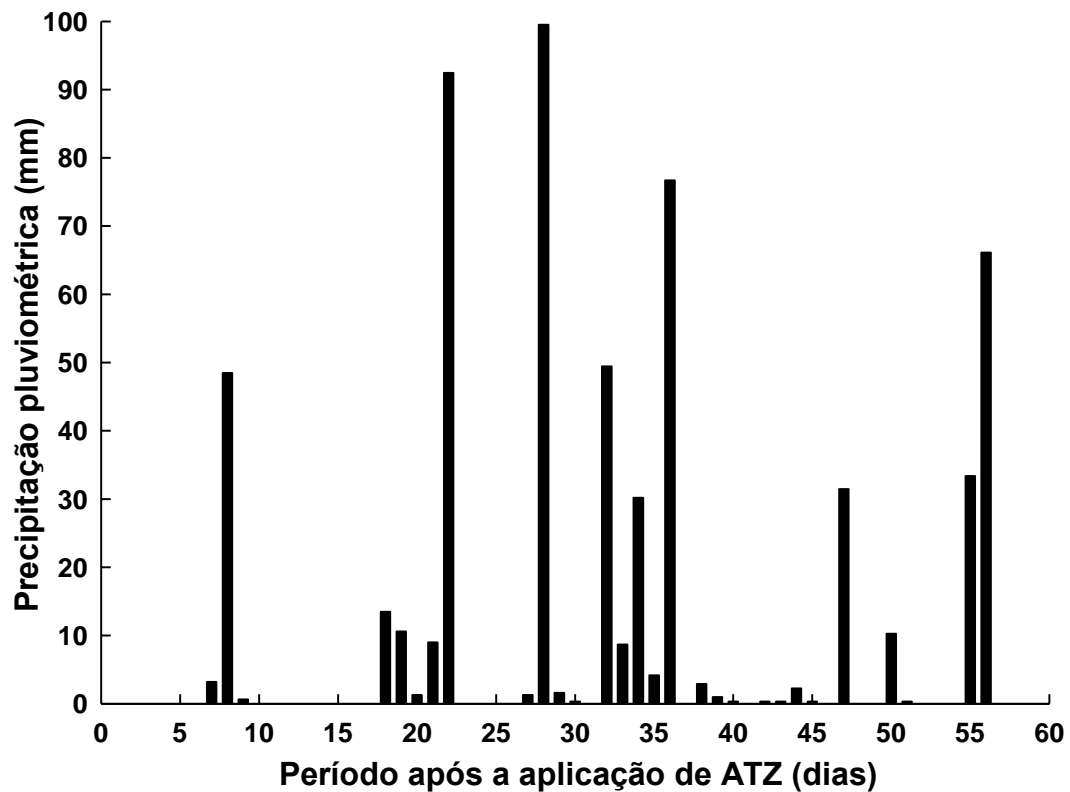


FIGURA 1. Precipitação pluvial (mm) durante a condução do experimento a campo na EEA-UFRGS (0 a 60 DAA de ATZ).

5.2.1.2.1 Avaliação do controle de plantas daninhas a campo

A avaliação visual do controle de plantas daninhas, realizada aos 35 e 60 DAA, obedeceu a escala de avaliação de injúria de herbicidas em plantas, com notas que variaram de 0%, para a ausência de efeito, a 100%, para efeito letal nas plantas, conforme metodologia proposta por Camper (1986).

Aos 60 DAA foram coletadas amostras de *Bidens* spp. e *Urochloa plantaginea* para determinação de massa seca em estufa a 60°C por 48 h. As plantas foram coletadas rente à superfície do solo e na área interna de dois quadrados de 0,50 cm x 0,50 cm, desprezando-se a área referente ao efeito bordadura da parcela. Os dados de massa seca (g m^2) foram convertidos para porcentagem em relação à testemunha.

5.2.1.2.2 Coleta das amostras de palha de cobertura e de solo

Para avaliar a persistência de ATZ em bioensaio e determinar o herbicida extraível com metanol, foram realizadas sete coletas de amostras de palha de cobertura e de solo distribuídas aos: 1, 5, 10, 15, 21, 28 e 35 DAA de ATZ, nas parcelas correspondentes ao tratamento 5400 g de i.a. ha⁻¹ para aumentar a sensibilidade da detecção do herbicida. Nestas parcelas foram coletadas, aproximadamente, 60 g de palha de cobertura e 400 g de solo na camada de 0 a 3 cm de profundidade. A última coleta de amostras de palha e de solo ocorreu em 20/11/2009. As amostras de palha e de solo foram acondicionadas em sacos plásticos e mantidas sob refrigeração até a instalação do bioensaio e das análises cromatográficas, conforme descrito nos itens 5.2.1.3 e 5.2.1.4, respectivamente.

5.2.1.3 Bioensaio de avaliação da persistência de atrazina

O bioensaio foi conduzido na casa de vegetação do Departamento de Plantas de Lavoura da Faculdade de Agronomia da UFRGS, utilizando as amostras de solo (tratamento 5400 g de i.a. ha⁻¹) coletadas a campo (EEA-UFRGS). As amostras de solo foram descongeladas 24 horas antes da instalação do bioensaio.

As amostras de solo foram dispostas em unidades experimentais com capacidade de 300 cm³ de solo, seguida da semeadura de três sementes pré-germinadas de rabanete (*Raphanus sativus*), espécie indicadora do efeito residual do herbicida. As unidades experimentais foram mantidas sob condição de luminosidade controlada (sombrite) e irrigadas diariamente.

As avaliações das variáveis morfológicas incluíram controle, estatura e massa seca das plantas. O controle foi avaliado aos 14 dias após a emergência (DAE) da planta indicadora e obedeceu a escala de avaliação de injúria de herbicidas em plantas proposta por Camper (1986), conforme descrito no item 5.1.1.2.1. A estatura (cm) foi medida com régua milimétrica da base da planta à extremidade da folha aos 14 DAE. A determinação de massa seca ocorreu aos 14 DAE, sendo o material seco em estufa (60°C) até 48 horas e pesado (0,001 g de precisão).

5.2.1.4 Determinação de atrazina extraível com metanol

A extração e a quantificação por cromatografia gasosa de ATZ das amostras de palha e de solo coletadas a campo na EEA-UFRGS foram realizadas no laboratório de Química de Solos e na Central Analítica do Instituto de Química da UFRGS, respectivamente.

A metodologia utilizada para a determinação de ATZ foi adaptada de Kleinschmitt (2007). As amostras de palha foram previamente cortadas em tamanho menor que 1 cm e as amostras de solo foram destorroadas manualmente, sendo retirado o excesso de material vegetal. O teor de umidade das amostras foi determinado gravimetricamente após secagem em estufa a 60°C por 48 horas.

As amostras foram extraídas com metanol grau HPLC e submetidas à agitação por 24 horas em agitador horizontal, na proporção de 40 g de palha e 200 mL do solvente, e 50 g de solo e 100 mL do solvente. Após agitação, a suspensão foi centrifugada por 10 min a 3000 rpm, em seguida filtrada em filtro de papel qualitativo e acondicionada em frascos escuros sob refrigeração. Os extratos de metanol foram concentrados a 10 mL em rotaevaporador, sob temperatura de 60°C e rotação de 80 rpm. Os extratos concentrados foram filtrados em colunas de sulfato de sódio anidro e lã de vidro para retirar resquícios de águas e interferentes, acondicionados em frascos escuros e mantidos sob refrigeração.

Nas amostras de solo coletadas aos 1 e 5 DAA previamente foi realizada extração com 100 mL da solução de CaCl_2 0,01 mol L⁻¹ por 24 horas para extração de ATZ na forma disponível. Após agitação, a suspensão seguiu às etapas de centrifugação e filtração anteriormente descritas. Os extratos de solução de CaCl_2 0,01 mol L⁻¹ foram submetidos à extração em fase sólida (SPE) em colunas específicas para ATZ (Bound Elut atrazine - Varian), compostas de copolímeros de estireno divinil-benzeno (SDB), com capacidade de 20 mL e tamanho de partículas de 120 µm. Primeiramente, o cartucho foi condicionado com 10 mL de metanol grau HPLC, seguido de lavagem com 20 mL de água Mili-Q com condutância de $18,3 \times 10^{-6}$ Siemens. A solução contendo o analito foi colocada no cartucho e aspirada sob pressão reduzida. Por fim, o analito foi eluído do cartucho com 10 mL de metanol de forma a

concentrar a amostra e trocar o solvente de aquoso para orgânico. Devido aos baixos teores detectados de ATZ extraível com solução de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ este procedimento não foi repetido nas demais amostras. O resíduo sólido prosseguiu à agitação com 100 mL de metanol grau HPLC por 24 horas.

A detecção e a determinação da concentração de ATZ nas amostras de palha e de solo foram realizadas segundo metodologia descrita por Santos (2005), em cromatógrafo em fase gasosa Shimadzu GC 17A, equipado com injetor split/splitless, detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar HP-5 (5%fenil)-metilpolisiloxano, 30m x 0,25mm e 0,25 μm .

As condições de análises foram em temperatura programada, com início a 130 °C por 1 min, elevando-se a temperatura a 10 °C por min até 190 °C. A segunda rampa de aquecimento foi com elevação de 15 °C por min até 280 °C, e por fim, 1 min em temperatura constante a 280 °C. A temperatura do injetor foi de 250 °C e o detector de 295 °C. O gás de arraste utilizado foi nitrogênio 5.0 (White Martins) e o volume de injeção foi de 1 μL de amostra. O limite analítico de detecção atingiu 0,03 mg de ATZ.

As curvas padrão foram obtidas a partir de soluções primárias de ATZ com concentrações de 35 e 100 mg L^{-1} , respectivamente, preparadas a partir do produto cedido pela Milênia, que possui 98,7% de ATZ determinado por analisador elementar. A partir da diluição da solução padrão primário com metanol grau HPLC, foram obtidos os padrões secundários que constituíram as curvas de calibração de ATZ nas concentrações de 0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100 mg L^{-1} para as amostras de palha e nas concentrações de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 e 35 mg L^{-1} para as amostras de solo (Apêndice 1 A, B). Uma relação linear entre as concentrações das curvas e as áreas do pico cromatográfico foi obtida ($R^2 = 0,99$). Cada amostra foi injetada em duplicata, mas em geral foram realizadas até quatro injeções por amostra para atingir erro $\leq 10\%$.

5.2.1.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e comparação de médias pelo teste de t (LSD), a 5% de probabilidade de erro experimental ($P \geq 0,05$), com auxílio do programa estatístico *Sisvar* (Ferreira, 2000). A relação entre as variáveis quantitativas e as variáveis dependentes foi ajustada através

de regressão pelo programa computacional *Sigma-plot* 11.0 (Systat Software Inc.).

5.2.2 Resultados e Discussão

5.2.2.1 Controle de plantas daninhas a campo

O controle e a massa seca de *Bidens* spp. não apresentaram interação entre os fatores dose e formulação de ATZ (Apêndice 2). Comparando-se as médias de controle e massa seca de *Bidens* spp. obtidas com as formulações (ATZ-C e ATZ-XG) para cada dose, verifica-se que somente no tratamento com dose de 4200 g i.a. ha⁻¹ as formulações ATZ-C e ATZ-XG diferiram entre si na produção de massa seca (Tabela 3).

O controle de *Bidens* spp. (Tabela 3) foi considerado eficiente para as formulações ATZ-C e ATZ-XG aos 35 e 60 DAA em relação à testemunha não tratada, pois atingiu níveis iguais ou superiores a 80%. A menor dose de ATZ necessária para controlar 80% da população de *Bidens* spp. foi de 2.400 g i.a. ha⁻¹ nas duas formulações avaliadas, ou seja, aproximadamente, metade da dose agrônômica recomendada (4200 g i.a. ha⁻¹). O aumento das doses de ATZ não resultou em aumento expressivo do controle de *Bidens* spp. Neste caso, doses maiores apenas elevariam os custos de produção e riscos de contaminação ambiental. Os valores de massa seca de *Bidens* spp. (Tabela 3) situaram entre 0,1 e 14% em relação à testemunha não tratada, com exceção do valor acima de 28% obtido com a formulação ATZ-XG na dose de 4200 g i.a. ha⁻¹.

TABELA 3. Controle (35 e 60 DAA) e massa seca em relação à testemunha (60 DAA) de *Bidens* spp. em função das doses de ATZ-C e ATZ-XG aplicadas em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2009/2010).

<i>Bidens</i> spp.						
Dose g i.a. ha ⁻¹	Controle (%)				Massa seca (%)	
	35 DAA		60 DAA		60 DAA	
	ATZ-XG	ATZ-C	ATZ-XG	ATZ-C	ATZ-XG	ATZ-C
0	0 a	0 a	0 a	0 a	-	-
2400	84 a	91 a	91 a	95 a	5,4 a	8,7 a
3200	93 a	95 a	81 a	86 a	3,7 a	6,4 a
3600	98 a	98 a	80 a	92 a	1,3 a	13,9 a
4200	91 a	84 a	88 a	84 a	28,8 a	7,2 b
5400	97 a	99 a	83 a	95 a	6,7 a	1,5 a
8000	97 a	98 a	99 a	95 a	0,2 a	0,1 a
DMS	14		18		15	

*Médias de formulação seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de t (LSD) a 5% de probabilidade para mesma dose e tempo.

O controle e a massa seca de *Urochloa plantaginea* não apresentaram interação entre os fatores dose e formulação de ATZ (Apêndice 2). Comparando-se as médias de controle e massa seca de *U. plantaginea* obtidas com as formulações (ATZ-C e ATZ-XG) para cada dose, verifica-se que a ATZ-C resultou em maior controle aos 60 DAA e menor produção de massa seca no tratamento com dose de 3600 g i.a. ha⁻¹ em comparação à formulação ATZ-XG (Tabela 4).

Diferentemente de *Bidens* spp., o controle de *U. plantaginea* (Tabela 4) não foi considerado satisfatório (<80%) para as formulações ATZ-C e ATZ-XG aos 35 e 60 DAA em relação à testemunha. A exceção ocorreu com a maior dose (8000 g i.a. ha⁻¹) nas duas formulações aos 35 DAA quando o controle foi acima de 80%. Comparando-se as duas datas avaliadas, infere-se que o controle obtido com a aplicação da formulação ATZ-XG tende a diminuir ao longo do tempo.

Os valores de massa seca de *U. plantaginea* (Tabela 4) situaram entre 18 e 38% em relação à testemunha, com exceção do valor acima de 50% obtido com a formulação ATZ-XG nas doses de 2400 e 3600 g i.a. ha⁻¹. Desta maneira, infere-se que para esta espécie a ATZ não foi eficiente para controlar

o seu crescimento, principalmente pela liberação mais gradual do herbicida na formulação ATZ-XG.

TABELA 4. Controle (35 e 60 DAA) e massa seca em relação à testemunha (60 DAA) de *Urochloa plantaginea* em função das doses de ATZ-C e ATZ-XG aplicadas em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2009/2010).

<i>Urochloa plantaginea</i>						
Dose g i.a. ha ⁻¹	Controle (%)				Massa seca (%)	
	35 DAA		60 DAA		60 DAA	
	ATZ-XG	ATZ-C	ATZ-XG	ATZ-C	ATZ-XG	ATZ-C
0	0 a	0 a	0 a	0 a	-	-
2400	75 a	74 a	48 b	69 a	49,5 a	23,8 a
3200	64 a	78 a	43 b	75 a	34,1 a	17,7 a
3600	69 a	78 a	53 b	66 a	73,8 a	33,8 b
4200	68 a	73 a	64 b	71 a	33,2 a	25,1 a
5400	56 a	65 a	46 b	69 a	32,5 a	38,3 a
8000	88 a	85 a	70 b	73 a	20,1 a	21,9 a
DMS	16		20		33	

*Médias de formulação seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de t (LSD) a 5% de probabilidade para mesma dose e tempo.

5.2.2.2 Persistência de atrazina no solo avaliada em bioensaio

O controle e a estatura de *Raphanus sativus* aos 14 DAE não apresentaram interação significativa entre os fatores período após a aplicação do herbicida e formulação de ATZ; entretanto, a produção de massa seca apresentou interação significativa entre estes dois fatores (Apêndice 3). As variáveis de controle, estatura e massa seca da planta bioindicadora (Figuras 2, 3 e 4) não foram submetidas a ajuste matemático, porém observa-se um período inicial, até os 15 DAA, de maior eficácia do herbicida nas formulações ATZ-C e ATZ-XG.

Para as três variáveis morfológicas avaliadas (controle, estatura e massa seca), a ATZ apresentou maior persistência até os 15 DAA nas duas formulações testadas. A ATZ-XG resultou em maior controle, menor estatura e menor produção de massa seca da planta bioindicadora aos 28 e 35 DAA do

herbicida a campo em comparação à ATZ-C (Figuras 2, 3 e 4), demonstrando o maior efeito residual de ATZ quando aplicada na formulação xerogel.

A redução do efeito residual de ATZ aplicada em solução em solos em função do histórico de aplicação do herbicida foi observado por Krutz et al. (2007) em experimentos conduzidos em casa de vegetação. Os autores relataram a maior redução de biomassa de *Sida spinosa* L., *Amaranthus retroflexus* L., *Ipomoea lacunosa* L. e *Urochloa platyphylla* (Griseb.) no solo coletado em lavoura de milho com aplicação anual de ATZ, em comparação aos solos com aplicação de ATZ a cada dois anos e sem histórico de aplicação de ATZ. A produção de biomassa foi inversamente proporcional à persistência de ATZ nesses solos. Nesse sentido, formulações de liberação controlada de herbicidas podem apresentar maior eficácia em solos com microbiota adaptada à degradação desses compostos. O maior efeito residual da ATZ-XG (Figuras 2, 3 e 4) deve-se à liberação gradual do herbicida da matriz de sílica que possivelmente reduziu sua degradação pela microbiota adaptada nos primeiros dias após aplicação, prolongando seu efeito biocida.

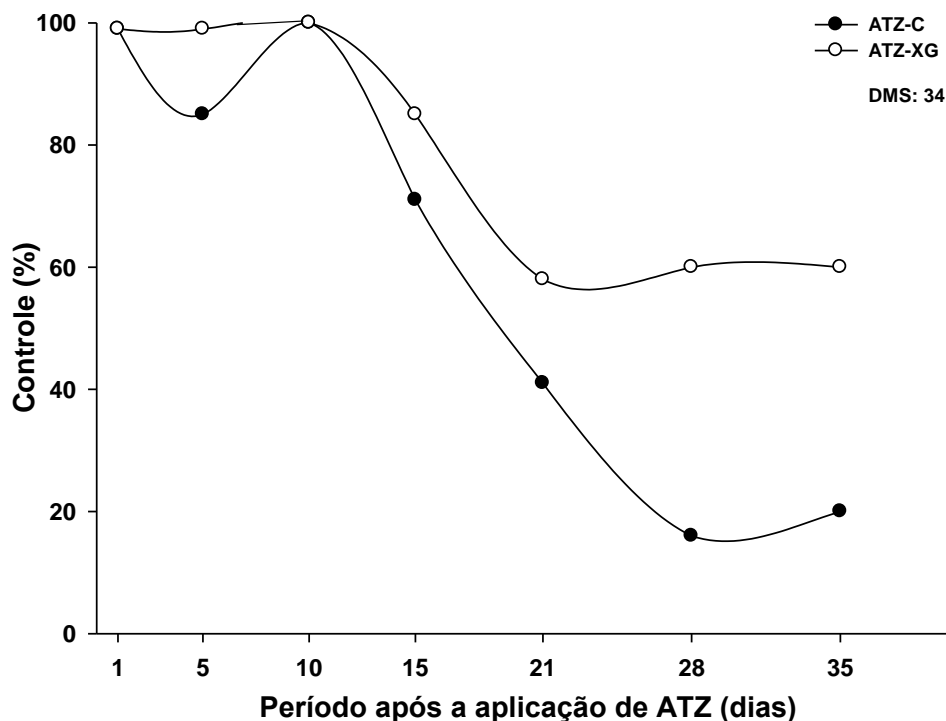


FIGURA 2. Controle (% em relação à testemunha) aos 14 DAE de *Raphanus sativus* em função do período (dias) após a aplicação de ATZ-C e ATZ-XG (5400 g i.a. ha⁻¹) em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2009/2010).

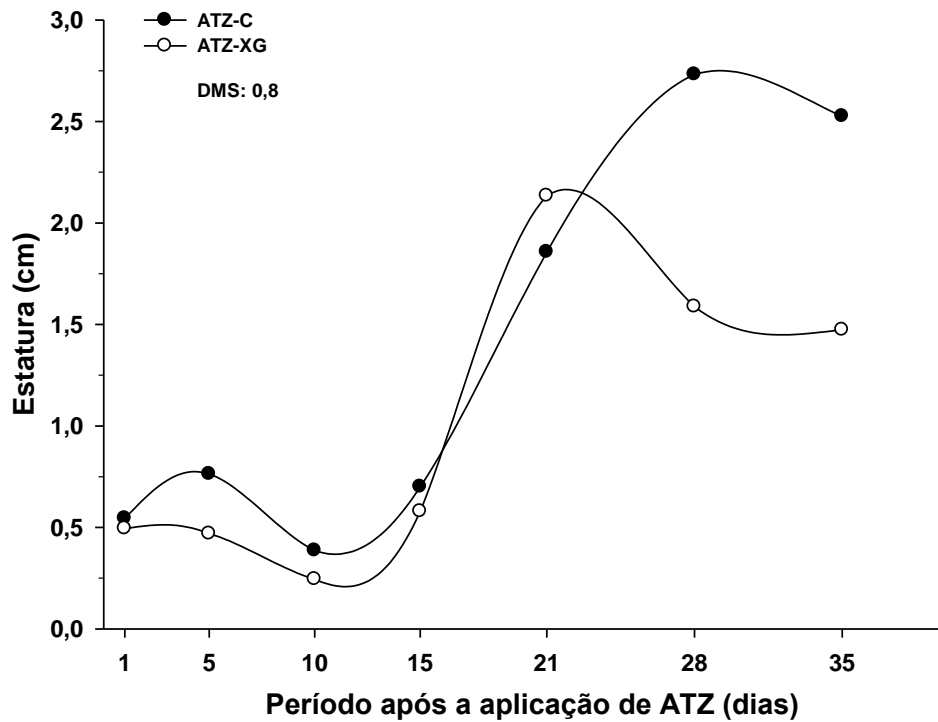


FIGURA 3. Estatura (cm) aos 14 DAE de *Raphanus sativus* em função do período (dias) após a aplicação de ATZ-C e ATZ-XG (5400 g i.a. ha⁻¹) em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2009/2010).

