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

**Sorção, biodegradação e lixiviação de diuron, hexazinone e
sulfometuron-methyl isolados e em mistura e efeito nos
microrganismos dos solos**

Fabília Cristina dos Reis

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutora em Ciências. Área de concentração:
Fitotecnia

**Piracicaba
2017**

Fabírcia Cristina dos Reis
Engenheira Agrônoma

Sorção, biodegradação e lixiviação de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl isolados e em mistura e efeitos nos microrganismos dos solos

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:

Prof. Dr. **RICARDO VICTÓRIA FILHO**

Co-orientador:

Prof. Dr. **VALDEMAR LUIZ TORNISIELO**

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutora em Ciências. Área de concentração:
Fitotecnia

Piracicaba
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Reis, Fabrícia Cristina dos

Sorção, biodegradação e lixiviação de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl isolados e em mistura e efeitos nos microrganismos dos solos / Fabrícia Cristina dos Reis - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2017.

114 p.

Tese (Doutorado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Comportamento no solo 2. Mobilidade 3. Mineralização 4. Adsorção
5. Herbicidas radiomarcados I. Título

Dedico

A Minha Mãe,

Ana Rita da Silva Reis

*Por ser meu porto seguro.
Por toda dedicação, amor e paciência.*

A minhas irmãs

Fernanda e Fabiana

Por serem minhas amigas, pelo companheirismo nos momentos bons e apoio nos ruins.

A minhas sobrinhas

Lorena e Mariana

Por me encherem de alegria e amor.

AGRADECIMENTOS

- A Deus, porque D'Ele e por Ele, e para Ele, são todas as coisas.
- Ao Professor Dr. Ricardo Victória Filho pela amizade, conselhos e orientação durante o mestrado e doutorado.
- Ao Prof. Dr. Valdemar Luiz Tornisielo por aceitar ser meu co-orientador e por todo apoio.
- A Dupont (Wilmington, DE, USA) e Dupont do Brasil S/A por fornecerem herbicidas radiomarcados e padrões analíticos utilizados nos estudos.
- Ao João Batista Cason, Edison Hidalgo e Roberto E.B.Toledo por todo auxílio.
- A secretária Luciane Ap. Lopes Toleto do programa de Pós-graduação em Fitotenia por todo auxílio e dedicação.
- A secretária Renata do Laboratório de Ecotoxicologia por todo auxílio.
- Aos técnicos do Laboratório de Ecotoxicologia Rodrigo Floriano Pimpinato pelo treinamento e ajuda na condução dos experimentos e Carlos Alberto Dorelli por sempre estar disposto a ajudar.
- Ao Dr. Muthu Bagavathiannan por aceitar ser meu co-orientador durante o estágio no exterior realizado na Texas A&M University, EUA. Por todo conhecimento transmitido e exemplo de dedicação.
- A Dr. Katherine Carson por ter me auxiliado na pesquisa durante o estágio no exterior. Por toda amizade, apoio e dedicação.
- Ao Seth Abugho e Tabby Liu pela amizade e por sempre estarem dispostos a me ajudar.
- Aos amigos do time de Ciências de Plantas Daninhas da Texas A&M University: Blake, Morgan, Prabhu, Dr. Vijay, Dr. Rana, Bruno, Camila, Cynthia Kaisa, Dr. Sara, Mohsen, Russ e Zack. E aos amigos do departamento: Sumit, Henrique e Diana.
- Aos colegas do Laboratório de Ecotoxicologia do CENA: Carol, Marcela, Jeane, Leila, Rosana, Graziela e Kássio. Obrigada pelo companheirismo.
- A Tatiane Silva e Juliana de Souza pela amizade e por serem meu porto seguro quando estava nos EUA.
- Aos amigos de College Station: Davi, Oda, Dani, Luan, Lú, Bia e Dominique.

- Aos amigos Maísa, Renata, Evelin, Lígia, Bruna, Natália, Tati, Izabela, Felipe e Ana pessoas que conheci durante graduação ou pós-graduação mas hoje são amigos para a vida toda.
- Ao Prof. Dr. Pablo Vidal-Torrado pela ajuda com a classificação dos solos.
- Ao Pedro Andrade e Professor Dr. Fernando Dini Andreote pelo auxílio na análise da comunidade bacteriana.
- Ao Jaime F. Sotomayo da Secretária de Educação Superior, Ciência, Tecnologia e Inovação do Equador e Bianca A.B. Martins pela ajuda com as análises estatísticas.
- Ao Raoni e seus pais Dr. Antônio Mauro e Irma Mauro, como toda sua família, por serem pessoas tão boas, generosas e especiais. Obrigada por todo apoio e amizade.
- Ao meu pai, João Alves dos Reis, por me mostrar que apenas com esforço próprio as metas são alcançadas.
- Ao Tio Claudio e Tia Luzia por todo apoio e por me deixarem saber que eu tenho com quem contar.
- Ao Tio Sebastião pela correção da tese e por sempre encher de bençãos nossa família.
- Ao meu primo André Aparecido Fichio por sempre me ajudar quando tive problemas com o computador ou afins, o que permitiu a finalização da redação da tese.
- Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento e Pesquisa (CNPQ) pela concessão de bolsa durante o doutorado e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa PDSE.
- A todos, que direta ou indiretamente, participaram deste trabalho.

OBRIGADA!

*“Cultivo plantas por várias razões:
para o prazer dos meus olhos ou prazer da minha alma,
para desafiar os elementos ou desafiar minha paciência,
por coisas novas ou por nostalgia,
mas principalmente pela alegria de vê-las crescer”*

(Tradução livre)

David Hobson

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT.....	9
1. INTRODUÇÃO	11
Referências	13
2. SORÇÃO COMPETITIVA E DESSORÇÃO DE DIURON HEXAZINONE E SULFOMETURON-METHYL EM CINCO SOLOS DO ESTADO DO TEXAS, EUA	17
Resumo	17
Abstract.....	17
2.1 Introdução	18
2.2 Material e métodos	21
2.3 Resultados e Discussão.....	24
2.4 Conclusão	34
Referências	34
3. LIXIVIAÇÃO DE DIURON, HEXAZINONE E SULFOMETURON-METHYL APLICADOS ISOLADOS E EM MISTURA EM SOLOS DE TEXTURA CONTRASTANTES.	39
Resumo	39
Abstract.....	39
3.1 Introdução	40
3.2 Material e métodos	42
3.3 Resultados e Discussão.....	45
3.4 Conclusão	54
Referências	55
4. BIODEGRADAÇÃO E MINERALIZAÇÃO DE DIURON, HEXAZINONE E SULFOMETURON-METHYL APLICADOS ISOLADOS E EM MISTURA EM SOLOS DE CULTIVO DE CANA-DE-AÇÚCAR.	59
Resumo	59
Abstract.....	59
4.1 Introdução	60
4.2 Material e métodos	62
4.3 Resultados e discussão	69
4.4 Conclusão	85
Referências	85
5. EFEITO DE DIURON, HEXAZINONE E SULFOMETURON-METHYL ISOLADOS E EM MISTURA SOBRE A TRANSFORMAÇÃO DE CARBONO POR MICRORGANISMOS DO SOLO.....	91
Resumo	91
Abstract.....	91
5.1 Introdução	92
5.2 Material e métodos	94
5.3 Resultados e Discussão.....	98
5.4 Conclusão	107
Referências	108
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	111
APÊNDICES	113

RESUMO

Sorção, biodegradação e lixiviação de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl isolados e em mistura e efeitos nos microrganismos dos solos

Durante a safra agrícola ocorrem aplicações simultâneas ou aplicações de um defensivo agrícola em seguida de outro. Esta prática gera a combinação de resíduos no solo que pode levar a mudanças no destino final destes compostos. Com o objetivo de investigar se a aplicação em mistura influencia no comportamento no solo de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl foram avaliadas a sorção, dessorção, biodegradação, lixiviação e efeito sobre microrganismos dos solos, após aplicação em mistura e isolada destes herbicidas, em diferentes solos. Nos estudos de lixiviação, sorção e biodegradação foram preparadas soluções com herbicidas radiomarcados e não radiomarcados. Nos tratamentos em mistura apenas o herbicida sendo avaliado era radiomarcado e os outros eram padrões analíticos. A avaliação do efeito sobre microrganismos foi realizada após aplicação dos herbicidas e de glicose radiomarcada. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado. A mineralização e a porcentagem detectada nos lixiviados do solo arenoso, foram maiores quando hexazinone foi aplicado em mistura. A sorção foi menor quando hexazinone estava em mistura com diuron, em um dos cinco solos avaliados. A mineralização e sorção de diuron nos solos não foram influenciadas pela presença de hexazinone e sulfometuron-methyl. No caso de sulfometuron-methyl, a aplicação em mistura aumentou a mineralização do herbicida, contudo, não afetou a lixiviação tampouco a sorção do herbicida. Maior evolução de $^{14}\text{CO}_2$ a partir da glicose foi observada nos tratamentos com sulfometuron-methyl, diuron e da mistura dos três herbicidas em solo arenoso, contudo não foi observado aumento dos efeitos dos herbicidas quando em mistura sobre atividade biológica do solo.

Palavras-chave: Comportamento no solo; Mobilidade; Mineralização; Adsorção

ABSTRACT

Sorption, biodegradation and leaching of diuron, hexazinone and sulfometuron-methyl alone and in mixture and effects on soil microorganism

Herbicides can either be applied alone or simultaneously during the entire crop cultivation. This practice could potentially promote changes in herbicide behavior in the soil. Thus, the aim of this study was to understand the effect of diuron, hexazinone, and sulfometuron-methyl and its mixtures when applied on the soil. Herbicide sorption, desorption, biodegradation, leaching and its effect on the soil microorganism in contrasting soils textures were evaluated. Radiolabeled and an analytical standard herbicide were used to understand leaching, biodegradation and sorption. Microorganism evaluation was done by adding ^{14}C -glucose. Highest mineralization percentage was observed in hexazinone mixed with diuron and sulfometuron-methyl leachates. The application in mixture did not affect the mineralization or sorption of diuron. In the case of sulfometuron-methyl, the application with diuron and hexazinone increased the mineralization of the herbicide, however it did not affect its leaching or sorption. A greater evolution of $^{14}\text{CO}_2$ was observed in the treatments with sulfometuron-methyl, diuron and the mixture of the three herbicides in sand soil. Nevertheless, the application in mixture did not increase the effects of the herbicides in the soil biological activity.

Keywords: Behavior of herbicides in soil; Mobility; Mineralization; Adsorption

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar e o Estado de São Paulo é o principal produtor do país. A produção de cana-de-açúcar estimada para safra 2017/18 no Brasil é de 694,54 milhões de toneladas, apresentando crescimento de 4,4 % em relação à safra anterior. Estima-se um incremento de 0,9% na produtividade para próxima safra (2017/18) (CONAB, 2017).

A ocorrência de plantas daninhas na cultura de cana-de-açúcar provoca perdas de produtividade, quando não controladas adequadamente e é muito importante o conhecimento da biologia para o manejo adequado (VICTÓRIA FILHO; CHRISTOFFOLETI, 2004). Em estudo realizado por Kuva et al. (2001) foi observada redução de produtividade de cerca de 80% causada pela competição das plantas daninhas. Devido ao menor custo e praticidade, o controle químico de plantas daninhas é a prática mais utilizada (KUVA; SALGADO, 2014). Diversos herbicidas são registrados para o controle de plantas daninhas em cana-de-açúcar, sendo que a cultura é responsável por cerca 10% dos herbicidas comercializados no Brasil (SINDIVEG, 2017).

Herbicidas podem ser comercializados isolados na formulação juntamente com ingredientes inertes, porém, há também opções de misturas formuladas duplas e triplas (KUVA; SALGADO, 2014). Entre os produtos registrados o produto comercial de diuron + hexazinone + sulfometuron-methyl é recomendado para o controle de corda-de-viola e gramíneas (*Brachiaria decumbens*, *B. plantaginea*, *Panicum maximum* e *Digitaria sp*) entre outras espécies. É apresentado na forma de grânulo dispersível em água e sua aplicação é recomendada em pré-emergência, em época seca ("DUPONT Front ®", 2017).

Um dos componentes da mistura, o herbicida diuron, pertence ao grupo das uréias substituídas (feniluréias). Tem baixa solubilidade em água (42 mg L⁻¹ a 25°C) e seu coeficiente de partição octanol/água é de 2,77. É um herbicida neutro, não ionizável (pKa não aplicável) e sua principal via de degradação é por microrganismos, apresentando meia-vida de degradação de 90-180 dias. A média para o coeficiente de sorção normalizado Koc é 480 mL g⁻¹ e é sorvido pela matéria orgânica e argila. É considerado moderadamente lixiviável (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011; SHANER, 2014).

O herbicida sulfometuron-methyl possui solubilidade moderada em água (300 mg L⁻¹ a pH 7, 25°C) apresenta meia-vida de dissipação de 20-28 dias quando o pH do

meio é entre 6 e 7. A persistência é aumentada por condições de baixa temperatura, baixo teores de água no solo e alto pH. A mobilidade, em geral, apresenta-se ser alta em solos com alto pH e baixo teor de matéria orgânica. Sulfometuron-methyl pertence ao grupo químico das sulfoniluréias, é um herbicida ácido fraco com a constante de dissociação (pKa) de 5,2. Possui coeficiente de partição octanol/água (LogKow) de 1,04 (pH 5), -0,46 a -0,51 (pH 7) e -1,87 (pH 9), considerado baixo (SHANER, 2014).

Hexazinone é uma base fraca (pKb 2,2) (UNIVERSITY OF HERTFORDSHIRE, 2017). Apresenta alta solubilidade em água (33 000 mg L⁻¹), média de Koc de 54 mL g⁻¹ e em condições naturais está na sua forma molecular ou neutra e se espera baixa sorção. Quando o pH do meio é menor que seu pKb, a molécula estará protonada, sendo sorvida fortemente aos solos (SILVA et al., 2014). A volatilização de hexazinone é insignificante porém, apresenta alguma suscetibilidade à fotodegradação. É degradado por microrganismos do solo e apresenta meia-vida típica de campo de 90 dias (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011; SHANER, 2014).

Diversos estudos foram realizados avaliando o comportamento nos solos destes herbicidas isolados em relação a lixiviação (DOUSSET et al., 2004; LANDRY; DOUSSET; ANDREUX, 2006), sorção (GIORI et al., 2014; OLIVEIRA JR; KOSKINEN; FERREIRA, 2001; PEREIRA-JUNIOR et al., 2015) ou degradação dos herbicidas (DIAS, 2012; MCCORMICK; HILTBOLD, 1966; RHODES, 1980).

Inoue et al. (2015) avaliaram a persistência de diuron + hexazinone + sulfometuron-methyl, realizando bioensaios. Em solo de textura arenosa, obtiveram a meia-vida de dissipação de 52 dias, independente da dose aplicada. Em solo argiloso, foram obtidos os valores de meia-vida de 100 e 80 dias, para a maior e menor doses aplicadas da mistura, respectivamente. Contudo, por ter realizados bioensaios os autores não avaliaram a contribuição de cada molécula na degradação da mistura.

Mendes et al. (2016) avaliaram a lixiviação de diuron + hexazinone + sulfometuron-methyl em condições de laboratório por cromatografia, utilizando colunas de solos. Maior porcentagem de diuron foi recuperada na camada de 0-5 cm das colunas de solo argilo-arenoso e franco-arenoso. Sulfometuron-methyl foi lixiviado até a camada de 15-20 cm em solo argilo-arenoso e alta lixiviação de hexazinone foi observada em solo franco-arenoso. Contudo, não foi avaliada a aplicação das moléculas isoladas nestes mesmos solos, o que permitiria a comparação com a aplicação em mistura.

Em estudo realizado por Garcia et al. (2012), quando simulada a chuva de 40 mm, hexazinone e a mistura dos três herbicidas (diuron + hexazinone + sulfometuron-

methyl) foram lixiviados até 13 e 17 cm de profundidade, respectivamente, causando 80% de controle do bioindicador (*Ipomoea triloba*), em solo arenoso. Sulfometuron-methyl e diuron foram lixiviados até 10 cm, com 60% de controle do bioindicador, no mesmo solo. Estes resultados indicam maior mobilidade da mistura dos herbicidas em relação as moléculas aplicadas individualmente, aparentemente devido a maior mobilidade de hexazinone.

Durante a safra agrícola, herbicidas e outros defensivos são aplicados simultaneamente ou após a aplicação de outros defensivos. Isto permite que ocorra a combinação de diferentes resíduos no solo, o que pode levar a interações que afetariam a população de microrganismos, a taxa de degradação de compostos entre outros processos (SINGH; WALKER; WRIGHT, 2002). A aplicação em mistura tem sido relacionada com aumento na persistência de defensivos agrícolas no solo (FOGG; BOXALL; WALKER, 2003; SWARCEWICZ; GREGORCZYK, 2012).

Diante disso, com o objetivo de investigar se a aplicação em mistura pode influenciar o destino final no ambiente de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl foram avaliadas a sorção, dessorção, lixiviação e biodegradação destes herbicidas aplicados isolados e em mistura, como também o efeito nos microrganismos em solos com texturas contrastantes.

Referências

CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 19 fev. 2017.

DIAS, A. C. R. **Lixiviação, mobilidade, degradação, mineralização e atividade microbiana de herbicidas em função de atributos de cinco tipos de solos**. 2012. 121p. Tese (Doutorado em Ciências - Área concentração Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 2012.

DOUSSET, S. et al. Transfer of hexazinone and glyphosate through undisturbed soil columns in soils under Christmas tree cultivation. **Chemosphere**, v. 57, n. 4, p. 265–272, 2004.

DUPONT Front ®. Disponível em: <<http://www.dpfront.com.br/index.php>>. Acesso em: 4 fev. 2017.

FOGG, P.; BOXALL, A. B. A.; WALKER, A. Degradation of pesticides in biobeds: The effect of concentration and pesticide mixtures. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 18, p. 5344–5349, 2003.

GARCIA, D. B. et al. Diuron, hexazinone and sulfometuron-methyl leaching separately

and in commercial formulation in two contrasting soils. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 11, n. 2, p. 222, 2012.

GIORI, F. G. et al. Sugarcane straw management and soil attributes on alachlor and diuron sorption in highly weathered tropical soils. **Journal of Environmental Science and Health Part B-Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes**, v. 49, n. 5, p. 352–360, 2014.

INOUE, M. H. et al. Potencial de lixiviação e efeito residual de diuron + hexazinone + sulfometuron-methyl em solos de textura contrastante. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 58, n. 4, p. 418–426, 2015.

KUVA, M. A. et al. Períodos de interferência das plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar: II - capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*). **Planta Daninha**, v. 19, n. 3, p. 323–330, dez. 2001.

KUVA, M. A.; SALGADO, T. P. Manejo de Plantas Daninhas nas Principais Culturas Perenes do Brasil. In: MONQUERO, P. A. (Ed.). . **Manejo de Plantas Daninhas nas Culturas Agrícolas**. São Carlos: Rima, 2014. p. 82–114.

LANDRY, D.; DOUSSET, S.; ANDREUX, F. Leaching of oryzalin and diuron through undisturbed vineyard soil columns under outdoor conditions. **Chemosphere**, v. 62, n. 10, p. 1736–1747, 2006.

MCCORMICK, L. L.; HILTBOLD, A. E. Microbiological Decomposition of Atrazine and Diuron in Soil. **Weeds**, v. 14, n. 1, p. 77–82, 1966.

MENDES, K. F. et al. Leaching of a Mixture of Hexazinone, Sulfometuron-Methyl, and Diuron Applied to Soils of Contrasting Textures. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 227, n. 8, p. 268, 14 ago. 2016.

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

PEREIRA-JUNIOR, E. V et al. Effects of soil attributes and straw accumulation on the sorption of hexazinone and tebuthiuron in tropical soils cultivated with sugarcane. **Journal of Environmental Science & Health Part B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes**, v. 50, n. 4, p. 238–46, 2015.

RHODES, R. C. Soil studies with ¹⁴C-labeled hexazinone. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 28, p. 311–315, 1980.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. L. S. **Guia de herbicidas**. 6. ed. Londrina: Edição dos autores, 2011.

SHANER, D. L. **Herbicide Handbook**. . 10th Edition. 10. ed. Champaign: Weed Science Society of America, 2014.

SILVA, A. A. DA et al. Comportamento de hericidas no solo. In: MONQUERO, P. A. (Ed.). . **Aspectos da Biologia e Manejo das Plantas Daninhas**. São Carlos: Rima, 2014. p. 165–216.

SINDIVEG. **Sindicato nacional da indústria de produtos para a defesa vegetal**. Disponível em: <<http://www.sindiveg.org.br/index.php>>. Acesso em: 3 mar. 2017.

SINGH, B. K.; WALKER, A.; WRIGHT, D. J. Degradation of chlorpyrifos, fenamiphos, and chlorothalonil alone and in combination and their effects on soil microbial activity. **Environmental toxicology and chemistry / SETAC**, v. 21, n. 12, p. 2600–2605, 2002.

SWARCEWICZ, M. K.; GREGORCZYK, A. The effects of pesticide mixtures on degradation of pendimethalin in soils. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, n. 5, p. 3077–3084, 2012.

UNIVERSITY OF HERTFORDSHIRE. **Pesticide properties database**. Disponível em: <<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/index2.htm>>. Acesso em: 4 fev. 2017.

VICTÓRIA FILHO, R.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Manejo de plantas daninhas e produtividade da cana. **Visão Agrícola**, n. 1, p. 32–37, 2004.

2. SORÇÃO COMPETITIVA E DESSORÇÃO DE DIURON HEXAZINONE E SULFOMETURON-METHYL EM CINCO SOLOS DO ESTADO DO TEXAS, EUA

Resumo

Com o objetivo de avaliar se a aplicação em mistura pode influenciar o destino final de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl, a sorção competitiva como também a dessorção, foram avaliadas pelo método de equilíbrio de Batch, em cinco solos coletados no estado do Texas, Estados Unidos da América do Norte. Para isso soluções com os herbicidas isolados, soluções binárias (dois herbicidas) e ternárias (três herbicidas), foram preparadas nas concentrações de 0,29; 0,08 e 0,008 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl, respectivamente. As soluções foram preparadas em 0,01 M CaCl_2 . Quatro gramas dos solos foram pesados em tubos de centrífugas e 16 mL das soluções dos herbicidas foram adicionados aos tubos. As suspensões foram agitadas por 24 horas e depois centrifugadas. A radioatividade remanescente na solução foi quantificada e o sobrenadante foi descartado. Para o estudo de dessorção, 16 mL de solução de CaCl_2 , sem herbicidas, foram adicionados aos tubos de centrífuga. Foi verificada a interação entre os solos e os tratamentos em que os herbicidas estavam isolados ou na presença dos demais herbicidas. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado e o estudo foi realizado em duplicata. O total sorvido foi calculada pela diferença entre a concentração dos herbicidas na solução inicial e a final, após equilíbrio. O coeficiente de sorção (K_d) foi calculado. No caso de diuron e sulfometuron-methyl a presença de outros herbicidas na solução não influenciou a sorção. Maior sorção dos três herbicidas foi obtida no solo com maior teor de matéria orgânica. A presença de diuron na solução diminuiu a sorção de hexazinone no solo argiloso, coletado em College Station. O resultado obtido neste estudo sugere que a aplicação em mistura deve ser considerada para avaliar o comportamento de herbicidas no ambiente.