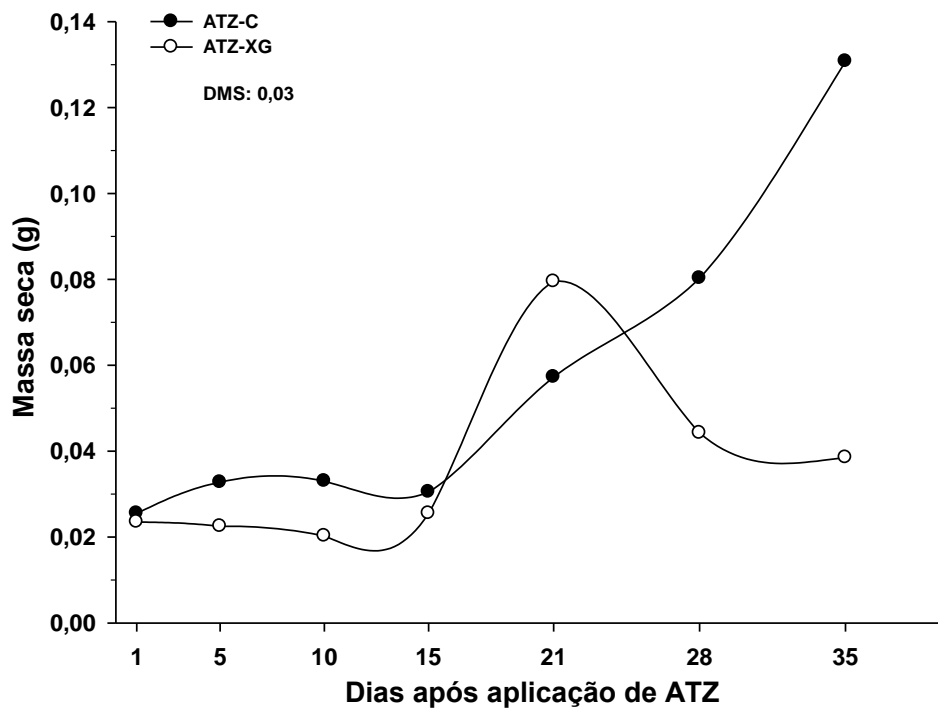


FIGURA 4. Massa seca (g) aos 14 DAE de *Raphanus sativus* em função do período (dias) após a aplicação de ATZ-C e ATZ-XG (5400 g i.a. ha⁻¹) em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2009/2010).

5.2.2.3 Teores de atrazina extraível com metanol

A concentração de ATZ extraível com metanol na palha e no solo apresentou interação significativa entre os fatores período após a aplicação do herbicida e formulação de ATZ (Apêndice 4). O teor de ATZ extraível com metanol na palha na formulação ATZ-XG foi elevado ao 1 DAA (38 mg kg^{-1}), diminuindo até o 10 DAA (9 mg kg^{-1}) (Figura 5A). A partir dessa data até ao final do experimento os valores se situaram em torno de 3 a 12 mg kg^{-1} . Comportamento diferenciado foi observado com a ATZ-C na palha. O teor extraível com metanol no tempo 1 DAA foi baixo, e a partir do 5 DAA manteve-se em torno de 2 a 7 mg kg^{-1} até o final do experimento (Figura 5A).

Os valores de ATZ extraível com metanol no solo foram sempre inferiores aos obtidos na palha (Figuras 5A e 5B), indicando que a palha atua como um “reservatório” de ATZ mais disponível do que no solo. Para a ATZ-XG o valor foi de 10 mg kg^{-1} ao 1 DAA, decaindo para 6 mg kg^{-1} aos 5 DAA. Entre o 5 DAA e o 10 DAA, o teor de ATZ-XG extraível no solo decaiu drasticamente (Figura 5B), conforme já observado na palha (Figura 5A). O padrão semelhante de variação da ATZ-XG extraível na palha e no solo pode ser devido ao deslocamento de ATZ da matriz de sílica para sítios de menor disponibilidade do herbicida ou estaria sofrendo um processo de biodegradação.

O teor de ATZ extraível no solo para ATZ-C tende a valores nulos, com exceção dos maiores valores obtidos, em torno de 1 a 2 mg kg^{-1} , ao 1 DAA e aos 10 DAA, respectivamente (Figura 5B). Possivelmente a precipitação de 53 mm (Figura 1) ocorrida entre os 7 e 9 DAA remobilizou a ATZ de sítios de sorção de maior afinidade, aumentando momentaneamente sua acessibilidade aos microrganismos.

O tratamento ATZ-XG foi capaz de manter os teores totais de ATZ extraível em até 50 e 64% mais elevados na palha e no solo, respectivamente, em comparação à ATZ-C. O maior efeito residual da ATZ-XG no controle da planta bioindicadora (item 5.2.2.2) pode estar relacionado à maior disponibilidade de ATZ obtida com a aplicação da formulação de liberação controlada.

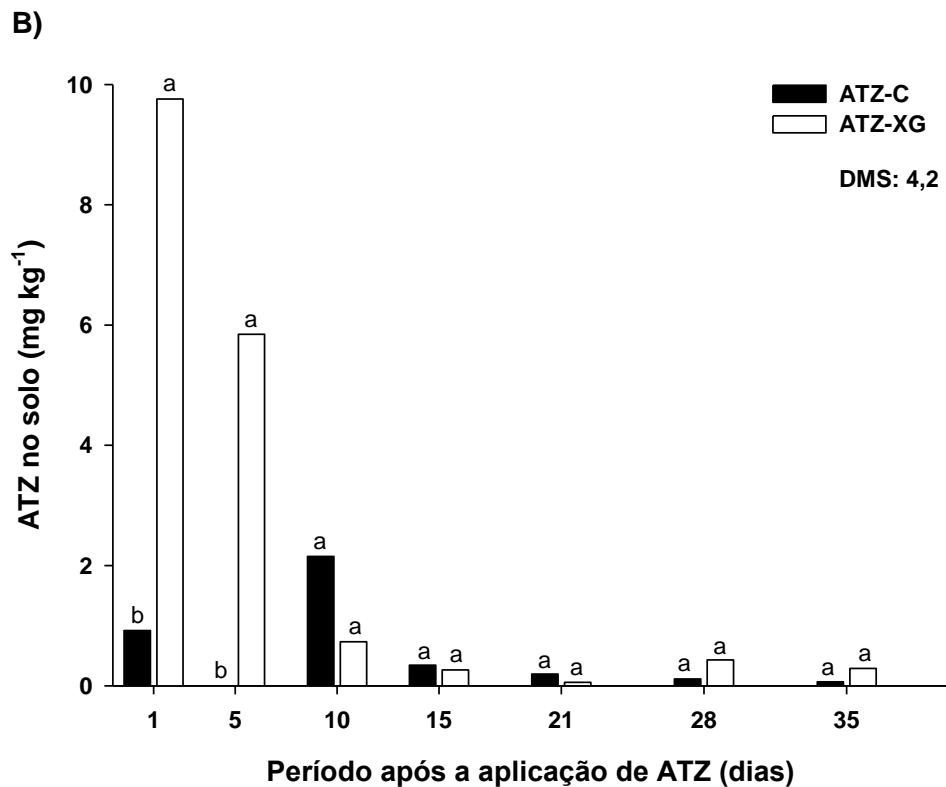
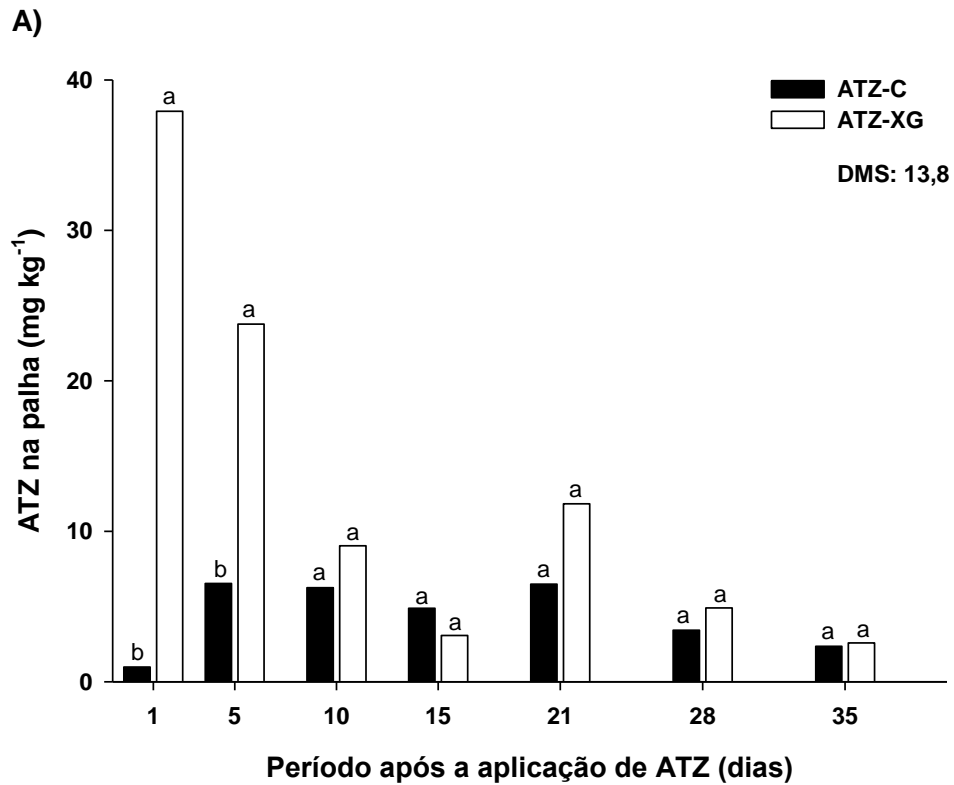


FIGURA 5. Concentração de ATZ na palha (A) e no solo (B) (mg kg⁻¹) em função do período após a aplicação de ATZ-C e ATZ-XG (5400 g i.a. ha⁻¹) em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2009/2010). (Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de t (LSD) a 5% de probabilidade para o mesmo período após a aplicação de ATZ).

5.3 Sub-Estudo 2: Efeito de diferentes manejos e formulações de atrazina na eficácia agronômica e persistência do herbicida em lavoura de milho sob plantio direto (safra 2010/2011)

Os principais objetivos do presente estudo foram avaliar o efeito das formulações da atrazina e do manejo manual no controle de plantas daninhas a campo; e o efeito da formulação de liberação controlada de atrazina na sua persistência na palha e no solo e no seu efeito residual.

5.3.1 Material e Métodos

5.3.1.1 Síntese do xerogel de atrazina

A formulação ATZ-XG (lote 2010) foi sintetizada de acordo com a metodologia descrita no item 5.2.1.1. Os teores de C e de N determinados pela análise elementar foram 12,51% e 8,87%, respectivamente. O teor de ATZ calculado foi de 273 mg g⁻¹.

5.3.1.2 Experimento a campo

O experimento 2010/2011, realizado entre novembro de 2010 a janeiro de 2011, foi conduzido na mesma área do experimento 2009/2010 na EEA-UFRGS (item 5.2.1.2). O delineamento experimental estabelecido foi de blocos casualizados, com quatro repetições. Cada parcela, com tamanho de 2 x 5 m, era composta por duas linhas de milho.

Procedeu-se à dessecação da cobertura vegetal constituída por azevém (*Lolium multiflorum*) com aplicação do herbicida glyphosate, semeadura do milho (Doro 2B587 Bt) e adubação de N, P₂O₅ e K₂O (600 kg ha⁻¹) com a formulação 5-30-15. Os tratamentos para controle de plantas daninhas aplicados em pré-emergência e as informações dos produtos comerciais de ATZ estão descritos nas Tabelas 5 e 6, respectivamente.

TABELA 5. Tratamentos aplicados em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2010/2011).

Tratamentos	Descrição
1. XG5000	ATZ-XG na dose 5000 g i.a. ha ⁻¹
2. XG+SIP5000	ATZ-XG (2500 g i.a. ha ⁻¹) + Siptran (2500 g i.a. ha ⁻¹)
3. SIP5000	Siptran na dose 5000 g i.a. ha ⁻¹
4. PRI5000	Primóleo na dose 5000 g i.a. ha ⁻¹
5. TRI5000	Triamex na dose 5000 g i.a. ha ⁻¹
6. XG2500	ATZ-XG na dose 2500 g i.a. ha ⁻¹
7. SIP2500	Siptran na dose 2500 g i.a. ha ⁻¹
8. PRI2500	Primóleo na dose 2500 g i.a. ha ⁻¹
9. TRI2500	Triamex na dose 2500 g i.a. ha ⁻¹
10. Capinado	Controle mecânico, sem controle químico
11. Testemunha	Sem controle mecânico e químico

TABELA 6. Informações dos produtos comerciais de atrazina aplicados em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2010/2011).

Produto comercial*	Formulação (g L ⁻¹)		Dose recomendada (kg ou L ha ⁻¹)
	Atrazina	Ingredientes inertes**	
Primóleo	400	660	5,0 - 6,0
Triamex 500 SC	Atrazina: 250 + Simazina: 250	500	3,5 - 7,0
Siptran 500 SC	500	500	4,0 - 5,0

*Formulação: suspensão concentrada

**Composição não informada nos rótulos dos produtos.

A ATZ-XG foi aplicada manualmente, após homogeneização com 2 e 4 kg de solo seco ao ar, coletado em área adjacente à do experimento a campo, nos tratamentos 2500 e 5000 g de i.a. ha⁻¹, respectivamente. As formulações comerciais de ATZ foram aplicadas nas parcelas por meio de pulverizador costal pressurizado a CO₂ após diluição em volume de água equivalente a 160 L ha⁻¹. Semanalmente, as plantas daninhas do tratamento capinado foram capinadas com enxada nas entrelinhas e arrancadas manualmente na linha da cultura.

O sistema de irrigação na área do experimento foi utilizado quatro vezes devido à baixa precipitação pluviométrica (256 mm) no período entre a

aplicação dos tratamentos até a última avaliação visual de controle (60 DAA de ATZ) (Figura 6). No período compreendido entre a primeira e a última coleta das amostras de palha e de solo (de 1 aos 35 DAA), a precipitação foi de 182 mm, representando 71% da precipitação total ocorrida nos 60 dias de duração do experimento. Houve intervalos sem ocorrência de chuvas dos 3 aos 8 DAA, dos 10 aos 13 DAA, dos 19 aos 24 DAA, dos 27 aos 30 DAA, dos 36 aos 40 DAA, dos 44 aos 46 DAA e dos 49 aos 56 DAA. As chuvas foram concentradas dos 14 aos 18 DAA, sendo o maior volume registrado acima de 50 mm.

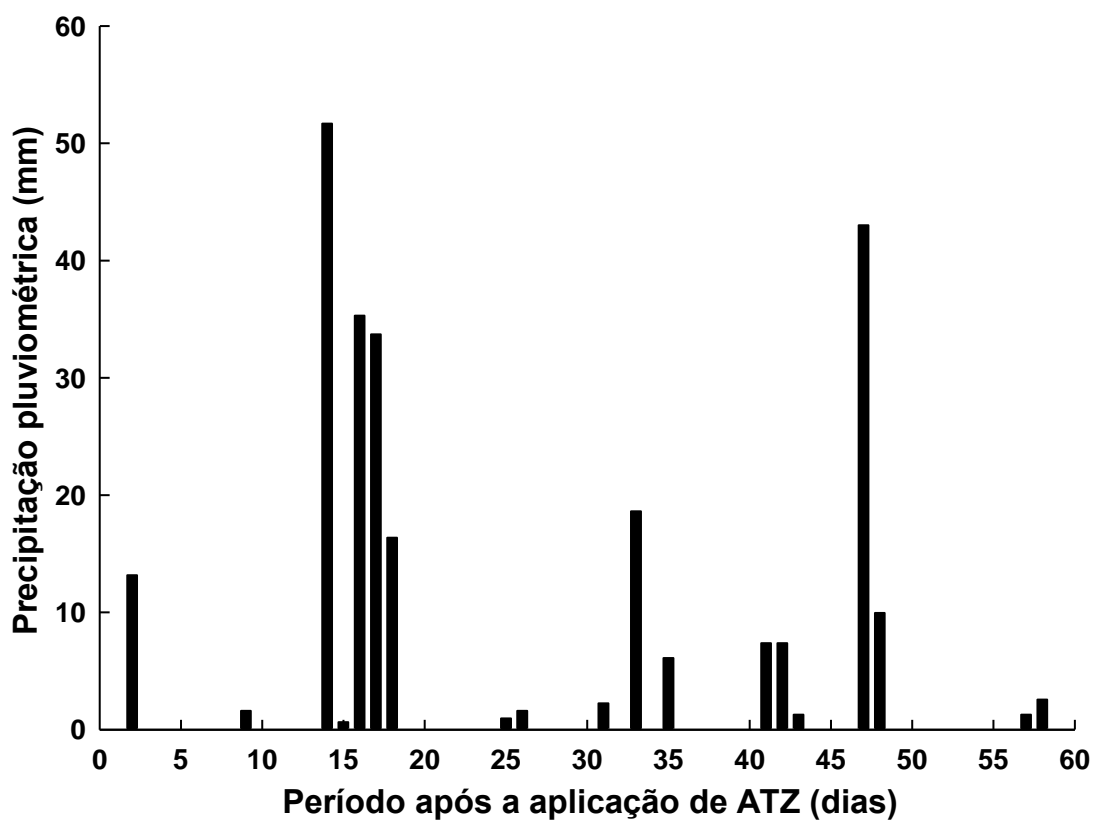


FIGURA 6. Precipitação pluvial (mm) durante a condução do experimento a campo na EEA-UFRGS (0 a 60 DAA de ATZ).

A avaliação visual do controle de plantas daninhas, aos 35 DAA, e a coleta de *Bidens* spp. e de *Urochloa plantaginea* para determinação de massa seca, aos 60 DAA, foram realizadas conforme metodologia descrita no item 5.2.1.2.1.

5.3.1.3 Coleta das amostras e avaliação da persistência de atrazina

Para avaliação da persistência de ATZ em bioensaio e por determinação do herbicida extraível com metanol, foram coletadas a campo (EEA-UFRGS) amostras de palha e de solo aos: 1, 5, 10, 15, 21, 28 e 35 DAA de ATZ, nas parcelas correspondentes aos tratamentos XG5000, SIP5000, XG+SIP5000 e Capinado. A última coleta de amostras de palha e de solo ocorreu em 13/12/2010. A coleta das amostras de palha e de solo, a condução do bioensaio de persistência e a determinação de ATZ extraível com metanol seguiram os procedimentos descritos nos itens 5.2.1.2.2; 5.2.1.2.3; e 5.2.1.2.4, respectivamente.

5.3.1.4 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e comparação de médias pelo teste de t (LSD), a 5% de probabilidade de erro experimental ($P \geq 0,05$), com auxílio do programa estatístico *Sisvar* (Ferreira, 2000). A relação entre as variáveis quantitativas e as variáveis dependentes foi ajustada por regressão pelo programa computacional *Sigma-plot* 11.0 (Systat Software Inc.).

5.3.2 Resultados e discussão

5.3.2.1 Controle de plantas daninhas a campo

O controle de *Bidens* spp. obtido com a aplicação de ATZ-XG nas doses de 2500 e 5000 g i.a. ha⁻¹, foi considerado eficiente (> 80%) e não diferiu das demais formulações e do manejo mecânico por capina manual aos 35 DAA de ATZ (Figura 7A). As formulações comerciais e xerogel não apresentaram efeito de dose para o controle de *Bidens* spp.. A menor dose atingiu 80% de controle e está de acordo com o observado na safra 2009/2010 (item 5.1) (Tabela 3).

A produção de massa seca de *Bidens* spp. obtida no tratamento ATZ-XG dose 5000 g de i.a. ha⁻¹ não diferiu dos demais tratamentos com aplicação de ATZ-C e controle mecânico por capina manual (Figura 7B).

Porém, o tratamento ATZ-XG dose 2500 g de i.a. ha⁻¹ resultou na maior produção de massa seca dos tratamentos avaliados. As formulações comerciais de ATZ não apresentaram efeito de dose na produção de massa seca, evidenciando novamente a eficácia deste herbicida em doses menores para o controle de *Bidens* spp.

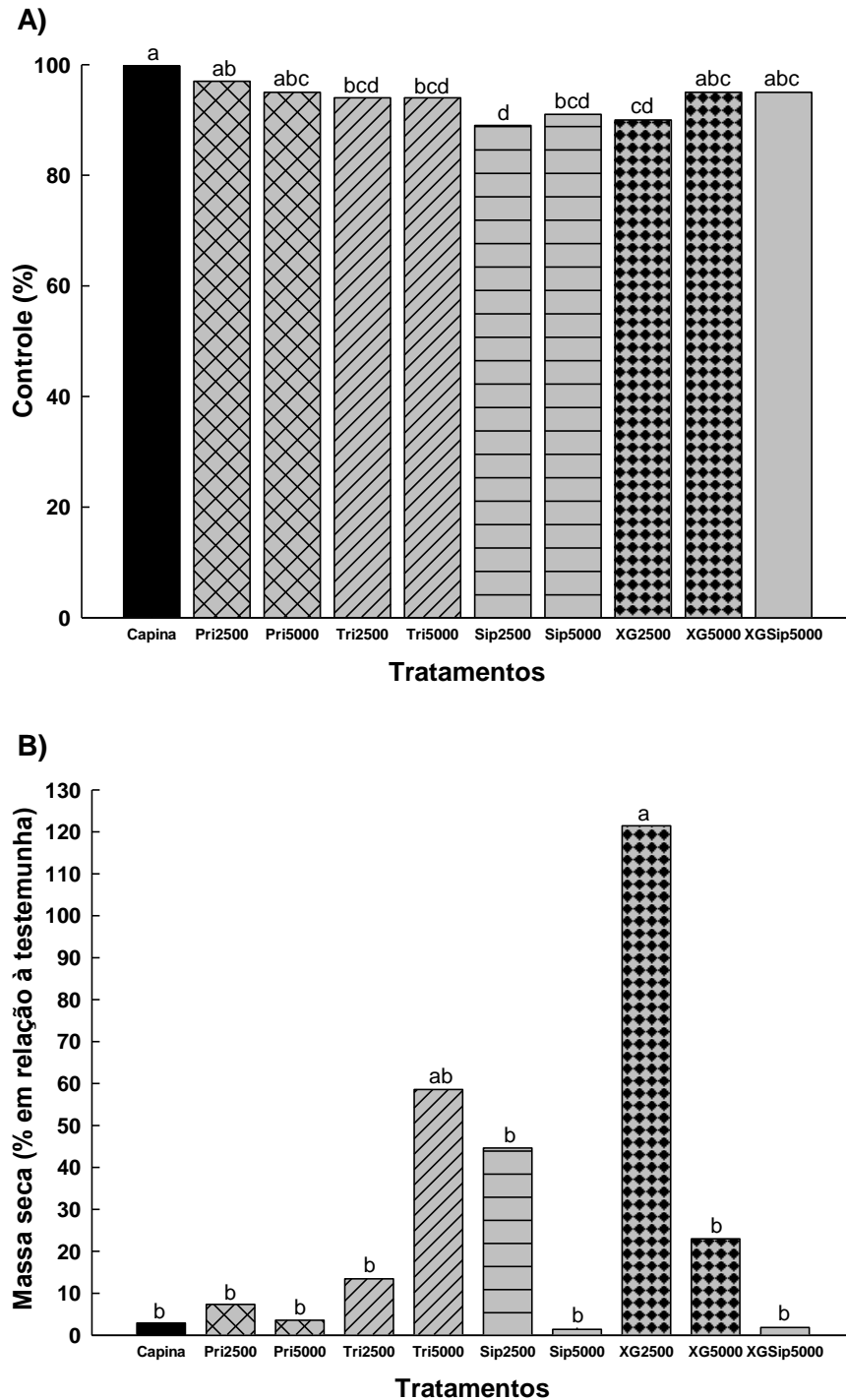


FIGURA 7. Controle (A) e massa seca (B) (% em relação à testemunha) de *Bidens* spp. realizada aos 35 DAA de ATZ-C e ATZ-XG em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2010/2011). (Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de t (LSD) a 5% de probabilidade).