Palavras-chave: Adsorção competitiva; Pesticidas; Mistura de herbicidas; Adsorção

Abstract

Aiming to evaluate if the application in mixture may influence the fate of pesticides: competitive sorption, as well the desorption, of diuron, hexazinone and sulfometuron-methyl based on the batch equilibrium technique was carried out, in five soils collected in Texas, United States of America. Solution were prepared with the herbicides radiolabeled and non-radiolabeled and CaCl_2 (0.01 mol L^{-1}) to reach the concentration of 0.29;

0.08 e 0008 $\mu\text{g mL}^{-1}$ of diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl, respectively. Four grams of the soil were weighed in centrifuge tubes adding 16 ml of the herbicides tested to create a suspension. The tubes were placed in a centrifuge and 1 ml of the supernatant were collected to analyze the radioactivity. The sorption coefficient (K_d) was estimated. An interaction between treatments solutions (alone or in mixture) and soils types was tested. The experimental design was a completely randomized and the study was carried out in duplicate. The presence of diuron decreased the sorption of hexazinone in one of the five soils evaluated. In the case of diuron and sulfometuron-methyl no effect by the presence of the others herbicides in the solution was observed. The sorption of the three herbicides was greater in the soil with more organic matter content. Results showed that combined effects should be considered to assess the fate of herbicides in the environment.

Keywords: Competitive adsorption; Pesticides; Herbicides mixture; Adsorption

2.1 Introdução

A aplicação de herbicidas é uma prática bem estabelecida e importante para o controle de plantas daninhas. Contudo preocupações têm surgido, devido ao fato dessas moléculas serem detectadas em estudo de qualidade de água superficiais e subsuperficiais (ARMAS et al., 2007). Diuron e hexazinone foram detectados nas concentrações entre 0,26 a 7,12 $\mu\text{g L}^{-1}$, em amostras de água subsuperficial coletadas em área de recarga de Aquífero Guarani, próxima a área de cultivo de cana-de-açúcar (DANTAS et al., 2011).

A sorção a partir da solução do solo é um dos principais processos que determinam o destino de herbicidas no ambiente, pois reduz a concentração na solução e conseqüentemente o potencial de lixiviação, além de influenciar na taxa de degradação. A sorção pode ocorrer por ligações químicas, envolvendo a troca de elétrons, por forças físicas controladas por forças de Van der Waals (CÁCERES-JENSEN et al., 2013) ou também por partição hidrofóbica. Uma vez que a participação exata da adsorção, complexação ou processos de particionamento na retenção do composto orgânico aos coloides dos solos é difícil de mensurar, o termo sorção é utilizado para descrever o processo (BRADY; WEIL, 2013).

Defensivos agrícolas são aplicados simultaneamente ou uma aplicação ocorre após outra aplicação. Este tipo de aplicação resulta na combinação de resíduos no ambiente do solo (SWARCEWICZ; GREGORCZYK, 2012). Quando isso acontece,

várias interações são possíveis, incluindo o efeito sobre biomassa dos microrganismos, em reações enzimáticas específicas, na degradação dos defensivos agrícolas ou alterações relacionadas com efeitos físico-químicos, como a competição por sítios de sorção (SINGH; WALKER; WRIGHT, 2002). Devido a sua diversidade, a sorção competitiva pode ser importante no destino destes compostos orgânicos no solo (LIU; ZHENG; GAN, 2002).

A associação formulada de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl é recomendada para o controle de plantas daninhas no cultivo de cana-de-açúcar em aplicação em pré-emergência (DUPONT Front®, 2017). Diuron pertence ao grupo químico das uréias substituídas, possui solubilidade em água de 42 mg L⁻¹ (25°C), não é ionizável (valor de pKa não aplicável), apresenta Kow de 589 e é degradado principalmente por microrganismos (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011).

Diversos trabalhos observaram correlação positiva entre os coeficientes de sorção de diuron e teor de matéria orgânica dos solos (AHANGAR et al., 2008; BOEIRA et al., 1998; GIORI et al., 2014; LIU; CIBES-VIADÉ; KOO, 1970). Liu et al. (2010) observaram que com o aumento do teor de matéria orgânica dos solos houve aumento da sorção de diuron, porém a sorção de diuron diminuiu com o aumento da temperatura e do pH da solução do solo.

O herbicida hexazinone, pertence ao grupo químico das triazinonas, apresenta valor de Koc médio de 54 mL g⁻¹, é degradado principalmente por microrganismos, sua volatilização é insignificante e tem uma solubilidade elevada em água (33 g L⁻¹ a 25°C) (SHANER, 2014). Hexazinone é um base fraca (pKb 2,2) (UNIVERSITY OF HERTFORDSHIRE, 2017) e em condições naturais é um herbicida neutro e espera-se baixa sorção. Quando o pH do meio é menor que seu pKb este herbicida estará protonado, competindo por sítios de ligação com nutrientes do solo (SILVA et al., 2014).

O herbicida sulfometuron-methyl possui solubilidade moderada em água (300 mg L⁻¹ a pH 7 - 25°C) apresenta meia-vida de dissipação de 20-28 dias no pH de 6-7. A persistência é aumentada por condições de baixa temperatura, baixo teores de água no solo e alto pH. A mobilidade em geral apresenta-se ser alta em solos com alto pH e baixo teor de matéria orgânica. Sulfometuron-methyl pertence ao grupo químico das sulfoniluréias, é um herbicida ácido fraco com a constante de dissociação ácida (pKa) de 5,2. Possui coeficiente de partição octanol/água (LogKow) de 1,04 (pH 5), -0,46 a -0,51 (pH 7) e -1,87 (pH 9), considerado baixo (SHANER, 2014).

Por ser um ácido fraco, quando o pH do meio é igual ao seu pKa, 50% das moléculas estarão na forma molecular ou neutra e 50% na forma dissociada. Quando o pH é menor que seu pKa, o que predomina é a forma neutra ou molecular (SILVA et al., 2014). O pH do meio tem grande influência no comportamento das sulfoniluréias no ambiente, pois, uma vez que as moléculas estão predominantemente na forma neutra na solução, apresentam caráter mais lipofílico o que influencia na sua sorção e solubilidade em água (BROWN, 1990).

Diversos estudos foram realizados para avaliar o comportamento de diuron, sulfometuron-methyl e hexazinone no solo com intuito de prever o destino ambiental destes herbicidas, no entanto estes estudos avaliaram as moléculas individualmente (INOUE et al., 2008; LIU; CIBES-VIADÉ; KOO, 1970; WEHTJE et al., 1987). Há pouca informação na literatura a respeito de possíveis interações e mudanças no comportamento no solo, quando herbicidas são aplicados em associação com outros defensivos agrícolas (TORNISIELO et al., 2013).

Garcia et al. (2012) compararam a lixiviação da mistura comercial formulada de diuron + hexazinone + sulfometuron-methyl e a aplicação isolada de cada ingrediente ativo. A simulação de chuva de 40 mm, não foi suficiente para promover mudanças na lixiviação de hexazinone e a mistura em solo argiloso. Contudo, em solo arenoso, hexazinone e a mistura dos herbicidas foram lixiviados até 13 e 17 cm de profundidade, respectivamente, causando 80% de controle do bioindicador (*Ipomoea triloba*). A lixiviação de sulfometuron-methyl e diuron não ultrapassou 10 cm, com controle de 60% do bioindicador, em solo arenoso, após 40 mm de simulação de chuva.

Alguns estudos foram realizados para avaliar a sorção competitiva entre herbicidas (MARTINS; MERMOUD, 1998; PATEIRO-MOURE; ARIAS-ESTÉVEZ; SIMAL-GÁNDARA, 2010) ou entre herbicidas e ingredientes inertes presentes na formulação comercial (KHAN; BROWN, 2016). Todavia, muitos destes estudos são realizados com minerais específicos do solo ou materiais utilizados para remover os herbicidas e outros compostos orgânicos (FAUR; MÉTIVIER-PIGNON; LE CLOIREC, 2005; LOURENCETTI; DE MARCHI; RIBEIRO, 2012).

Aumentar o entendimento sobre a sorção competitiva dos herbicidas é importante para o conhecimento do transporte e destino final destes compostos no ambiente. Diante disso, para verificar se os herbicidas são capazes de competir por sítios de sorção no solo, foi avaliada a sorção competitiva e a dessorção de diuron,

hexazinone e sulfometuron-methyl em cinco solos coletados no estado do Texas, Estados Unidos da América do Norte.

2.2 Material e métodos

O estudo foi realizado no Laboratório de Ciências das Plantas Daninhas e Análise de Resíduos de Pesticidas, do Departamento de Solos e Produção Vegetal da Texas A&M University, College Station, Texas, EUA. O estudo de sorção e dessorção foi realizado de acordo com o método de equilíbrio de Batch, baseando-se na metodologia descrita no guia “Adsorption and desorption using the batch equilibrium” - 106 (OECD, 2017).

Coleta do solo

Foram coletados cinco solos nas profundidades de 0-15 cm em áreas de estação experimental pertencentes a Texas A&M AgriLife Pesquisa e Extensão, localizadas no estado do Texas, EUA. Os solos franco-argiloso, argiloso CS¹ e franco foram coletados na estação experimental localizada na cidade de College Station, o solo franco-arenoso, em Lubbock e o solo argiloso BM², em Beaumont.

As análises químicas e físicas dos solos utilizados foram realizadas no Laboratório de Análises de Solo, Água e Plantas da Texas A&M AgriLife, College Station, Texas, EUA. Os resultados das análises estão apresentados na Tabela 2.1. O pH do solo foi determinado na relação 1:2; solo:água utilizando água deionizada. As amostras foram agitadas e foi permitido atingir o equilíbrio por pelo menos 30 minutos depois da água ser adicionada. A determinação foi realizada usando um eletrodo seletivo de hidrogênio e reportado pela base de solo seco.

Uma vez no laboratório os solos foram secos em temperatura ambiente, peneirados (2 mm-malha) e homogeneizados. Os solos foram armazenados em temperatura ambiente, em sacos plásticos até avaliações posteriores.

¹ CS refere-se à cidade onde o solo foi coletado, College Station.

² BM refere-se a cidade onde o solo foi coletado, Beaumont.

Tabela 2.1. Características químicas e físicas dos solos utilizados nos estudos de sorção competitiva e dessorção. College Station, TX, EUA.

Atributos	Unidades	Vertissolo háplico	Vertissolo háplico	Vertissolo háplico	Chernossolo háplico	Vertissolo háplico
pH (H ₂ O)	-	8,1	7,8	8,0	8,0	6,5
M.O	g kg ⁻¹	13,8	18,0	10,4	7,0	19,0
CO	g kg ⁻¹	8,0	10,5	6,0	4,1	11,0
P	mg kg ⁻¹	48,0	42,0	29,0	79,0	17,0
K	mmolc kg ⁻¹	12,3	14,5	6,5	16,5	6,7
Ca	mmolc kg ⁻¹	352,0	776,0	307,0	164,0	244,0
Mg	mmolc kg ⁻¹	26,0	43,0	21,0	35,0	56,0
Areia	g kg ⁻¹	240,0	200,0	320,0	680,0	240,0
Silte	g kg ⁻¹	460,0	320,0	440,0	160,0	280,0
Argila	g kg ⁻¹	300,0	480,0	240,0	160,0	480,0
Classe de textura	-	Franca-argilosa	Argilosa ¹	Franca	Franca-arenosa	Argilosa ²

Fonte: Laboratório de Análises de Solo, Água e Plantas, Texas A&M AgriLife, College Station, Texas, Estados Unidos da América do Norte. Classificação de acordo com USDA.

pH potencial hidrogeniônico, K potássio; Ca cálcio, Mg magnésio; P fósforo, CO carbono orgânico; MO matéria orgânica; CO carbono org

¹ Identificação: argiloso CS; e ² argiloso BM.

Características dos herbicidas

O herbicida radiomarcado diuron [3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea], sulfometuron-methyl {methyl2-[(4,6-dimethylpyrimidin-2-yl) carbamoyl sulfamoyl] benzoate} e hexazinone [3-cyclohexyl-6-dimethylamino-1-methyl-1,3,5-triazine-2,4 (1H,3H)-dione] foram doados pela DUPONT (Wilmington, DE, USA). Apresentavam a pureza radioquímica acima de 95% e atividade específica de 1,8; 5,7 e 0,3 MBq mg⁻¹, para diuron (Phenyl-14C(U)), sulfometuron-methyl (pirimidina-2-14C) e hexazinone (carbonyl-14C), respectivamente. A pureza dos compostos não radiomarcados de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl eram de 98,7, 99,5 e 98,9%, respectivamente.

Experimento de sorção e dessorção

Foram pesados quatro gramas dos solos em tubos de centrífuga de vidro (50 mL) e posteriormente foram adicionados 16 mL de solução, na relação solo:solução 1:4 (ARSEGO, 2009), contendo CaCl₂ (0,01 mol L⁻¹) e os herbicidas não radiomarcados. Em seguida, soluções contendo os herbicidas radiomarcados,

diluídos em metanol, foram adicionadas em cada frasco, de acordo com o tratamento, para atingir as concentrações de 0,29; 0,08 e 0,008 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl, quando a sorção foi avaliada isoladamente. Estas concentrações foram escolhidas, pois equivalem a maior dose recomendada de campo da mistura comercial de diuron + hexazinone + sulfometuron-methyl (1389 + 391 + 33 g i.a. ha^{-1}), que equivale a 2,3 kg ha^{-1} do produto comercial.

A sorção competitiva de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl foi realizada preparando soluções binárias (com dois herbicidas, um radiomarcado e o outro não radiomarcado) e ternárias (um herbicida radiomarcado e os outros dois não radiomarcados) e o estudo foi realizado separadamente para cada ingrediente ativo da formulação. Para verificar se os herbicidas seriam aderidos a paredes de vidro dos tubos de centrífuga, volatilizados ou mineralizados foi adicionado solução de CaCl_2 (0,01 mol L^{-1}) com os herbicidas radiomarcados nos tubos, sem solo.

As suspensões de solo e herbicidas foram agitadas horizontalmente (Eberbach Agitador, Eberbach Corporation) em sala escura na temperatura de aproximadamente 20 °C, por um período de 24 horas (150 rpm) para atingir o equilíbrio (ARSEGO, 2009). Em seguida as suspensões foram centrifugadas (Centrífuga Modelo 225, Fisher Scientific) por 5 minutos a aproximadamente 2200 rpm. Foram extraídas alíquotas de 1 mL do sobrenadante, em duplicata, que foram misturadas com 10 mL de solução cintiladora. A radioatividade presente nestas alíquotas foi avaliada por Espectrômetro de Cintilação Líquida (ECL).

A diferença entre a concentração inicial do herbicida na solução e a final, após equilíbrio, foi considerada igual ao que foi sorvido no solo. O coeficiente de sorção aparente ($K_{d,app}$, L kg^{-1}) foi determinado pela divisão da concentração do herbicida sorvida (C_s) e a concentração que permaneceu na solução após equilíbrio (C_w), levando em consideração a relação solo:solução, de acordo com a relação abaixo:

$$K_{d,app} = C_s/C_w \quad (2.1)$$

Para o estudo de dessorção, o sobrenadante foi descartado após a centrifugação. Os resíduos da centrifugação foram pesados para determinar a quantidade de solução que ficou retido nas amostras de solo. Em seguida, 16 mL de solução de CaCl_2 (0,01 mol L^{-1}), sem herbicidas, foi adicionada aos frascos. Os tubos

foram agitados por 24 horas e centrifugados por 5 minutos, nas mesmas condições utilizadas no estudo de sorção. Alíquota de 1 mL do sobrenadante foi retirada e misturada com 10 mL de solução cintiladora. A radioatividade foi quantificada por ECL.

O estudo foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, em duplicata. Para a análise dos dados foram empregadas transformações Box-Cox (BOX; COX, 1964). Posterior a transformações de dados segundo o lambda recomendado, foi realizada análise de variância e teste de Tukey (TUKEY, 1949) para comparação das médias de $K_{d,app}$ obtidas nos solos. O teste de Dunnett (DUNNETT, 1955) foi realizado para comparação das médias nos tratamentos em que os herbicidas estavam em mistura, em relação ao tratamento em que estavam isolados. A análise de dados foi realizada usando o software R (R CORE TEAM, 2017). Todos os resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

2.3 Resultados e Discussão

Diuron

Não foi observada interação entre os tipos de solos e os valores de $K_{d,app}$ de sorção de diuron dos tratamentos (isolado ou na presença dos outros herbicidas), quando realizado o teste de ANOVA a 5% de probabilidade. Este resultado indica que os diferentes solos não influenciaram na sorção de diuron em presença dos outros herbicidas.

Em estudo de sorção competitiva do herbicida neutro (não ionizável) metolachlor com atrazine (base fraca) em solo franco, foi observado que a presença de ambas as moléculas na solução diminuiu os valores de K_d de sorção, comparado com os valores de K_d obtidos nos tratamentos em que as moléculas estavam isoladas (FARENHORST; BOWMAN, 1998). Ainda sobre este estudo, a isoterma de sorção obtida para estes herbicidas foi a do tipo L (GILES; SMITH; HUITSON, 1974), pois, foi observado que a afinidade de metolachlor e atrazine ao solo foi alta, quando os herbicidas estavam isolados e em baixa concentração na solução. Conforme houve aumento da concentração dos herbicidas na solução a afinidade diminuiu. Isto indica que houve saturação dos sítios de sorção com o aumento da concentração dos herbicidas na solução. A presença dos dois herbicidas na mesma solução pode ter saturado os sítios de ligação, o que pode estar relacionada com a sorção competitiva.

Um composto é adsorvido preferencialmente a sítios de sorção que tem alta afinidade. À medida que estes sítios de alta afinidade são saturados, a adsorção dos compostos se dá a sítios de menor afinidade, porém essa ligação é mais fraca, favorecendo a sorção competitiva (GAO et al., 1998)

A isoterma de sorção obtida para diuron foi a do tipo L em quatro dos seis solos avaliados da China (LIU et al., 2010). A isoterma de sorção obtida para diuron também foi classificada como do tipo L por González-Pradas et al. (1998), o que de acordo com Giles, Smith e Huitson (1974), indica moderada afinidade de diuron pelos sítios de adsorção. Dessa forma, estamos em discussão se as concentrações dos herbicidas avaliadas neste estudo não foram suficientemente altas para competir por sítios de ligações do solo, ou se hexazinone e sulfometuron-methyl não se ligam aos mesmos sítios de sorção que diuron.

Maiores valores de $K_{d,app}$ de sorção de diuron foram observados no solo Argiloso BM, o qual apresentava maior teor de matéria orgânica e menor pH (MO 19 g kg⁻¹; pH 6,5). A sorção de diuron nos solos franco-argiloso (MO 13,8 g kg⁻¹; pH 8,1) e argiloso CS (MO 18 g kg⁻¹; pH 7,8) foi intermediária e menores valores de $K_{d,app}$ foram observados nos solos franco (MO 10,4 g kg⁻¹; pH 8,0) e franco-arenoso (MO 7,0 g kg⁻¹; pH 8) (Figura 2.1).

Os valores de $K_{d,app}$ correlacionaram positivamente com matéria orgânica ($r=0,79$) em estudo realizado com solos de cultivo de cana-de-açúcar, sugerindo que a partição hidrofóbica foi o principal mecanismo de sorção de diuron para os solos avaliados (GIORI et al., 2014). Correlação positiva entre teor de matéria orgânica ou carbono orgânico também foi observada em outros estudos (AHANGAR et al., 2008; BOEIRA et al., 1998; LIU; CIBES-VIADÉ; KOO, 1970), confirmando a importância do teor de matéria orgânica dos solos na sorção de diuron.

Figura 2.1. Coeficiente de sorção aparente ($K_{d,app}$ L kg⁻¹) de diuron em cinco solos coletados no estado do Texas, EUA. Letras iguais nas barras não são estatísticas diferentes pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão das médias. CS e BM refere-se ao local onde os solos foram coletados, College Station e Beaumont, respectivamente.

Os valores de coeficiente de sorção aparente de diuron variaram entre 1,63 a 8,96 L kg⁻¹ (média de 5,09 L kg⁻¹). Valor médio menor se comparado ao obtido por Giori et al. (2014) em que os valores $K_{d,app}$ variaram entre 6,2 a 116,3 L kg⁻¹ (média de 28,8 L kg⁻¹) em solos típicos de cultivo de cana-de-açúcar. Neste estudo os solos avaliados apresentavam maior variação de carbono orgânico (CO 7 a 26 g kg⁻¹), como também teor de argila (argila 176 a 684 g kg⁻¹) o que pode estar relacionado com a maior média de $K_{d,app}$.

Além disso, o pH dos solos no estudo realizado por Giori et al., (2014) eram menores (pH 4,7 a 5,3) se comparados ao pH dos solos do presente estudo (pH 6,5 a 8,1; Tabela 2.1). Em outro estudo, o pH da solução de CaCl₂ (0,01M) foi ajustado a 5, 7, 9 (relação solo: solução 1:10) e foi observado que a sorção de diuron foi maior quando o pH era mais baixo e diminuiu com o aumento do pH nas suspensões (LIU et al., 2010). De acordo com Liyanage et al. (2006) devido ao fato de diuron ser um herbicida não iônico, é esperado que não haja efeito direto do pH na sorção do

herbicida, porém, pode ocorrer um efeito indireto, uma vez que o pH pode influenciar em algumas propriedades da matéria orgânica presente nos solos.

Na literatura são encontrados diferentes valores de K_d de sorção de diuron, dependendo dos atributos dos solos estudados e profundidade, entre outros fatores. Os valores de K_d variaram entre 1,4 a 4,3 $L\ kg^{-1}$, em diferentes profundidades de solos argilosos coletados na área de recarga do aquífero Guarani (MATALLO et al., 2005). Houve variação de K_d de sorção entre 1,7 a 29 $L\ kg^{-1}$, em estudo de sorção realizado em solos coletados em diferentes profundidades e horizontes da paisagem (AHANGAR et al., 2008). Em solos coletados no Sri Lanka o valor de K_d de sorção de diuron variou entre 0,5 a 75 $L^{-1}\ kg$ (LIYANAGE et al., 2006). Os valores de K_d foram de 0,731 e 363,9 $L\ kg^{-1}$ nos solos que apresentavam menor e maior teor de matéria orgânica, respectivamente, coletados em Porto Rico, na camada de 0-15 cm (LIU; CIBES-VIADÉ; KOO, 1970).

Em relação a dessorção de diuron, foi observada interação entre os tipos de solos e as médias dos valores de $K_{d,app}$ de dessorção dos tratamentos em que diuron estava isolado, em soluções binárias ou ternárias. Porém, quando avaliada a diferença entre os tratamentos em cada solo separadamente, a dessorção de diuron não foi diferente entre os tratamentos em que estava isolado ou em presença dos outros herbicidas, pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

A dessorção de diuron correspondeu as médias de 3,2%, 3,8% e 5,7% em relação ao total sorvido para os solos franco-argiloso, argiloso BM e argiloso CS (dados não apresentados). Nos solos onde ocorreu menor sorção do herbicida, solos franco e franco-arenoso, a dessorção correspondeu a 12% e 10% em relação ao total sorvido, respectivamente. Em estudo realizado por Giori et al. (2014) a dessorção correspondeu a 6-34% em relação ao total adsorvido de diuron em diferentes solos.

Ainda sobre o estudo realizado por Giori et al. (2014), foi observado que o coeficiente de histerese (H) aumentou à medida que os valores de CTC, teores de argila e carbono orgânico (CO) dos solos aumentaram. O maior valor de histerese observado para diuron nestes solos, com maiores teores de argila, CO e valor CTC, sugerem a formação de ligações fortes, provavelmente devido a interações mais específicas, o que pode contribuir para a formação de resíduo ligado nos solos.

Resultado semelhante foi obtido por Liu et al. (2010), em que apesar da taxa de dessorção de diuron nos seis solos coletados da China terem sido baixas, a taxa de dessorção foi maior no solo que apresentava menor teor de matéria orgânica. Além

disso, foi observado que os valores de K_f de dessorção obtidos, diminuíram à medida que o teor de matéria orgânica dos solos aumentou. Este comportamento de dessorção foi o inverso ao observado no estudo de sorção, em que houve maior sorção nos solos com maior teor de matéria orgânica.

Sulfometuron-methyl

Comportamento semelhante ao diuron ocorreu no caso de sulfometuron-methyl, em que a presença de outros herbicidas (diuron e hexazinone) não influenciou na sua sorção aos solos comparada à sorção obtida no tratamento em que estava isolado. Além disso, não foi observada interação entre os tipos de solos e os valores de $K_{d,app}$ de sorção nos tratamentos isolados ou em mistura ($p > 0,05$).

No caso de sulfometuron-methyl, o aumento da concentração do herbicida na solução (0,006; 0,02; 0,06 e 0,2 mg L⁻¹) não influenciou nos valores de K_d de sorção (AZCARATE; MONTOYA; KOSKINEN, 2015). Quando a isoterma é linear, a sorção entre o sorvente e sorvato é independente da concentração e ocorre a ausência de competição entre co-solutos (XING; PIGNATELLO; GIGLIOTTI, 1996). Dessa forma, o tipo de isoterma de sorção de sulfometuron-methyl pode explicar a ausência de sorção competitiva entre este herbicida e os herbicidas, diuron e hexazinone.

Os valores de coeficiente de sorção aparente de sulfometuron-methyl variaram de 0,1 a 2,87 L kg⁻¹ (média=0,75 L kg⁻¹). Estes valores estão de acordo com a literatura. Os valores de K_d de sorção de sulfometuron-methyl variaram entre 0,14 a 1,18 L kg⁻¹ em estudo realizado em solos brasileiros (OLIVEIRA JR; KOSKINEN; FERREIRA, 2001). Em outro estudo, os valores de K_d de sorção de sulfometuron-methyl variaram de 0,02 a 0,05 L kg⁻¹ em solos coletados de diferentes horizontes e profundidades na Argentina (AZCARATE; MONTOYA; KOSKINEN, 2015).

Maior sorção de sulfometuron-methyl ocorreu no solo com menor pH e maior teor de matéria orgânica (argiloso BM=pH 6,5; MO 19 g kg⁻¹), com 9,4% de sulfometuron-methyl sorvido ao solo, em relação a concentração inicial. Nos solos franco-argiloso, argiloso CS e franco-arenoso os valores $K_{d,app}$ de sorção foram intermediários (Figura 2.2), sendo que a porcentagem de sulfometuron-methyl sorvida foi de 2,6%; 1,7% e 2,6%, em relação a concentração inicial. No solo franco, que apresentava menor teor de matéria orgânica, a porcentagem de herbicida sorvido foi de 1,3%.

Figura 2.2. Coeficiente de sorção aparente ($K_{d,app}$ L kg⁻¹) de sulfometuron-methyl de cinco solos coletados no estado do Texas, EUA. Letras iguais nas barras não são estatísticas diferentes pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão das médias. CS e BM refere-se ao local onde os solos foram coletados, College Station e Beaumont, respectivamente.

Foi observada correlação positiva entre os valores de K_d de sorção de sulfometuron-methyl e o teor de carbono orgânico do solo (OLIVEIRA JR; KOSKINEN; FERREIRA, 2001), ou seja, conforme o teor de matéria orgânica no solo aumentou, ocorreu o aumento na taxa de sorção deste herbicida. Harvey, Dulka e Anderson (1985) obtiveram valores de K_f de sorção de sulfometuron-methyl de 0,97 e 2,85 nos solos com menor e maior teor de matéria orgânica, respectivamente. Máxima sorção dos herbicidas sulfoniluréias, rimsulfuron e primisulfuron, ocorreu no solo que apresentava o menor valor de pH (5,6) e maior teor de matéria orgânica (2,9%), em estudo que avaliou a sorção destes herbicidas em seis solos do Estado de Colorado, EUA (VICARI et al., 1996).

Sulfometuron-methyl é um herbicida ácido fraco (pKa 5,2) do grupo químico das sulfoniluréias (SHANER, 2014). Herbicidas ácidos fracos são capazes de doar próton e ficar carregados negativamente, quando o pH do meio é superior ao pKa do

herbicida. Quando o pH do meio é menor que seu pKa, a tendência é que estes herbicidas estejam na forma molecular ou neutra (SILVA et al., 2014). Uma vez que a forma neutra das moléculas sulfoniluréias é mais lipofílica comparadas com as formas aniônicas, a solubilidade em água, a sorção ao solo e sua mobilidade são influenciadas pelo pH do solo (BROWN, 1990).

Wehtje et al. (1987) observaram que à medida que o pH dos solos aumentava, a presença de sulfometuron-methyl também aumentava na solução de cinco solos coletados no Alabama, EUA, em que as porcentagens de sulfometuron-methyl na solução do solo franco-argilo-arenoso eram de 33% e 52% no pH de 5,8 e 6,0, respectivamente. Em outro estudo, foi observada correlação negativa entre pH e os valores de K_d de sorção dos herbicidas sulfoniluréias, rimsulfuron e nicosulfuron. No caso de sulfometuron-methyl, não foi observada correlação entre os valores de K_d de sorção e o pH dos solos, o que de acordo com os autores, foi devido à baixa sorção de sulfometuron-methyl nos solos avaliados e aos altos valores de desvios padrão (AZCARATE; MONTOYA; KOSKINEN, 2015).

O total de sulfometuron-methyl sorvido retornou à solução após ser realizado o procedimento de dessorção nos solos franco-arenoso, argiloso CS, franco e franco-arenoso. No solo argiloso BM, que apresentou a maior sorção do herbicida, a dessorção correspondeu em média a 7,5% do total adsorvido. Azcarate, Montoya e Koskinen (2015) observaram resultados semelhantes aos obtidos no solo argiloso BM, em que no estudo de dessorção de sulfometuron-methyl foi observado o fenômeno de histerese, ou seja, o herbicida não retornou totalmente para a solução, apesar de ter sido pouco sorvido.

Hexazinone

Houve interação entre os valores de $K_{d,app}$ de sorção de hexazinone (isolado ou mistura) e os tipos de solos ($p < 0,05$). No solo argiloso CS, o valor de $K_{d,app}$ foi menor no tratamento em que hexazinone estava na solução com diuron (Figura 2.3), quando comparado com o tratamento em que hexazinone estava isolado (Dunnett a 5% de probabilidade).

Quando hexazinone estava em presença de diuron mais sulfometuron-methyl na solução, a média $K_{d,app}$ de sorção foi aparentemente maior, porém não houve diferença significativa em relação ao tratamento em que hexazinone estava isolado

($p > 0,05$). Nos outros solos, a sorção de hexazinone isolado e em mistura não variou entre os tratamentos ($p > 0,05$; Figura 2.3).

Figura 2.3. Coeficiente de sorção aparente ($K_{d,app}$ L kg⁻¹) de hexazinone isolado na solução e na presença de sulfometuron-methyl e diuron, em soluções binárias e ternárias em solo argiloso (argiloso CS – College Station) coletado no estado do Texas, EUA. *média estatisticamente diferente da testemunha (hexazinone isolado) pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão das médias.

Lourencetti, De Marchi e Ribeiro (2012) testaram a sorção competitiva de hexazinone, diuron e tebuthiuron, porém não foi observado efeito da mistura na sorção destes herbicidas. Como supracitado a isoterma de sorção de diuron foi classificada como do tipo L, de acordo com a classificação de Giles, Smith e Huitson, (1974) em diferentes estudos (GIORI et al., 2014; GONZÁLEZ-PRADAS et al., 1998). Em estudo realizado por Pereira-Júnior et al. (2015) a isoterma de sorção de hexazinone obtida também foi a do tipo L, isto indica que estes dois herbicidas são sorvidos de forma semelhante aos colóides do solo, o que pode estar relacionado com a sorção competitiva.

Ademais, a solubilidade de diuron em água (42 mg L^{-1} a 25°C) é menor que a solubilidade de hexazinone ($33\,000 \text{ mg L}^{-1}$ a 25°C) (SHANER, 2014). A menor solubilidade de diuron em água pode ter favorecido sua sorção em relação ao hexazinone no solo argiloso CS. Além disso, o valor médio de $K_{d,app}$ de sorção obtido para diuron no solo argiloso CS foi de $5,36 \text{ kg L}^{-1}$ (Figura 2.1) sendo mais sorvido, cerca de 5 vezes, que hexazinone ($K_d 1,03 \text{ kg L}^{-1}$). Estes resultados podem explicar a diferença de comportamento na sorção competitiva, uma vez que hexazinone não influenciou a sorção de diuron em nenhum dos solos testados.

De forma semelhante, a solubilidade em água influenciou a competição por sítios de sorção entre atrazine e seus metabolitos, em outro estudo. A sorção de atrazine às fibras de carvão ativado não foi influenciada pela presença dos seus metabolitos, DEA (deethylatrazine) e DIA (deisopropylatrazine). Porém, a presença de atrazine na solução diminuiu a sorção dos metabolitos. Os autores atribuíram este comportamento a diferenças de solubilidade das moléculas em água, pois a solubilidade de DEA e DIA era maior que a de atrazine, o que pode ter desfavorecido a sorção dos metabolitos ao material (FAUR; MÉTIVIER-PIGNON; LE CLOIREC, 2005).

A presença de atrazine e simazine na mesma solução, reduziu a sorção destes herbicidas a fibras de carvão ativado. O decréscimo na capacidade de sorção variou de 20 a 80%, para atrazine e de 40 a 60% para simazine, comparado quando os herbicidas estavam isolados na solução. Estes herbicidas pertencem ao mesmo grupo químico e a solubilidade em água de ambas as moléculas são similares. Isto pode estar relacionada com a competição pelos mesmos sítios de sorção, de acordo com os autores (FAUR; MÉTIVIER-PIGNON; LE CLOIREC, 2005).

MCPA mostrou ser preferencialmente sorvido quando em presença de 2,4-D na mesma solução, não havendo diferenças entre as isotermas de sorção dos tratamentos em que o herbicida estava isolado ou em mistura. Por outro lado, a presença de MCPA na solução diminuiu a sorção de 2,4-D (KAMINSKI; KUSMIEREK; SWIATKOWSKI, 2014).

Os valores de coeficiente de sorção aparente de hexazinone variaram entre $0,08$ a $2,62 \text{ L kg}^{-1}$ (média= $0,9 \text{ L kg}^{-1}$). Pereira-Júnior et al. (2015) obtiveram valores de $K_{d,app}$ entre $0,18$ a $1,72 \text{ L kg}^{-1}$ (média= $0,6 \text{ L kg}^{-1}$), valores similares aos observados neste estudo. Koskinen, Stone e Harris (1996) obtiveram valores de K_d entre $0,0011$

a $1,1 \text{ L kg}^{-1}$. Oliveira Jr, Koskinen e Ferreira (2001) obtiveram valores de $K_d < 1,6 \text{ L kg}^{-1}$ (entre $0,13$ a $1,58 \text{ L kg}^{-1}$) e considerou a sorção de hexazinone fraca.

Os valores $K_{d,app}$ foram estatisticamente iguais nos três solos que apresentavam os maiores teores de matéria orgânica ($13,8$; $18,0$ e $19,0 \text{ g kg}^{-1}$) e maiores teores de argila (300 , 480 e 480 g kg^{-1}), no caso os solos franco-argiloso, argiloso CS e argiloso BM, respectivamente. Nos solos com menor teor de matéria orgânica e argila (franco: MO $10,4$ e argila 240 ; franco arenoso: MO $7,0$ e argila 160) a sorção de hexazinone foi menor (Figura 2.4).

O $K_{d,app}$ de hexazinone apresentou correlação positiva com vários atributos dos solos, entre eles teor de carbono orgânico, CTC e teor de argila (PEREIRA-JUNIOR et al., 2015). Os valores de carbono orgânicos de solos brasileiros também se correlacionaram com os valores de K_d de hexazinone (OLIVEIRA JR; KOSKINEN; FERREIRA, 2001).

Figura 2.4. Coeficiente de sorção aparente ($K_{d,app} \text{ L kg}^{-1}$) de hexazinone de cinco solos coletados no estado do Texas, EUA. Letras iguais nas barras não são estatísticas diferentes pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão das médias. CS e BM refere-se ao local onde os solos foram coletados, College Station e Beaumont, respectivamente.

O total sorvido de hexazinone ao solo retornou à solução em praticamente todos os tratamentos após o procedimento de dessorção. Hexazinone apenas não retornou à solução do solo em alguns tratamentos dos solos franco-argiloso, argiloso

CS e argiloso BM. Como pode ser observado, hexazinone permaneceu sorvido no solo em que ocorreu a maior sorção do herbicida, em alguns tratamentos. Devido à baixa volatilidade de hexazinone e relativa lenta degradação (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011) pode-se considerar que o hexazinone não detectado na solução ficou sorvido ao solo.

2.4 Conclusão

A mistura de hexazinone com diuron diminuiu sua sorção em um dos solos avaliados, contudo a mistura com outros herbicidas não afetou a sorção de diuron e sulfometuron-methyl. O solo com menor pH e maior teor de matéria orgânica sorveu mais diuron e sulfometuron-methyl. A sorção de hexazinone foi maior nos solos que apresentavam maior teor de matéria orgânica. A dessorção de diuron foi maior nos solos onde o herbicida foi menos sorvido. O total de sulfometuron-methyl sorvido retornou à solução do solo após o procedimento de dessorção, exceto no solo onde ocorreu a maior sorção do herbicida. O total de hexazinone sorvido retornou à solução do solo em praticamente todos os tratamentos após o procedimento de dessorção.

Referências

- AHANGAR, A. G. et al. Clear effects of soil organic matter chemistry, as determined by NMR spectroscopy, on the sorption of diuron. **Chemosphere**, v. 70, n. 7, p. 1153–1160, 2008.
- ARMAS, E. D. et al. Spatial-temporal diagnostic of herbicide occurrence in surface waters and sediments of Corumbataí River and main affluents. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1119–1127, 2007.
- ARSEGO, I. B. **Sorção dos herbicidas diuron e hexazinone em solos de texturas contrastantes**. [s.l.] 2009. 66p. Dissertação (Mestrado em Agronomia. Área de concentração: Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2009.
- AZCARATE, M. P.; MONTOYA, J. C.; KOSKINEN, W. C. Sorption, desorption and leaching potential of sulfonylurea herbicides in Argentinean soils. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 50, p. 229–237, 3 abr. 2015.
- BOEIRA, R. C. et al. **Sorção de Diuron em Solos com Diferentes Texturas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1998.

BOX, G. E. .; COX, D. . An analysis of transformations. **Journal of the Royal Statistical Society**, v. 16, p. 211–252, 1964.

BROWN, H. M. Mode of action, crop selectivity, and soil relations of the sulfonylurea herbicides. **Pesticide Science**, v. 29, n. 3, p. 263–281, 1990.

BRADY, N. C.; WEIL, R. R. **Elementos da Natureza e Propriedades dos solos**. Porto Alegre: Bookman, 2013.

CÁCERES-JENSEN, L. et al. Sorption kinetics of diuron on volcanic ash derived soils. **Journal of Hazardous Materials**, v. 261, p. 602–613, 2013.

DANTAS, A. D. B. et al. Removal of diuron and hexazinone from guarany aquifer groundwater. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 28, n. 3, p. 415–424, 2011.

DUNNETT, C. . A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. **Journal of the American Statistical Association**, v. 50, p. 1096–1121, 1955.

DUPONT Front ®. Disponível em: <<http://www.dpfront.com.br/index.php>>. Acesso em: 4 fev. 2017.

FARENHORST, A.; BOWMAN, B. T. Competitive sorption of atrazine and metolachlor in soil. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 33, n. 6, p. 671–682, nov. 1998.

FAUR, C.; MÉTIVIER-PIGNON, H.; LE CLOIREC, P. Multicomponent Adsorption of Pesticides onto Activated Carbon Fibers. **Adsorption**, v. 11, n. 5–6, p. 479–490, nov. 2005.

GAO, J. P. et al. Sorption of pesticides in the sediment of the Teufelsweiher pond (Southern Germany). II: Competitive adsorption, desorption of aged residues and effect of dissolved organic carbon. **Water Research**, v. 32, n. 7, p. 2089–2094, jul. 1998.

GARCIA, D. B. et al. Diuron, hexazinone and sulfometuron-methyl leaching separately and in commercial formulation in two contrasting soils. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 11, n. 2, p. 222, 2012.

GILES, C. H.; SMITH, D.; HUITSON, A. A general treatment and classification of the solute adsorption isotherm. I. Theoretical. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 47, n. 3, p. 755–765, jun. 1974.

GIORI, F. G. et al. Sugarcane straw management and soil attributes on alachlor and diuron sorption in highly weathered tropical soils. **Journal of Environmental Science and Health Part B-Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes**, v. 49, n. 5, p. 352–360, 2014.

GONZÁLEZ-PRADAS, E. et al. Sorption and leaching of diuron on natural and peat-amended calcareous soil from Spain. **Water Research**, v. 32, n. 9, p. 2814–2820, set. 1998.

HARVEY, J.; DULKA, J. J.; ANDERSON, J. J. Properties of sulfometuron methyl affecting its environmental fate: aqueous hydrolysis and photolysis, mobility and adsorption on soils, and bioaccumulation potential. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 33, n. 4, p. 590–596, 1985.

INOUE, M. H. et al. Leaching potential and degradation of diuron in two soils of contrasting texture. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 30, n. 5, 12 dez. 2008.

KAMINSKI, W.; KUSMIEREK, K.; SWIATKOWSKI, A. Sorption equilibrium prediction of competitive adsorption of herbicides 2,4-D and MCPA from aqueous solution on activated carbon using ANN. **Adsorption**, v. 20, n. 7, p. 899–904, 6 out. 2014.

KHAN, M. A.; BROWN, C. D. Influence of commercial formulation on leaching of four pesticides through soil. **Science of The Total Environment**, v. 573, p. 1573–1579, dez. 2016.

KOSKINEN, W. C.; STONE, D. M.; HARRIS, A. R. Sorption of hexazinone, sulfometuron methyl, and tebuthiuron on acid, low base saturated sands. **Chemosphere**, v. 32, n. 9, p. 1681–1689, maio 1996.

LIU, L. C.; CIBES-VIADÉ, H.; KOO, F. K. S. Adsorption of ametryne and diuron by soils. **Weed Science**, v. 18, p. 470–474, 1970.

LIU, Y. et al. Adsorption and desorption behavior of herbicide diuron on various Chinese cultivated soils. **Journal of Hazardous Materials**, v. 178, n. 1–3, p. 462–468, 2010.

LIU; ZHENG, W.; GAN, J. Competitive Sorption between Imidacloprid and Imidacloprid-urea on Soil Clay Minerals and Humic Acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 23, p. 6823–6827, nov. 2002.

LIYANAGE, J. A. et al. Sorption of carbofuran and diuron pesticides in 43 tropical soils of Sri Lanka. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 5, p. 1784–1791, 2006.

LOURENCETTI, C.; DE MARCHI, M. R. R.; RIBEIRO, M. L. Influence of sugar cane vinasse on the sorption and degradation of herbicides in soil under controlled conditions. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 47, n. 10, p. 949–958, nov. 2012.

MARTINS, J. M.; MERMOUD, A. Sorption and degradation of four nitroaromatic herbicides in mono and multi-solute saturated/unsaturated soil batch systems. **Journal of Contaminant Hydrology**, v. 33, n. 1–2, p. 187–210, 1998.

MATALLO, M. et al. Sorption, Degradation, and Leaching of Tebuthiuron and Diuron in Soil Columns. **Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v. B40, n. February, p. 39–43, 2005.

OECD. **Test No. 106: Adsorption -- desorption using a Batch Equilibrium method**. Disponível em: <http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-106-adsorption-desorption-using-a-batch-equilibrium-method_9789264069602-en>. Acesso em: 23 fev. 2017.

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

PATEIRO-MOURE, M.; ARIAS-ESTÉVEZ, M.; SIMAL-GÁNDARA, J. Competitive and non-competitive adsorption/desorption of paraquat, diquat and difenzoquat in vineyard-devoted soils. **Journal of Hazardous Materials**, v. 178, n. 1–3, p. 194–201, jun. 2010.

PEREIRA-JUNIOR, E. V et al. Effects of soil attributes and straw accumulation on the sorption of hexazinone and tebuthiuron in tropical soils cultivated with sugarcane. **Journal of Environmental Science & Health Part B: Science and health. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes**, v. 50, n. 4, p. 238–46, 2015.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Disponível em: <<http://www.r-project.org>>. Acesso em: 18 fev. 2017.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. L. S. **Guia de herbicidas**. 6. ed. Londrina: Edição dos autores, 2011.

SHANER, D. L. **Herbicide Handbook. . 10th Edition**. 10. ed. Champaign: Weed Science Society of America, 2014.

SILVA, A. A. DA et al. Comportamento de herbicidas no solo. In: MONQUERO, P. A. (Ed.). **Aspectos da Biologia e Manejo das Plantas Daninhas**. São Carlos: Rima, 2014. p. 165–216.