O controle de *Urochloa plantaginea* aos 35 DAA de ATZ não atingiu 80% em nenhum dos tratamentos, com exceção do tratamento com capina manual que atingiu 93% (Figura 8A).

As formulações xerogel (XG2500, XG5000 e XGSip 5000) não diferiram entre si no controle de *U. plantaginea*, que se situou em torno de 20% (Figura 8A). A ATZ-XG5000 e a XGSip5000 não diferiram das formulações comerciais Primóleo e Triamex nas menores doses (2500 g i.a. ha⁻¹) e Siptran na maior dose (5000 g i.a. ha⁻¹). A ATZ-XG2500 não diferiu das formulações comerciais Triamex na menor dose (2500 g i.a. ha⁻¹) e Siptran na maior dose (5000 g i.a. ha⁻¹).

Houve efeito de dose no controle de *U. plantaginea* com a aplicação das formulações comerciais, sendo a dose de 5000 g i.a. ha⁻¹ mais eficiente. Fornarolli et al. (1998) também observaram efeito de dose de ATZ em lavoura de milho com palhada de aveia (4,5 e 9,0 t ha⁻¹) aos 30 DAA. O número de plantas de *U. plantaginea* m⁻² diminuiu com o aumento das doses de ATZ (0; 1250; 2500; 3750 e 5000 g i.a. ha⁻¹). Diferentemente do presente trabalho, os mencionados autores relataram, aos 120 DAA, controle de *B. plantaginea* superior a 85%.

A produção de massa seca de *U. plantaginea* obtida nos tratamentos com aplicação de ATZ-XG não diferiu dos tratamentos com aplicação das formulações comerciais, sendo o maior controle obtido pelo manejo de capina manual (Figura 8B).

Comparando-se as três formulações comerciais avaliadas nesse estudo, as variações no controle de *Bidens* spp. e *U. plantaginea* podem estar relacionadas às especificidades de cada formulação (Tabela 6). O produto comercial Siptran apresentou menor eficácia agrônômica, apesar de apresentar a maior concentração de ATZ na formulação em relação aos produtos Primóleo e Triamex. Com relação às variações na composição dos produtos comerciais, os solventes, emulsificantes, estabilizantes e algumas impurezas contidas nas formulações podem potencialmente afetar a microbiota do solo e, conseqüentemente, influenciar a degradação e a eficácia do herbicida (Monteiro, 1997).

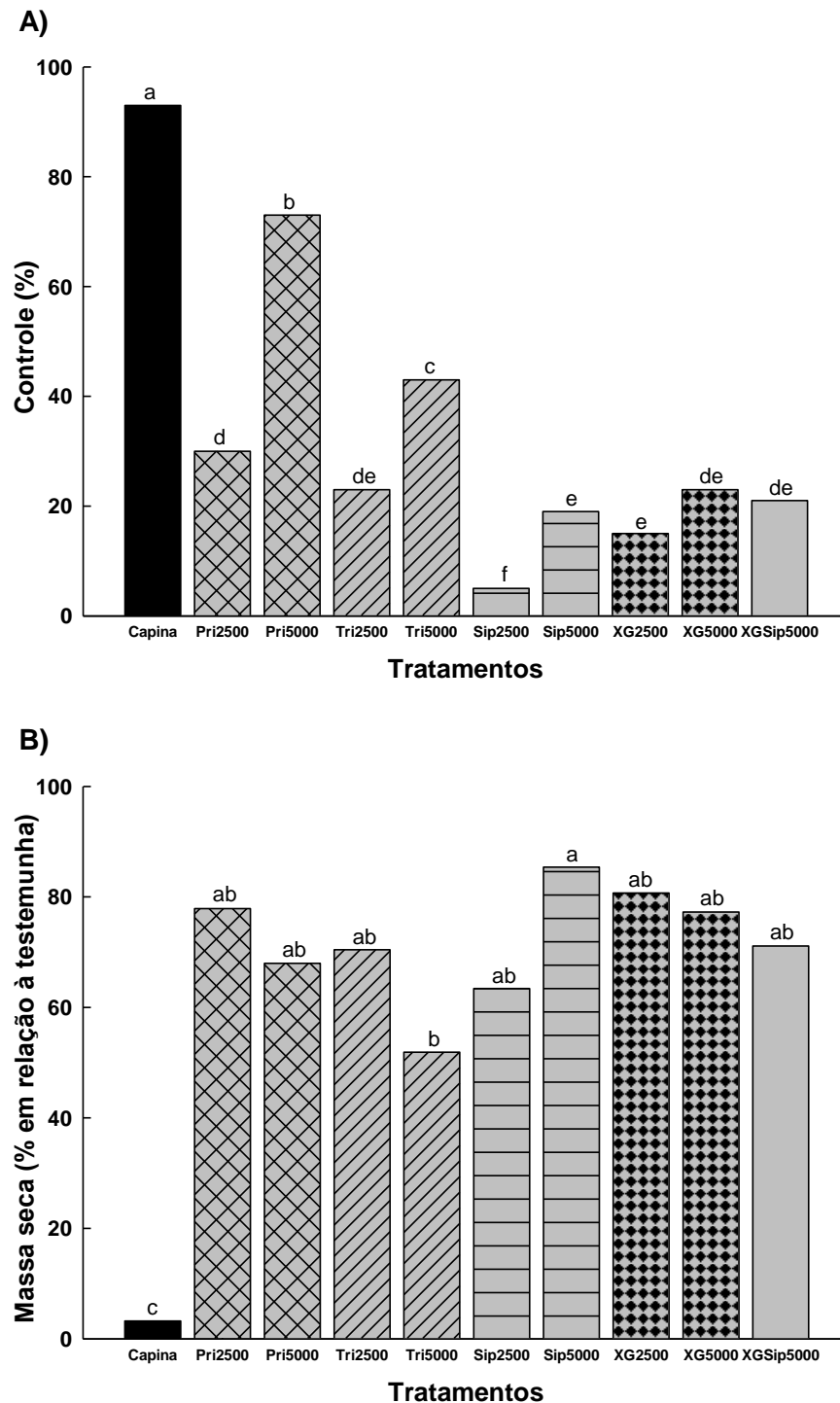


FIGURA 8. Controle aos 35 DAA (A) e massa seca aos 60 DAA (B) (% em relação à testemunha) de *Urochloa plantaginea* de ATZ-C e ATZ-XG em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2010/2011). (Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de t (LSD) a 5% de probabilidade).

5.3.2.2 Persistência de atrazina no solo avaliada em bioensaio

A persistência de ATZ no solo, avaliada pelo controle das variáveis morfológicas (estatura e massa seca) aos 12 DAE da espécie bioindicadora (*Raphanus sativus*), apresentou interação significativa entre as formulações testadas e o período após a aplicação de ATZ a campo (Apêndice 5). As curvas de resposta apresentaram tendência sigmoïdal para três formulações de ATZ (ATZ-XG, ATZ-C e ATZ-XG+C dose 5000 g i.a. ha⁻¹) (Figuras 9A e 9B).

O maior controle das variáveis morfológicas de *R. sativus* foi observado nas amostras de solo coletadas até os 15 DAA de ATZ a campo. A ATZ-XG resultou em plântulas de menor estatura (Figura 9A) e menor produção de massa seca (Figura 9B) nas amostras de solo coletadas aos 21, 28 e 35 DAA em comparação às plântulas submetidas ao tratamento ATZ-C. A ATZ-XG também foi mais eficiente que a mistura ATZ-XG+C nas amostras de solo coletadas aos 35 DAA.

Para formulação de ATZ em polímeros organo-montmorilonita, foi observada menor lixiviação e maior controle de plantas daninhas (Akelah et al., 2008). Nesse estudo, nos testes de lixiviação ocorreu rápida liberação de ATZ na primeira semana, seguida de uma liberação gradual nas quatro semanas seguintes na formulação de liberação controlada. Em comparação, na formulação comercial a ATZ foi completamente lixiviada após quatro dias. No bioensaio e a campo, a formulação de ATZ carregada em montmorilonita foi mais eficiente no controle de *Portulaca oleraceal*, *Echinochloa crus-gallil* e *Cyperus longus*, e aumentou a taxa de crescimento do milho em relação à formulação comercial de ATZ. Comparativamente, a formulação de liberação controlada avaliada no presente estudo (ATZ-XG) apresentou maior efeito residual nos bioensaios de persistência de ATZ no solo nas duas safras avaliadas em relação à ATZ-C. Porém, a campo o controle de ATZ-XG não foi superior ao da ATZ-C. Estes resultados podem estar relacionados principalmente às condições controladas de irrigação em casa de vegetação, que possivelmente potencializam a liberação da ATZ “remanescente” da matriz de sílica, e ao efeito direcionado a apenas uma espécie bioindicadora.

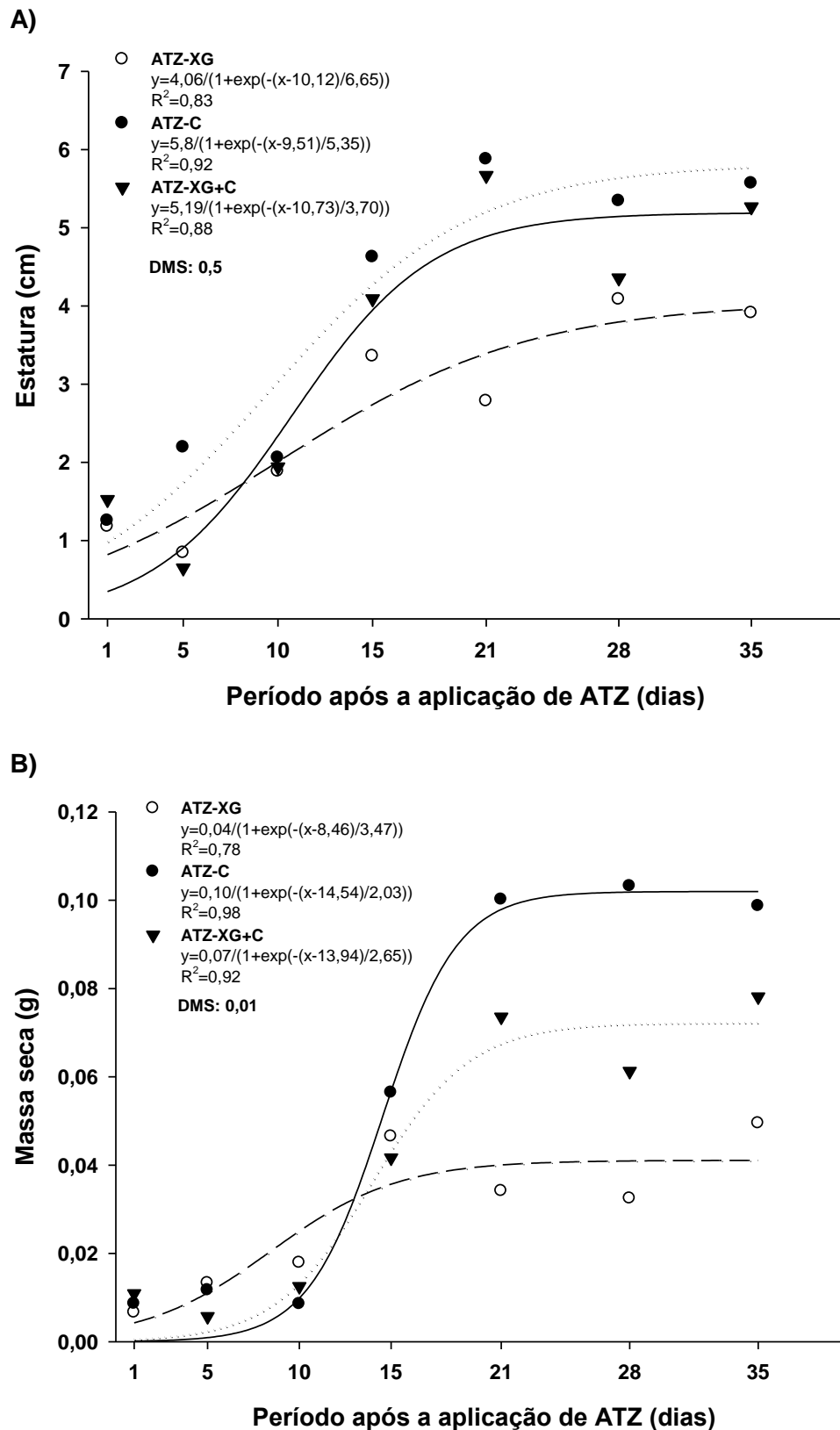


FIGURA 9. Estatura (cm) (A) e massa seca (g) (B) aos 12 DAE de *Raphanus sativus* ao longo do tempo após a aplicação de ATZ-XG, ATZ-C e ATZ-XG+C em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2010/2011).

5.3.2.3 Teores de atrazina extraível com metanol

A concentração de ATZ extraível com metanol na palha apresentou interação significativa entre os fatores período após a aplicação do herbicida e formulação de ATZ; diferentemente, no solo não houve interação significativa entre estes fatores (Apêndice 6). Os teores mais altos de ATZ extraível na palha (Figura 10A) foram aos 28 e 35 DAA no tratamento ATZ-XG. Diferentemente, no tratamento ATZ-C os teores mais altos de ATZ extraível foram aos 10 e 15 DAA; e no tratamento ATZ-XG+C foram ao 1 DAA e depois decresceu rapidamente.

Na palha os teores de ATZ extraível com metanol no tratamento ATZ-XG foi de 172 mg kg^{-1} ao 5 DAA, decresceu até os 21 DAA e aumentou subitamente aos 28 e 35 DAA. Já para a ATZ-C o teor de ATZ extraível da palha apresentou um comportamento gaussiano: aumentou até os 15 DAA (315 mg kg^{-1}) decrescendo bruscamente a desta data para valores inferiores a 58 mg kg^{-1} . O tratamento ATZ-XG+C, em contrapartida, apresentou comportamento distinto dos outros dois. O teor de ATZ extraível da palha decresceu de 114 mg kg^{-1} ao 1 DAA para valores inferiores a 27 mg kg^{-1} até o final do experimento (Figura 10A).

O comportamento diferenciado dos três tratamentos para o teor de ATZ extraível com metanol da palha ao longo do tempo pode ser devido à heterogeneidade da aplicação do herbicida a campo e/ou também pelo retardamento da liberação de ATZ da matriz de sílica na formulação ATZ-XG.

O comportamento da ATZ extraível do solo, em contrapartida, apresentou tendência semelhante para os três tratamentos (Figura 10B). Os maiores valores obtidos para o tratamento ATZ-XG ocorreu aos 5 e 10 DAA (157 a 125 mg kg^{-1}), decrescendo bruscamente a partir dos 15 DAA. No tratamento ATZ-C o valor de 75 mg kg^{-1} ao 1 DAA é superior ao dos outros dois tratamentos, porém decresceu gradativamente ao longo do tempo. Já para o tratamento ATZ-XG+C os teores extraídos aumentaram de 22 mg kg^{-1} ao 1 DAA para 61 mg kg^{-1} aos 10 DAA e depois decresceu. No tratamento ATZ-C os resultados podem ser indicativo tanto de um processo de envelhecimento (*aging*) onde a ATZ migra para sítios de maior afinidade, como também pode estar ocorrendo degradação e/ou lixiviação.

Os processos de dissipação parecem ter sido retardados a aplicação de ATZ na forma mista (ATZ-XG+C), porém não impedem sua dissipação em 28 DAA. Já o tratamento ATZ-XG foi capaz de manter os teores totais de ATZ extraível em até 45 e 34% mais elevados na palha e no solo, respectivamente, em comparação aos outros tratamentos, o que pode representar uma maior disponibilidade para exercer o efeito biocida.

Comparativamente, Kleischmitt (2007) observou uma concentração de ATZ na palha de cobertura até 11 vezes maior do que no solo e relacionou à maior proporção de fração orgânica neste material vegetal em relação ao solo. Outro fator importante mencionado pela autora diz respeito à distribuição heterogênea da palha na lavoura que influencia diretamente o contato do herbicida com o solo.

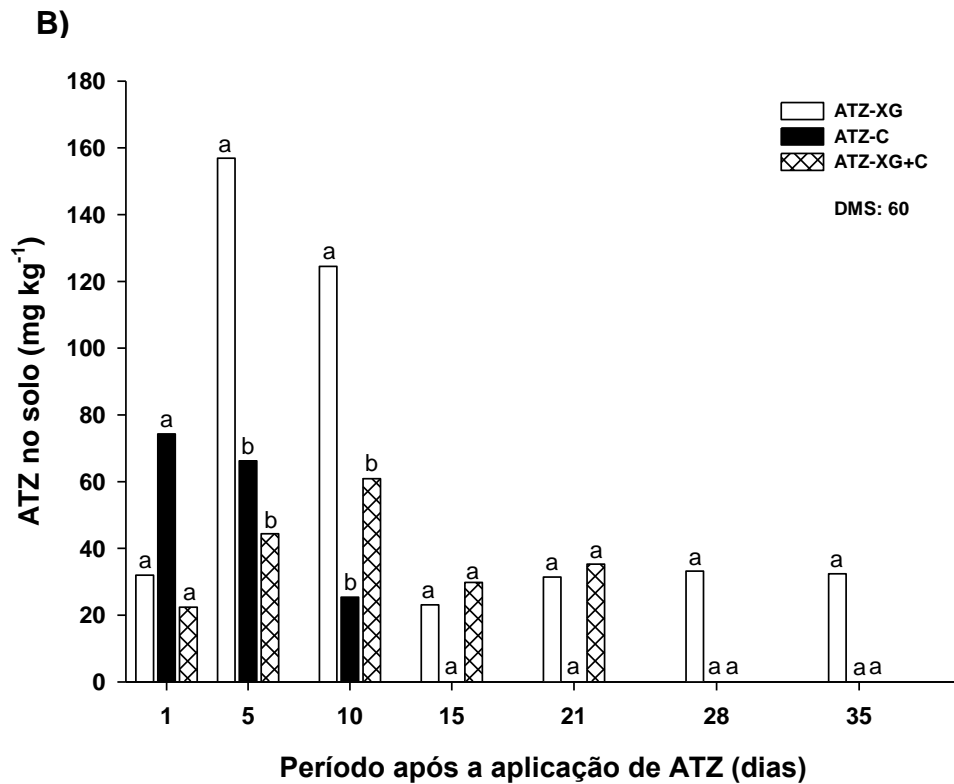
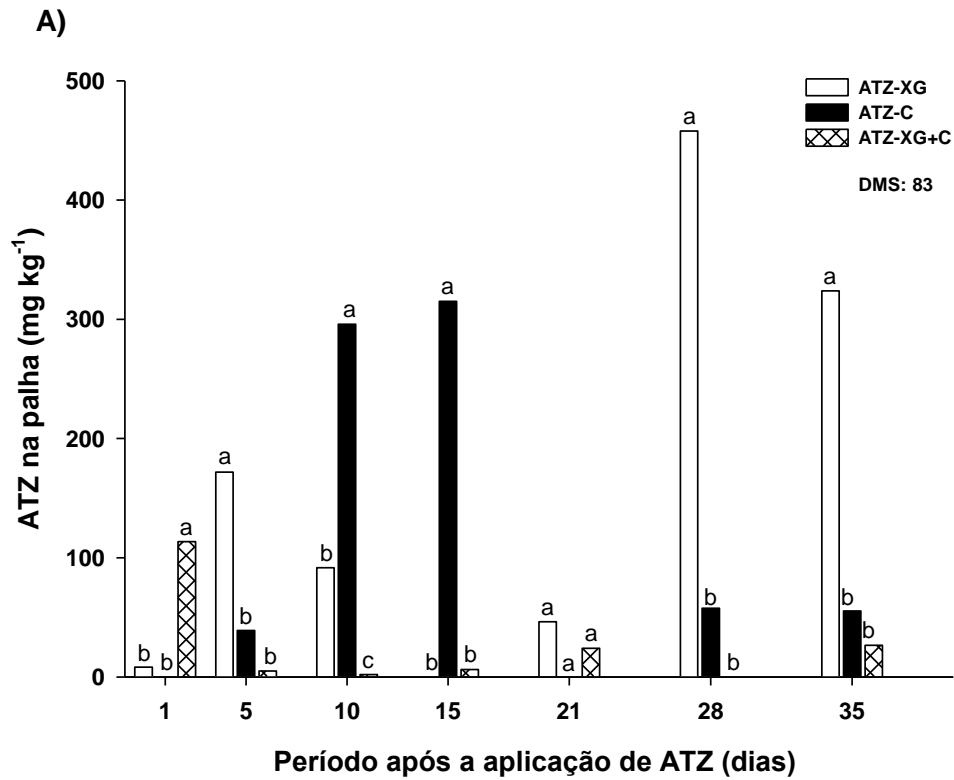


FIGURA 10. Concentração de ATZ na palha (A) e no solo (B) (mg kg^{-1}) em função do período após a aplicação do herbicida ($5000 \text{ g i.a. ha}^{-1}$) em lavoura de milho sob plantio direto (EEA-UFRGS 2010/2011). (Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de t (LSD) a 5% de probabilidade para o mesmo período após a aplicação de ATZ).

5.4 Conclusões

As diferentes doses e formulações (comerciais e de liberação controlada) de ATZ resultaram em níveis eficientes de controle (>80%) de *Bidens* spp. a partir da menor dose avaliada. Porém, os níveis de controle de *U. plantaginea* obtidos com a aplicação de ATZ não foram considerados eficientes (<80%), independente da formulação.

A aplicação da ATZ-XG resultou em maior efeito residual no controle da planta bioindicadora (*R. sativus*) e maiores teores de ATZ extraível na palha e no solo.

6. CAPÍTULO III - ESTUDO 2: EFEITOS DAS FORMULAÇÕES DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE ¹⁴C-ATRAZINA E DA PALHA DE COBERTURA NA DEGRADAÇÃO DA ATRAZINA

6.1 Introdução

A aplicação repetida de um determinado xenobiótico no ambiente pode conduzir à adaptação da microbiota, e conseqüentemente, à degradação mais rápida deste composto (Arbeli e Fuentes, 2007). Solos com histórico de aplicação de ATZ apresentaram redução de 50% no tempo de meia-vida e menor eficácia agrônômica deste herbicida em comparação a solos sem histórico de aplicação de ATZ (Kruz et al., 2007).

O fenômeno de degradação acelerada eleva as perdas de herbicidas na lavoura, resultando em prejuízos econômicos. A utilização de formulações de liberação controlada de pesticidas visa prolongar o efeito desses compostos e diminuir suas perdas (Pepperman e Kuan, 1995). As formulações de liberação controlada xerogel (Hench e West, 1990) e sílica microporosa amorfa (*amorphous microporous silica* - AMS) (Aerts et al., 2007, 2010; Verraedt et al., 2010, 2011) foram inicialmente desenvolvidas para carreamento de fármacos e consistem basicamente em uma matriz inerte de sílica altamente porosa. Diferentemente de outras formulações de sílica que adicionam o composto de interesse durante a síntese, nas AMS o composto pode ser carregado posteriormente à síntese da matriz (Falaize et al., 1999). Tal processo de carregamento é considerado vantajoso devido à maior reprodutibilidade do processo de carregamento (Verraedt et al., 2011). Estudos de formulações com matriz inerte de sílica são necessários para avaliar seu potencial de liberação controlada de ATZ (Ávila et al., 2009; Hirsch, 2011).

No que diz respeito ao uso de ATZ em solos agrícolas brasileiros sob plantio direto, além do fenômeno de degradação acelerada, estudos são necessários para elucidar o efeito da palha de cobertura na dissipação desse herbicida. Frente a este contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar os padrões de degradação de ^{14}C -ATZ (mineralização, formação de resíduos extraíveis e não-extraíveis e de metabólitos) em Argissolo com histórico de aplicação de ATZ, na presença de palha de cobertura, e em duas formulações de liberação controlada (xerogel e AMS). Os experimentos de incubação aplicando ATZ radiomarcada (^{14}C -ATZ) foram realizados no Instituto de Bio e Geociências (IBG-3) do Forschungszentrum Jülich, na Alemanha. A síntese das AMS e os testes de liberação de ATZ nesta formulação foram realizados na Faculdade de Engenharia de Biociências da Universidade Católica de Leuven (KU Leuven), na Bélgica. Foram conduzidos dois experimentos:

- SUB-ESTUDO 1: EFEITO DA PALHA DE COBERTURA NA DEGRADAÇÃO DE ^{14}C -ATZ

Os principais objetivos desse estudo foram investigar o efeito do histórico de aplicação de ATZ e o efeito da palha de cobertura no padrão de degradação acelerada de ^{14}C -ATZ em Argissolo sob plantio direto.

- SUB-ESTUDO 2: EFEITO DAS FORMULAÇÕES DE LIBERAÇÃO CONTROLADA NA DEGRADAÇÃO DE ^{14}C -ATZ

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do tipo de formulação de liberação controlada de ATZ (xerogel e AMS) no padrão de degradação de ^{14}C -ATZ em Argissolo sob plantio direto com histórico de aplicação de ATZ.

6.2 Material e Métodos

6.2.1 Histórico da área e coleta das amostras de solo e de palha

Amostras de solo foram coletadas em área de lavoura (com histórico de aplicação de ATZ – “solo cultivado”) e sob campo nativo (sem histórico de aplicação de ATZ – “solo nativo”) na Estação Experimental Agronômica da UFRGS, município de Eldorado do Sul, em agosto de 2011. Amostras de um Argissolo Vermelho distrófico típico (Embrapa, 2006), derivado de granito com 240 g kg^{-1} de argila com predominância de caulinita (720 g kg^{-1}) e óxidos de

ferro (109 g kg^{-1}) (Lovato et al., 2004), foram retiradas com pá de corte em triplicatas na camada de 0-10 cm. Posteriormente, as triplicatas foram homogeneamente misturadas para obtenção de uma amostra composta por local avaliado.

As amostras de solo cultivado foram coletadas em área sob plantio direto com rotação de culturas (milho/soja) desde 1991 e com aplicação bial de ATZ comercial, segundo doses agronômicas recomendadas ($1,0 - 3,25 \text{ kg i.a. ha}^{-1}$) para o controle das plantas invasoras anuais. A última aplicação de ATZ foi realizada em outubro de 2010, ou seja, 11 meses antes da coleta das amostras. As amostras de solo nativo foram usadas como amostras controle, e foram coletadas em área adjacente à lavoura, sob campo nativo e sem histórico de aplicação de ATZ.

A palha de cobertura de aveia preta (*Avena strigosa*) foi coletada na mesma área de lavoura sob plantio direto. Os teores de carbono (C), hidrogênio (H) e nitrogênio (N) deste material vegetal foram: 39,5%; 5,5% e 1,4%, respectivamente. As amostras de palha e de solo foram coletadas em triplicatas, secas ao ar e peneiradas (2 mm).

O clima da região é subtropical úmido (Cfa), segundo a classificação de Köppen, com temperatura média anual de $19,4^{\circ}\text{C}$, variando de 9 a 25°C de acordo com as estações do ano. A precipitação média é de 1.440 mm, com curtos períodos de déficit hídrico no verão. As principais características dos solos e a concentração de ATZ e seus metabólitos no momento da amostragem são apresentadas na Tabela 7. As análises de fósforo (P) extraível por Mehlich, teores de potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e alumínio (Al) trocáveis, capacidade de troca catiônica (CTC) efetiva e de pH.

TABELA 7. Principais características de um Argissolo Vermelho coletado em lavoura sob plantio direto e em campo nativo com diferentes históricos de aplicação de atrazina.

	Argissolo Vermelho	
	Cultivado	Nativo
Capacidade de retenção de água (%)	53	51
Teor de carbono (%)	3,8	4,1
pH (H ₂ O)	5,0	5,3
P (mg L ⁻¹)	77	19
K (mg L ⁻¹)	190	190,5
Ca (cmolc dm ⁻³)	6,1	3,8
Mg (cmolc dm ⁻³)	2,5	2,2
Al (cmolc dm ⁻³)	0,45	0,15
CTC (cmolc dm ⁻³)	13,8	11,8
Teor de argila (%)	22	14
Nº de aplicações de atrazina	10	-
	Concentração inicial (µg kg ⁻¹)*	
Atrazina	1,5	n.d.
Hidroxiatrazina	1,7	0,3
Deetilhidroxiatrazina	n.d.	n.d.
Deisopropilhidroxiatrazina	n.d.	n.d.

*Extração realizada previamente ao início do experimento, utilizando Extração Acelerada por Solvente (ASE) e quantificação por LC-MS/MS; n.d.: não detectado.

6.2.2 Síntese das formulações de liberação controlada de atrazina

A síntese do xerogel (XG) seguiu os procedimentos descritos no item 5.1.2.1, porém com as devidas alterações pela adição de ¹⁴C-ATZ e quantidade dos reagentes. A fase orgânica (¹⁴C-ATZ, ATZ grau técnico, TEOS e etanol) e a fase aquosa (0,168 g de NaF e 2 mL de água destilada) foram preparadas em copos de vidro de 50 mL e mantidas sob agitação magnética até completa homogeneização. A fase orgânica foi adicionada gota a gota à solução aquosa, que foi mantida sob agitação magnética até a formação do gel, o que durou cerca de 1 hora. A agitação magnética foi suspensa e o solvente foi evaporado à temperatura ambiente, por 24 h, até obter-se um pó fino (xerogel) que foi triturado manualmente.

As esferas microporosas de sílica (AMS) foram preparadas de acordo com Maier et al. (1993), com os seguintes reagentes: (TEOS, 98%), etanol grau técnico e HCl (37%). A solução de HCl foi adicionada gota a gota à solução de TEOS e etanol que era mantida sob agitação magnética. A agitação foi mantida por 24 horas à temperatura ambiente. Na sequência, o sol foi aquecido a 50° C em forno por 3 dias, resultando em um material gel rígido e transparente. O material foi destorroado e aquecido a 65°C a uma taxa de aquecimento de 0,1 ° C min⁻¹. Após 5 h a 65° C, elevou-se à temperatura final de 250° C a uma velocidade de 0,1° C min⁻¹. Nesta temperatura permaneceu por mais 5 horas e depois levado à temperatura ambiente.

Para definição do método de carregamento de ATZ nas esferas AMS foram realizados testes com os métodos de fusão e de solvente. O método de fusão consistiu na mistura das esferas AMS (50 mg) com ATZ (5 mg) (10% carregamento) e aquecimento em estufa a 176°C (temperatura de fusão de ATZ) por 24 horas. Pelo método de solvente, a ATZ (5 mg) foi dissolvida em etanol (0,47 g), e posteriormente adicionada as AMS (50 mg). A solução foi mantida sob agitação por 36 horas para evaporação do solvente, e depois a seguir a suspensão foi seca em estufa a 60°C por 24 horas. Foram realizados testes de liberação *in vitro* e quantificação de ATZ por cromatografia gasosa das formulações obtidas pelos dois métodos de carregamento. Os testes de liberação *in vitro* foram realizados em 250 mL de CaCl₂ 0,01 M sob agitação horizontal a 150 rpm. Decorridas 0, 1, 2, 3, 5, 7 e 24 h após o início da agitação, alíquotas de 1 mL foram coletadas e submetidas às análises cromatográficas. No método de fusão ocorreu degradação de ATZ enquanto no método do solvente não houve alteração na composição do herbicida. Portanto, as formulações ATZ-AMS empregadas nos experimentos de incubação com ¹⁴C-ATZ foram sintetizadas pelo método do solvente.

Previamente à aplicação no solo, as formulações de liberação controlada de ¹⁴C-ATZ (¹⁴C-ATZ-XG e ¹⁴C-ATZ-AMS) foram secas em estufa a 60°C por 24 h.

6.2.3 Estudos de mineralização da ^{14}C -atrazina

Amostras compostas de solo foram secas ao ar, peneiradas (2 mm) e mantidas em geladeira ($5 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) até a realização dos experimentos. Previamente à incubação, as amostras foram aclimatadas à temperatura a ser usada durante a incubação ($20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$). Determinou-se o teor de umidade do solo e foi adicionada água destilada para ajuste da umidade a 20% da sua capacidade de retenção de água para reativar a microflora, de acordo com procedimento previamente descrito por Martinazzo et al. (2010).

Os tratamentos empregados nos testes de incubação foram:

- Sub-Estudo 1: Efeito da palha de cobertura na degradação de ^{14}C -ATZ

Microcosmo 1 – solo cultivado;

Microcosmo 2 – solo nativo;

Microcosmo 3 – mesmo solo do Microcosmo 1 com palha na superfície (0,92 g peso seco equivalente);

Microcosmo 4 – mesmo solo do Microcosmo 1 sem palha de cobertura;

Microcosmo 5 – apenas palha (0,92 g peso seco equivalente);

- Sub-Estudo 2: Efeito das formulações de liberação controlada na degradação de ^{14}C -ATZ

Microcosmo 6 – solo cultivado com ATZ-XG;

Microcosmo 7 – solo nativo com ATZ-XG;

Microcosmo 8 – solo cultivado com ATZ-AMS;

Microcosmo 9 – solo nativo com ATZ-AMS.

A mineralização da ^{14}C -ATZ foi avaliada durante 85 dias de incubação em frascos de vidro hermeticamente fechados com capacidade de 250 mL, utilizando-se triplicatas de 20 g de solo (peso seco equivalente) com 50% da capacidade de retenção de água. Os frascos foram incubados em ausência de luz e com temperatura controlada ($20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$).

A solução contendo ATZ (99% de pureza química, Riedel-de Haën, Alemanha) e ^{14}C -ATZ uniformemente radiomarcada [2,4,6- ^{14}C] no anel (99% de pureza radiológica, 6,4 MBq mL⁻¹, American Radiolabeled Chemicals Inc., EUA) foi preparada em meio de etanol. Essa solução foi adicionada a uma alíquota, devidamente moída e homogeneizada, de 20 g de cada solo, sendo o etanol removido do solo por evaporação. Posteriormente, essas alíquotas

foram vigorosamente misturadas ao restante de cada solo dos Microcosmos 1 e 2 (400 g – peso seco equivalente) com o uso de um agitador do tipo elíptico por 30 min. Nos Microcosmos 3, 4 e 5 a solução foi aplicada por gotejamento em cada unidade experimental. Nos Microcosmos 6, 7, 8 e 9 as formulações de liberação controlada (^{14}C -ATZ-XG e ^{14}C -ATZ-AMS), em forma de pó, foram adicionadas a cada solo e também foram vigorosamente misturadas em agitador elíptico por 30 min.

Dez subamostras (0,5 g cada) de cada solo foram submetidas à combustão (OX500, R. J. Harvey Instrument Corp.) a fim de se determinar a quantidade total de radioatividade contida no solo e monitorar a sua homogeneidade de distribuição. A radioatividade e a concentração de ATZ aplicadas variaram entre a solução de ^{14}C -ATZ, ^{14}C -ATZ-XG e ^{14}C -ATZ-AMS devido às perdas durante a síntese das formulações de liberação controlada, atingindo 1408 kBq kg^{-1} e 1 mg kg^{-1} na solução de ^{14}C -ATZ; 1285 kBq kg^{-1} e $0,8 \text{ mg kg}^{-1}$ na ^{14}C -ATZ-XG; e 918 kBq kg^{-1} e $0,6 \text{ mg kg}^{-1}$ na ^{14}C -ATZ-AMS, respectivamente.

O $^{14}\text{CO}_2$ produzido foi capturado em 1,5 mL de uma solução de NaOH 2 mol L^{-1} contida em pequenos frascos de vidro (~ 5mL) fixados na parte superior dos frascos de incubação. A solução de NaOH era periodicamente removida e analisada por cintilação líquida (LSC 2500 TR, Tri-Carb, Packard Liquid Scintillation Analyzer) utilizando-se 10 mL de solução cintiladora (Instant Scint-Gel Plus TM, Perkin-Elmer) e 4 mL de água deionizada (18.0 M Ω /cm, Milli-Q Plus 185, Millipore) por amostra. Após a remoção, a solução de NaOH era imediatamente substituída. As avaliações da quantidade de $^{14}\text{CO}_2$ capturado foram realizadas diariamente na primeira semana, a cada 2 a 4 dias até o 30° dia de incubação e, depois, semanalmente.

6.2.4 Extração e determinação de ^{14}C -atrazina e seus metabólitos

As amostras dos microcosmos de mineralização de ^{14}C -ATZ foram extraídas aos 0, 9, 16, 30 e 85 dias de incubação. Foram avaliadas as frações extraíveis em água, em extração acelerada por solvente (*Accelerated Solvent Extraction* - ASE) e resíduos não-extraíveis (RNE).

6.2.4.1 Extração com água

As amostras de palha e de solo foram extraídas uma única vez com água deionizada ultra pura (Milli-Q Plus 185, Millipore), relação solo:soluto de 1:8, de acordo com Jablonowski et al. (2008b). Às amostras de palha foram adicionados 60 mL água deionizada ultra pura. A suspensão foi agitada em agitador horizontal durante 6 horas a 150 rpm, e somente as amostras de solo foram centrifugadas a 10.000 g durante 90 minutos. Posteriormente, uma alíquota do sobrenadante das amostras de palha e de solo (~80 e 40 mL, respectivamente) foi retirada, seu volume foi medido e, então, filtrada em membrana de 0,45 µm (Sartorius Biolab).

O extrato foi analisado, em triplicata, via cintilação líquida (*Liquid Scintillation Counter* - LSC) para determinação da quantidade de ¹⁴C-atividade desorvida. Utilizaram-se 5 mL de amostra e 10 mL de solução cintiladora (Instant Scint-Gel Plus TM, Perkin-Elmer). O efeito de *quenching* foi corrigido pelo uso de um padrão externo. O extrato aquoso também foi analisado via cromatografia líquida acoplada a espectrômetro de massas (*liquid chromatography and mass spectrometry* LC-MS/MS) para quantificação de ATZ e seus metabólitos.

Os filtros usados nesse procedimento foram oxidados e a radioatividade detectada foi considerada no balanço final de massa.

Após a retirada da alíquota do sobrenadante, as amostras de palha e de solo contidas nos tubos de centrífuga foram liofilizadas (Lyovac GT2, Steris), maceradas e armazenadas. As amostras de palha foram encaminhadas para combustão (item 6.2.3.3), sendo esta fração denominada “resíduos não-extraíveis em água” (RNEA), e as amostras de solo foram submetidas à ASE.

6.2.4.2 Extração Acelerada por Solvente (ASE)

Após prévia extração com água e liofilização, subamostras de 10 g de solo foram submetidas a quatro extrações sucessivas em um sistema de extração ASE 200 (Dionex, Dionex Co., EUA), de acordo com Jablonowski et al. (2009). As amostras foram transferidas para as células de aço do equipamento extrator com capacidade de 11 mL e o espaço vazio sobre a

amostra foi preenchido com quartzo (Merck), a fim de reduzir o volume do extrato e evitar o entupimento do filtro presente na parte superior da célula.

A solução de metanol:água (4:1 v/v) foi usada como solvente e a extração foi conduzida em temperatura de 135 °C e pressão de 100 bar com volume de flush equivalente a 60% do volume de extração da célula. O tempo de aquecimento e estático foi de 7 e 15 minutos, respectivamente.

Após a extração, uma alíquota de cada extrato foi separada para a determinação da radioatividade (1 mL de amostra, 4 mL de água deionizada ultra pura e 10 mL de solução cintiladora, em triplicata) via LSC e para a quantificação de ATZ e de seus metabólitos via LC-MS/MS.

6.2.4.3 Determinação dos resíduos não-extraíveis (RNE)

Os ^{14}C -resíduos não-extraíveis (RNE) das amostras de solo foram determinados após as extrações com água e ASE, usando 0,5 g peso seco. Os ^{14}C -RNEA das amostras de palha foram determinados após as extrações em água, usando 0,1 g peso seco de palha. As amostras de solo e de palha, em triplicata, foram colocadas em recipientes de porcelana e oxidadas (OX500, R.J. Harvey Instrument Corp.). O $^{14}\text{CO}_2$ liberado pelo processo de combustão foi capturado por uma solução cintiladora (Oxysolve C-400, Zinsser Analytic) e analisado por LSC.

O balanço de massa de ^{14}C foi determinado pela soma do $^{14}\text{CO}_2$ resultante da mineralização, do ^{14}C extraível com água e ASE e do $^{14}\text{CO}_2$ obtido pela combustão final das amostras. Em geral obteve-se uma recuperação entre 77,1 e 100,0%

6.2.5 Detecção e quantificação da atrazina e seus metabólitos

A ATZ e seus metabólitos foram detectados e quantificados nos extratos por LC-MS/MS, de acordo com Jablonowski et al. (2008b). Utilizou-se o sistema Thermo Electron modelo TSQ-Quantum 2002 equipado com amostrador automático CTC-HTC-PAL. A ATZ e seus metabólitos HA (96,0%), DEA (99,9%) e DIA (96,1%) foram adquiridos da Riedel-de Haën (Seelze, Alemanha).

Para a quantificação de ATZ e seus metabólitos, compostos deuterados (Dr. Ehrenstorfer GmbH, Alemanha) foram utilizados como padrões internos na concentração de $0,01 \mu\text{g mL}^{-1}$. Cem μL de cada extrato, aquoso ou orgânico, foram misturados com 40 μL da solução padrão deuterada. A coluna utilizada foi uma MZ Perfect Sil Target ODS-3 (2,1 mm x 125 mm x 3 μm) com uso de uma pré-coluna adicional (2,1 mm x 10 mm x 3 μm). Como eluente nas análises de cromatografia líquida utilizou-se a mistura de acetato de amônio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e acetonitrila (99,9%, Riedel-de Haën, Seelze, Alemanha). A taxa de fluxo foi de $0,15 \text{ mL min}^{-1}$ e a temperatura da coluna foi de $25 \text{ }^\circ\text{C}$. As injeções foram realizadas em triplicata e o volume total de injeção de cada amostra foi de 10 μL . As análises de LC-MS/MS foram realizadas em modo de *positive electrospray ionization* (ESI+) e as transições foram medidas em *multiple reaction monitoring* (MRM), conforme Jablonowski et al. (2008b). Os limites analíticos de detecção e de quantificação foram respectivamente $0,03$ e $0,09 \text{ ng mL}^{-1}$ para ATZ; $0,04$ e $0,1 \text{ ng mL}^{-1}$ para HA; $0,4$ e $1,0 \text{ ng mL}^{-1}$ para DEA; $0,7$ e $2,0 \text{ ng mL}^{-1}$ para a DIA.

6.2.6 Análise dos dados

Os modelos de cinética de degradação de primeira ordem (reação na qual a velocidade é diretamente proporcional à concentração do reagente) ou de ordem zero (reação na qual a velocidade é uma constante, independente da concentração do reagente) foram aplicados aos dados de mineralização de ATZ dos Microcosmos estudados. Na equação do modelo de cinética de degradação de primeira ordem [$Y = A_0 * (1 - e^{-kt})$], A_0 é a quantidade máxima de $^{14}\text{CO}_2$ desprendido (% da radioatividade inicial adicionada), k é a taxa constante de mineralização (dias^{-1}), t é o tempo (dias). Na equação do modelo de cinética de degradação de ordem zero [$Y = -k * t + C_0$], C_0 é a quantidade inicial de radioatividade aplicada. O valor de meia-vida ($t_{1/2}$) do herbicida foi calculado a partir das equações $t_{1/2} = \ln 2/k$ e $t_{1/2} = C_0/2k$ para os modelos de cinética de degradação de primeira ordem e de ordem zero, respectivamente.

A relação entre as variáveis quantitativas e as variáveis dependentes foi ajustada por regressão pelo programa computacional *Sigma-plot* 11.0 (Systat Software Inc.).

6.3 Resultados e discussão

6.3.1 Sub-Estudo 1 – Efeito da palha de cobertura na degradação de ¹⁴C-atrazina

6.3.1.1 Mineralização de ¹⁴C-atrazina

O solo cultivado (Microcosmo 1) apresentou maior mineralização de ATZ (86%) em comparação ao solo nativo (Microcosmo 2) (10%) ao final do período de incubação (Figuras 11A e 11B). Aos 12 DAA de ¹⁴C-ATZ, apenas 25% da radioatividade ainda permaneceu no Microcosmo 1. A degradação acelerada de ATZ pela microbiota, devido à aplicação repetida do herbicida, foi observada anteriormente em um Latossolo Vermelho cultivado com milho em SPD do RS. Neste Latossolo a mineralização de ¹⁴C-ATZ atingiu 82% após 85 DAA (Martinazzo et al., 2010). Comportamento diferente foi observado no mesmo estudo em um Latossolo Vermelho do estado da Bahia, onde, além de uma fase de latência em torno de 7 dias, cerca de 74% da ¹⁴C-ATZ aplicada foi mineralizada.