SINGH, B. K.; WALKER, A.; WRIGHT, D. J. Degradation of chlorpyrifos, fenamiphos, and chlorothalonil alone and in combination and their effects on soil microbial activity. **Environmental toxicology and chemistry / SETAC**, v. 21, n. 12, p. 2600–2605, 2002.

SWARCEWICZ, M. K.; GREGORCZYK, A. The effects of pesticide mixtures on degradation of pendimethalin in soils. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, n. 5, p. 3077–3084, 2012.

TORNISIELO, V. L. et al. Pesticide Tank Mixes: An Environmental Point of View. In: PRICE, A. ; KELTON, J. . (Eds.). **Herbicides - Current Research and Case Studies in Use**. Rijeka: InTech, 2013. p. 473–487.

TUKEY, J. . Comparing individual means in the Analysis of Variance. **Biometrics**, v. 5, p. 99, 1949.

UNIVERSITY OF HERTFORDSHIRE. **Pesticide properties database**. Disponível em: <<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/index2.htm>>. Acesso em: 4 fev. 2017.

VICARI, A. et al. Primisulfuron and rimsulfuron degradation in aqueous solution and adsorption in six Colorado soils. **Weed Science**, v. 44, n. 3, p. 672–677, 1996.

WEHTJE, G. et al. Sorption and mobility of sulfometuron and imazapyr in five Alabama soils. **Weed Science**, v. 33, p. 858–864, 1987.

XING, B.; PIGNATELLO, J. J.; GIGLIOTTI, B. Competitive sorption between atrazine and other organic compounds in soils and model sorbents. **Environmental Science & Technology**, v. 30, n. 8, p. 2432–2440, jan. 1996.

3. LIXIVIAÇÃO DE DIURON, HEXAZINONE E SULFOMETURON-METHYL APLICADOS ISOLADOS E EM MISTURA EM SOLOS DE TEXTURA CONTRASTANTES.

Resumo

Quando herbicidas são aplicados em mistura, interações podem ocorrer afetando seu comportamento nos solos. Com objetivo de verificar se estas interações podem afetar o destino final de herbicidas, estudos de lixiviação foram realizados utilizando colunas preenchidas com dois solos agrícolas de textura muito-argilosa (Latossolo Vermelho eutrófico) e arenosa (Neossolo Quartzarênico órtico típico). A lixiviação de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl foi comparada após aplicação dos herbicidas isolados e a combinação dos três herbicidas. Após aplicação, foi simulada chuva por 48 horas (192 mm de lamina d'água). O estudo foi realizado em delineamento inteiramente casualizado. A porcentagem de diuron e hexazinone detectada nas camadas da coluna dos solos não foi diferente quando estavam em mistura. Porém, maior porcentagem foi detectada (5,01%) nos lixiviados quando hexazinone foi aplicado em mistura, em comparação com a aplicação isolada (1,45%), em solo arenoso. No caso do diuron, a porcentagem do herbicida detectada nos lixiviados dos solos não excedeu 0,13% e diferenças entre os modos de aplicação foram detectadas nos lixiviados do solo argiloso, porém a diferença foi baixa (<0,04%). Os herbicidas hexazinone e diuron foram mais lixiviados quando estavam em mistura com os demais herbicidas da formulação. A lixiviação de hexazinone e sulfometuron-methyl foi maior no solo arenoso. Os solos não afetaram a lixiviação de diuron.

Palavras-chave: Mobilidade; Herbicidas radiomarcados; Destino no ambiente; Mistura de tanque

Abstract

Combined herbicide mixture applied to soil can potentially promote changes in herbicide behavior in the soil due to their interaction. Thus, the method of application (isolated or in mixture) and soil texture (sandy or clayey) were investigated on the leaching of the commercial mixture diuron+hexazinone+sulfometuron-methyl, and of each isolated compound. Experiments in soil columns were also evaluated the movement of each herbicide and mixtures across soil layers. The percentage recovered of hexazinone and diuron, in the soil layers, were not influenced by the mode of application. However, a greater percentage of hexazinone was detected in the leachates of sandy soil (5.01%). In the case of diuron, the percentage of the herbicide detected in the leachates did not exceed 0.13% and

differences between method of application were detected in the clay soil. The combined application did not affect the leaching of sulfometuron-methyl. Sulfometuron-methyl and hexazinone had higher leaching in sandy soil.

Keywords: Mobility; Radiolabeled herbicides; Environmental fate; Tank mixture

3.1 Introdução

A aplicação de herbicidas é uma prática bem estabelecida e eficaz para controle de plantas daninhas em áreas agrícolas. Contudo, preocupações ambientais têm surgido, uma vez que essas moléculas foram detectadas em estudos de qualidade de águas superficiais e subterrâneas (ARMAS et al., 2007). Após a aplicação no campo, alguns herbicidas podem lixiviar através do solo pela água da chuva ou de irrigação. Esse fenômeno, apesar de ser necessário para controlar as plantas daninhas que estão germinando, pode causar a perda do herbicida no ambiente. O maior ou menor potencial de lixiviação de herbicidas é dependente das propriedades físico-químicas das moléculas e dos atributos solos (KOGAN; PÉREZ, 2003; RAO; HORNSBY, 1999).

A mobilidade de herbicidas e outros compostos orgânicos pode ser estudada no campo utilizando lisímetros, coletando camadas de solo após a aplicação de herbicidas ou em condições laboratoriais utilizando colunas de solo deformado ou não deformado (GUZZELLA et al., 2006). Apesar do fato dos estudos de lixiviação em condições de laboratório não quantificar ou prever a lixiviação de herbicidas sob condições de campo, este tipo de estudo pode ser utilizado para comparar diferentes produtos químicos e para determinar o potencial de lixiviação ou mobilidade dos herbicidas nos solos (OECD, 2017).

A mistura comercial de diuron + hexazinone + sulfometuron-methyl é recomendada para o controle de plantas daninhas em aplicação em pré-emergência no cultivo de cana-de-açúcar. Hexazinone é um base fraca (pK_b 2,2) (UNIVERSITY OF HERTFORDSHIRE, 2017), apresenta solubilidade elevada em água (33000 mg L⁻¹ a 25°C) e meia-vida de degradação de campo de 90 dias. O herbicida neutro diuron (constante de dissociação não aplicável) tem baixa solubilidade em água (42 mg L⁻¹ a 25 ° C) e meia-vida de dissipação média no campo de 90 dias. O herbicida ácido fraco

sulfometuron-methyl (pKa 5,2) apresenta solubilidade moderada (300 mg.L⁻¹ a pH 7; 25°C) e apresenta meia-vida de dissipação entre meia-vida 20-28 dias (SHANER, 2014).

O controle de plantas daninhas tem sido amplamente estudado após a aplicação de dois ou mais herbicidas em mistura em relação a eficácia, antagonismo e/ou sinergismo da mistura. No entanto, existe pouca informação na literatura sobre a mistura de herbicidas e sua interação com o solo. Isto porque, a maioria desses estudos avaliam o comportamento das moléculas individualmente (TORNISIELO et al., 2013).

Mendes et al (2016) avaliou a lixiviação de diuron + hexazinone + sulfometuron-methyl em condições de laboratório por cromatografia, utilizando colunas de solos. Foi observada alta lixiviação de hexazinone em solo franco-arenoso. Sulfometuron-methyl foi lixiviado até a camada de 15-20 cm em solo argilo-arenoso, e maior porcentagem de diuron foi detectada na camada de 0-5 cm, nos solos argilo-arenoso e franco-arenoso. Contudo, não foi avaliada a aplicação das moléculas isoladas nestes mesmos solos, o que permitiria a comparação com a aplicação em mistura.

Estudo foi realizado por Garcia et al. (2012), com o objetivo de comparar a lixiviação da mistura formulada de diuron+hexazinone+sulfometuron-methyl com a lixiviação das moléculas isoladas. Foi observado que no solo argiloso, a simulação de chuva (40 mm) não foi suficiente para promover diferenças na lixiviação entre a mistura e hexazinone. Porém no solo arenoso, quando simulada a chuva de 40 mm, hexazinone e a mistura dos herbicidas foram lixiviadas até 13 e 17 cm de profundidade, respectivamente, causando 80% de controle do bioindicador (*Ipomoea triloba*), 21 DAT.

Ainda sobre o estudo de Garcia et al (2012), sulfometuron-methyl e diuron foram lixiviados até 10 cm do perfil do solo, com 60% de controle do bioindicador, em solo arenoso, aos 21 DAT. Estes resultados indicam que a mistura dos herbicidas foi lixiviada até camadas mais profundas da coluna do solo comparado as moléculas aplicadas individualmente. Este estudo trouxe informações importantes em relação a lixiviação desses herbicidas, contudo por ter utilizado bioindicadores, tornou-se difícil a avaliação da lixiviação de cada molécula individualmente, quando aplicadas em mistura.

Com o objetivo de se esclarecer se a aplicação em mistura, em diferentes solos pode influenciar no destino final de herbicidas, foi avaliada a lixiviação de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl aplicados isolados e em mistura em dois solos agrícolas com texturas contrastantes (solo muito-argiloso e arenoso).

3.2 Material e métodos

Experimento utilizando colunas de solos foram realizados no Laboratório de Ecotoxicologia do CENA/USP (Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo), localizado em Piracicaba, SP. A metodologia utilizada baseou-se no guia “Leaching in Soil Columns” (OECD, 2017). O experimento foi conduzido em sala escura a $20 \pm 2^\circ\text{C}$.

Preparo das colunas de solo

Os solos utilizados foram coletados nas profundidades de 0-10 cm em áreas de produção de cana-de-açúcar do Estado de São Paulo, após limpeza do material vegetal presente na superfície do solo. Os solos foram classificados como Neossolo Quartzarênico órtico típico (RQ - S'22°34'25.1; H'048°00'37.9) e Latossolo Vermelho eutrófico (LVe - S'22°39'01.1; H'047°32'41.9). Após a coleta, os solos foram secos a temperatura ambiente, peneirados (2mm-malha) e armazenados à temperatura ambiente, até análises posteriores. Amostras de solos foram analisadas pelo Departamento de Solos da ESALQ (Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”) e os resultados das análises químicas e físicas dos solos estão apresentados na Tabela 3.1.

Colunas de vidro (50 cm de comprimento e 5 cm de diâmetro) foram preparadas colocando lã de vidro na ponta cônica do funil, em seguida areia lavada e finalmente os solos. Cada coluna foi preenchida até 30 cm, colocando pequenas porções de solo seco na base da coluna. As colunas foram vibradas para acomodar as amostras de solo e evitar a formação de bolhas.

Em seguida as colunas de vidro, já preenchidas com os solos, foram colocadas em suportes. Em suas bases foram colocados béqueres contendo solução de 0,01 M de cloreto de cálcio (CaCl_2) para que fossem saturadas e a solução alcançasse o topo da coluna de solos. Em seguida, os béqueres foram retirados e a drenagem do excesso de solução 0,01 M CaCl_2 foi permitida, até o momento em que

não foi mais observado gotejamento da solução (1 a 2 horas). A densidade aparente das colunas era de $1,6 \text{ g cm}^{-3}$ para colunas preenchidas com solo arenoso e $1,2 \text{ g cm}^{-3}$ para solo argiloso.

Tabela 3.1. Resultados das análises químicas e físicas dos solos utilizados. Piracicaba, SP.

Atributos	Unidades	Solo mt-argiloso (LVe)	Solo arenoso (NQ)
pH (H ₂ O)	-	6,4	7,2
pH (KCL)	-	5,2	5,8
M.O	g kg^{-1}	41,0	11,0
P	mg kg^{-1}	28,0	36,0
K	mmolc kg^{-1}	9,2	0,5
Ca	mmolc kg^{-1}	40,0	17,0
1Mg	mmolc kg^{-1}	16,0	5,0
H+Al	mmolc kg^{-1}	35,0	13,0
SB	mmolc kg^{-1}	65,2	22,5
CTC	mmolc kg^{-1}	100,2	35,5
V	%	65	63
Areia Total	g kg^{-1}	250,0	906,0
Silte	g kg^{-1}	130,0	19,0
Argila	g kg^{-1}	610,0	75,0
Classe textura	-	muito-argiloso	arenoso

Fonte: laboratório do Departamento de Ciência do Solo, ESALQ, USP, Piracicaba, São Paulo.

pH potencial hidrogeniônico, *pH_{KCL}* pH em KCL 1 mol L^{-1} Kpotássio; *Ca* cálcio, *Mg* magnésio; *CTC* capacidade de troca catiônica; *P* fósforo; *MO* matéria orgânica; *H+Al* acidez potencial; *SB* saturação por base; *V* Saturação da CTC por bases.

NQ Neossolo Quartzarênico órtico típico, *LVe* Latossolo Vermelho eutrófico. Classificação de acordo com Sistema Brasileiro de Solos (EMBRAPA, 2013).

Características dos herbicidas

O herbicida radiomarcado diuron [3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea] e sulfometuron-methyl {methyl-2-[(4,6-dimethylpyrimidin-2-yl) carbamoyl sulfamoyl] benzoate} (DUPONT, Wilmington, DE, USA) apresentavam a pureza radioquímica de 97,1% e 99%, respectivamente, e atividade específica de $3,83 \text{ MBq mg}^{-1}$ (Phenyl-14-C (U)) e $1,12 \text{ MBq mg}^{-1}$ (14C-pyrimide-2-). O herbicida radiomarcado hexazinone [3-cyclohexyl-6-dimethylamino-1-methyl-1,3,5-triazine-2,4 (1H,3H)-dione] (International Isotopes Inc., USA) apresentava pureza radioquímica de 97,99% e atividade específica de $3,14 \text{ MBq mg}^{-1}$ (Anel-triazina-6-14C). A pureza dos compostos não radiomarcados de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl eram 98,7%, 99,5% e 98,9%, respectivamente.

Avaliação da lixiviação dos herbicidas

As soluções dos herbicidas foram preparadas com acetona e representaram a maior dose recomendada de 2,3 kg ha⁻¹ (1387, 391 e 33 g i.a ha⁻¹) de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl, respectivamente. Para permitir a comparação dos resultados a mesma dose dos herbicidas foi aplicada nos dois tipos de solos. O efeito do modo de aplicação (aplicação isolada e a mistura dos três herbicidas) foi avaliado nos dois tipos de solos. Para a aplicação isolada, o herbicida em questão era radiomarcado. Para a aplicação em mistura, somente o herbicida sendo avaliado era radiomarcado, e os outros dois eram padrões analíticos. Portanto, cada herbicida foi avaliado separadamente.

A radioatividade das soluções dos herbicidas foi de 89,6 MBq L⁻¹ para diuron, 81,3 MBq L⁻¹ para hexazinone 88,0 MBq L⁻¹ para sulfometuron-methyl. A concentração final dos herbicidas nas soluções foi de 1,3; 0,4 e 0,1 mg mL⁻¹ quando diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl estavam radiomarcados, respectivamente. A concentração final dos herbicidas não-radiomarcados, na mistura, foi calculada de acordo com a maior dose recomendada, considerando a área de aplicação (19 cm²).

Duzentos microlitros das soluções foram aplicados no topo das colunas de solo. Após a evaporação da acetona, lâs de vidro foram colocadas sobre superfície de solo, para garantir que a distribuição de água no momento da simulação de chuva fosse adequada. Simulação de chuva usando solução de 0,01 M CaCl₂ foi realizada utilizando bomba peristáltica, previamente calibrada para operar em fluxo constante de 8 mL h⁻¹ por 48 horas, totalizando 192 mm de simulação de chuva.

Os lixiviados foram coletados na base coluna a cada 12 horas. Então, dez mililitros dos lixiviados foram coletados e transferidos para frascos de cintilação de 25 mL, contendo 10 mL de insta-gel plus. A radioatividade foi avaliada por espectrômetro de cintilação líquida (ECL).

Após a simulação de chuva, as colunas foram retiradas do suporte e colocadas em posição horizontal. As amostras de solos foram retiradas das colunas injetando ar na ponta da coluna para forçar a saída do solo. Então, a coluna de solo foi dividida em camadas de 5 cm (0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25 e 25-30 cm). As camadas foram secas e homogeneizadas em moinho para solo, e três subamostras de 0,2 gramas foram oxidadas em oxidador biológico (Harvey Biological Oxidizer,

Model OX-600, New Jersey, USA), em que o $^{14}\text{CO}_2$ foi aprisionado em solução cintiladora. A radioatividade presente nas camadas dos solos foi avaliada por ECL.

Para avaliar o total de herbicidas detectados no lixiviado, foi avaliada a interação entre o modo de aplicação (isolado e em mistura) e as texturas dos solos. Para análise da lixiviação do herbicida na coluna de solo, além dos efeitos das texturas dos solos e modo de aplicação, foi avaliado se havia diferenças nas porcentagens de herbicida remanescente nas camadas das colunas dos solos (0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25 e 25-30 cm). O balanço da radioatividade recuperada foi calculado pela soma do ^{14}C -herbicidas presente nos lixiviados e o $^{14}\text{CO}_2$ recuperado com a oxidação das amostras dos solos das camadas.

O experimento foi conduzido separadamente para cada herbicida, e o arranjo foi completamente casualizado com 3 repetições. As análises dos dados foram realizadas utilizando o software SAS (SAS ® v.9.3, SAS institute, Cary, NC). Para analisar a interação entre os fatores estudados, o procedimento PROC GLM (SAS) foi utilizado. Sendo a interação analisada significativa, o ajuste de mínimos quadrados foi realizado para comparações múltiplas utilizando o teste Tukey a 5% de probabilidade.

3.3 Resultados e Discussão

O balanço da radioatividade recuperada foi calculado pela soma do ^{14}C -herbicidas presente nos lixiviados e o $^{14}\text{CO}_2$ recuperado com a oxidação das amostras dos solos. Considerando a eficiência de 95% do oxidador biológico, o total recuperado de radioatividade foi acima de 90% e abaixo de 110%, em relação ao total aplicado dos herbicidas.

Hexazinone

Interação entre solos e modo de aplicação foi observada, quando avaliada porcentagem de hexazinone detectada nos lixiviados ($P < 0,05$). Porcentagem maior de hexazinone foi detectada (5,01%) nos lixiviados do solo arenoso, quando o herbicida estava em mistura com diuron e sulfometuron-methyl. Nos lixiviados do solo muito-argiloso, a porcentagem de hexazinone detectado foi igual, independentemente do modo de aplicação, os valores obtidos nos lixiviados do solo argiloso foram menores que os obtidos no solo arenoso (Tabela 3.2).

Tabela 3.2. Porcentagens (% do total aplicado) de ^{14}C -diuron, ^{14}C -hexazinone e ^{14}C -sulfometuron-methyl detectadas nos lixiviados, após aplicação dos herbicidas isolados e em mistura em solo muito-argiloso (Latossolo vermelho escuro) e arenoso (Neossolo Quartzarênico órtico típico) após simulação de chuva (192 mm). Piracicaba, SP.

Solos	Aplicação	% recuperada [^{14}C] em relação ao total aplicado		
		Diuron	Hexazinone	Sulfometuron-methyl
Arenoso	Isolado	0,13a (0,12; 0,14) ¹	1,45b (1,06; 1,84)	0,34a (0,03; 0,038)
	Mistura ^a	0,13a (0,12; 0,14)	5,01a (4,63; 5,41)	0,03a (0,024; 0,03)
Mt-argiloso	Isolado	0,04c (0,03; 0,05)	0,03c (-0,36; 0,41)	0,01b (0,008; 0,017)
	Mistura ^a	0,07b (0,06; 0,08)	0,05c (-0,34; 0,44)	0,01b (0,007; 0,015)

Médias seguidas pela mesma letra em cada coluna não são estatisticamente diferentes $p=0,05$; ¹valores entre parênteses representam o limite de confiança a 95%; ^a nos tratamentos em mistura o herbicida avaliado era radiomarcado e os outros componentes da mistura eram padrões analíticos, não radiomarcados. Cada herbicida foi avaliado separadamente.

O teor de matéria orgânica do solo muito-argiloso ($\text{MO } 41 \text{ g kg}^{-1}$) era maior que a do solo arenoso ($\text{MO } 11 \text{ g kg}^{-1}$). Isto pode ter favorecido a sorção de hexazinone, diminuindo sua lixiviação. Pereira-Junior et al. (2015) obtiveram correlação positiva entre os valores de $K_{d,app}$ de sorção de hexazinone e o carbono orgânicos dos solos, quando avaliada a sorção do herbicida em solos típicos de cultivo de cana-de-açúcar. Neste mesmo estudo, avaliando a sorção do herbicida em quatro solos pré-selecionados, os valores da constante de Freundlich (K_f) foram 0,2 para solo franco-argilo-arenoso e 0,8, para solo argiloso.

Oliveira Jr, Koskinen e Ferreira (2001) obtiveram correlação positiva entre valores de K_d de sorção de hexazinone e a variação do teor de carbono orgânico no solo ($r=0,943$). Os autores também observaram correlação positiva entre valores de K_d de sorção e teor de carbono orgânico dos solos para todas as bases fracas do grupo das triazinas, avaliadas no estudo.

Dousset et al. (2004) observaram que as porcentagens de hexazinone recuperado nos lixiviados de três solos (2,2%, 11,2% e 13,6%) foi inversamente correlacionada com o teor de carbono orgânico (34,7; 15,1 e 9,8 g kg^{-1}). A menor porcentagem de hexazinone detectada foi observada dos lisímetros preenchidos com solo não deformado, com menor porcentagem de areia. De acordo com os autores, a fina textura e baixa permeabilidade deste solo explica o movimento mais lento da água

pela coluna, e conseqüentemente as baixas quantidades de hexazinone detectadas nos lixiviados.

A porcentagem de hexazinone detectada nos lixiviados variou de 0,03% a 5,01% em relação ao total aplicado (Tabela 3.2). Em estudo realizado por Dias (2012), com colunas de solo (0-30 cm) após simulação de chuva de 200 mm, foi detectada as médias de 0,07% e 2,62% de hexazinone nos lixiviados de dois solos com textura muito-argilosa. Nos solos de textura média, as porcentagens obtidas foram de 0,08% e 1,15%, valores semelhantes aos observados no presente estudo. Porém, a porcentagem detectada nos lixiviados do solo arenoso (MO 19 g dm⁻³; areia 886 g kg⁻¹) foi maior (32,37%).

Outros atributos do solo, além da textura, poderiam estar relacionados com as menores porcentagens de hexazinone nos lixiviados, aqui detectadas. Pereira-Júnior et al. (2015), observaram correlação positiva entre os valores de $K_{d,app}$ de sorção de hexazinone e $Fe_2O_3^{DCB}$, $Fe_2O_3^{AOX}$ e $Al_2O_3^{AOX}$ (DBC e AOX, extraído com ditionito-citrato-bicarbonato e oxalato de amônio, respectivamente). O uso de regressão múltipla mostrou que o teor de carbono orgânico do solo com $Fe_2O_3^{AOX}$, em conjunto, contribuiu com 86% da variação dos valores de $K_{d,app}$ de sorção de hexazinone, em solos de cultivo de cana-de-açúcar. Estes atributos, apesar de não serem avaliados no presente estudo, podem estar relacionados com a menor lixiviação de hexazinone.