A MOS é considerada o constituinte do solo com maior afinidade por ATZ e/ou seus metabólitos (Spark e Swift, 2002; Coquet, 2003; Dick et al., 2010), favorecendo a retenção destas moléculas via sorção ou aprisionamento nos constituintes orgânicos do solo (Burauele e Baßmann, 2005). Nesse sentido, Peixoto et al. (2000) observaram em experimentos de incubação com aplicação de ¹⁴C-ATZ em Glei Húmico baixa mineralização de ATZ (0,1%). Os autores relacionaram esses resultados aos elevados teores de C (6,6%) que resultaram na sorção de ATZ e na sua menor biodisponibilidade. Em contrapartida, o Argissolo do presente estudo e o Latossolo estudado por Martinazzo et al. (2010) apresentaram elevada mineralização (82 a 86%) apesar de apresentarem elevado teor de C para solos agrícolas (3,1 a 3,8%). Já o Latossolo da Bahia do mesmo estudo de Martinazzo et al. (2010) apresentou menor mineralização (74%) no tempo de 85 dias, apesar do menor teor de C (1,1%). Em vista disso, pode-se inferir que os microrganismos adaptados presentes nos solos agrícolas do presente estudo e de Martinazzo et al. (2010) competem eficientemente com o processo de sorção. Além disso, essa

eficiência parece ser favorecida pelo maior teor de C. Estes dados evidenciam a importância de se considerar o histórico de aplicação de pesticidas nos modelos de predição de risco ambiental, além dos valores médios dos parâmetros de sorção e persistência, em especial a meia-vida.

A mineralização no solo cultivado sem palha de cobertura e com aplicação da solução de ATZ por gotejamento (Microcosmo 4) atingiu 84% ao final do período de incubação (Figura 11A), e não diferiu do comportamento observado no Microcosmo 1 (ATZ homoganeamente misturada ao solo cultivado). No entanto, a palha na superfície do solo reduziu a mineralização de ^{14}C -ATZ de 84% (Microcosmo 4) para 30% (Microcosmo 3) (Figura 11A). Muito provavelmente, a palha atuou como uma barreira física e impediu o herbicida de atingir o solo onde seria degradado pelos microrganismos adaptados.

No solo cultivado (Microcosmos 1 e 4), os picos máximos de mineralização foram alcançados aos 5 DAA, correspondendo a 36,1 e 13,6% ^{14}C -ATZ aplicada dia^{-1} , respectivamente (Figura 12B). Após, as taxas de mineralização diminuíram para 0,67% ^{14}C -ATZ aplicada dia^{-1} a partir do 26° DAA (Microcosmo 1) e 0,84% ^{14}C -ATZ aplicada dia^{-1} a partir do 43° DAA (Microcosmo 4), correspondendo ao platô observado na cinética de mineralização, e mantiveram-se relativamente constantes até ao final do experimento. Entretanto, as taxas de mineralização no solo nativo (Microcosmo 2) e no solo cultivado com cobertura de palha (Microcosmo 3) não ultrapassaram valores de 2,2% ^{14}C -ATZ aplicada dia^{-1} (Figura 11B).

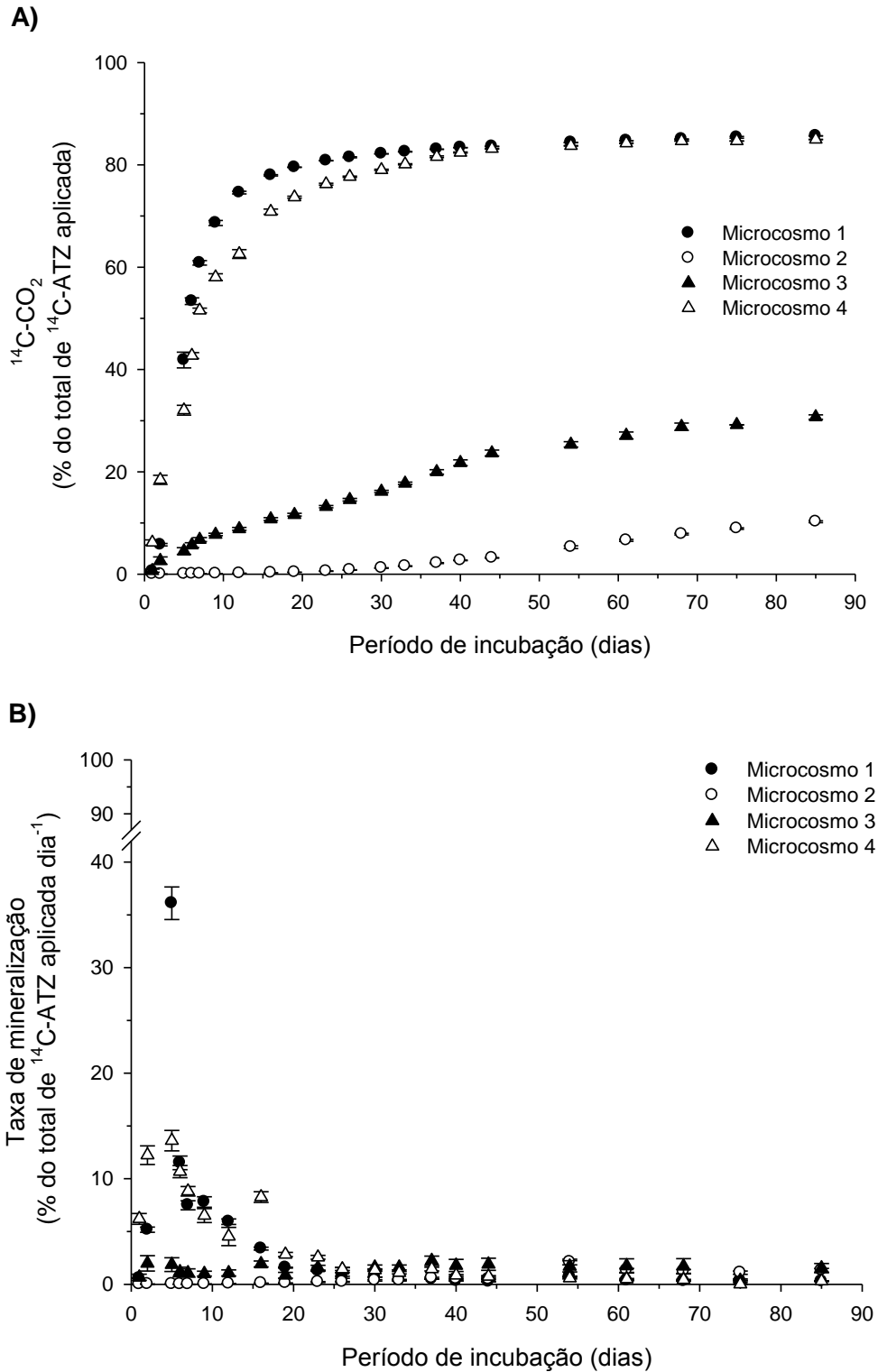


FIGURA 11. Cinética (A) e taxa de mineralização (B) de $^{14}\text{C-ATZ}$ durante a incubação de um Argissolo Vermelho cultivado (Microcosmo 1), nativo (Microcosmo 2), cultivado com palha de cobertura (Microcosmo 3), cultivado sem palha de cobertura (Microcosmo 4). (Os símbolos do gráfico representam a média de três repetições e as barras de erro indicam o desvio padrão da média e não aparecem quando menores do que o símbolo para a média).

Aos dados de mineralização do solo cultivado (Microcosmos 1 e 4) foi aplicado o modelo de cinética de primeira ordem aos dois segmentos da curva (fases rápida e lenta). No Microcosmo 1 a degradação rápida inicial ocorreu até os 26 DAA, com 81,5% da ^{14}C -ATZ mineralizada e a meia-vida estimada de 10 dias. No Microcosmo 4, a cinética de degradação rápida ocorreu até os 43 DAA, com 82,4% da ^{14}C -ATZ mineralizada e a meia-vida estimada de 16 dias. Em ambos os Microcosmos o mecanismo de degradação final (fase mais lenta) apresentou valores de meia-vida estimada de 154 dias. De acordo com FOCUS (2006), a degradação de pesticidas nem sempre pode ser descrita por um único modelo cinético de primeira ordem. A diminuição inicial rápida seguida por um declínio mais lento nas concentrações de pesticidas é conhecida como padrão bi-fásico de degradação.

Aos dados de mineralização do solo nativo (Microcosmo 2) foi aplicado o modelo de cinética de degradação de ordem zero e a meia-vida estimada foi de 411 dias. As amostras de solo do Microcosmo 2 foram coletadas sob campo nativo sem histórico de uso agrícola e de aplicação de ATZ. A ATZ não foi detectada nas amostras do solo nativo no momento da coleta, porém o metabólito HA foi encontrado em baixa concentração (Tabela 7). A proximidade desta área à lavoura pode ter favorecido a sua contaminação por deriva. Os microrganismos presentes nesse solo não foram eficientes em promover a quebra do anel triazínico (baixa mineralização), porém atuam na dissipação parcial do herbicida pela formação de metabólitos (item 6.3.4).

Aos dados de mineralização do solo cultivado com palha (Microcosmo 3) foi aplicado o modelo de cinética de degradação de ordem zero e a meia-vida foi de 134 dias. A palha de cobertura aumentou em 9 vezes o valor da meia-vida do solo cultivado, considerando-se apenas a fase rápida (primeiro segmento da curva) da cinética de degradação dos Microcosmos 1 e 4. Com esses resultados pode-se inferir que a barreira física promovida pela palha de cobertura reduziu a quantidade do herbicida que atingiria o solo e seria, conseqüentemente, degradado pela microbiota adaptada.

Nos Latossolos brasileiros com histórico de aplicação de ATZ do estudo de Martinazzo et al. (2010), os dados de mineralização foram ajustados ao modelo cinético de degradação de primeira ordem, porém sem particionamento da curva em duas fases, com valores de $t_{1/2}$ estimados de 4 e

51 dias. Comparativamente, valores de $t_{1/2}$ de mineralização ou de dissipação citados na literatura para solos americanos variam de 9 (Krutz et al. 2007) a 330 dias (dados fornecidos pela *U.S. Environmental Protection Agency* - USEPA e citados por Barbash et al. 2001). Deve-se, então, considerar que as especificidades de cada solo, do clima e do histórico de aplicação de pesticidas atuam em diferentes intensidades e concomitantemente na persistência desses compostos no solo.

6.3.1.2 Resíduos extraíveis e não-extraíveis de ^{14}C -atrazina

Os ^{14}C -resíduos extraíveis em água no solo cultivado (Microcosmo 1) foram de 69% logo após a aplicação de ATZ (0 DAA), e diminuiu drasticamente aos 9 DAA, cerca de 7%, atingindo 1% ao final do período de incubação (Figura 12A). Os ^{14}C -resíduos extraíveis por ASE (fração caracterizada por resíduos ligados mais fortemente à matriz do solo) variaram entre 17 e 8%, e a partir dos 9 DAA foram sempre maiores que os ^{14}C -resíduos extraíveis em água. Os ^{14}C -RNE foram menores que 0,08% no solo cultivado. Estes resultados sugerem que os microrganismos presentes no solo cultivado foram capazes de mineralizar, embora em menor extensão, resíduos provenientes de frações menos acessíveis (ASE). Além disso, a proporção de ^{14}C -resíduos extraídos durante todo o período de incubação foi inversamente proporcional à mineralização da ^{14}C -ATZ (Figura 11A), com decréscimo gradual em ambos os extratos (em água e ASE).

Diferentemente, no solo nativo (Microcosmo 2) os ^{14}C -resíduos extraíveis em água apresentaram um decréscimo mais lento (de 62 a 20%) e um aumento concomitante dos ^{14}C -resíduos extraíveis por ASE (15-51%) durante o período de incubação (Figura 12B). Os ^{14}C -RNE também foram menores que 0,08% neste microcosmo. Estes resultados indicam que a baixa taxa de mineralização da ^{14}C -ATZ neste solo ocorreu principalmente à custa da fração solúvel em água. E, também sugerem que a ATZ foi transferida ao longo do tempo para um compartimento menos disponível para a degradação. O maior tempo de contato entre os compostos químicos e o solo resulta em uma associação mais forte entre estes e diminui a biodisponibilidade (Gevão, 2003).

A variação nos ^{14}C -resíduos extraíveis em água e por ASE no solo cultivado sem palha (Microcosmo 4) (Figura 12D) mostrou um padrão semelhante ao observado no Microcosmo 1 (Figura 12A), embora os valores sejam mais elevados até os 16 DAA. Além disso, o solo do Microcosmo 4 apresentou uma maior quantidade de ^{14}C -RNE (4%), evidenciando um processo de envelhecimento (*aging*) dos ^{14}C -resíduos de ATZ. Estas pequenas diferenças podem estar relacionadas ao método de aplicação da ^{14}C -ATZ: no Microcosmo 4, a aplicação do herbicida sobre a superfície do solo, sem revolvimento em agitador, pode ter diminuído seu contato direto com a microflora adaptada e resultado na retenção do herbicida em compartimentos menos acessíveis.

Os ^{14}C -resíduos extraíveis em água no solo cultivado com palha (Microcosmo 3) foram relativamente baixos (23%) logo após a aplicação do herbicida (0 DAA) (Figura 12C), contrastando com os 80% extraídos no Microcosmo 4 (Figura 12D). Além disso, os ^{14}C -resíduos extraíveis por ASE e RNE foram menores no Microcosmo 3 (4 e 2%, respectivamente). A partir dos 9 DAA até ao final do período de incubação, os ^{14}C -resíduos extraíveis em água diminuíram (de 11 a 8%) e por ASE aumentaram (de 9 a 11%) no solo cultivado coberto com palha. Os ^{14}C -RNE aumentaram com o tempo, atingindo valores comparáveis ao Microcosmo 4. A soma dos ^{14}C -resíduos nos três compartimentos (água+ASE+RNE) no solo do Microcosmo 3 aos 0 e 85 DAA foi semelhante (cerca de 28 e 26%, respectivamente). Estes resultados indicam uma redistribuição da ^{14}C -ATZ do compartimento mais acessível para compartimentos menos acessíveis durante o período de incubação.

Na palha do Microcosmo 3 os ^{14}C -resíduos extraíveis em água diminuíram de 32% no dia da aplicação para 7% aos 85 DAA, enquanto os ^{14}C -RNEA mantiveram relativamente constantes, variando entre 36-43% (Figura 13). Comparativamente, no Microcosmo 5, onde palha foi incubada na ausência de solo, os ^{14}C -resíduos extraíveis em água diminuíram e os ^{14}C -RNEA aumentaram ao longo do tempo de incubação (Figura 13). Além disso, a soma, aos 0 e 85 DAA, dos ^{14}C -resíduos nos dois compartimentos (água+RNEA) no Microcosmo 5 foi em torno de 100% da ^{14}C -ATZ aplicada, demonstrando a baixa mineralização de ^{14}C -ATZ na palha e o processo de

envelhecimento (*aging*) do herbicida que migrou para uma forma mais fortemente ligada.

Frente aos resultados demonstrados nas Figuras 11A, 12C e 13, infere-se que a mineralização de ^{14}C -ATZ no Microcosmo 3 ocorreu devido à fração ^{14}C -extraível em água na palha que foi gradualmente transferida para o solo e degradada pela microflora adaptada. A menor degradação de ^{14}C -ATZ no Microcosmo 3, comparativamente ao solo descoberto (Microcosmo 1), indica que o herbicida foi fortemente retido na palha e pouca remobilização para o solo ocorreu durante o período de incubação. Entretanto, a lixiviação de ATZ da palha após chuva de 20 mm foi observada a campo por Fornarolli et al. (1998). O maior volume de água (20 mm) nos estudos de Fornarolli et al. (1998) em comparação à quantidade de água (aproximadamente 4 mL) adicionada em cada microcosmo para atingir 50% de umidade do solo possibilitou a lixiviação de ATZ da palha para o solo. Além disso, deve-se levar em consideração o efeito da incorporação da palha ao solo na disponibilidade da ATZ. A palha contida em cada microcosmo do presente estudo estava na superfície do solo, caso a palha tivesse sido incorporada ao solo os microrganismos teriam mais acesso a este compartimento e, possivelmente, resultaria em uma maior degradação de ATZ.

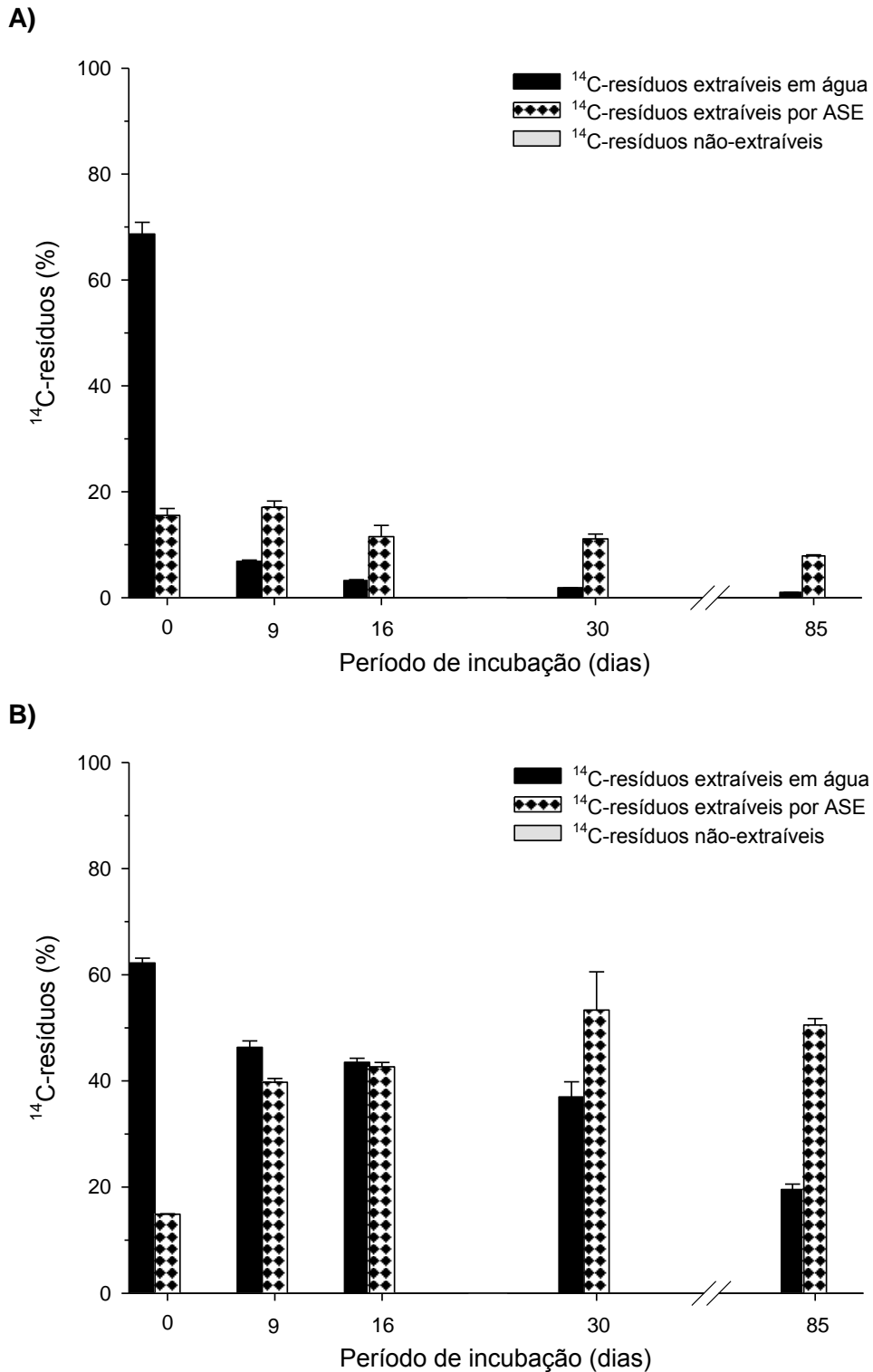


FIGURA 12. ^{14}C -resíduos extraíveis em água e por ASE e ^{14}C -resíduos não-extraíveis de um Argissolo Vermelho cultivado (Microcosmo 1) (A), nativo (Microcosmo 2) (B), cultivado com palha de cobertura (Microcosmo 3) (C), cultivado sem palha de cobertura (Microcosmo 4) (D). (As barras representam a média de três repetições. As barras de erro indicam o desvio padrão da média e não aparecem quando menores do que o símbolo para a média). Continuação...

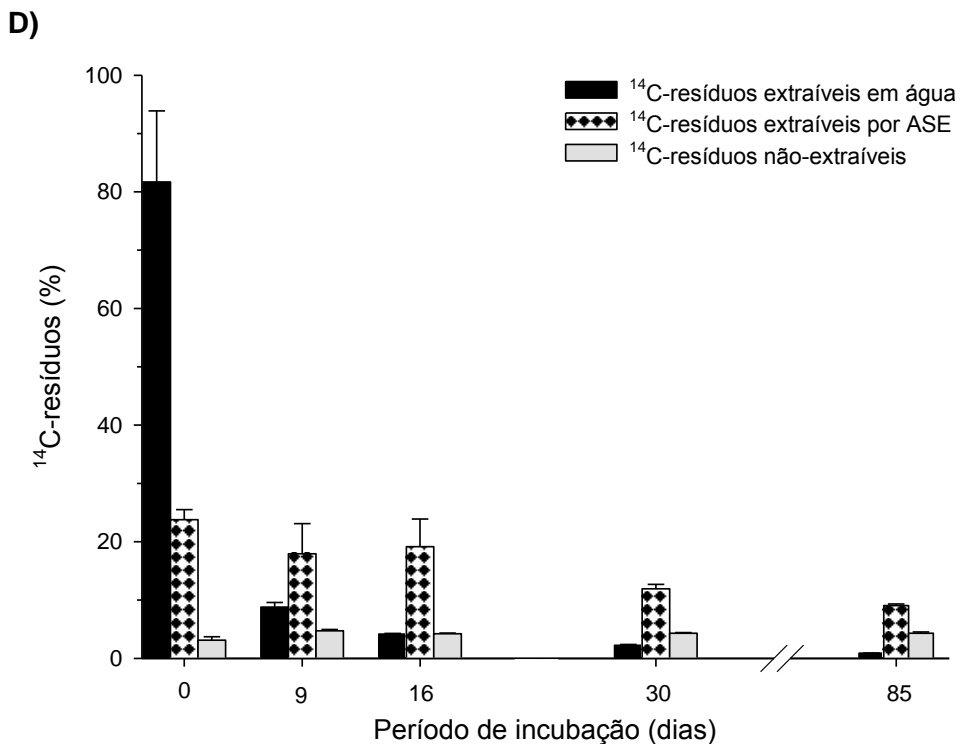
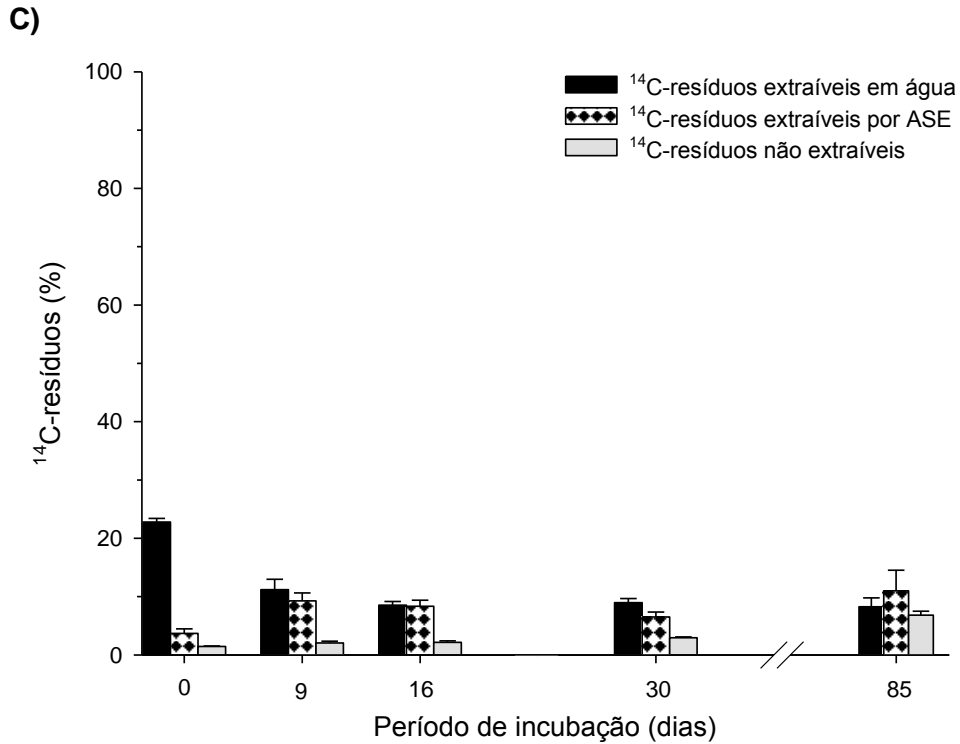


FIGURA 12. ^{14}C -resíduos extraíveis em água e por ASE e ^{14}C -resíduos não-extraíveis de um Argissolo Vermelho cultivado (Microcosmo 1) (A), nativo (Microcosmo 2) (B), cultivado com palha de cobertura (Microcosmo 3) (C), cultivado sem palha de cobertura (Microcosmo 4) (D). (As barras representam a média de três repetições. As barras de erro indicam o desvio padrão da média e não aparecem quando menores do que o símbolo para a média).