Não foi observada interação entre modo de aplicação (isolado e mistura) e a porcentagem recuperada de ¹⁴C-hexazinone nas camadas de solos ($p>0,05$) o que levaria a concluir que o modo de aplicação não influenciou a lixiviação do herbicida. Contudo, como acima citado, a porcentagem de hexazinone detectado nos lixiviados foi maior quando este herbicida estava em mistura com diuron e sulfometuron-methyl, em solo arenoso (Tabela 3.2).

O resultado aqui obtido indica que a presença de diuron e sulfometuron-methyl influenciou a lixiviação de hexazinone. Estes herbicidas podem ter competidos por sítios de sorção dos solos, deixando hexazinone mais disponível na solução e mais propenso a lixiviação.

Há poucos trabalhos na literatura que compararam a lixiviação de herbicidas aplicados isolados e em mistura. Garcia et al. (2012) observaram que diuron e sulfometuron-methyl não foram lixiviados por toda coluna de solo, permanecendo nas primeiras camadas (0-10 cm) com controle do bioindicador (*I. triloba*) de 60%, após a

simulação de chuva de 40 mm em solo arenoso. No caso de hexazinone e da mistura de diuron + hexazinone + sulfometuron-methyl o controle foi de 80% nas camadas de 13 e 17 cm, respectivamente, após simulação de chuva de 40mm, em solo arenoso. Este resultado indica que a mistura dos herbicidas foi mais lixiviada que os herbicidas isolados.

Em estudo avaliando a lixiviação de norflurazon e bromacil em mistura com vários herbicidas, incluindo diuron, não foi observado aumento na lixiviação desses herbicidas. De fato, em presença com diuron a lixiviação de bromacil foi menor (Tan e Singh 1995). Contudo em outro estudo, foi observada que a sorção de bromacil diminuiu, quando havia 50% de saturação da solução por outros herbicidas (napropamide e prometryn) (TURIN; BOWMAN, 1997).

Gao et al. (1998b) observaram que a sorção de atrazine a sedimentos de lago diminuiu em presença de Bifenox. Bifenox apresentou maior sorção (K_f 123,8) que atrazine (K_f 6,1) quando isolados (GAO et al., 1998a), fato que os autores utilizaram para explicar a competição por sítios de sorção. Em outro estudo, a presença de atrazine, diminuiu a sorção dos seus metabólitos (DEA - deethylatrazine e DIA - deisopropylatrazine) e de simazine (FAUR; MÉTIVIER-PIGNON; LE CLOIREC, 2005).

Hexazinone foi lixiviado por toda coluna de solo arenoso e maior porcentagem do herbicida foi detectada na camada de 20-25cm (22,57%). Na camada de 25-30 cm a porcentagem detectada foi de 15,40%. No solo argiloso, a porcentagem de hexazinone recuperado na camada de 25-30 cm foi menor (0,05%) e maior concentração do herbicida foi detectada na camada de 10-15 cm (33,72%). Estes resultados indicam que a mobilidade de hexazinone foi maior no solo arenoso (Figura 3.1).

Em estudo realizado por Mendes et al. (2016), avaliando a lixiviação de hexazinone aplicado com diuron e sulfometuron-methyl, maior porcentagem (% do total aplicado) de hexazinone foi detectada nas camadas 0-20 cm, em solo argilo-arenoso (18 g kg⁻¹ de carbono orgânico e 376% g kg⁻¹ de argila). Em solo franco-arenoso (5,2% g kg⁻¹ de carbono orgânico e 151 g kg⁻¹ de argila), o hexazinone recuperado se concentrou nas camadas mais baixas (20-30 cm), indicando alta mobilidade do herbicida neste solo.

Figura 3.1. Porcentagens (% do total aplicado) de ^{14}C -hexazinone recuperado nas camadas de solos muito-argiloso (Latosolo vermelho escuro) e arenoso (Neossolo Quartzarênico órtico típico), após simulação de chuva (192 mm). Barras representam o erro padrão das médias. Mt-argiloso: muito argiloso. DMS (camada) = 2,84; DMS coluna (solo) = 5,5. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na mesma camada (linha) não são estatisticamente diferentes $p=0,05$.

Hexazinone apresenta alta solubilidade em água (33000 mg L^{-1} a 20°C), o que explica o fato deste herbicida ser lixiviado por toda a coluna do solo arenoso. Além disso, hexazinone é uma base fraca com o valor de pK_b de 2,2 (UNIVERSITY OF HERTFORDSHIRE, 2017).

O pH de ambos os solos utilizados neste estudo (Tabela 3.1) era maior que o valor de pK_b de hexazinone, portanto o herbicida estava predominantemente na sua forma molecular na solução do solo, favorecendo sua lixiviação. Se o pH do meio fosse menor que o pK_b de hexazinone as moléculas ficariam na forma protonada, sendo fortemente sorvidas aos solos (SILVA et al., 2014).

Diuron

Não foram observadas diferenças entre os tratamentos em que diuron estava isolado ou em mistura nos lixiviados do solo arenoso ($p>0,05$). A porcentagem de diuron detectado nos lixiviados não excedeu 0,13% e a porcentagem de diuron detectado nos lixiviados foi maior quando estava em mistura com hexazinone e sulfometuron-methyl, em solo argiloso, apresentando uma diferença de 0,04% entre os tratamentos (Tabela 3.2).

Em estudo realizado com lisímetros (50 cm abaixo da superfície do solo), a média da massa de diuron detectada nos lixiviados foi de 9,01 μg , o que correspondeu a 0,08% do total aplicado, o que de acordo com os autores, indica potencial de contaminação de águas subsuperficiais pelo herbicida (DORES et al., 2009).

Em trabalho realizado para avaliar a degradação e lixiviação de diuron em área do Norte da Itália, foi obtido o valor de índice de Gus de 2,1 (CARACCIOLO et al., 2005) classificando diuron como um composto transitório, entre as zonas dos compostos lixiviáveis e não-lixiviáveis (GUSTAFSON, 1989). Em outro estudo, realizado com solos brasileiros, diuron também foi classificado como transitório, pois o índice de GUS obtido foi de 2,6 (MATALLLO et al., 2003).

Dantas et al. (2011) detectaram traços de diuron e hexazinone em poços localizados em área de recarga do aquífero Guarani. Os autores detectaram os herbicidas em concentrações entre 0,26 a 7,12 $\mu\text{g L}^{-1}$, valores menores que os limites aceitos pelos padrões internacionais para água potável, porém, a detecção destas moléculas indica possível contaminação do aquífero por estes herbicidas.

Quanto ao diuron que remanesceu nas camadas da coluna de solo, não foi observada diferença na porcentagem de diuron recuperado quando o herbicida estava isolado ou em mistura, nas camadas entre 5-10 a 25-30 cm ($p>0,05$). Indicando que a lixiviação de diuron na coluna de solo não foi influenciada pela presença de sulfometuron-methyl e hexazinone (Figura 3.2).

Não foi detectada interação entre os solos e a porcentagem de ^{14}C -diuron detectado nas camadas dos solos ($p>0,05$) e maior porcentagem de diuron foi recuperada na camada de 0-5 cm, independente do solo. Garcia et al. (2012) observaram que diuron permaneceu nas camadas de 0-10 cm, independente do solo (solo arenoso e argiloso), 21 DAT. Bioensaios realizados por El-Nahhal e Hamdona (2016) indicaram maior fitotoxicidade das plantas bioindicadoras na camada de 0-5 cm.

Em outro estudo, diuron só foi detectado nas camadas superiores (0-5 e 5-10 cm), após 200 mm de lâmina d'água ser aplicada sobre lisímetros preenchidos com solos não deformado. Os autores afirmaram que este resultado foi consistente com os valores de K_d de sorção obtidos no mesmo estudo, em que na camada superficial (0-20 cm) o valor de K_d ($14,3 \text{ L kg}^{-1}$) foi maior que o observado nas camadas inferiores de 20-40 cm ($K_d 2,7 \text{ L kg}^{-1}$) e 40-50 cm ($K_d 1,4 \text{ L kg}^{-1}$) (DORES et al., 2013).

Figura 3.2. Porcentagens de (% do total aplicado) ^{14}C -diuron aplicado isolado ou com hexazinone mais sulfometuron-methyl detectadas nas camadas de solo, após simulação de chuva (192 mm). Barras representam o erro padrão das médias. $\text{DMS}_{\text{linha (camada)}} = 2,66$; $\text{DMS}_{\text{coluna (modo)}} = 1,04$. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na mesma camada (linha) não são estatisticamente diferentes $p=0,05$.

A solubilidade de diuron em água é baixa (42 mg L^{-1}) (SHANER, 2014), o que influencia sua disponibilidade na solução do solo e consequentemente sua lixiviação. Se for considerado o caráter lipofílico de diuron ($\log K_{ow} 2,65$), baixa solubilidade em água e relativos altos valores de K_{oc} , pode-se esperar que diuron não seja totalmente lixiviado no perfil do solo (GONZÁLEZ-PRADAS et al., 1998).

Victoria Filho (1983) observou que o herbicida diuron e a mistura de diuron + bromacil apresentou controle muito bom ou excelente de plantas daninhas de folhas largas até 330 dias após aplicação em área de cultivo de citros, indicando que o herbicida permaneceu na superfície no solo mesmo após mais de 1500 mm precipitação.

Inoue et al. (2008), por outro lado, observaram menor movimentação do diuron no solo de textura argilosa (carbono orgânico $16,0 \text{ g dm}^{-3}$; teor de argila 560 g kg^{-1}) quando comparado com solo de textura franco-arenosa (carbono orgânico $5,2 \text{ g dm}^{-3}$; teor de argila 100 g kg^{-1}), em estudo de lixiviação utilizando biodindicadores. Os autores atribuíram a menor lixiviação em solo argiloso às propriedades físico-químicas deste solo, como o alto teor de carbono orgânico e argila.

Sulfometuron-methyl

Não foi observado diferença entre os modos de aplicação (isolado e mistura) em relação ao sulfometuron-methyl detectado nos lixiviados ($p > 0,05$; Tabela 3.2). Além disso, não foi observada interação entre as porcentagens detectadas do herbicida nas camadas dos solos e o modo de aplicação. Indicando que diuron e hexazinone não influenciaram a lixiviação de sulfometuron-methyl. No entanto, a porcentagem do herbicida detectado nos lixiviados nos solos arenosos foi maior que nos lixiviados do solo argiloso ($p < 0,001$).

Maior porcentagem de sulfometuron-methyl foi detectada na camada de 0-5 cm em ambos os solos. Entretanto, na camada de 10-15 cm a porcentagem detectada do herbicida foi de 5,51% e 0,34 % em solo arenoso e muito-argiloso, respectivamente. Estes resultados indicam, que sulfometuron-methyl foi mais lixiviado na coluna de solo arenoso (Figura 3.3)

O pH do solo arenoso (pH 7,2) era maior que o pH do solo muito-argiloso (pH 6,4), o que pode estar relacionado com a maior lixiviação do herbicida no primeiro solo. Wehtje et al. (1987) observaram que conforme houve o aumento do pH do solo, mesmo em um intervalo muito estreito, a sorção de sulfometuron-methyl diminuiu. Em solo franco-argilo-arenoso, quando o pH do solo era 5,8 e 6,0, a porcentagem de sulfometuron-methyl na solução do solo era de 33,0% e 52,0%, respectivamente. Em solo franco-argiloso o comportamento foi semelhante, pois 36,0%, 51,0% e 58,0% de

sulfometuron-methyl foi detectado na solução quando o solo apresentava o pH de 5,1; 5,4 e 5,8; respectivamente.

Figura 3.3. Porcentagens (% do total aplicado) de ^{14}C -sulfometuron-methyl recuperado nas camadas de solos muito-argiloso (Latosolo vermelho escuro) e arenoso (Neossolo Quartzarênico órtico típico), após simulação de chuva (192 mm). Barras representam o erro padrão das médias. Mt-argiloso: muito-argiloso. $\text{DMS}_{(\text{camada})} = 2,0$; $\text{DMS}_{\text{coluna}(\text{solo})} = 0,78$. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na mesma camada (linha) não são estatisticamente diferentes $p=0,05$.

Solos com baixo pH e alto teor de matéria orgânica tendem a sorver fortemente herbicidas do grupo das sulfoniluréias. Sulfoniluréias são herbicidas ácidos fracos (BEYER JR. et al., 1988) e ficam predominantemente na forma aniônica quando o pH dos solos é maior que o pKa das moléculas, aumentando a mobilidade dos herbicidas no solo (HARVEY; DULKA; ANDERSON, 1985). Foi observada correlação negativa entre pH e a sorção de herbicidas sulfoniluréias, rimsulfuron e nicosulfuron, em estudo avaliando a sorção destes herbicidas em solos coletados em diferentes horizontes e profundidades (AZCARATE; MONTOYA; KOSKINEN, 2015).

Harvey, Dulka e Anderson (1985) observaram diferenças na afinidade de sulfometuron-methyl em solos com diferentes teores de matéria orgânica e pHs. A maior afinidade do herbicida foi observada no solo com maior teor de matéria orgânica. Entretanto, a segunda maior afinidade do herbicida foi observada no solo com menor teor de matéria orgânica, porém com menor valor de pH (pH de 5,4 enquanto que a média de pH dos outros solos era 6,4). Estes resultados reforçam a importância do pH na sorção de herbicidas ácidos fracos.

Em outro estudo, não foi observada diminuição na sorção de sulfometuron-methyl de acordo com o aumento do pH e diminuição do teor de matéria orgânica do solo, em profundidade. No caso de outros herbicidas da classe das sulfonilureias, como o rimsulfuron e nicosulfuron, foi observada correlação positiva entre a sorção e o teor de matéria orgânica dos solos (AZCARATE; MONTOYA; KOSKINEN, 2015).

Sulfometuron-methyl foi considerado imóvel, ou seja, não foi lixiviado nas camadas mais profundas que 10-15 cm em estudo realizado em condição de campo (TRUBEY; BETHEM; PETERSON, 1998). Mendes et al. (2016) observaram maiores concentrações de sulfometuron-methyl nas camadas mais superficiais de solo argilo-arenoso (0-5cm) e concentrações próxima a zero do herbicida foram observadas nas camadas de 20-25 cm e 25-30 cm.

Garcia et al (2012) observaram que o controle do bioindicador *I. triloba* não ultrapassou 60% em profundidades menores que 10 cm, indicando que o sulfometuron-methyl não foi lixiviado em quantidade suficiente para causar a morte de todas as plantas, em solo arenoso. No solo de textura argilosa, o herbicida controlou menos de 20% da planta daninha até 15 cm.

Em estudo realizado por Lym e Swenson (1991), sulfometuron-methyl foi lixiviado pela coluna do solo até a camada de 65 cm, após 48 horas de simulação de chuva. Porém, maior concentração de sulfometuron-methyl foi observada na primeira camada de solo (0-5 cm). Em relação ao estudo citado, a lâmina de água aplicada (457 mm de lâmina d'água) foi maior que a testada no presente estudo, o que explica a lixiviação do herbicida por toda a coluna de solo.

3.4 Conclusão

Os herbicidas hexazinone e diuron foram mais lixivados quando estavam em mistura com os demais herbicidas da formulação. A lixiviação de hexazinone e

sulfometuron-methyl foi maior no solo arenoso. A textura dos solos não afetou a lixiviação de diuron.

Referências

ARMAS, E. D. et al. Spatial-temporal diagnostic of herbicide occurrence in surface waters and sediments of Corumbataí River and main affluents. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1119–1127, 2007.

AZCARATE, M. P.; MONTOYA, J. C.; KOSKINEN, W. C. Sorption, desorption and leaching potential of sulfonylurea herbicides in Argentinean soils. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 50, p. 229–237, 3 abr. 2015.

BEYER JR., E. . et al. Herbicides: chemistry, degradation, and mode of action. In: KEARNEY, P. .; KAUFMAN, D. . (Eds.). . **Sulfonylureas**. New York: Marcel Dekker, 1988. p. 117–189.

CARACCILOLO, A. B. et al. Degradation and leaching of the herbicides metolachlor and diuron: A case study in an area of Northern Italy. **Environmental Pollution**, v. 134, n. 3, p. 525–534, 2005.

DANTAS, A. D. B. et al. Removal of diuron and hexazinone from guarany aquifer groundwater. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 28, n. 3, p. 415–424, 2011.

DIAS, A. C. R. **Lixiviação, mobilidade, degradação, mineralização e atividade microbiana de herbicidas em função de atributos de cinco tipos de solos**. [s.l.] 2012. 121p.Tese (Doutorado em Ciências - Área concentração Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2012.

DORES, E. F. G. C. et al. Environmental behaviour of metolachlor and diuron in a tropical soil in the central region of Brazil. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 197, n. 1–4, p. 175–183, 2009.

DORES, E. F. G. C. et al. Assessment of metolachlor and diuron leaching in a tropical soil using undisturbed soil columns under laboratory conditions. **Journal of Environmental Science and Health , Part Health. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes**, v. 48, n. June 2013, p. 114–21, 2013.

DOUSSET, S. et al. Transfer of hexazinone and glyphosate through undisturbed soil columns in soils under Christmas tree cultivation. **Chemosphere**, v. 57, n. 4, p. 265–272, 2004.

EL-NAHHAL, Y.; HAMDONA, N. Adsorption, leaching and phytotoxicity of some herbicides as single and mixtures to some crops. **Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences**, fev. 2016.

EMBRAPA, E. B. DE P. A. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3. ed. Brasília: Embrapa Solos, 2013.

FAUR, C.; MÉTIVIER-PIGNON, H.; LE CLOIREC, P. Multicomponent Adsorption of Pesticides onto Activated Carbon Fibers. **Adsorption**, v. 11, n. 5–6, p. 479–490, nov. 2005.

GAO, J. P. et al. Sorption of pesticides in the sediment of the Teufelsweiher pond (Southern Germany). I: Equilibrium assessments, effect of organic carbon content and pH. **Water Research**, v. 32, n. 5, p. 1662–1672, mar. 1998a.

GAO, J. P. et al. Sorption of pesticides in the sediment of the Teufelsweiher pond (Southern Germany). II: Competitive adsorption, desorption of aged residues and effect of dissolved organic carbon. **Water Research**, v. 32, n. 7, p. 2089–2094, jul. 1998b.

GARCIA, D. B. et al. Diuron, hexazinone and sulfometuron-methyl leaching separately and in commercial formulation in two contrasting soils. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 11, n. 2, p. 222, 2012.

GONZÁLEZ-PRADAS, E. et al. Sorption and leaching of diuron on natural and peat-amended calcareous soil from Spain. **Water Research**, v. 32, n. 9, p. 2814–2820, set. 1998.

GUSTAFSON, D. I. Groundwater ubiquity score: A simple method for assessing pesticide leachability. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 8, n. 4, p. 339–357, abr. 1989.

GUZZELLA, L. et al. Fate of diuron and linuron in a field lysimeter experiment. **Journal of Environmental Quality**, v. 35, p. 312–323, 2006.

HARVEY, J.; DULKA, J. J.; ANDERSON, J. J. Properties of sulfometuron methyl affecting its environmental fate: aqueous hydrolysis and photolysis, mobility and adsorption on soils, and bioaccumulation potential. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 33, n. 4, p. 590–596, 1985.

INOUE, M. H. et al. Leaching potential and degradation of diuron in two soils of contrasting texture. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 30, n. 5, 12 dez. 2008.

KOGAN, A.; PÉREZ, J. . **Herbicidas: fundamentos fisiológicos y bioquímicos del modo de acción**. 1. ed. Santiago: Ediciones Universidad Católica de Chile, 2003.

LYM, R. G.; SWENSON, O. R. Sulfometuron Persistence and Movement in Soil and Water in North Dakota. **Journal of Environment Quality**, v. 20, n. 1, p. 209, 1991.

MATALLO, M. B. et al. Lixiviação dos herbicidas tebutiuron e diuron em colunas de solo. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, 31 dez. 2003.

MENDES, K. F. et al. Leaching of a Mixture of Hexazinone, Sulfometuron-Methyl, and Diuron Applied to Soils of Contrasting Textures. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 227, n. 8, p. 268, 14 ago. 2016.

OECD. **Test No. 312: Leaching in Soil Columns**. Disponível em: <http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-312-leaching-in-soil-columns_9789264070561-en>. Acesso em: 23 fev. 2017.

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

PEREIRA-JUNIOR, E. V et al. Effects of soil attributes and straw accumulation on the sorption of hexazinone and tebuthiuron in tropical soils cultivated with sugarcane. **Journal of Environmental Science & Health Part B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes**, v. 50, n. 4, p. 238–46, 2015.

RAO, P. S. C.; HORNSBY, A. G. **Behavior of Pesticides in Soils and Water**. Gainesville: Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, 1999.

SHANER, D. L. **Herbicide Handbook. . 10th Edition**. 10. ed. Champaign: Weed Science Society of America, 2014.

SILVA, A. A. DA et al. Comportamento de hericidas no solo. In: MONQUERO, P. A. (Ed.). . **Aspectos da Biologia e Manejo das Plantas Daninhas**. São Carlos: Rima, 2014. p. 165–216.

TAN, S.; SINGH, M. Leaching of Bromacil and Norflurazon as affected by Herbicide Mixture. **Journal of Enviromental Quality**, v. 24, p. 970–972, 1995.

TORNISIELO, V. L. et al. Pesticide Tank Mixes: An Environmental Point of View. In: PRICE, A. .; KELTON, J. . (Eds.). . **Herbicides - Current Research and Case Studies in Use**. Rijeka: InTech, 2013. p. 473–487.

TRUBEY, R. K.; BETHEM, R. A.; PETERSON, B. Degradation and mobility of sulfometuron-methyl (Oust Herbicide) in field Soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 6, p. 2360–2367, jun. 1998.

TURIN, H. J.; BOWMAN, R. S. Sorption Behavior and Competition of Bromacil, Napropamide, and Prometryn. **Journal of Environment Quality**, v. 26, n. 5, p. 1282, 1997.

UNIVERSITY OF HERTFORDSHIRE. **Pesticide properties database**. Disponível em: <<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/index2.htm>>. Acesso em: 4 fev. 2017.

VICTORIA FILHO, R. **Efeitos do uso contínuo de herbicidas no desenvolvimento, produção e qualidade dos frutos de dois cultivares de citros (Citrus sinensis L. Osbeck)**. [s.l.] 1983. Tese (Livre-docência) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. São Paulo, Piracicaba, SP, 1983.

WEHTJE, G. et al. Sorption and mobility of sulfometuron and imazapyr in five Alabama soils. **Weed Science**, v. 33, p. 858–864, 1987.

4. BIODEGRADAÇÃO E MINERALIZAÇÃO DE DIURON, HEXAZINONE E SULFOMETURON-METHYL APLICADOS ISOLADOS E EM MISTURA EM SOLOS DE CULTIVO DE CANA-DE-AÇÚCAR.

Resumo

Quando herbicidas são aplicados em mistura, interações podem ocorrer influenciando seu destino final no ambiente. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar a biodegradação e mineralização de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl, isolados e em mistura, foram avaliadas em dois solos com texturas contrastantes. Soluções foram preparadas com os herbicidas radiomarcados e não radiomarcados e 200 µL das soluções foram aplicadas sobre os solos. Frascos de Bartha com os solos tratados, foram incubados no escuro por 70 dias a $20 \pm 2^\circ\text{C}$. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado. A avaliação de evolução $^{14}\text{CO}_2$ foi realizada em triplicata e a extração dos herbicidas dos solos foi realizada em dois frascos por período de avaliação. Maior evolução de $^{14}\text{CO}_2$ foi observada quando sulfometuron-methyl (3,64%) e hexazinone (28,33%) foram aplicados em mistura ($p < 0,05$). A aplicação em mistura não influenciou a mineralização de diuron até 70 dias após o tratamento. Maior evolução de $^{14}\text{CO}_2$ dos três herbicidas foi observada em solo muito-argiloso. Conclui-se que a aplicação em mistura de sulfometuron-methyl e hexazinone apresenta vantagens no quesito ambiental, pois a maior taxa de mineralização resulta em menor persistência dos herbicidas no ambiente.

Palavras-chave: Persistência; Degradação; Contaminação; Evolução CO_2

Abstract

When herbicides are applied in mixture interaction may occur and affect their environmental fate. The objective of this study was to evaluate the biodegradation, as well the mineralization, of diuron, hexazinone and sulfometuron-methyl when applied alone and in mixture were evaluated after treatment of two contrasting soils, collected in sugarcane cultivated area. Bartha flasks fill with the soils treated with radiolabeled solutions of the herbicides, were incubated in dark room for 70 days at $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Each herbicide was evaluated separately and the experiment was a completely randomized design, totaling four treatment per herbicide. A greater evolution of $^{14}\text{CO}_2$ was observed when sulfometuron-methyl (3.64%) and hexazinone (28.33%) were applied in mixture ($p < 0.05$). The mixture treatment did not affect the mineralization of diuron. A greater $^{14}\text{CO}_2$

evolution from the heavy-clay soil flasks were observed after the herbicides treatments. The application in mixture of sulfometuron-methyl and hexazinone presents environmental advantages, because a greater mineralization correlates to lower persistence of the herbicides in the environment.

Keywords: Persistence; Degradation; Contamination; CO₂ evolution

4.1 Introdução

A cana-de-açúcar é umas das culturas mais importantes do Estado de São Paulo e do Brasil. Com objetivo de garantir a produtividade da cultura, defensivos agrícolas são comumente utilizados durante seu cultivo. A classe de defensivos agrícolas mais utilizada durante o cultivo de cana-de-açúcar é a classe dos herbicidas (SINDIVEG, 2017). A aplicação de herbicidas de forma indiscriminada pode impactar processos biológicos do solo e organismos não alvos (ZABALOY; GARLAND; GÓMEZ, 2008). Justificando a importância dos estudos que avaliam o comportamento dos defensivos agrícolas no solo.

Os microrganismos presentes no solo são capazes de degradar herbicidas afetando sua persistência (AISLABIE; LLOYD-JONES, 1995). Os microrganismos responsáveis pela degradação podem utilizar os herbicidas como substrato, transformando-os em nutrientes e energia para sua sobrevivência (catabolismo ou metabolismo), ou apenas alteram a estrutura química do produto, sem a utilização do herbicida como fonte de energia (co-metabolismo) (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; OLIVEIRA; BRIGHENTI, 2011). A completa biodegradação ou mineralização envolve a oxidação dos compostos intermediários (metabólitos), em moléculas mais simples como água, CO₂ e NH₃ (SPADOTTO et al., 2004).

Diversas misturas comerciais de herbicidas são recomendadas para o controle de plantas daninhas no cultivo de cana-de-açúcar. A mistura comercial de diuron + hexazinone + sulfometuron-methyl é recomendada para o controle de espécies de corda-de-viola e gramíneas (*Brachiaria decumbens*, *B. plantaginea*, *Panicum maximum* e *Digitaria sp*) entre outras, em cana-de-açúcar. Sua aplicação é recomendada em pré-emergência da cultura da cana-de-açúcar, em época seca ("DUPONT Front ®", 2017).

O diuron é um herbicida neutro e pertence ao grupo químico das uréias substituídas e apresenta baixa solubilidade em água (42 mg L^{-1} a 25°C). Sua principal via dissipação é a degradação por microrganismos e é considerado relativamente persistente nos solos (meia-vida entre 90 a 180 dias) (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011).

Dores et al. (2009) entretanto, observaram a meia-vida de dissipação de diuron de 15 dias em solos tropicais, em área onde o herbicida havia sido previamente aplicado. De forma semelhante, a meia-vida de 37 dias de dissipação de diuron foi obtida em área em que o herbicida havia sido aplicado anualmente durante 12 anos. Neste mesmo estudo, em área sem aplicação prévia, a meia-vida obtida foi de 81 dias, ou seja, a taxa de dissipação do herbicida foi menor (ROUCHAUD et al., 2000).

O herbicida sulfometuron-methyl possui solubilidade moderada em água (300 mg L^{-1} a pH 7, 25°C) e apresentou meia-vida de dissipação no campo entre 20-28 dias (SHANER, 2014). A hidrólise mostra ser predominante na degradação inicial de sulfometuron-methyl em solos ácidos. A taxa de decomposição do herbicida é dependente do pH, como também do teor de água do solo (ANDERSON; DULKA, 1985). Em estudo realizado em cinco localidades dos Estados Unidos da América do Norte foram obtidos os valores de meia-vida de degradação de sulfometuron-methyl variando de 12 a 25 dias (TRUBEY; BETHEM; PETERSON, 1998).

Sulfometuron-methyl pertence ao grupo químico das sulfoniluréias e é um herbicida ácido fraco com a constante de dissociação (pK_a) de 5,2. Possui coeficiente de partição octanol/água (LogKow) de 1,04 (pH 5), -0,46 a -0,51 (pH 7) e -1,87 (pH 9), considerado baixo (SHANER, 2014).

Hexazinone tem alta solubilidade em água ($33\,000 \text{ mg L}^{-1}$) e Koc de 54 mL g^{-1} (SHANER, 2014). Este herbicida é uma base fraca (pK_b 2,2) (UNIVERSITY OF HERTFORDSHIRE, 2017) e em condições naturais está na sua forma molecular ou neutra e se espera baixa sorção. Quando o pH do meio é menor que seu pK_b , a molécula estará protonada, sendo sorvida fortemente aos solos (SILVA et al., 2014).

A volatilização de hexazinone é insignificante, porém apresenta alguma suscetibilidade à fotodegradação (SHANER, 2014). É degradado por microrganismos do solo (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011) e apresenta meia-vida típica de campo de 90 dias (SHANER, 2014). Em estudo realizado em laboratório com hexazinone radiomarcado, foi observado as porcentagens de mineralização ($^{14}\text{CO}_2$ evoluído) de 45-75%, em relação ao total aplicado, 80 dias após a aplicação de duas doses de hexazinone (4 e 20 ppm), em dois solos (RHODES, 1980).

Estudos avaliando a degradação, como também outros fatores relacionados ao comportamento de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl são encontrados na literatura (ANDERSON; DULKA, 1985; CALDERÓN et al., 2004; DORES et al., 2009; LANDRY; DOUSSET; ANDREUX, 2006; MICHAEL et al., 2006). Porém, há poucas informações referentes a possíveis mudanças no comportamento, especialmente em relação a biodegradação e mineralização, quando estes herbicidas são aplicados em mistura.

Inoue et al. (2015) avaliaram a persistência de diuron + hexazinone + sulfometuron-methyl, realizando bioensaios. Em solo de textura arenosa, obtiveram a meia-vida de degradação de 52 dias, independente da dose aplicada. Em solo argiloso, foram obtidos os valores de meia-vida de 100 e 80 dias, para a maior e menor doses aplicadas da mistura, respectivamente. Contudo, não se avaliou a contribuição de cada molécula na degradação da mistura.

A aplicação em mistura pode influenciar a persistência dos herbicidas. Swarcewics e Gregorczyk, (2012) observaram que mancozeb e thiametoxam influenciaram a degradação de pendimethalin, quando aplicados em mistura. Em outro estudo, a taxa de degradação de isoproturon foi inibida pela presença de chlorothalonil. Os autores acreditam que, entre outros fatores, chlorothalonil pode ter suprimido a atividade de microrganismos não alvo, responsáveis pela degradação de isoproturon (FOGG; BOXALL; WALKER, 2003).

Na prática, herbicidas e outros defensivos agrícolas são aplicados simultaneamente ou após aplicações de outros defensivos. Esta prática resulta na combinação de resíduos no solo. Muitas interações são possíveis quando herbicidas são aplicados em mistura, incluindo aquelas relacionadas com o tamanho e composição da população dos microrganismos, efeitos em enzimas específicas e a taxa de degradação de compostos orgânicos (SINGH; WALKER; WRIGHT, 2002).

Diante disso, será avaliada a biodegradação e mineralização dos herbicidas diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl, aplicados isolados e em mistura em solo arenoso e muito-argiloso, que foram coletados em área de cultivo de cana-de-açúcar.

4.2 Material e métodos

Os estudos de biodegradação de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl foram realizados no Laboratório de Ecotoxicologia do Centro de Energia Nuclear –

CENA, Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo. A metodologia utilizada baseou-se no guia “Aerobic and Anaerobic Transformation in Soil” (OECD, 2017).

Coletas de solos

Os solos utilizados foram coletados nas profundidades de 0-10 cm em área de cultivo de cana-de-açúcar, após limpeza da camada vegetal. Os solos foram classificados como Neossolo Quartzarênico órtico típico (RQ - S'22°34'25.1; H'048°00'37.9) e Latossolo Vermelho eutrófico (LVe - S'22°39'01.1; H'047°32'41.9). Foram realizadas três coletas de solos que foram utilizadas nos estudos de biodegradação de hexazinone, diuron e sulfometuron-methyl. Após as coletas, os solos foram peneirados (2 mm-malha) e mantidos em refrigeração a $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ até análises posteriores.

Amostras de solos foram analisadas no laboratório do Departamento de Ciência do Solo, ESALQ, USP, Piracicaba, São Paulo. Os resultados das análises químicas e físicas dos solos estão apresentados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1. Características químicas e físicas dos solos utilizados nos estudos de biodegradação de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl, coletados em área de cultivo de cana-de-açúcar. Piracicaba, SP.

Atributos	Unidades	Solo arenoso (NQ)			Solo muito-argiloso (LVe)		
		Coletas ¹			Coletas ¹		
		1	2	3	1	2	3
pH (H ₂ O)	-	7,7	7,2	6,8	6,4	6,4	6,7
pH (KCL)	-	6,2	5,8	5,5	5,1	5,2	5,1
M.O	g kg ⁻¹	14	11,0	13,0	30,0	41,0	36,0
P	mg kg ⁻¹	39	36,0	29,0	34,0	28,0	33,0
K	mmolc kg ⁻¹	0,5	0,5	0,9	9,2	9,2	8,6
Ca	mmolc kg ⁻¹	21,0	17,0	14,0	34,0	40,0	32,0
Mg	mmolc kg ⁻¹	6,0	5,0	5,0	12,0	16,0	12,0
H+Al	mmolc kg ⁻¹	13,0	13,0	20,0	50,0	35,0	50,0
SB	mmolc kg ⁻¹	27,5	22,5	19,9	55,2	65,2	52,6
CTC	mmolc kg ⁻¹	40,5	35,5	39,9	105,2	100,2	102,6
V	%	68	63	50	52	63	51
Areia Total	g kg ⁻¹	895	906,0	920	223,0	253,0	238,0
Silte	g kg ⁻¹	29,0	19,0	18,0	139,0	133,0	123,0
Argila	g kg ⁻¹	7,6	75,0	62,0	637,0	614,0	639,0
Classe textural	-	arenosa			muito-argilosa		

¹Coleta 1: estudo biodegradação hexazinone. Coleta 2: estudo biodegradação diuron. Coleta 3: estudo biodegradação sulfometuron-methyl.

Fonte: laboratório do Departamento de Ciência do Solo, ESALQ, USP, Piracicaba, São Paulo.

pH potencial hidrogeniônico; K potássio; Ca cálcio, Mg magnésio; CTC capacidade de troca catiônica; P fósforo; MO matéria orgânica; H+Al acidez potencial; BS saturação por base.

NQ Neossolo Quartzarênico órtico típico, LVe Latossolo Vermelho eutrófico. Classificação de acordo com Sistema Brasileiro de Solos (EMBRAPA, 2013)

Determinação do teor de água dos solos

Dez gramas de solo foram adicionados em três placas de Petri, previamente pesadas. Em seguida, as placas de Petri foram colocadas em estufa à 105 ±1°C, por 24 horas. Após este período, as placas foram retiradas da estufa e transferidas para dessecador até esfriarem. Após o resfriamento, as placas foram pesadas. O teor de água dos solos (TA) foi calculado pela diferença entre os pesos das amostras úmidas e secas, utilizando-se a seguinte equação:

$$TA(kgkg^{-1}) = \frac{(m_p + m) - (m_p + m_s)}{(m_p + m_s) - (m_p)} \quad (4.1)$$

Em que, m_p corresponde ao peso da placa de petri em gramas, m corresponde ao peso do solo úmido e m_s ao peso do solo seco, em gramas.

Capacidade de campo (CC)

A capacidade de campo foi determinada pela técnica TSFM (torrão separado pela frente de molhamento), descrita por Costa (1983). Amostras de solo, secas e peneiradas (2 mm-malha), foram colocadas em Becker (500 mL) até enche-lo. Em seguida, foi gotejado 2mL de água destilada por um período de 10 segundos, formando um torrão úmido. O torrão foi separado do solo e transferido para placa de Petri. Em seguida foi levado a estufa a $60 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas.

Após o período de secagem, o torrão foi pesado e a capacidade de campo (CC %) foi calculada pela diferença entre os pesos das amostras úmidas e secas, utilizando-se a seguinte equação, eq. (4.2);

$$CC(\%) = \frac{(m_p + m) - (m_p + m_s)}{(m_p + m_s) - (m_p)} \times 100 \quad (4.2)$$

Em que m_p corresponde ao peso da placa de Petri, m corresponde ao peso do torrão úmido e m_s ao peso do torrão seco, em gramas.

Determinação da quantidade de solo a ser pesada

A quantidade de solo a ser pesada nos frascos de Bartha foi determinada utilizando com a seguinte equação, eq. (4.3);

$$m = (1 + TA) \times m_s \quad (4.3)$$

Em que m corresponde a massa de solo a ser pesada nos frascos (úmido) em gramas; m_s corresponde a massa de solo seco desejada, em gramas ($m_s = 50$ g) e TA corresponde ao teor de água do solo (kg kg^{-1}).

Determinação do volume de água a ser adicionado aos frascos

Para atingir 75% da capacidade de campo, foi necessária a adição de água aos solos. Para isso, o cálculo da quantidade de água a ser adicionada foi realizado utilizando a fórmula abaixo:

$$Va = \left[\frac{(CC.0,75)}{100} - TA \right] . ms \quad (4.4)$$

Em que, Va corresponde ao volume de água a ser adicionado ao solo (mL); CC capacidade de campo, %; TA teor de água atual do solo (kg kg^{-1}); ms massa do solo seco, em gramas.

Características dos herbicidas

O herbicida radiomarcado diuron [3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea] e sulfometuron-methyl {methyl2-[(4,6-dimethylpyrimidin-2-yl) carbamoyl sulfamoyl] benzoate} (DUPONT, Wilmington, DE, USA) apresentavam a pureza radioquímica de 97% e 99%, respectivamente, e atividade específica de $3,83 \text{ MBq mg}^{-1}$ (Phenyl-14-C (U)) e $1,12 \text{ MBq mg}^{-1}$ (14C-pyrimide-2-). O herbicida radiomarcado hexazinone [3-cyclohexyl-6-dimethylamino-1-methyl-1,3,5-triazine-2,4 (1H,3H)-dione] (International Isotopes Inc., USA) apresentava pureza radioquímica de 97,99% e atividade específica de $3,14 \text{ MBq mg}^{-1}$ (Anel-triazina-6-14C). A pureza dos compostos não radiomarcados de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl eram de 98,7%, 99,5% e 98,9%, respectivamente.

Biodegradação e mineralização dos herbicidas

Cinquenta gramas dos solos (base seca) foram pesados em frascos de Bartha de 250 mL. Em seguida, o teor de água no solo foi ajustado para 75% da capacidade de campo. Os frascos foram pesados, para ser possível o ajustamento do teor de água durante a condução do experimento, se necessário. Para garantir a retomada da atividade microbiana, os frascos de Bartha com os solos, foram incubados em sala escura a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ por 10 dias, antes do tratamento com os herbicidas.

A avaliação da biodegradação foi realizada separadamente para cada herbicida. Nos tratamentos em que foram avaliados isoladamente, o herbicida em

questão estava radiomarcado. Para o tratamento em mistura, somente o herbicida sendo avaliado estava radiomarcado e os outros eram padrões analíticos dos herbicidas (não radiomarcado).

A concentração dos herbicidas não radiomarcados na solução, foi calculada de acordo com a maior dose recomendada da associação formulada de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl (1387, 391 e 33 g i.a. ha⁻¹). Para o cálculo foi considerada a profundidade do solo de 0,10 m, densidade de 1.200 kg m⁻³ cm e a quantidade de solo (50g) nos frascos de Bartha. As soluções foram preparadas dissolvendo os padrões analíticos em acetona e, em seguida, solução contendo o herbicida radiomarcado foi adicionada. A concentração final das soluções foi de 310, 108 e 82 µg mL⁻¹ quando diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl estavam radiomarcados, respectivamente.

Foi aplicado 200 µL das soluções de modo que os solos dos frascos foram tratados com 17,9; 16,2 e 17,1 kBq de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl, respectivamente. Após aplicação, os solos foram homogeneizados com uma espátula e os frascos foram fechados com tampa de borracha, acoplada com filtro de “soda lime”, contendo rolha, para garantir que o CO₂ coletado fosse proveniente apenas da respiração do solo. Os frascos de Bartha foram incubados em sala escura à 20 ± 2°C, por 70 dias.

Para monitorar o ¹⁴CO₂ evoluído, 10 mL de solução de 2M NaOH foi adicionada ao lado dos frascos de Bartha. A solução de NaOH foi coletada em triplicada, após a injeção de ar nos frascos e trocada semanalmente. Alíquotas (1 mL) foram coletadas em duplicata e transferidas para frascos contendo 10 mL de solução cintiladora. A radioatividade foi analisada por Espectrômetro de Cintilação Líquida (ECL). A mineralização dos herbicidas foi avaliada aos 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70 dias após o tratamento (DAT).

A extração dos herbicidas remanescentes nos solos foi realizada aos 0, 7, 14, 28, 42, 56 e 70 DAT. Para a extração de diuron e hexazinone, o solo foi removido de dois frascos de Bartha e transferidos para tubos de centrífuga. Metanol (100 mL) foi adicionado nas amostras de solo e os tubos agitados por 1 hora (200 rpm). Em seguida, os tubos foram centrifugados por 15 minutos (3000 rpm) e em seguida, o sobrenadante foi coletado. Este procedimento foi repetido por duas vezes, porém, na segunda e terceira etapa foram adicionados 80 e 70 mL de metanol, respectivamente. Duas alíquotas (1 mL) do extrato foram coletadas e a radioatividade extraída dos solos

foi analisada por ECL. Em seguida os extratos foram concentrados em evaporador rotativo (45°C).

No caso do sulfometuron-methyl as amostras de solo foram combinadas com 100 mL de solução contendo os solventes cloreto de metileno, metanol e 2 M $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (3/4/1). A suspensão foi agitada por 1 hora, em seguida foi centrifugada por 10 minutos (4000 rpm) e então o sobrenadante produzido foi coletado. Setenta mililitros da solução de solventes foram adicionados novamente e o procedimento repetido. Os extratos finais foram reduzidos ao volume de aproximadamente 60 mL em evaporador rotativo (45°C) e utilizando ácido acético glacial, foi realizado o ajuste do pH (pH 5).

Os extratos foram transferidos para funil de separação e o herbicida presente na solução foi extraído adicionando cloreto de metileno. Este procedimento foi realizado por 4 vezes. A solução com o cloreto de metileno foi reduzida em evaporador rotativo, nas mesmas condições acima citadas. A fase aquosa gerada, foi reduzida para verificar se havia presença de radioatividade e uma vez não detectada radioatividade, foi descartada. Duas alíquotas (1 mL) do extrato foram coletadas para a análise da radioatividade extraída dos solos.

A extração foi realizada para avaliar a presença de herbicida não degradado remanescente no solo, por cromatografia delgada (*Thin Layer Chromatography* – TLC). Para isso, foram aplicados 100 µL dos extratos concentrados e o padrão dos herbicidas em placas de sílica, previamente ativadas a 250°C por duas horas. As placas foram colocadas em cuba cromatográfica, contendo 100 mL da solução de acetonitrila para hexazinone e hexano-acetona (6:4, v/v), para diuron. No caso de sulfometuron-methyl, o sistema de eluição foi preparado com acetonitrila, acetato de etila e ácido fórmico (150/50/1,5; v/v/v). Após a eluição do solvente, a placa foi retirada da cuba e permaneceu exposta até completa evaporação do solvente.

Procedeu-se a análise em analisador automático de TLC para as amostras de hexazinone. No caso do sulfometuron-methyl e diuron, a análise foi realizada utilizando placas fosforescentes. Para isso, as placas de TLC foram mantidas em contato com o filme por pelo menos 24 horas e após este período, o filme foi lido em *radio-scanner* (Cyclone-Packard).

Após as extrações, os solos foram secos em temperatura ambiente e homogeneizados em moinho para solo. Três subamostras (0,2 g) dos solos foram pesadas e oxidadas em oxidador biológico. O balanço da radioatividade recuperada

foi determinado somando a radioatividade detectada no total de ^{14}C -evoluído, a presente nos extratos e a recuperada dos solos, após oxidação.

O arranjo experimental foi inteiramente casualizados, em duplicata. A avaliação da evolução de $^{14}\text{CO}_2$ foi realizada em triplicata e a análise estatística foi feita separadamente para cada herbicida. Para a análise dos dados foram empregadas transformações Box-Cox (BOX; COX, 1964). Posteriormente à transformações dos dados, segundo o lambda recomendado, foi realizada a análise de variância (ZAR, 2010). A análise de dados foi realizada usando o software R (R CORE TEAM, 2017). Todos os resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$. Os dados referentes a radioatividade extraível, não-extraível e degradação dos herbicidas foi avaliada de forma descritiva, utilizando figuras.