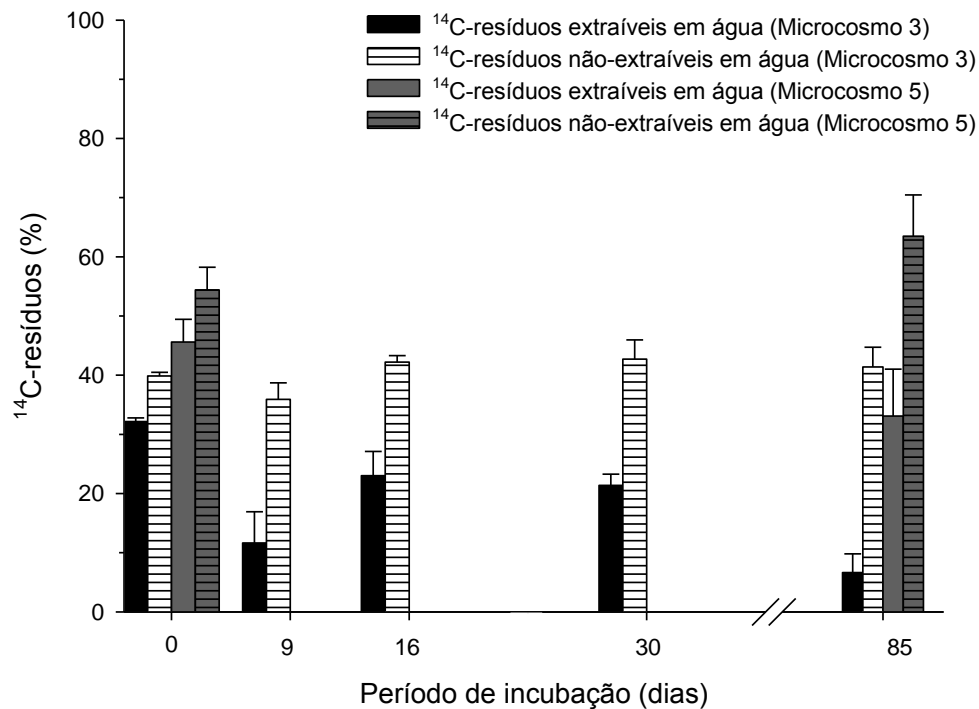


FIGURA 13. ¹⁴C-resíduos extraíveis em água e não-extraíveis em água da palha de cobertura sob Argissolo Vermelho cultivado (Microcosmo 3) e da palha (Microcosmo 5). (As barras representam a média de três repetições. As barras de erro indicam o desvio padrão da média e não aparecem quando menores do que o símbolo para a média).

6.3.1.3 Atrazina extraível e seus metabólitos

A ATZ e seus metabólitos extraíveis (em água + por ASE) foram discutidos como um todo. Apenas dois metabólitos foram detectados, HA e DEA (Tabela 2), sendo HA detectado em maior quantidade (Figura 14).

No solo cultivado (Microcosmos 1, 3 e 4), a proporção de ATZ foi elevada logo após a aplicação do herbicida (80 a 94%) e diminuiu ao longo do período de incubação, atingindo valores entre 20 e 2% aos 85 DAA (Figuras 14A, 14C e 14D). Esta redução foi acompanhada por um aumento da proporção dos metabólitos extraíveis, principalmente HA, que atingiu de 80 a 95% no final do período de incubação. Este padrão indica a presença de comunidades microbianas capazes de degradar ATZ em derivados hidroxilados e em metabólitos dealquilados. Resultados semelhantes de degradação de ¹⁴C-ATZ, principalmente na formação de HA, foram observados em solos brasileiros (Nakagawa e Andrea, 2000; Peixoto et al 2000; Martinazzo et al, 2010).

No solo nativo (Microcosmo 2) a metabolização de ATZ foi comparativamente baixa, variou de 78 para 64%, e a proporção de HA aumentou de 22 para 32% ao longo do período de incubação (Figura 14B). Embora o solo nativo tenha apresentado menor biomineralização e metabolização, o fato de a ATZ ter sido degradada é um indicativo da presença de microrganismos ativos, que se deve, provavelmente, à contaminação de ATZ e seus metabólitos ou à translocação dos microrganismos degradadores de ATZ das áreas cultivadas (Kellogg e Griffin, 2006; Martinazzo et al., 2010).

Os extratos da palha do Microcosmo 3 apresentaram elevada proporção de ATZ até os 30 DAA (>85%), mas diminuiu drasticamente a partir desta data até os 85 DAA (12%) (Figura 14C). Ao final do período de incubação, as proporções de HA e DEA foram 80 e 10% dos metabólitos extraíveis, respectivamente. O mesmo padrão foi observado na palha do Microcosmo 5 (Figura 14E).

A hidrólise de ATZ resulta em HA por degradação química ou biológica, sendo este o metabólito de ATZ mais encontrado no ambiente e com maior retenção no solo (Prata et al., 2003). A degradação abiótica de ATZ pode ter sido o principal mecanismo responsável pela formação de metabólitos na palha, uma vez que a mineralização de ^{14}C -ATZ na palha (Microcosmo 5) foi muito baixa (2,7%). Contrariamente, a formação de HA observada neste estudo pode ter sido ocasionada pela presença de fungos, uma vez que a presença destes microrganismos foi visualmente observada sobre a palha nos Microcosmos 5 e 6. A biodegradação de ATZ é feita principalmente por bactérias, mas a biodegradação deste herbicida por algumas espécies de fungos é relatada na literatura. Neste contexto, experimentos de incubação com *Phanerochaete chrysosporium* e *Rhizobium* sp. observaram um rápido consumo de ATZ, acúmulo de HA e ausência de mineralização do ^{14}C do anel radiomarcado.

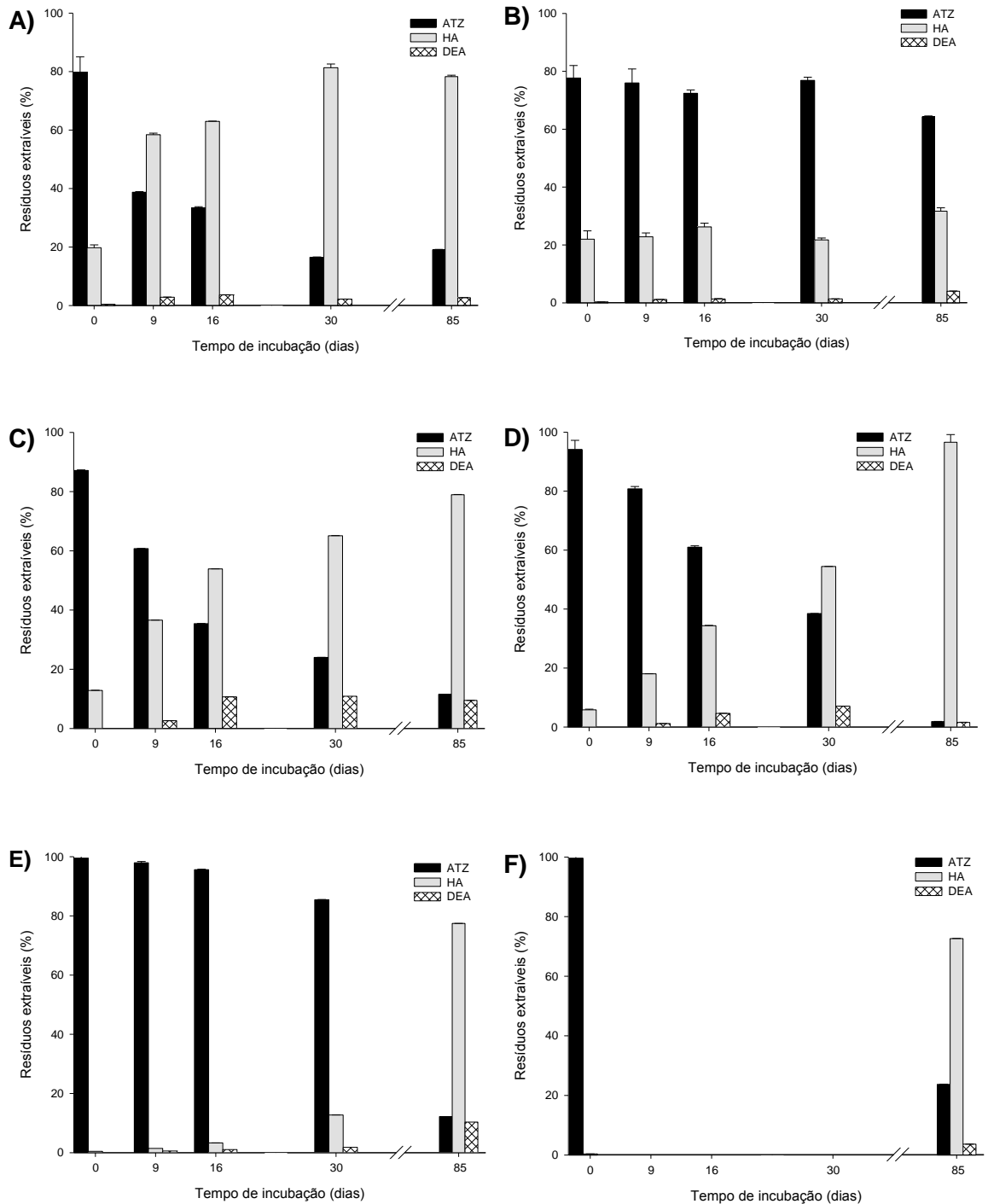


FIGURA 14. Proporção de ATZ e de seus metabólitos extraíveis de um Argissolo Vermelho cultivado (Microcosmo 1) (A), nativo (Microcosmo 2) (B), cultivado com palha de cobertura (Microcosmo 3) (C), cultivado sem palha de cobertura (Microcosmo 4) (D), palha de cobertura sob solo cultivado (Microcosmo 3) (E), somente palha (Microcosmo 5) (F). (As barras representam a média de três repetições. As barras de erro indicam o desvio padrão da média e não aparecem quando menores do que o símbolo para a média).

6.3.2 Sub-Estudo 2 – Efeito das formulações de liberação controlada na degradação de ^{14}C -atrazina

6.3.2.1 Mineralização de ^{14}C -atrazina

No solo cultivado a mineralização de ^{14}C -ATZ aplicada nas formulações ATZ-XG e ATZ-AMS (Microcosmos 6 e 8, respectivamente) foi de 93 e 98% ao final do período de incubação (Figura 16A), sendo que aos 12 DAA, restava apenas 23-25% da radioatividade aplicada. O pico máximo de mineralização foi aos 5 DAA, correspondendo à mineralização de 28 e 31% de ^{14}C -ATZ adicionada dia^{-1} nos Microcosmos 6 e 8, respectivamente (Figura 16B). A partir daí, a mineralização diminuiu, atingindo valores menores que 1% ^{14}C -ATZ dia^{-1} aos 63 DAA e manteve-se relativamente constante até o final do experimento. Diferentemente, no solo nativo a mineralização de ^{14}C -ATZ aplicada nas formulações ATZ-XG e ATZ-AMS (Microcosmos 7 e 9, respectivamente) totalizou apenas 4 e 6% (Figura 16A). O pico de mineralização no solo nativo (Microcosmos 7 e 9) não ultrapassou 1% da ^{14}C -ATZ adicionada dia^{-1} (Figura 16B). Comparando-se a mineralização nos solos cultivado (86%) e nativo (10%) que receberam aplicação de ATZ em solução (Microcosmos 1 e 2) (Figura 12A), as duas formulações de liberação controlada (ATZ-XG e ATZ-AMS) apresentaram maior mineralização no solo cultivado, porém reduziram de 4-6% a mineralização no solo nativo.

A biodisponibilidade de ^{14}C -ATZ carregada em formulações de organo-argila foi estudada por Trigo et al. (2010) em solo inoculado com *Pseudomonas* sp. strain ADP, em comparação à ATZ aplicada em solução. Os autores não observaram diferença na mineralização em função do tipo de formulação. Aos 6 DAA, as bactérias mineralizaram de 46-56% da ^{14}C -ATZ aplicada e a produção de $^{14}\text{CO}_2$ acumulada ao final das duas semanas de incubação totalizou 62 a 66%, independente da formulação.

Aos dados de mineralização do solo cultivado com aplicação ^{14}C -ATZ-XG e ^{14}C -ATZ-AMS foi aplicado o modelo de cinética de degradação de primeira ordem, e os valores de $t_{1/2}$ estimados foram de 25 e 22 dias, respectivamente (Microcosmos 6 e 8). Aos dados do solo nativo com aplicação ^{14}C -ATZ-XG e ^{14}C -ATZ-AMS foi aplicado o modelo de cinética de degradação

de ordem zero, e os valores de $t_{1/2}$ estimados foram de 963 e 717 dias (Microcosmos 7 e 9, respectivamente). Estes resultados indicam o aumento da persistência do herbicida quando aplicado nas formulações ATZ-XG e ATZ-AMS pela estimativa da meia-vida, apesar destas formulações não terem reduzido a mineralização de ATZ.

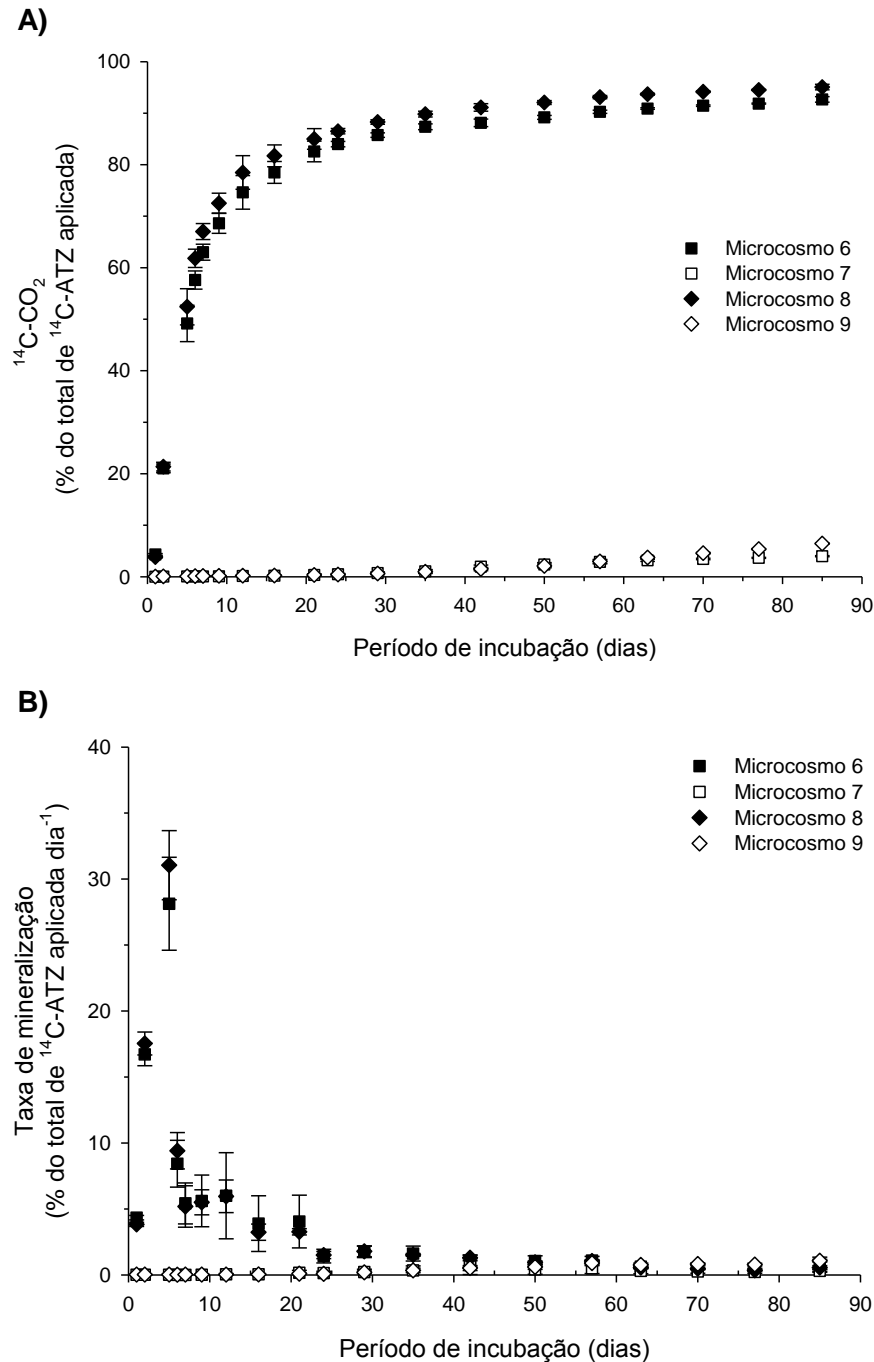


FIGURA 15. Cinética (A) e taxa de mineralização (B) de ^{14}C -ATZ durante a incubação de um Argissolo Vermelho cultivado com aplicação de ATZ-XG (Microcosmo 6), nativo com aplicação de ATZ-XG (Microcosmo 7), cultivado com aplicação de ATZ-AMS (Microcosmo 8), nativo com aplicação de ATZ-AMS (Microcosmo 9). (Os símbolos do gráfico representam a média de três repetições e as barras de erro indicam o desvio padrão da média e não aparecem quando menores do que o símbolo para a média).

6.3.2.2 Resíduos extraíveis e não-extraíveis de ^{14}C -atrazina

No solo cultivado com aplicação de ATZ-XG e ATZ-AMS (Microcosmos 6 e 8), os ^{14}C -resíduos extraíveis em água diminuíram rapidamente ao longo do período de incubação, de 76% aos 0 DAA para ~2% aos 85 DAA (Figuras 17A e 17C). Observou-se também uma diminuição concomitante dos ^{14}C -resíduos extraíveis por ASE (17-5%), enquanto os ^{14}C -RNE mantiveram-se constantes (em torno de 12 e 4%, respectivamente). A rápida degradação dos ^{14}C -resíduos extraíveis em água e mineralização nos Microcosmos 6 e 8 foi semelhante também ao observado no solo cultivado com aplicação de ^{14}C -ATZ em solução (Microcosmo 1) (Figuras 12A e 13A).

Diferentemente, no solo nativo com aplicação de ATZ-XG e ATZ-AMS (Microcosmos 7 e 9), os ^{14}C -resíduos extraíveis em água diminuíram de 77-81% aos 0 DAA para 27-35% aos 85 DAA, respectivamente (Figuras 17B e 17D). Já os ^{14}C -resíduos extraíveis por ASE aumentaram de 11 e 17% para 46 e 42%, e os ^{14}C -RNE variaram em torno de 14 e 5% e atingiram 20 e 13% nos Microcosmos 7 e 9, respectivamente, durante o período de incubação. Esses resultados demonstram a maior transferência de ATZ para um compartimento do solo menos disponível para a sua degradação, principalmente na fração RNE, em comparação aos solos com aplicação do herbicida em solução (Microcosmos 1 e 2).

Em estudo com aplicação de ATZ carregada em organo-argila, Trigo et al. (2010) também não observaram diferenças nas quantidades das frações extraíveis em função do tipo de formulação. Nesse estudo, a fração ^{14}C -ATZ extraível foi em média 96% e de resíduos não extraíveis foi <4%. Os ^{14}C -resíduos extraíveis em água (fração prontamente disponível) e em metanol (fração não prontamente disponível) variaram entre 53-59% e 39-46%, respectivamente. Ao final das duas semanas de incubação, os microrganismos inoculados (*Pseudomonas* sp. ADP) mineralizaram o equivalente a 80 e 70% da ^{14}C -ATZ prontamente disponível e não prontamente disponível, respectivamente. Os RNE aumentaram de <4% ao 0 DAA para ~17% ao final do período de incubação. Os autores relacionaram a maior disponibilidade de ATZ nas formulações organo-argila em níveis de pH básico (7,7) do solo.

Portanto, estudos com aplicação de formulações de liberação controlada devem também avaliar, além do efeito do pH na liberação do herbicida, a estabilidade destas matrizes no solo para determinar como os processos de degradação química e biológica nas matrizes afetam a disponibilidade de ATZ.

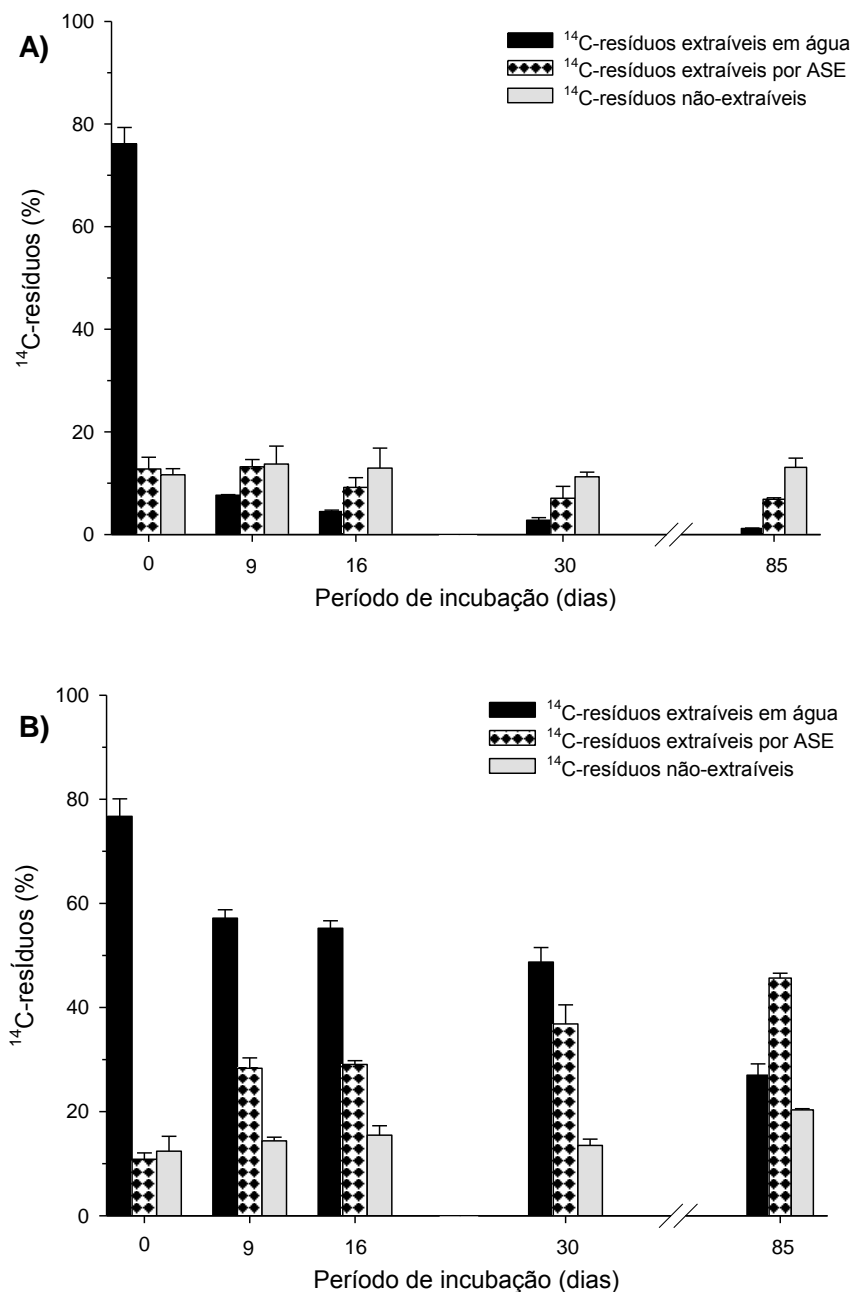


FIGURA 16. ¹⁴C-resíduos extraíveis em água e por ASE e ¹⁴C-resíduos não-extraíveis de um Argissolo Vermelho cultivado com aplicação de ATZ-XG (Microcosmo 6) (A), nativo com aplicação de ATZ-XG (Microcosmo 7) (B), cultivado com aplicação de ATZ-AMS (Microcosmo 8) (C), nativo com aplicação de ATZ-AMS (Microcosmo 9) (D). (As barras representam a média de três repetições. As barras de erro indicam o desvio padrão da média e não aparecem quando menores do que o símbolo para a média). Continuação...

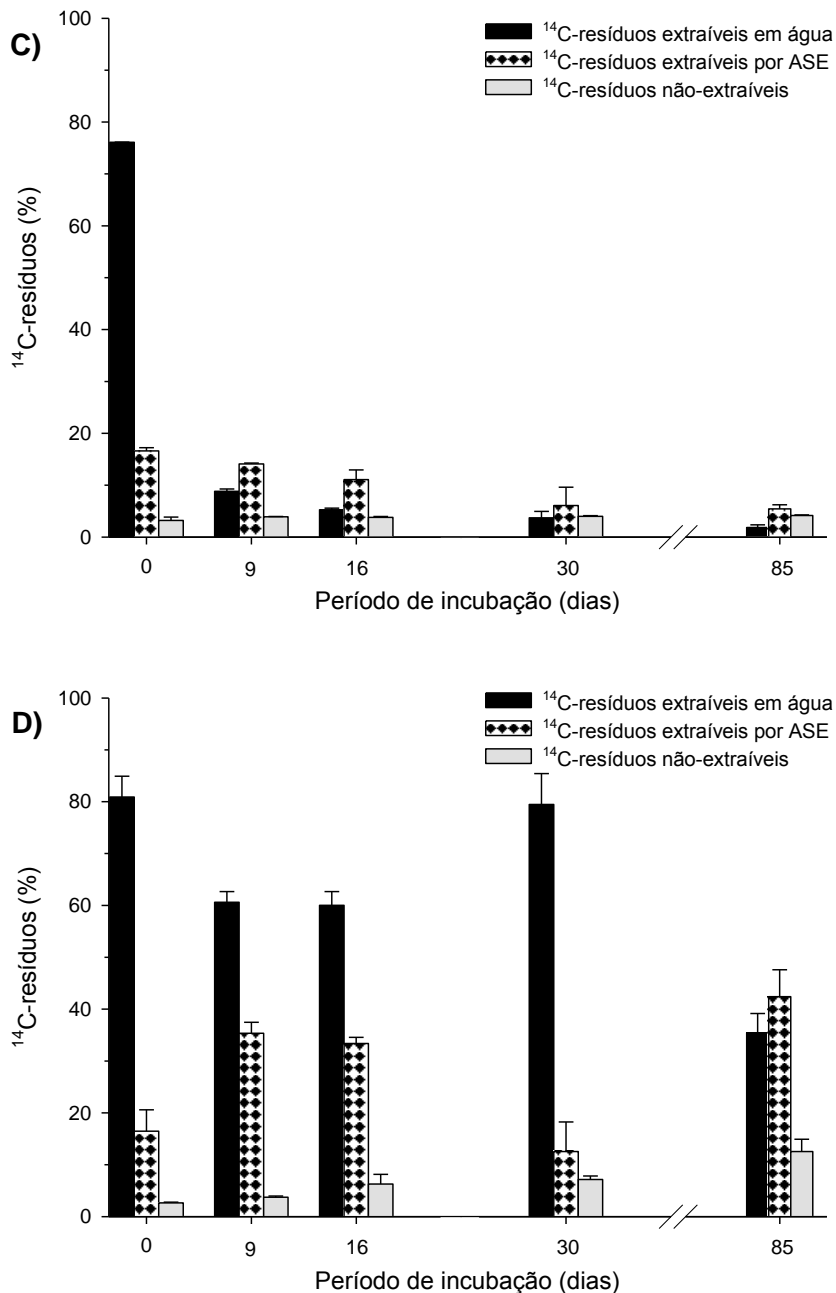


FIGURA 16. ¹⁴C-resíduos extraíveis em água e por ASE e ¹⁴C-resíduos não-extraíveis de um Argissolo Vermelho cultivado com aplicação de ATZ-XG (Microcosmo 6) (A), nativo com aplicação de ATZ-XG (Microcosmo 7) (B), cultivado com aplicação de ATZ-AMS (Microcosmo 8) (C), nativo com aplicação de ATZ-AMS (Microcosmo 9) (D). (As barras representam a média de três repetições. As barras de erro indicam o desvio padrão da média e não aparecem quando menores do que o símbolo para a média).

6.3.2.3 Atrazina extraível e seus metabólitos

No solo cultivado com aplicação de ATZ-XG e ATZ-AMS (Microcosmos 6 e 8) a proporção de ATZ diminuiu rapidamente, de 89 e 87%

aos 0 DAA atingindo 6 e 1% aos 85 DAA (Figuras 17A e 17C). A partir dos 9 DAA a proporção de HA já era superior ao composto parental e atingiu 98% ao final do período de incubação.

No solo nativo com aplicação de ATZ-XG e ATZ-AMS (Microcosmos 7 e 9) a metabolização de ATZ foi comparativamente mais baixa, atingindo valores entre 27 e 15%, respectivamente (Figuras 17B e 17D). Diferentemente do observado no solo nativo com aplicação de ATZ em solução (Microcosmo 2) (Figura 14B), a proporção de HA nos Microcosmos 7 e 9 aumentou ligeiramente ao longo do período de incubação (de 4 e 5% aos 0 DAA para 71 e 79%, respectivamente) (Figuras 17B e 17D).

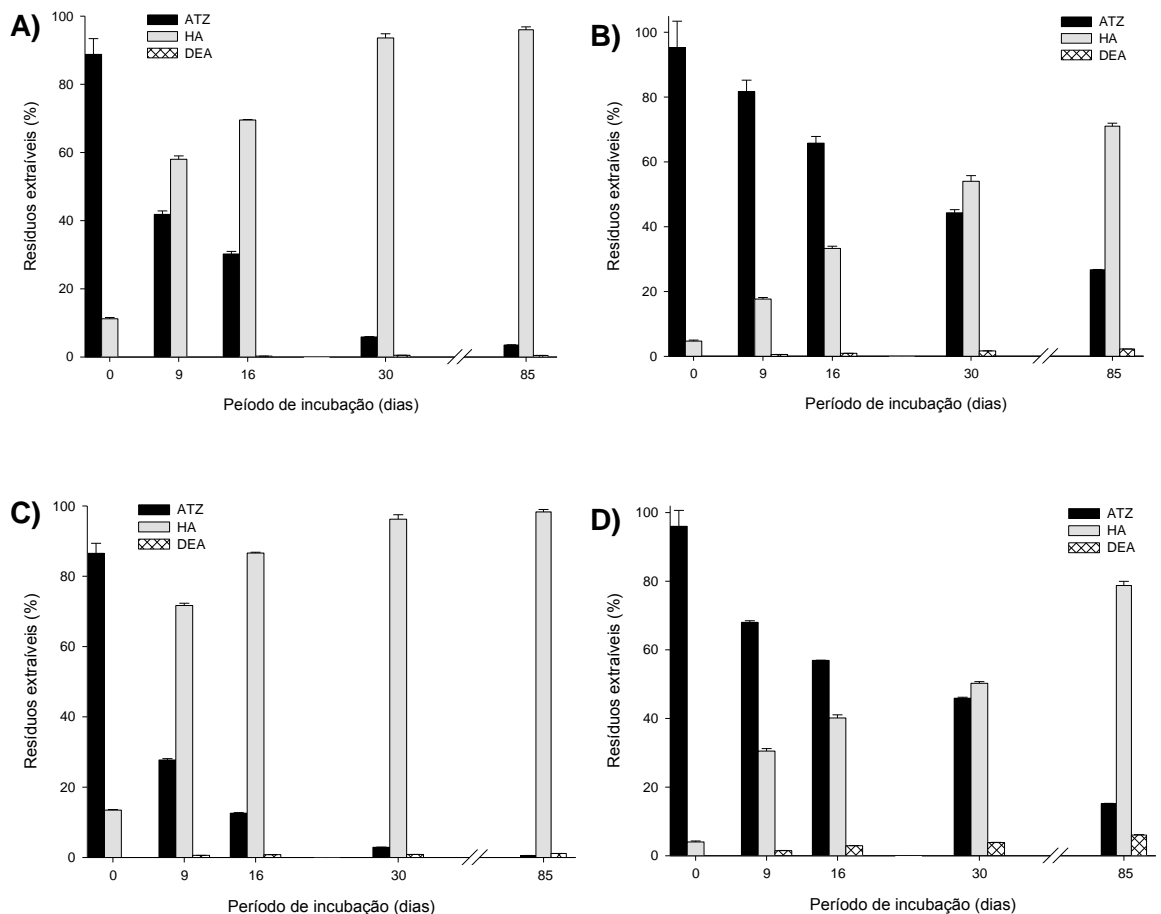


FIGURA 17. Proporção de ATZ e de seus metabólitos extraíveis de um Argissolo Vermelho cultivado com aplicação de ATZ-XG (Microcosmo 6) (A), nativo com aplicação de ATZ-XG (Microcosmo 7) (B), cultivado com aplicação de ATZ-AMS (Microcosmo 8) (C), nativo com aplicação de ATZ-AMS (Microcosmo 9) (D). (As barras representam a média de três repetições. As barras de erro indicam o desvio padrão da média e não aparecem quando menores do que o símbolo para a média).

6.4 Conclusões

O solo cultivado apresentou rápida mineralização e metabolização de ATZ, em comparação ao solo nativo, indicando a adaptação da microflora.

A palha de cobertura, parte integrante do SPD, atua como retentor de ATZ ao impedir o contato imediato do herbicida com o solo e ao sorvê-lo em sua estrutura. Esses fenômenos reduzem a mineralização total da ATZ do ambiente e promovem acúmulo do metabólito HA na palha, portanto reduzindo também seu efeito residual. No entanto, aos 30 DAA, período de controle recomendado, a palha retém o composto na sua fórmula original o que pode representar um reservatório de ATZ no campo.

As duas formulações de liberação controlada (XG e AMS) não reduziram a mineralização total de ATZ em 85 dias, porém houve um prolongamento da persistência de ATZ no solo e aumento na formação de HA e de RNE, em comparação à formulação em solução. Esse fato pode ser relacionado com a liberação gradual do composto para o meio. No que diz respeito ao tipo de formulação, a AMS parece ter favorecido a retenção de ATZ no solo em uma forma mais móvel (extraível em água e por ASE) em comparação ao XG. A maior disponibilidade de ATZ na AMS pode ser devido à sua maior concentração na superfície externa do carreador, enquanto no XG a ATZ deve estar mais concentrada nos poros da matriz.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O fenômeno da degradação acelerada de pesticidas tem sido recentemente relatado no Brasil, apesar de já ter sido observado em solos de diversos países desde a década de 90. No cenário brasileiro estudos são, todavia, necessários para diagnosticar a ocorrência desse fenômeno em solos agrícolas representativos e com outros tipos de pesticidas nas condições ambientais brasileiras.

No presente estudo, um Argissolo que recebeu repetidas aplicações de atrazina apresentou elevado potencial de mineralização e menor persistência do herbicida quando comparado ao solo sem histórico de aplicação. E esse comportamento foi observado tanto com a aplicação da atrazina comercial como nas formulações de liberação controlada. A baixa mineralização observada no solo nativo sugere que o nível de adaptação das comunidades microbianas para a clivagem do anel triazínico é baixo, porém esses microrganismos foram capazes de dissipar a atrazina através de sua degradação parcial em hidroxiatrazina, sendo este o metabólito detectado em maior concentração.

A dissipação de herbicidas em sistemas plantio direto, especialmente no que se refere à sua retenção na palha de cobertura, também necessita de maiores investigações. A palha de cobertura impede, em parte, o acesso da atrazina ao solo, reduzindo sua mineralização e alterando sua dinâmica no ambiente.

Neste estudo, as formulações de liberação controlada prolongaram a persistência de atrazina e sua ocorrência em compartimentos extraíveis do solo e da palha. Isso se deve à liberação gradual o herbicida que fica menos disponível para a rápida degradação após sua aplicação.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABATE, G.; MASINI, J. C. Sorption of atrazine, propazine, deethylatrazine, deisopropylatrazine and hydroxyatrazine onto organovermiculite. **Journal of Brazilian Chemical Society**, Campinas, v. 16, n. 5, p. 936-943, 2005.

ABDELHAFID, R.; HOUOT, S.; BARRIUSO, E. Dependence of atrazine degradation on C and N availability in adapted and non-adapted soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 32, p. 389-401, 2000.

ACKERMAN, F. The economics of atrazine. **International Journal of Occupational and Environmental Health**, Chambersburg, v. 13, p. 441-449, 2007.

AERTS, C. A. et al. Potential of amorphous microporous silica for ibuprofen controlled release. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 397, p. 84-91, 2010.

AERTS, C. A. et al. Tunability of pore diameter and particle size of amorphous microporous silica for diffusive controlled release of drug compounds. **Journal of Physical Chemistry C**, Washington, v. 111, p. 13404-13409, 2007.

AGROFIT – Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://agrofit.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 02 abr. 2013.

AIROLDI, C.; PRADO, G. S. A. The inhibitory biodegradation effects of the pesticide 2,4-D when chemically anchored on silica gel. **Thermochimica Acta**, Amsterdam, v. 394, p. 163-169, 2002.

AKELAH, A.; REHAB, A.; EL-GAMAL, M. M. Preparation and applications of controlled release systems based on intercalated atrazine salt and polymeric atrazine salt onto montmorillonite clay. **Materials Science and Engineering**, Lausanne, v. 28, p. 1123-1131, 2008.

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

ARBELI, Z.; FUENTES, C. L. Accelerated biodegradation of pesticides: an overview of the phenomenon, its basis and possible solutions; and a discussion

on the tropical dimension. **Crop Protection**, Guildford, v. 26, n. 12, p. 1733–1746, 2007.

ARIAS-ESTÉVEZ, M. et al. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Oxford, v. 123, n. 4, p. 247–260, 2008.

ARRAES, A. A.; ARAÚJO, J. C.; BARRETO, F.M. S. Use of atrazine and groundwater availability in Brazil. In: WORLD WATER CONGRESS, 13., 2008, Montpellier, France. **Proceedings...** Halfway House, South Africa: International Water Resources Association, 2008. p. 1-4.

ÁVILA, L. G. et al. Formulações de atrazina em xerogéis: síntese e caracterização. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 7, p. 727-1733, 2009.

AZANIA, A. A. P. M. et al. Interferência da palha de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) na emergência de espécies de plantas daninhas da família Convolvulaceae. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 20, n. 2, p. 207-212, 2002.

BALBINOT Jr., A. A.; FLECK, N. G. Manejo de plantas daninhas na cultura de milho em função do arranjo espacial de plantas e características dos genótipos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 6, p. 245-252, 2004.

BARBASH, J. E. et al. Major herbicides in ground water: results from the national water-quality assessment. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 30, n. 3, p. 831–845, 2001.

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

BENVENUTTI, E. V.; MORO, C. C.; COSTA, T. M. H. Materiais híbridos à base de sílica obtidos pelo método sol-gel. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 7, p. 1926-1933, 2009.

BOUQUARD, C. et al. Dechlorination of atrazine by a *Rhizobium* sp. Isolate. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 63, p. 862–866, 1997.

BURAUER, P.; BAßMANN, F. Soils as filter and buffer for pesticides experimental concepts to understand soil functions. **Environmental Pollution**, Barking, v. 133, p. 11-16, 2005.

CAMPER, N. D. **Research methods in weed science**. 3rd ed. Champaign: Southern Weed Science Society, 1986. p. 29-46.

CARVALHO, F. T. et al. Manejo químico das plantas daninhas *Euphorbia heterophylla* e *Bidens pilosa* em sistema de plantio direto da cultura de soja. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 20, n. 1, p. 145-150, 2002.

CHRISTOFFOLETI, P. J. **Aspectos de resistência de plantas daninhas a**

herbicidas. 3. ed. Piracicaba: Associação Brasileira de Ação à Resistência de Plantas aos Herbicidas - HRAC-BR, 2008. 120 p.

COMPÊNDIO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS. São Paulo: Departamento de Defesa e Inspeção Vegetal, 1999. 672 p.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira**: grãos: décimo segundo levantamento, setembro 2012. Brasília: Conab, 2011. Disponível em: <<http://www.conab.org.br>>. Acesso em: 11 jan. 2012.

CONSTANTIN, J. et al. Influência do Glyphosate na Dessecação de Capim-Braquiária e sobre o desenvolvimento inicial da Cultura do Milho. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 26, n. 3, p. 627-636, 2008.

COQUET, Y. Sorption of Pesticides atrazine, isoproturon, and metamitron in the vadose zone. **Vadose Zone Journal**, Madison, v. 2, n. 1, p. 40-51, 2003.

DELLAMATRICE, P. M.; MONTEIRO, R. T. R. Isolation of diuron-degrading bacteria from treated soil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 47, n. 6, p. 99-100, 2004.

DICK, D. P. et al. Matéria orgânica em quatro tipos de solos brasileiros: composição química e sorção de atrazina. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 14-19, 2010.

DINELLI, G. et al. Comparison of the Persistence of Atrazine and Metolachlor under Field and Laboratory Conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, p. 3037-3043, 2000.

GONZÁLEZ-PRADAS, E. et al. Mobility of imidacloprid from alginate-bentonite controlled-release formulations in greenhouse soils. **Pesticide Science**, Oxford, v. 55, p. 1109-1115, 1999.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 2006. 306 p.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Milho e Sorgo. **Cultivo do milho**. Sete Lagoas, 2011. Disponível em: <<http://www.embrapa.br>>. Acesso em: 16 fev. 2013.

EPA – United States Environmental Protection Agency. **National pesticide survey**: atrazine. [S.l.]: Office of Water/Office of Pesticides and Toxic Substances, 1990.

EUROPEAN COMMISSION. Council directive 98/83/EC of the quality of water intended for human consumption. **Official Journal of the European Communities**, Luxembourg, L 330, p. 32-54, 05 dez. 1998.

EUROPEAN COMMISSION. Council directive 2004/248/EC of the non-inclusion of atrazine in Annex I to Council Directive 91/414/EEC and the withdrawal of authorisations for plant protection products containing this active substance. **Official Journal of the European Union Commission**, Luxembourg, 10 mar. 2004.

FALAIZE, S.; RADIN, S.; DUCHEYNE, P. In vitro behavior of silica-based xerogels intended as controlled release carriers. **Journal of the American Ceramic Society**, Westerville, v. 82, p. 969–976, 1999.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Production**. Roma, 2010. Disponível em: <<http://www.faostat.fao.org>>. Acesso em: 16 fev. 2013.

FERNANDEZ-PÉREZ, M. et al. Use of activated bentonites in controlled-release formulations of atrazine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, p. 3888-3893, 2004.

FERNANDEZ-PÉREZ, M. et al. Mobility of atrazine from alginate-bentonite controlled release formulations in layered soil. **Chemosphere**, Oxford, v. 43, p. 347-353, 2001.

FERREIRA, D. F. **Sistema de análise de variância (Sisvar)**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2000.

FERRI, M. V. W.; VIDAL, R. A. Persistência do herbicida acetochlor em função de sistemas de preparo e cobertura com palha. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 3, p. 399-404, 2003.

FERRI, M. V. W.; VIDAL, R. A. Persistência do acetochlor em solo sob semeadura direta e convencional. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 20, n. 1, p. 133-139, 2002.

FERRI, M. V. W.; RIZZARDI, M. A. Destino dos herbicidas no ambiente. In: VIDAL, R. A.; MEROTTO Jr., A. **Herbicidologia**. Porto Alegre : Ed. Autor, 2001. p. 87-99.

FLECK, N. G. ; VIDAL, R. A. Inibidores do fotossistema 2. In: VIDAL, R. A.; MEROTTO Jr., A. (Ed.). **Herbicidologia**. Porto Alegre : Ed. Autor, 2001. p. 100-112.

FOCUS - Forum for the Co-Ordination of Pesticide Fate Models and Their Use. **Guidance document on estimating persistence and degradation kinetics from environmental fate studies on pesticides in EU registration**. 2006. 434 p. Disponível em: <<http://focus.jrc.ec.europa.eu>>. Acesso em: 16 fev. 2013.