4.3 Resultados e discussão

O balanço da radioatividade recuperada foi verificado com a somatória das porcentagens obtidas da evolução de $^{14}\text{CO}_2$, da extração dos herbicidas com solventes e oxidação das amostras dos solos. O resultado foi compreendido no intervalo de 90-110% conforme indicado no guia “Aerobic and Anaerobic Transformation in Soil” (OECD, 2017).

A aplicação em mistura com hexazinone e sulfometuron-methyl não influenciou nas porcentagens de $^{14}\text{CO}_2$ evoluído dos frascos com diuron, após 70 dias de incubação (DAT), em comparação com a aplicação isolada do herbicida, independentemente do solo. Por outro lado, houve maior evolução $^{14}\text{CO}_2$ dos frascos com hexazinone e sulfometuron-methyl quando aplicados em mistura em relação ao tratamento em que cada herbicida estava isolado (Tabela 4.2).

A presença de outros herbicidas nos solos pode ter aumentado a população de microrganismos capazes de degradar hexazinone e sulfometuron-methyl. Dias (2012) observou maior mineralização de ^{14}C -glicose, ou seja, aumento da atividade microbiana, quando diuron + hexazinone foi aplicado em Neossolo Quartizarênico. Em outro estudo, a aplicação de diuron + hexazinone não reduziu a biomassa microbiana do solo (FARIA et al., 2014).

Tabela 4.2. Porcentagem total de $^{14}\text{CO}_2$ evoluído, (total mineralizado) em relação ao total aplicado de ^{14}C -hexazinone, ^{14}C -diuron e ^{14}C -sulfometuron-methyl após aplicação isolada e em mistura (modo de aplicação) em solo arenoso (Neossolo Quartizarênico órtico típico) e muito-argiloso (Latossolo Vermelho eutrófico), 70 dias após o tratamento. Piracicaba, SP.

Tratamentos		% [^{14}C] do total aplicado		
		Diuron	Hexazinone	Sulfometuron-methyl
Modo de aplicação	Mistura ¹	9,62 ± 1,92	28,33 ± 6,75	3,64 ± 2,79
	Isolado	9,57 ± 2,14	24,32 ± 6,94	3,42 ± 2,90
Solos	Mt-argiloso	11,34 ± 0,32	32,43 ± 3,05	6,12 ± 0,35
	Arenoso	7,85 ± 0,91	20,22 ± 2,13	0,93 ± 0,074
$F_{\text{solo} \times \text{aplicação}}$		0,96 ^{ns}	0,55 ^{ns}	0,65 ^{ns}
$F_{\text{aplicação}}$		0,029 ^{ns}	24,92 ^{**}	6,53 [*]
F_{solo}		109,03 ^{***}	219,55 ^{***}	3379,74 ^{***}
Média		9,59	26,33	3,53
Desvio padrão		1,94	6,85	2,72

Valores correspondem a média (n=6), seguida do $\pm$ desvio padrão da média. Análise estatística foi realizada separadamente para cada herbicida. ^{ns} não significativo; ^{***}(p<0,001); ^{**} (p<0,01) e ^{*}(p<0.05), representa que as médias foram significativamente diferente de acordo com o teste de ANOVA, a 5% de probabilidade.¹Nos tratamentos em mistura o herbicida avaliado estava radiomarcado, enquanto os outros eram não radiomarcados.

Aplicação tratamentos em que os herbicidas estavam isolados ou em mistura; *Mt-argiloso* muito-argiloso.

Adicionalmente, a maior mineralização de hexazinone pode ser devido a competição de diuron e/ou sulfometuron-methyl por sítios de sorção. A sorção competitiva tornaria hexazinone mais disponível na solução do solo, e consequentemente, mais sujeito ao ataque de microrganismos. De acordo com Oliveira e Brighenti (2011) o herbicida deve estar disponível na solução do solo para que seja degradado.

Hexazinone apresenta alta solubilidade em água (33 000 mg L⁻¹ a 25°C) (SHANER, 2014) e é pouco sorvido ao solo (OLIVEIRA JR; KOSKINEN; FERREIRA, 2001). O que pode torna-lo mais sujeito a sorção competitiva, principalmente com diuron que apresenta maior sorção aos solos (CÁCERES-JENSEN et al., 2013). A sorção de atrazina diminuiu na presença de bifenox, que apresentava maior capacidade de sorção a sedimentos de lago (GAO et al., 1998).

No caso de sulfometuron-methyl a hipótese de sorção competitiva poderia ser considerada, pois em estudo realizado por Oliveira Jr, Koskinen e Ferreira (2001), a sorção de hexazinone foi maior que a de sulfometuron-methyl em solos tropicais. Porém, a sorção de sulfometuron-methyl foi independente da concentração inicial em

estudo realizado com solos da Argentina (AZCARATE; MONTOYA; KOSKINEN, 2015). De acordo com Xing, Pignatello e Gigliotti (1996), quando a sorção de um sorvente ao sorvado é independente da concentração, ocorre a ausência de competição entre co-solutos.

Na literatura, há trabalhos que sugerem que a aplicação em misturas pode afetar degradação de compostos orgânicos. A meia-vida de pendimethalin aumentou de 26,9 para 46,1 dias (DT_{50}), quando aplicado com o fungicida mancozeb. Quando aplicado com a mistura de mancozeb mais o inseticida thiametoxam (solução ternária), a meia-vida de pendimethalin aumentou para 62,2 dias, em solo de textura franco-arenosa (SWARCEWICZ; GREGORCZYK, 2012).

A presença de atrazina ou simazine aumentou a taxa de degradação de cyanazine pela bactéria *Ralstonia picketti* em solução salina, suplementada com glicose (pH 6,8). No mesmo estudo, entretanto, não foi observada mudança no padrão de biodegradação de atrazina na presença dos herbicidas alachlor, 2,4-D, dicamba ou MCPA (RADOSEVICH; TRAINA; TUOVINEN, 1995).

Em outro estudo, a meia-vida de isoproturon aumentou de 18,5 para 71,5 dias, quando aplicado em mistura com o fungicida chlorothalonil em amostras de solo de superfície (FOGG; BOXALL; WALKER, 2003). A degradação de 2,4-D, por outro lado, não foi influenciada pela presença de dicamba, dichlorprop, difenzoquat, TCA ou 2,4,5-T, em solos muito-argiloso e franco-arenoso (SMITH, 1979).

A evolução de $^{14}CO_2$ oriundo da mineralização de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl foi maior no solo muito-argiloso (Tabela 4.2), o qual apresentava maior teor de matéria orgânica em relação ao solo arenoso (Tabela 4.1).

Em estudo realizado por McCormick e Hiltbold (1966), maior mineralização de diuron ocorreu no solo franco-argiloso, o qual apresentava maior teor de carbono orgânico ($CO\ 8,8\ g\ kg^{-1}$), quando comparado com o solo de textura areia-franca ($CO\ 5,9\ g\ kg^{-1}$). Em estudo avaliando o efeito da adição de vinhaça na mineralização de diuron, foi observado a porcentagem acumulada de $^{14}CO_2$ desprendido de 15,0% e 12,0%, no solo Terra Roxa, que apresentava maior teor carbono orgânico ($CO\ 14,3\ g\ dm^{-3}$). Em Latossolo Vermelho ($CO\ 4,0\ g\ dm^{-3}$), a porcentagem de desprendimento de $^{14}CO_2$ foi de 3,5%. A adição de vinhaça em Terra Roxa contribuiu para a maior a mineralização da molécula (PRATA et al., 2000).

Calderón et al. (2004), obtiveram valores de meia-vida de degradação de hexazinone de 47 e 91 dias em solo com maior ($MO\ 31,5\ g\ kg^{-1}$) e menor ($MO\ 8,5\ g$

kg⁻¹) teor de matéria orgânica, respectivamente. No caso de sulfometuron-methyl, a degradação do herbicida foi maior em solo franco que apresentava maior teor matéria orgânica (MO 40 g kg⁻¹) quando comparado com solos franco-arenoso (MO 23 g kg⁻¹) e franco-argilo-siltoso (MO 37 g kg⁻¹), em bioensaio realizado com raízes de milho (LYM; SWENSON, 1991).

Altos teores de matéria orgânica no solo, tem-se mostrado promover a biodegradação de compostos (COX et al., 1997). Isto porque, a matéria orgânica do solo pode fornecer carbono e nutrientes para o crescimento microbiano (MCCORMICK; HILTBOLD, 1966; MORRILL; MAHILUM; MOHIUDDIN, 1982) e um grande número de microrganismos no solo, que são capazes de degradar compostos orgânicos, também degradam as moléculas de herbicidas (OLIVEIRA; BRIGHENTI, 2011).

Por outro lado, um alto teor de matéria orgânica pode ter efeito negativo sobre a degradação, pois a sorção de herbicidas muitas vezes tem correlação positiva com o teor de carbono orgânico do solo (OLIVEIRA JR; KOSKINEN; FERREIRA, 2001). Em alguns casos, a sorção de compostos orgânicos torna-os resistentes ao ataque microbiano (REGITANO; KOSKINEN; SADOWSKY, 2006), pois os mesmos não estaram disponíveis na solução do solo.

A porcentagem de ¹⁴CO₂ evoluído total de diuron foi aproximadamente de 7,0% e 11,0% (% do total aplicado) nos solos arenoso e muito-argiloso, respectivamente, aos 70 DAT (Figura 4.1). Dias (2012) obteve as porcentagens de mineralização de 12,4% e 41,3% aos 70 DAT, em solo arenoso e muito-argiloso quando diuron foi aplicado na dose de 3 µg i.a. g⁻¹ de solo (base seca). Quando aplicada dose de 1 µg i.a. g⁻¹ de solo, em mistura com hexazinone, as porcentagens de mineralização de diuron obtidas, nos mesmos solos, foram de 8,6% e 11,1% (% do total aplicado). Estes resultados indicam que a mineralização de diuron pode variar em função da dose aplicada.

No presente estudo foi aplicada a dose de diuron de 1,24 µg i.a. g⁻¹ de solo, dose próxima a aplicada por Dias (2012), o que justifica as porcentagens de mineralização de diuron semelhantes. Inoue et al. (2015), realizando bioensaios observaram que em solo argiloso a meia-vida da mistura de diuron + hexazinone + sulfometuron-methyl aumentou de 80 para 100 dias, quando aplicada a menor e maior dose da mistura, respectivamente. Contudo, em solo arenoso, a meia-vida de degradação obtida foi de 52 dias, independente da dose aplicada.

Figura 4.1. Porcentagem acumulada de $^{14}\text{CO}_2$ evoluído (mineralização total) de ^{14}C -diuron isolado e em mistura com hexazinone e sulfometuron-methyl, em solo arenoso e muito-argiloso, aos 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70 dias após tratamento. Piracicaba, SP. As barras representam o desvio padrão da média.

Porcentagens menores de mineralização foram obtidas por McCormick e Hiltbold (1966), em que 3,9% a 5,6% de diuron (% de total aplicado) havia sido mineralizado após 12 semanas de incubação a 30°C. As maiores porcentagens de $^{14}\text{CO}_2$ evoluído de diuron, obtidas no presente estudo, podem ser devido a utilização de solos coletados em área de cultivo de cana-de-açúcar, onde ocorreram aplicações prévias de diuron (Apêndices A e B). Aplicações repetidas do mesmo princípio ativo em uma área pode selecionar uma microbiota específica, havendo degradação mais rápida do herbicida (OLIVEIRA; BRIGHENTI, 2011).

El Sebaï et al. (2010) obtiveram porcentagens de mineralização entre 1,3% a 45,8%, em relação ao total aplicado (119 DAT), em solo que foi exposto ao diuron anualmente, durante uma década antes da realização do estudo. Nesse estudo, foram avaliados diferentes teores de água do solo (28%, 56%, 84% e 112% da capacidade de campo) e temperaturas de incubação (10, 20 e 28°C). No tratamento realizado com a temperatura de 20°C e capacidade de campo 84%, o total mineralizado de diuron foi de 40,0% aproximadamente, aos 119 DAT.

Pode-se notar na Figura 4.2, que após uma fase “lag” entre 7 a 21 dias, a evolução de $^{14}\text{CO}_2$ de hexazinone aumentou. Após 70 dias de incubação a porcentagem de $^{14}\text{CO}_2$ evoluído variou aproximadamente entre 20,0% a 35,0%, em relação ao total aplicado. Resultado semelhante foi obtido por Rhodes (1980), em que após uma fase “lag” de 10 a 20 dias, a evolução de $^{14}\text{CO}_2$ aumentou rapidamente a partir de frascos com solos tratados com hexazinone (4 ppm e 20 ppm). Após 80 dias, 45,0-75,0% da radioatividade aplicada havia sido evoluída como $^{14}\text{CO}_2$.

Em estudo realizado por Ngigi et al. (2014) foi observado crescimento de culturas de bactérias com a degradação de hexazinone em meio-de-cultura líquido, após fase “lag” de 7 dias, indicando que a degradação do herbicida é por catabolismo.

Valores menores de mineralização de hexazinone foram obtidos por Dias (2012). Aos 70 dias após a aplicação, 9,4% e 7,7% de hexazinone havia sido mineralizado em solo muito-argiloso e arenoso, respectivamente. Marinho, Bicalho e Ferreira (2012) observaram 0,6% de mineralização de hexazinone, 65 dias após aplicação. Neste último experimento, o solo foi seco antes da instalação do experimento o que pode ter prejudicado a microbiota do solo, justificando a baixa porcentagem de mineralização do herbicida.

Figura 4.2. Porcentagem acumulada de $^{14}\text{CO}_2$ evoluído (mineralização total) de ^{14}C -hexazinone isolado e em mistura com diuron e sulfometuron-methyl, em solo arenoso e muito-argiloso, aos 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70 dias após tratamento. As barras representam o desvio padrão da média.

Lalah, Muendo e Getenga (2009) observaram meia-vida de dissipação de hexazinone de aproximadamente 20 dias, em estudo realizado em condição de campo, em região tropical (solo argiloso). Garret et al. (2015) obtiveram valor semelhante, em que a meia-vida de dissipação de hexazinone foi de 18 dias, em estudo realizado com solos de floresta da Nova Zelândia. Rhodes (1980), obteve valores de meia-vida de degradação de hexazinone no campo de 1 a 6 meses em solos franco-siltosos, localizados nos estados de Delaware e Mississipi, respectivamente (Estados Unidos da América do Norte). Indicando que o período que hexazinone levou para ser degradado variou dependendo de onde foi realizado o estudo.

A porcentagem máxima de $^{14}\text{CO}_2$ evoluído obtida a partir da mineralização de sulfometuron-methyl foi de 6,3%, após 70 dias de incubação a $20 \pm 2^\circ\text{C}$, em solo muito-argiloso (Figura 4.3). Maiores porcentagens foram obtidas por Anderson e Dulka (1985), em que 27,0% e 50,0% de $^{14}\text{CO}_2$ evoluído foi detectado, quando aplicado a maior dose (1,3 ppm) e menor dose (0,14 ppm) de sulfometuron-methyl, respectivamente, 147 dias após incubação a 25°C .

No estudo realizado por Anderson e Dulka (1985) pode-se observar um efeito da dose da aplicação na mineralização de sulfometuron-methyl. No presente estudo, sulfometuron-methyl foi aplicado em dose intermediária (0,329 ppm) comparada as aplicadas pelos autores (0,14 ppm e 1,3 ppm), o que não justifica a menor mineralização.

Contudo, a menor temperatura de incubação aqui utilizada, pode explicar a menor mineralização do herbicida. A persistência de sulfometuron-methyl diminuiu com o aumento da temperatura em estudo realizado com bioindicadores. Pois, o herbicida foi capaz de inibir o crescimento de raízes de milho até 155 DAT quando avaliada a temperatura de 24°C , na temperatura de 16°C a inibição ocorreu até 288 DAT, indicando menor degradação do herbicida (LYM; SWENSON, 1991).

O máximo de $^{14}\text{CO}_2$ evoluído de ^{14}C -sulfometuron-methyl obtido de frascos com solo arenoso foi de 0,98 % (Figura 4.3). Provavelmente no solo arenoso não havia microrganismos capazes de mineralizar sulfometuron-methyl, o que explica a baixa mineralização. Além disso, o solo arenoso apresentava menor teor de matéria orgânica (11 g kg^{-1}) o que está associado a uma menor população microbiana que seria capaz de mineralizar o herbicida, como supracitado.

Anderson e Dulka (1985), não detectaram evolução de $^{14}\text{CO}_2$ significativa (<1% do total aplicado) após 21 semanas de incubação, a partir de frascos que continham solos previamente esterilizados, tratados com sulfometuron-methyl.

Figura 4.3. Porcentagem acumulada de $^{14}\text{CO}_2$ evoluído (mineralização total) de ^{14}C -sulfometuron-methyl isolado e em mistura com diuron e hexazinone, em solo arenoso e muito-argiloso, aos 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70 dias após tratamento. As barras representam o desvio padrão da média.

A degradação de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl foi avaliada considerando a redução do herbicida não degradado detectado nos extratos dos solos, que foram aplicados em placa de TLC aos 0, 7, 14, 28, 42, 56 e 70 DAT. A porcentagem de diuron não degradado foram semelhantes nos tratamentos em que a aplicação foi isolada ou mistura, em ambos os solos (Figura 4.4). No entanto, a porcentagem de diuron não degradado foi de aproximadamente 45,0% no solo muito-argiloso. No solo arenoso a porcentagem obtida foi cerca de 65,0%, indicando que a degradação de diuron no solo muito-argiloso foi maior.

Resultado diferente foi obtido em estudo avaliando a dissipação de diuron em solos tropicais, em que menores concentrações de diuron foram detectadas nos solos com maiores teores de areia, aos 156 DAA. A meia-vida estimada de dissipação de diuron foi de 46 dias para o solo LV (pH 6,2; MO 8 g kg⁻¹ e 720 g kg⁻¹ de areia) e 91

dias para o solo LVA (pH 5,0; MO 37 g kg⁻¹; 270 g kg⁻¹ de areia) (ROCHA et al., 2013). Os autores, citando Inoue et al. (2008), atribuíram este resultado a dissipação mais intensa que ocorre nos solos arenosos, uma vez que o herbicida é menos sorvido neste solo, tornando mais disponível para a degradação por microrganismos e absorção pelas plantas.

Figura 4.4. Porcentagem de ¹⁴C-diuron em relação ao total de radioatividade extraída dos solos aos 0, 7, 14, 28, 42, 56 e 70 dias após o tratamento em solo arenoso e muito-argiloso, isolado e em mistura com hexazinone e sulfometuron-methyl.

De forma diferente ao observado em relação a evolução de ¹⁴CO₂, maior degradação de hexazinone ocorreu em solo arenoso, pois menor porcentagem de herbicida não degradado foi observado neste solo (40,0-47,0% em relação a radioatividade extraída), aos 70 DAT (Figura 4.5). Esta menor porcentagem indica que apesar de hexazinone ter sido mais degradado no solo arenoso, formando metabólitos, o anel de triazina não foi totalmente degradado, não ocorrendo a liberação de ¹⁴CO₂.

Figura 4.5. Porcentagem de ^{14}C -hexazinone, em relação ao total de radioatividade extraída dos solos aos 0, 7, 28, 42, 56 e 70 dias após o tratamento, em solo arenoso e muito-argiloso (mt-argiloso), isolado e em mistura com diuron e sulfometuron-methyl.

Apesar da baixa evolução de $^{14}\text{CO}_2$ observadas no solo arenoso após aplicação de ^{14}C -sulfometuron-methyl, pode-se observar que aos 70 DAT cerca de 60% de sulfometuron-methyl não degradado foi detectado nos extratos do solo arenoso (Figura 4.6).

Figura 4.6. Porcentagem de ^{14}C -sulfometuron-methyl em relação ao total de radioatividade extraída dos solos aos 0, 7, 14, 28, 42, 56 e 70 dias após o tratamento em solo arenoso e muito muito-argiloso, isolado e em mistura com hexazinone e sulfometuron-methyl. As barras representam o desvio padrão da média.

Resultado semelhante foi obtido por Anderson e Dulka (1985) em que foi observada rápida degradação do sulfometuron-methyl em solo esterilizado, embora não tenha ocorrido produção de $^{14}\text{CO}_2$ significativa a partir deste solo. Após aproximadamente 24 semanas da aplicação, sulfometuron-methyl havia sido degradado igualmente nos solos esterilizados e não esterilizados, neste estudo. Estes resultados indicam que apesar do sulfometuron-methyl ser degradado por vias abióticas, como a hidrólise (HARVEY; DULKA; ANDERSON, 1985), sua mineralização está associada a microrganismos.

Trubey, Bethem e Peterson (1998) observaram que meia-vida de degradação de sulfometuron-methyl variou de 12 a 25 dias em estudo realizado em condição de campo, em diferentes regiões dos Estados Unidos da América do Norte.

Resíduos não-extraíveis de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl

Para a avaliação dos resíduos extraíveis e não-extraíveis, foi calculada a média da radioatividade obtida dos tratamentos em que foi realizada aplicação em mistura ou isolado, para cada solo.

Pode-se observar que a porcentagem de radioatividade extraída diminuiu com o tempo (0 a 70 DAT) para todos os herbicidas (Figuras 4.7 a 4.12). Essa diminuição pode estar relacionada com o tempo de contato dos herbicidas com o solo, que causaria um aumento da sorção das moléculas. A diminuição na biodisponibilidade de herbicida, ou outros compostos orgânicos, dependendo do tempo de contato com o solo, muitas vezes é denominada “envelhecimento” (CHUNG; ALEXANDER, 2002; REGITANO; KOSKINEN; SADOWSKY, 2006).

Figura 4.7. Porcentagem de radioatividade detectada (% do total aplicado) após extração de diuron (extraído) de solo muito-argiloso e recuperada a partir da oxidação de subamostras dos solos (não extraído) aos 0, 7, 14, 28, 42, 56 e 70 dias após o tratamento.

A porcentagem de diuron não extraível foi de aproximadamente 50,0% e 60,0% em relação ao total aplicado, nos solos arenoso e argiloso, respectivamente (70 DAT). Valores semelhantes aos observados por Dias (2012), que obteve valores entre 31,9% a 58,5% (70 DAT), em relação ao total aplicado, em cinco solos de cultivo de cana-de-açúcar.

Figura 4.8. Porcentagem de radioatividade detectada (% do total aplicado) após extração de diuron (extraído) de solo arenoso e recuperada a partir da oxidação de subamostras dos solos (não extraído) aos 0, 7, 14, 28, 42, 56 e 70 dias após o tratamento.