FORNAROLLI, D. A. et al. Influência da cobertura morta no comportamento do herbicida atrazine. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 16, n. 2, p. 97-107, 1998.

FUHR, F. et al. **Pesticide-bound residues in soil**. Weinheim: Wiley and VCH GmbH, 1996. 176 p.

GALLI, J. B. A.; MONTEZUMA, C. M. **Alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na agricultura**. Santo André: ACADCOM, 2005. 66 p.

GEVÃO, B. et al. Nonextractable pesticide residues in soil. **Environmental Science and Technology**, Easton, p. 138-144, Apr. 2003.

GIUSI, G. et al. The endocrine disruptor atrazine accounts for a dimorphic somatostatinergic neuronal expression pattern in mice. **Toxicological Sciences**, Orlando, v. 89, n. 1, p. 257–264, 2006.

GOLDREICH, O.; GOLDWASSER, Y.; MISHAEL, Y. G. Effect of soil wetting and drying cycles on metolachlor fate in soil applied as a commercial or controlled-release formulation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 59, n. 2, p. 645-653, 2011.

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

GONZÁLEZ-PRADAS, E. et al. Mobility of imidacloprid from alginate-bentonite controlled-release formulations in greenhouse soils. **Pesticide Science**, Oxford, v. 55, p. 1109-1115, 1999.

GRAYMORE, M.; STAGNITTI, F.; ALLINSON, G. Impacts of atrazine in aquatic ecosystems. **Environmental International**, New York, v. 26, p. 483-495, 2001.

GIDDINS, J. M. et al. **Atrazine in North American surface waters: a probabilistic aquatic ecological risk assessment**. Pensacola: SETAC, 2005. 432 p.

GUERIN, F. W.; BOYD, A. S. Differential bioavailability of soil-sorbed naphthalene to two bacterial species. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 58, p. 1142-1152, 1992.

HANG, S. et al. Satellite images as a tool to identify accelerated atrazine mineralization in soils. **Crop Protection**, Guildford, v. 30, p. 663-670, 2011.

HANG, S. et al. Changes of atrazine extractable residues in Molisols under non-tillage systems. **Soil Tillage Research**, Amsterdam, v. 96, p. 243-249, 2007.

HAYES, T. B. et al. Demasculinization and feminization of male gonads by atrazine: Consistent effects across vertebrate classes. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 127, n. 1–2, p. 64-73, 2011.

HAYES T.B. et al. Atrazine induces complete feminization and chemical castration in male African clawed frogs (*Xenopus laevis*). **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 107, p. 4612–4617, 2010.

HAYES, T. B. There is no denying this: defusing the confusion about atrazine. **BioScience**, Washington, v. 54, n. 12, p. 1138-1149, 2004.

HENCH, L. L.; WEST, J. K. The sol-gel process. **Chemical Reviews**, Washington, v. 90, p. 33-72, 1990.

HERNANDES, G. C.; VIDAL, R. A.; WINKLER, L. M. Levantamento de práticas agronômicas e distribuição geográfica de *Bidens* spp. resistentes aos herbicidas inibidores de ALS nos Estados do Rio Grande do Sul e do Paraná. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 23, n. 4, p. 677-682, 2005.

HIRSCH, M. M. **Obtenção e caracterização de formulações de liberação controlada de atrazina e avaliação dos perfis de liberação**. 2011. 87 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Química, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

HUGGINS, R. D.; REGANOLD, P. J. No-Till: the quiet revolution. **Scientific American**, New York, p. 70-77, 2008.

JABLONOWSKI, N. D.; SCHÄFFER, A.; BURAUER, P. Still present after all these years: persistence plus potential toxicity raise questions about the use of atrazine. **Environmental Science and Pollution Research**, Berlin, v. 18, p. 328–331, 2011.

JABLONOWSKI, N. D. et al. Metabolism and persistence of atrazine in several field soils with different atrazine application histories. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 58, p. 12869–12877, 2010.

JABLONOWSKI, N. D. et al. Persistence of ¹⁴C-labeled atrazine and its residues in a field lysimeter soil after 22 years. **Environmental Pollution**, Barking, v. 157, p. 2126–2131, 2009.

JABLONOWSKI, N. D. et al. Bioaccessibility of environmentally aged ¹⁴C-atrazine residues in an agriculturally used soil and its particle-size aggregates. **Environmental Science Technology**, Easton, v. 42, p. 5904–5910, 2008a.

JABLONOWSKI, N. D. et al. Spatial distribution and characterization of long-term aged ¹⁴C-labeled atrazine residues in soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 56, p. 9548–9554, 2008b.

JAKELAITIS, A. et al. Atividade microbiana e produção de milho (*Zea mays*) e de *Brachiaria brizantha* sob diferentes métodos de controle de plantas daninhas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 25, n. 1, p. 71-78, 2007.

JOHNSON, M. R.; PEPPERMAN, B. A. Release of atrazine and alachlor from clay-oxamide controlled-release formulations. **Pesticide Science**, Oxford, v. 53, p. 233-240, 1998.

JOHNSON, M. R.; PEPPERMAN, B. A. Leaching of alachlor from alginate-encapsulated controlled-release formulations. **Pesticide Science**, Oxford, v. 48, p. 157-164, 1996.

KELLOGG, C. A.; GRIFFIN, D. W. Aerobiology and the global transport of desert dust. **Trends in Ecology and Evolution**, Amsterdam, v. 21, n. 11, p. 638–644, 2006.

KLEINSCHMITT, B. R. A. **Transporte e retenção de triazinas em compartimentos ambientais terrestres e aquáticos em área de milho no sistema de plantio direto**. 2007. 136 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

KRUGER, E. L. et al. Persistence and degradation of [¹⁴C] atrazine and [¹⁴C] deisopropylatrazine as affected by soil depth and moisture conditions. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 12, p. 1959–1967, 1993.

KRUTZ, L. J. et al. Enhanced atrazine degradation: evidence for reduced residual weed control and a method for identifying adapted soils and predicting herbicide persistence. **Weed Science**, Oxford, v. 57, p. 427–434, 2009.

KRUTZ et al. Atrazine dissipation in s-triazine–adapted and nonadapted soil from Colorado and Mississippi: implications of enhanced degradation on atrazine fate and transport parameters. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 37, p. 848–857, 2008.

KRUTZ, L. J. et al. Enhanced degradation of atrazine under field conditions correlates with a loss of weed control in the glasshouse. **Pest Management Science**, Sussex, v. 63, p. 23–31, 2007.

LAVORENTI, A.; PRATA, F.; REGITANO, J. B. Comportamento de pesticidas em solos – fundamentos. **Tópicos em Ciência do Solo**, Viçosa, v. 3, p. 335–400, 2003.

LOVATO, T. et al. Adição de carbono e nitrogênio e sua relação com os estoques no solo e com o rendimento do milho em sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 28, n. 1, p. 175–187, 2004.

MAIER, W. F. et al. Preparation and characterization of microporous metal oxides. **Advanced Materials**, Weinheim, v. 5, p. 726–730, 1993.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES F. O. M. **Fisiologia da produção de milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. 10 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 76).

MAGALHÃES, P. C. et al. **Fisiologia do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2002. 23 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 22).

MARTINAZZO, R. et al. Accelerated degradation of ¹⁴C-atrazine in Brazilian soils from different region. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 58, p. 7864–7870, 2010.

MEROTTO JR., A. et al. Redução da interferência de *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitch. em milho através de capinas e aplicação de herbicidas em diferentes épocas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 18, n. 3, p. 471-477, 2000.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2004. Seção 1, p. 266-270.

MILLER, J. L.; WOLLUM, A. G.; WEBER, J. B. Degradation of carbon-14-atrazine and carbon-14-metolachlor in soil from four depths. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 26, p. 633-638, 1997.

MONQUERO, P. A. et al. Eficiência de herbicidas pré-emergentes após períodos de seca. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 26, n. 1, p. 185-193, 2008.

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

MOUGIN, C. et al. Biotransformation of the herbicide atrazine by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 60, p. 705-708, 1994.

MUDHOO, A.; GARG, V. K. Sorption, transport and transformation of atrazine in soils, minerals and composts: a review. **Pedosphere**, Nanjing, v. 21, n. 1, p. 11-25, 2011.

MUELLER, T. C.; STECKEL, L. E.; RADOSEVICH, M. Effect of soil pH and previous atrazine use history on atrazine degradation in a Tennessee field soil. **Weed Science**, Oxford, v. 58, n. 4, p. 478-483, 2010.

NAKAGAWA, L. E.; ANDRÉA, M. M. Degradação e formação de resíduos não-extraíveis ou ligados do herbicida atrazina em solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 8, p. 1509-1515, 2000.

OLIVEIRA, M. F. et al. Efeito da palha e da mistura atrazine e metolachlor no controle de plantas daninhas na cultura do milho em sistema de plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 1, p. 37-41, 2001.

OLIVEIRA JR., R. S.; KOSKINEN, W. C.; FERREIRA, F. A. Sorption and leaching potential of herbicides on Brazilian soils. **Weed Research**, Oxford, v. 41, n. 2, p. 97-110, 2001.

PARK, J. H. et al. Assessment of bioavailability of soil-sorbed atrazine. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 69, p. 3288-3298, 2003.

PEIXOTO, M. F. S. P. et al. Remobilização de resíduos ligados de ¹⁴C-atrazina em ácidos fúlvicos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, p. 340-346, 2005.

PEIXOTO, M. F. S. P. et al. Degradação e formação de resíduos ligados de ¹⁴C-atrazina em Latossolo Vermelho escuro e Glei Húmico. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 1, p. 147-151, 2000.

PEPPERMAN, B. A.; KUAN, W. J. C. Controlled release formulations of alachlor based on calcium alginate. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 34, p. 17-23, 1995.

PRATA, F. et al. Miscible displacement, sorption and desorption of atrazine in a Brazilian Oxisol. **Vadose Zone Journal**, Madison, v. 2, p. 728–738, 2003.

PRATA, F. **Comportamento do glifosato no solo e deslocamento miscível de atrazina**. 2002. 149 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós Graduação em Agronomia, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade Federal de São Paulo, Piracicaba, 2002.

PRATA, F.; LAVORENTI, A. Comportamento de herbicidas no solo: influência da matéria orgânica. **Revista Biociência**, Taubaté, v. 6, n. 2, p. 17-22, 2000.

QUEIROZ, B. P. V.; MONTEIRO, R. T. R. Degradação de ^{14}C -atrazina em solos sob condições semicontroladas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 35, p. 849-856, 2000.

RAVELLI, A. et al. Rates of chlorsulfuron degradation in three Brazilian Oxisols. **Weed Research**, Oxford, v. 37, p. 51-59, 1997.

RODRIGUES, B. N.; LIMA, J.; YADA, I. F. U. Retenção pela palhada, de herbicidas aplicados em pré-emergência na cultura do milho, em plantio direto. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Brasília, v. 1, n. 2, p. 123-128, 2000.

RODRIGUES, B. N. et al. Influência da cobertura morta no comportamento do herbicida trtfluralin. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 16, n. 2, p. 163-173, 1998.

SÁNCHEZ-VERDEJO, T. et al. Environmentally friendly formulations of alachlor and atrazine: preparation, characterization, and reduced leaching. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 56, n. 21, p. 10192-10199, 2008.

SANTOS, C. A. A. **Matéria orgânica de Argissolo Vermelho e Latossolo Bruno sob diferentes sistemas de manejo e sob vegetação nativa: distribuição em frações físicas, qualidade e sorção do herbicida atrazina**. 2005. 183 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós Graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

SENE, L. et al. New aspects on atrazine biodegradation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 53, p. 487-496, 2010.

SHANER, D. L.; HENRY, W. B. Field history and dissipation of atrazine and metolachlor in Colorado. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 36, n. 1, p. 128–134, 2007.

SHANER, D. L. et al. Rapid assay for detecting enhanced atrazine degradation in soil. **Weed Science**, Oxford, v. 55, p. 528–535, 2007.

SINDAG – Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola.

Disponível em: <<http://www.sindag.com.br>> Acesso em: 20 abr. 2012.

SOPEÑA, F.; MAQUEDA, C.; MORILLO, E. Formulation affecting alachlor efficacy and persistence in sandy soils. **Pest Management Science**, Sussex, v. 65, p. 761–768, 2009.

SPARK, K. M.; SWIFT, R. S. Effect of soil composition and dissolved organic matter on pesticide sorption. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 298, p. 147–161, 2002.

THEISEN, G.; VIDAL, R. A. Efeito da cobertura do solo com resíduos de aveia preta nas etapas do ciclo de vida do capim-marmelada. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 17, n. 2, p. 189-196, 1999.

TOULOUPAKIS, E; MARGELOU A.; GHANOTAKIS, D. F. Intercalation of the herbicide atrazine in layered double hydroxides for controlled-release applications. **Pest Management Science**, Sussex, v. 67, p. 837–841, 2011.

TRIGO, C. et al. Bioavailability of organoclay formulations of atrazine in soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, p. 11857-11863, 2010.

VANDERHEYDEN, V.; DEBONGNIE, P.; PUSSEMIER, L. Accelerated degradation and mineralization of atrazine in surface and subsurface soil materials. **Pesticide Science**, Oxford, v. 49, p. 237-242, 1997.

VERRAEDT, E. et al. Controlled release of chlorhexidine antiseptic from microporous amorphous silica applied in open porosity of an implant surface. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 31, p. 28-32, 2011.

VERRAEDT, E. et al. Controlled release of chlorhexidine from amorphous microporous silica. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 142, p. 47–52, 2010.

VIDAL, R. A.; KALSING, R. A.; GHEREKHLOO, J. Interferência e nível de dano econômico de *Brachiaria plantaginea* e *Ipomoea nil* na cultura do feijão comum. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 8, p. 1675-1681, 2010.

VIDAL, R. A. et al. Antagonismo na associação de glyphosate e triazinas, **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, n. 2, p. 301-306, 2003.

VIDAL, R. A.; MEROTTO JR., A. **Herbicidologia**. Porto Alegre: Ed. Autor, 2001. 152p.

WEBER, J. B. et al. A proposal to standardize soil/solution herbicide distribution coefficients. **Weed Science**, Oxford, v. 48, n. 1, p. 75-88, 2000.

WILLIAMS II, M. M.; BOERBOOM, C. M.; RABAEY, T. L. Significance of atrazine in sweet corn weed management systems. **Weed Technology**, Champaign, v. 24, p. 139-142, 2010.

ZABLOTOWICZ, R. M. et al. Glufosinate and ammonium sulfate inhibit atrazine degradation in adapted soils. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 45, p. 19-26, 2008.

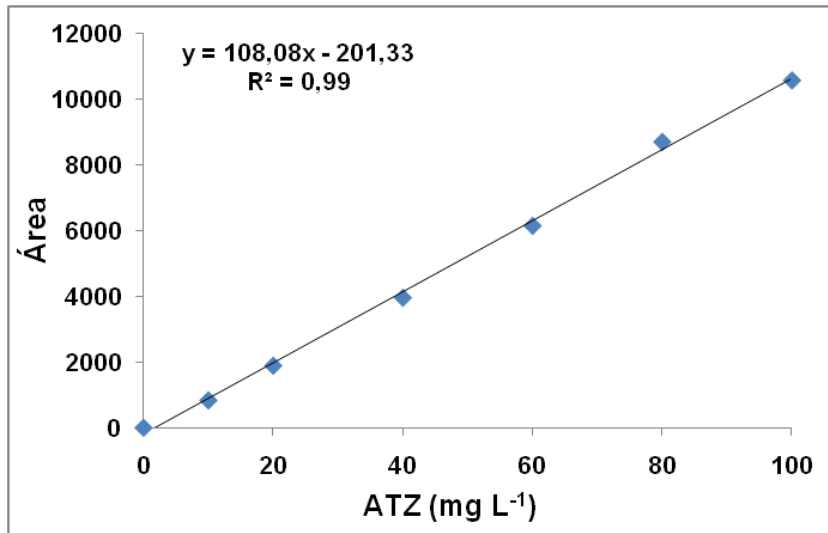
ZABLOTOWICZ, R. M. et al. Rapid development of enhanced atrazine degradation in a dundee silt loam soil under continuous corn and in rotation with cotton. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 55, p. 852-859, 2007.

ZABLOTOWICZ, R. M.; WEAVER, M. A.; LOCKE, M. A. Microbial adaptation for accelerated atrazine mineralization/degradation in Mississippi Delta soils. **Weed Science**, Oxford, v. 54, n. 3, p. 538–547, 2006.

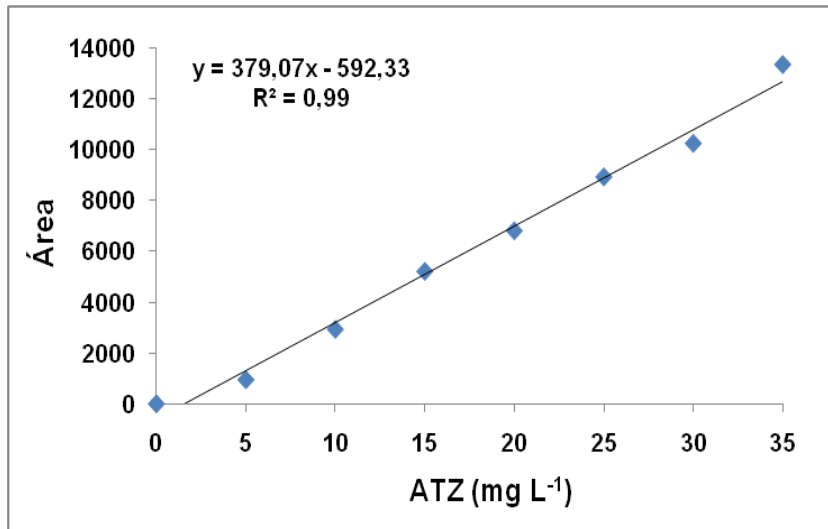
9. APÊNDICES

Apêndice 1. Curva padrão de ATZ obtida por cromatografia gasosa nas concentrações de 100 (A) e 35 (B) mg L⁻¹.

A



B



Apêndice 2. Resumo da análise de variância do controle (35 e 60 DAA) e da massa seca (60 DAA) de *Bidens* spp. e *Urochloa plantaginea* avaliados no Estudo 1 - Sub-Estudo 1 (safra 2009/2010).

CAUSAS DE VARIACÃO	CONTROLE		MASSA SECA	
	G.L.	Quadrado médio	G.L.	Quadrado médio
- - - - <i>Bidens</i> spp. - - - -				
		35 DAA	60 DAA	60 DAA
Formulação	1	5,16 ^{ns}	182,16 ^{ns}	22,73 ^{ns}
Data	6	10195,95*	9190,37*	291,06*
Repetição	3	112,64 ^{ns}	480,78*	204,72 ^{ns}
Formulação*Data	6	38,70 ^{ns}	93,45 ^{ns}	262,57 ^{ns}
erro	39	94,99	159,83	108,22
CV (%)	-	12,14	16,59	148,77
- - - - <i>Urochloa plantaginea</i> - - - -				
Formulação	1	301,79 ns	2900,16*	2322,28*
Data	6	6465,48*	4623,16*	1036,51 ^{ns}
Repetição	3	727,38*	1150,16*	1056,99 ^{ns}
Formulação*Data	6	74,70 ^{ns}	281,79 ^{ns}	586,83 ^{ns}
erro	39	128,66	197,62	529,81
CV (%)	-	18,25	26,44	68,30

^aG.L.: graus de liberdade das causas de variação da análise de variância.

^b(ns): não significativo e (*): significativo a 5% de probabilidade do erro experimental.

^cC.V.: coeficiente de variação.

Apêndice 3. Resumo da análise de variância do controle, massa seca e estatura de *Raphanus sativus* avaliados no Estudo 1 - Sub-Estudo 1 (safra 2009/2010).

CAUSAS DE VARIACÃO	G.L.	- - - - Quadrado médio - - - -		
		CONTROLE	MASSA SECA	ESTATURA
Formulação	1	4644,64*	0,005*	1,84*
Data	6	6142,56*	0,005*	5,47*
Repetição	3	169,64 ^{ns}	0,00004 ^{ns}	0,11 ^{ns}
Formulação*Data	6	611,31 ^{ns}	0,003*	0,57 ^{ns}
erro	39	572,53	0,0005	0,35
CV (%)	-	33,75	50,40	50,13

^aG.L.: graus de liberdade das causas de variação da análise de variância.

^b(ns): não significativo e (*): significativo a 5% de probabilidade do erro experimental.

^cC.V.: coeficiente de variação.

Apêndice 4. Resumo da análise de variância da concentração de ATZ na palha e no solo (mg kg^{-1}) em função do período após a aplicação de ATZ-C e ATZ-XG em lavoura de milho sob plantio direto no Estudo 1 - Sub-Estudo 1 (safra 2009/2010) e Sub-Estudo 2 (safra 2010/2011).

CAUSAS DE VARIAÇÃO		PALHA	SOLO
	G.L.	- - - - Quadrado médio - - - -	
Formulação	1	829,04*	39,48*
Data	6	239,94*	23,37*
Repetição	2	64,85 ^{ns}	11,76 ^{ns}
Formulação*Data	6	287,80*	22,01*
erro	26	67,95	6,31
CV (%)	-	93,05	165,97

^aG.L.: graus de liberdade das causas de variação da análise de variância.

^b(ns): não significativo e (*): significativo a 5% de probabilidade do erro experimental.

^cC.V.: coeficiente de variação.

Apêndice 5. Resumo da análise de variância da estatura e massa seca de *Raphanus sativus* avaliadas no Estudo 1 - Sub-Estudo 2 (safra 2010/2011).

CAUSAS DE VARIAÇÃO		ESTATURA	MASSA SECA
	G.L.	- - - - Quadrado médio - - - -	
Formulação	3	44,28*	0,02*
Data	6	26,26*	0,01*
Repetição	3	0,94 ^{ns}	0,0002 ^{ns}
Formulação*Data	18	4,52*	0,002*
erro	81	0,91	0,0004
C.V. (%)	-	24,89	39,28

^aG.L.: graus de liberdade das causas de variação da análise de variância.

^b(ns): não significativo e (*): significativo a 5% de probabilidade do erro experimental.

^cC.V.: coeficiente de variação.

Apêndice 6. Resumo da análise de variância da concentração de ATZ na palha e no solo (mg kg^{-1}) em função do período após a aplicação de ATZ-C e ATZ-XG em lavoura de milho sob plantio direto no Estudo 1 - Sub-Estudo 2 (safra 2010/2011).

CAUSAS DE VARIAÇÃO		PALHA	SOLO
	G.L.	- - - - Quadrado médio - - - -	
Formulação	2	91997,58*	9376,71*
Data	6	26387,93*	8719,08*
Repetição	2	2644,68 ^{ns}	1026,60 ^{ns}
Formulação*Data	12	62522,59*	2524,72 ^{ns}
erro	40	2502,41	1329,72
CV (%)	-	51,34	96,52

^aG.L.: graus de liberdade das causas de variação da análise de variância.

^b(ns): não significativo e (*): significativo a 5% de probabilidade do erro experimental.

^cC.V.: coeficiente de variação.