Estes valores foram superiores aos obtidos por Saison et al. (2010), em que a formação de resíduos de diuron não extraíveis foi de 1,5% três dias após o tratamento (% do total aplicado) e o máximo de resíduo de diuron não extraível detectado foi de 17,3%, aos 105 DAT. Estas menores porcentagens, pode ser devido ao fato do estudo ter sido realizado utilizando micro-lisímetros preenchidos com solo não deformado (18,5% argila; 10,2 g kg⁻¹ de MO), mantidos a céu aberto por 12 meses. A extração do herbicida foi realizada com sucessivas extrações com água e metanol.

A porcentagem de formação de resíduo não extraível de hexazinone foi de aproximadamente 40,0% em ambos os solos, aos 70 DAT (Figura 4.9 e 4.10). Em estudo realizado por Garcia-Valcarcel e Tadeo (1999) foi observada redução de hexazinone e simazine na solução do solo, após período de incubação de 44 dias.

Pois, a relação C/C_e (concentração do herbicida no solo/concentração na solução do solo) diminuiu com o período de incubação para os dois herbicidas.

Figura 4.9. Porcentagem de radioatividade detectada (% do total aplicado) após extração de hexazinone (extraído) de solo muito-argiloso e recuperada a partir da oxidação de subamostras dos solos (não extraído) aos 0, 7, 14, 28, 42, 56 e 70 dias após o tratamento.

Os valores de $K_{d,app}$ de sorção de simazine, herbicida do grupo das triazinas, aumentaram de $3,7 \text{ L kg}^{-1}$ para 26 L kg^{-1} e 4 L kg^{-1} para 17 L kg^{-1} em dois solos brasileiros, após período de incubação de 102 dias (efeito de envelhecimento). Foi observado que a formação de resíduos ligados de simazine foi maior que 60,0% em relação ao total aplicado, após o período de incubação. A formação de resíduo ligado de simazine foi considerada como a principal via de dissipação deste herbicidas em cinco dos seis solos estudados, oriundos do Brasil, Havaí e dos Estados Unidos da América do Norte (REGITANO; KOSKINEN; SADOWSKY, 2006).

Figura 4.10. Porcentagem de radioatividade detectada (% do total aplicado) após extração de hexazinone (extraído) de solo arenoso e recuperada a partir da oxidação de subamostras dos solos (não extraído) aos 0, 7, 14, 28, 42, 56 e 70 dias após o tratamento.

A porcentagem de resíduo não extraível de sulfometuron-methyl foi de aproximadamente 30,0% e 50,0% em solo arenoso e argiloso, respectivamente. Anderson e Dulka (1985) notaram que conforme o tempo de incubação aumentou, o nível de resíduos não extraíveis de sulfometuron-methyl também aumentou. Resíduos não-extraíveis radiomarcados foram de 4,0-5,0% do total aplicado no tempo zero e aumentou para 21,0-17,0% (aplicação da menor e maior dose de sulfometuron-methyl, respectivamente) no final do período de incubação (24 semanas).

Figura 4.11. Porcentagem de radioatividade detectada (% do total aplicado) após extração de sulfometuron-methyl (extraído) de solo muito-argiloso e recuperada a partir da oxidação de subamostras dos solos (não extraído) aos 0, 7, 14, 28, 42, 56 e 70 dias após o tratamento.

Figura 4.12. Porcentagem de radioatividade detectada (% do total aplicado) após extração de sulfometuron-methyl (extraído) de solo arenoso recuperada a partir da oxidação de subamostras dos solos (não extraído) aos 0, 7, 14, 28, 42, 56 e 70 dias após o tratamento.

Com os resultados obtidos pode-se considerar que a maior mineralização de sulfometuron-methyl e hexazinone, em mistura com outros herbicidas, representa um efeito positivo no quesito ambiental, pois as moléculas serão menos persistentes nos solos diminuindo, por exemplo, seu potencial de lixiviação (NAVARRO et al., 2012). Contudo, especialmente no caso do hexazinone, a alta mineralização e degradação do herbicida pode representar perda da eficácia agronômica, devido a um menor efeito residual.

O controle de plantas daninhas, com misturas de dois ou mais herbicidas, já tem sido estudado em relação a efeitos sinérgicos/antagônicos (TORNISIELO et al., 2013). Dessa forma, estudos adicionais avaliando a persistência de herbicidas aplicados em mistura devem ser considerados para a previsão do destino final dessas moléculas.

4.4 Conclusão

A mineralização de hexazinone e sulfometuron-methyl foi maior quando aplicados em mistura. Maior mineralização dos três herbicidas foi observada em solo muito-argiloso. Maior degradação de hexazinone foi observada no solo arenoso. A mineralização de sulfometuron-methyl foi baixa em solo arenoso, porém o herbicida foi degradado neste solo.

Referências

- AISLABIE, J.; LLOYD-JONES, G. A review of bacterial degradation of Pesticides. **Australian Journal os Soil Research**, v. 33, p. 925–942, 1995.
- ANDERSON, J. J.; DULKA, J. J. Enviromental fate of sulfometuron-methyl in aerobic soils. **J. Agricultural Food Chemistry**, v. 33, p. 596–602, 1985.
- AZCARATE, M. P.; MONTOYA, J. C.; KOSKINEN, W. C. Sorption, desorption and leaching potential of sulfonylurea herbicides in Argentinean soils. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 50, p. 229–237, 3 abr. 2015.
- BOX, G. E. .; COX, D. . An analysis of transformations. **Journal od the Royal Statistical Society**, v. 16, p. 211–252, 1964.
- CÁCERES-JENSEN, L. et al. Sorption kinetics of diuron on volcanic ash derived soils. **Journal of Hazardous Materials**, v. 261, p. 602–613, 2013.

CALDERÓN, M. J. et al. Hexazinone and simazine dissipation in forestry field nurseries. **Chemosphere**, v. 54, n. 1, p. 1–8, jan. 2004.

CHUNG, N.; ALEXANDER, M. Effect of soil properties on bioavailability and extractability of phenanthrene and atrazine sequestered in soil. **Chemosphere**, v. 48, n. 1, p. 109–115, 2002.

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

COX, L. et al. Porosity and herbicide leaching in soils amended with olive-mill wastewater. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 65, n. 2, p. 151–161, out. 1997.

DIAS, A. C. R. **Lixiviação, mobilidade, degradação, mineralização e atividade microbiana de herbicidas em função de atributos de cinco tipos de solos**. 2012. 121p. Tese (Doutorado em Ciências - Área concentração Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2012.

DORES, E. F. G. C. et al. Environmental behaviour of metolachlor and diuron in a tropical soil in the central region of Brazil. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 197, n. 1–4, p. 175–183, 2009.

DUPONT Front ®. Disponível em: <<http://www.dpfront.com.br/index.php>>. Acesso em: 4 fev. 2017.

EL SEBAÏ, T. et al. Isoproturon mineralization in an agricultural soil. **Biology and Fertility of Soils**, v. 47, n. 4, p. 427–435, 2010.

EMBRAPA, E. B. DE P. A. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3. ed. Brasília: Embrapa Solos, 2013.

FARIA, A. T. et al. Herbicide effects on the activity rhizospheric microbial and growth of sugar cane. **Bioscience Journal**, v. 2, p. 1024–1032, 2014.

FOGG, P.; BOXALL, A. B. A.; WALKER, A. Degradation of pesticides in biobeds: The effect of concentration and pesticide mixtures. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 18, p. 5344–5349, 2003.

GAO, J. P. et al. Sorption of pesticides in the sediment of the Teufelsweiher pond (Southern Germany). II: Competitive adsorption, desorption of aged residues and effect of dissolved organic carbon. **Water Research**, v. 32, n. 7, p. 2089–2094, jul. 1998.

GARCIA-VALCARCEL, A. I.; TADEO, J. L. Influence of soil moisture on sorption and degradation of hexazinone and simazine in soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 9, p. 3895–3900, 1999.

GARRETT, L. G. et al. Environmental fate of terbuthylazine and hexazinone in a New Zealand planted forest Pumice soil. **Forest Ecology and Management**, v. 337, p. 67–76, 2015.

HARVEY, J.; DULKA, J. J.; ANDERSON, J. J. Properties of sulfometuron methyl affecting its environmental fate: aqueous hydrolysis and photolysis, mobility and adsorption on soils, and bioaccumulation potential. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 33, n. 4, p. 590–596, 1985.

INOUE, M. H. et al. Leaching potential and degradation of diuron in two soils of contrasting texture. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 30, n. 5, 12 dez. 2008.

INOUE, M. H. et al. Potencial de lixiviação e efeito residual de diuron + hexazinone + sulfometuron-methyl em solos de textura contrastante. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 58, n. 4, p. 418–426, 2015.

LALAH, J. O.; MUENDO, B. M.; GETENGA, Z. M. The dissipation of hexazinone in tropical soils under semi-controlled field conditions in Kenya. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 44, n. 7, p. 690–696, 16 set. 2009.

LANDRY, D.; DOUSSET, S.; ANDREUX, F. Leaching of oryzalin and diuron through undisturbed vineyard soil columns under outdoor conditions. **Chemosphere**, v. 62, n. 10, p. 1736–1747, 2006.

LYM, R. G.; SWENSON, O. R. Sulfometuron Persistence and Movement in Soil and Water in North Dakota. **Journal of Environment Quality**, v. 20, n. 1, p. 209, 1991.

MARINHO, D. A.; BICALHO, S. T.; FERREIRA, E. M. Distribution and Mineralization of ¹⁴C-Hexazinone in Soil-Plant Microcosm with the Riparian Forest Specie Cecropia Hololeuca. **Journal of Bioremediation and Biodegradation**, v. 1, n. S1, p. 10–15, 2012.

MCCORMICK, L. L.; HILTBOLD, A. E. Microbiological Decomposition of Atrazine and Diuron in Soil. **Weeds**, v. 14, n. 1, p. 77–82, 1966.

MICHAEL, J. L. et al. Fate of the herbicide sulfometuron methyl (Oust®) and effects on invertebrates in drainages of an intensively managed plantation. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 36, n. 10, p. 2497–2504, out. 2006.

MOREIRA, F. M. DE S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2006.

MORRILL, L. G.; MAHILUM, B. C.; MOHIUDDIN, S. H. **Organic Compounds in Soils: Sorption, Degradation, and Persistence**. Michigan: Ann Arbor, 1982.

NAVARRO, S. et al. Assessment of the Leaching Potential of 12 Substituted Phenylurea Herbicides in Two Agricultural Soils under Laboratory Conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 21, p. 5279–5286, 30 maio 2012.

NGIGI, A. et al. Isolation and identification of hexazinone-degrading bacterium from sugarcane-cultivated soil in Kenya. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 92, n. 3, p. 364–368, 24 mar. 2014.

OECD. **Test No. 307: Aerobic and Anaerobic Transformation in Soil**. Disponível

em: <http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-307-aerobic-and-anaerobic-transformation-in-soil_9789264070509-en>. Acesso em: 23 fev. 2017.

OLIVEIRA, M. .; BRIGHENTI, A. M. Comportamento dos herbicidas no ambiente. In: OLIVEIRA JR., R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. (Eds.). . **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas**. Curitiba: Omnipax, 2011. p. 263–304.

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

PRATA, F. et al. Degradação e adsorção de diuron em solos tratados com vinhaça. **Revista Brasileira de Ciências dos Solo**, v. 24, p. 217–233, 2000.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Disponível em: <<http://www.r-project.org>>. Acesso em: 18 fev. 2017.

RADOSEVICH, M.; TRAINA, S.; TUOVINEN, O. Degradation of binary and ternary mixtures of s-triazines by a soil bacterial isolate. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 30, n. 4, p. 457–471, 1995.

REGITANO, J. B.; KOSKINEN, W. C.; SADOWSKY, M. J. Influence of soil aging on sorption and bioavailability of simazine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 4, p. 1373–1379, 2006.

RHODES, R. C. Soil studies with ¹⁴C-labeled hexazinone. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 28, p. 311–315, 1980.

ROCHA, P. R. . et al. Sorption and desorption of diuron in four brazilian latosols. **Planta Daninha**, v. 31, n. 1, p. 231–238, mar. 2013.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. L. S. **Guia de herbicidas**. 6. ed. Londrina: Edição dos autores, 2011.

ROUCHAUD, J. et al. Soil Dissipation of Diuron, Chlorotoluron, Simazine, Propyzamide, and Diflufenican Herbicides After Repeated Applications in Fruit Tree Orchards. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 39, n. 1, p. 60–65, 30 jun. 2000.

SAISON, C. et al. Evidence of the role of climate control and reversible aging processes in the fate of diuron in a Mediterranean topsoil. **European Journal of Soil Science**, v. 61, n. 4, p. 576–587, 2010.

SHANER, D. L. **Herbicide Handbook**. . 10th Edition. 10. ed. Champaign: Weed Science Society of America, 2014.

SILVA, A. A. DA et al. Comportamento de hericidas no solo. In: MONQUERO, P. A. (Ed.). . **Aspectos da Biologia e Manejo das Plantas Daninhas**. São Carlos: Rima, 2014. p. 165–216.

SINDIVEG. **Sindicato nacional da indústria de produtos para a defesa vegetal**.

Disponível em: <<http://www.sindiveg.org.br/index.php>>. Acesso em: 3 mar. 2017.

SINGH, B. K.; WALKER, A.; WRIGHT, D. J. Degradation of chlorpyrifos, fenamiphos, and chlorothalonil alone and in combination and their effects on soil microbial activity. **Environmental toxicology and chemistry / SETAC**, v. 21, n. 12, p. 2600–2605, 2002.

SMITH, A. E. Soil persistence experiments with ¹⁴C-2,4-D in herbicidal mixtures, and field persistence studies with tri-allate and trifluralin both singly and combined. **Weed Research**, v. 19, p. 165–170, 1979.

SPADOTTO, C. A. et al. **Monitoramento do Risco Ambiental de Agrotóxicos: princípios e recomendações**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004.

SWARCEWICZ, M. K.; GREGORCZYK, A. The effects of pesticide mixtures on degradation of pendimethalin in soils. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, n. 5, p. 3077–3084, 2012.

TORNISIELO, V. L. et al. Pesticide Tank Mixes: An Environmental Point of View. In: PRICE, A. ; KELTON, J. . (Eds.). **Herbicides - Current Research and Case Studies in Use**. Rijeka: InTech, 2013. p. 473–487.

TRUBEY, R. K.; BETHEM, R. A.; PETERSON, B. Degradation and mobility of sulfometuron-methyl (Oust Herbicide) in field Soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 6, p. 2360–2367, jun. 1998.

UNIVERSITY OF HERTFORDSHIRE. **Pesticide properties database**. Disponível em: <<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/index2.htm>>. Acesso em: 4 fev. 2017.

XING, B.; PIGNATELLO, J. J.; GIGLIOTTI, B. Competitive sorption between atrazine and other organic compounds in soils and model sorbents. **Environmental Science & Technology**, v. 30, n. 8, p. 2432–2440, jan. 1996.

ZABALOY, M. C.; GARLAND, J. L.; GÓMEZ, M. A. An integrated approach to evaluate the impacts of the herbicides glyphosate, 2,4-D and metsulfuron-methyl on soil microbial communities in the Pampas region, Argentina. **Applied Soil Ecology**, v. 40, n. 1, p. 1–12, set. 2008.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. New Jersey: Prentice-Hall, 2010.

5. EFEITO DE DIURON, HEXAZINONE E SULFOMETURON-METHYL ISOLADOS E EM MISTURA SOBRE A TRANSFORMAÇÃO DE CARBONO POR MICRORGANISMOS DO SOLO

Resumo

Após atingirem o solo, herbicidas podem afetar organismos não alvos, diminuindo sua população ou influenciando sua atividade. Diante disso, foi avaliado o efeito de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl isolados e em mistura na transformação de carbono pelos organismos dos solos de textura muito-argilosa (Latossolo Vermelho eutrófico) e arenosa (Neossolo Quartzarênico órtico típico) em condições de laboratório, após adição de glicose. Tratamento controle, sem a aplicação de herbicidas, também foi avaliado. Soluções com herbicidas na dose 1387, 391 e 33 g i.a. ha⁻¹ de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl, respectivamente, isolados e em mistura ternária foram preparadas e aplicadas sobre 300 g das amostras dos solos coletados. Amostras dos solos tratados (10 g) com herbicidas e do controle foram coletadas aos 7, 14, 28 e 42 dias após o tratamento (DAT), em triplicata. Em seguida, foi adicionada 1mL de solução de ¹⁴C-glicose. O ¹⁴CO₂ evoluído foi aprisionado em solução de 2M NaOH e a radioatividade foi avaliada por espectrômetro de cintilação líquida, doze horas após a adição de glicose. O delineamento do experimento foi inteiramente casualizado. Não foi observado efeito dos herbicidas em relação ao controle, em ambos os solos aos 7, 14 e 28 DAT. Hexazinone não influenciou a evolução de ¹⁴CO₂ em nenhum dos solos. Diuron apresentou maior evolução de ¹⁴CO₂ em relação ao controle nos solos muito-argiloso e arenoso, aos 42 DAT. Sulfometuron-methyl apenas apresentou efeito na evolução de ¹⁴CO₂ em solo arenoso, na mesma data de avaliação. Houve maior evolução de ¹⁴CO₂ no tratamento em mistura em solo arenoso, em relação ao controle, aos 42 DAT. A aplicação em mistura não aumentou o efeito dos herbicidas sobre a atividade biológica do solo.

Palavras-chave: Evolução de CO₂; Microflora; ¹⁴C-glicose; Radiorespirometria

Abstract

Herbicides could affect soil non-target organism, decreasing the population or the activity of an organism upon contact to the soil surface. Thus, a laboratory study aiming to evaluate the effect of diuron, hexazinone and sulfometuron-methyl on the carbon transformation were evaluated after the addition of glucose. A control treatment was included (no herbicide application). Samples (10 g) of the soils treated with herbicides and control were collected at 7, 14, 28 and 42 days after treatment (DAT), in three

replications. ^{14}C -glucose solution (1 ml) were applied in the soil samples. A solution of 2M NaOH was used to trap evolved $^{14}\text{CO}_2$ in the sample and radioactivity were analyzed by liquid spectrometry scintillation, 12 hours after glucose application. The experiment was conducted in a complete randomized design. Hexazinone did not affect $^{14}\text{CO}_2$ evolution. Diuron showed a greater $^{14}\text{CO}_2$ evolution in sandy and clay soil, at 42 DAT. Sulfometuron-methyl showed a greater $^{14}\text{CO}_2$ evolution in sandy soil. A greater evolution was observed in the treatment of the mixture in sandy soil, compared with clay soil and control. No increase in the effect was observed in the soil biological activity upon application of herbicide in mixtures.

Keywords: CO_2 evolution; Microflora; ^{14}C -glucose; Radiorespirometry

5.1 Introdução

Herbicidas e outros defensivos agrícolas são utilizados com o objetivo de aumentar a produtividade e qualidade dos cultivos (MACIEL, 2014). Porém, após alcançarem o solo podem afetar organismos não alvo reduzindo sua população, mudando a estrutura da comunidade ou atividade (BAĆMAGA et al., 2015; CYCON; PIOTROWSKA-SEGET, 2009; MUÑOZ-LEOZ et al., 2013).

Os microrganismos presentes no solo são capazes de degradar herbicidas, afetando sua persistência. A atividade destes organismos é afetada por fatores ambientais, como o teor de matéria orgânica, pH, nível de fertilidade, temperatura e teor de água no solo (AISLABIE; LLOYD-JONES, 1995; OLIVEIRA; BRIGHENTI, 2011).

A degradação de compostos químicos por microrganismos pode ser realizada por catabolismo (metabolismo), em que o microrganismo obtém energia e carbono para seu crescimento com a degradação do produto, ou por co-metabolismo, em que o microrganismo não obtém energia ou benefício. Uma vez que no co-metabolismo o composto não serve como fonte de energia e nutriente, a população que degrada o substrato não responde em crescimento, necessitando de fonte extra de carbono para sustentá-lo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Diversas misturas formuladas de herbicidas, fungicidas ou inseticidas são registradas para a proteção de vários cultivos (MAPA, 2017). De fato, aplicações simultâneas ou aplicação de um defensivo agrícola após outro são práticas comuns nas áreas agrícolas. Estas práticas resultam na combinação de resíduos no solo,

propiciando interações que podem afetar os microrganismos dos solo e a taxa de degradação de compostos orgânicos (SINGH; WALKER; WRIGHT, 2002).

A mistura formulada de diuron + hexazinone + sulfometuron-methyl é recomendada para o controle de plantas daninhas em cana-de-açúcar, em aplicação em pré-emergência (“DUPONT Front ®”, 2017). Diuron apresenta solubilidade baixa em água (42 mg L^{-1} a 25°C), valor de K_{ow} de 589 e é não ionizável (pK_a não aplicável). O mecanismo de ação deste herbicida, consiste no bloqueio de transporte de elétrons no fotossistema II, inibindo a fotossíntese (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011; SHANER, 2014)

A principal via de degradação de diuron é a microbiana e apresenta meia-vida média de campo de 90 dias (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011). Estudos avaliando o efeito isolado de diuron, mostrou que o herbicida é capaz de aumentar o número de bactérias heterotróficas³ do solo, contudo pode diminuir a diversidade da comunidade bacteriana (CYCON; PIOTROWSKA-SEGET, 2009).

Hexazinone é uma base fraca, com pK_b de 2,2 (UNIVERSITY OF HERTFORDSHIRE, 2017) e apresenta alta solubilidade em água ($33\,000 \text{ mg L}^{-1}$ a 25°C). Seu mecanismo de ação também é a inibição do fotossistema II. A principal via de degradação é por microrganismos dos solos, porém é suscetível a fotodegradação e a volatilização é insignificante. Apresenta meia-vida típica de campo de 90 dias (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011).

Foi observado crescimento de culturas de bactérias com a degradação de hexazinone em meio-de-cultura líquido. Do total de sete bactérias isoladas de solos de cultivo de cana-de-açúcar, apenas uma foi capaz de degradar hexazinone (NGIGI et al., 2014). A aplicação de doses crescentes de hexazinone não reduziu a população de bactérias ou fungos em areia-franca (CHAKRAVARTY; CHATARPAUL, 1990) e foi observada redução radial do crescimento de fungos, que formam ectomicorizas, após tratamento do herbicida (ESTOK; FREEDMAN; BOYLE, 1989).

Sulfometuron-methyl é um herbicida ácido fraco (pK_a 5,2). Possui coeficiente de partição octanol água (LogK_{ow}) de 1,04 (pH 5), -0,46 a -0,51 (pH 7) e -1,87 (pH 9), considerado baixo. A solubilidade em água é moderada (300 mg L^{-1} a pH 7, 25°C) e apresentou meia-vida de dissipação no campo entre 20-28 dias (SHANER, 2014).

³ Bactérias heterotróficas: que não assimilam o próprio carbono. Assimilam carbono de fontes orgânicas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006)

Sulfometuron-methyl não afetou a biomassa microbiana ou a respiração de solos de área de floresta (BUSSE; FIDDLER; RATCLIFF, 2004). Porém, este herbicida inibiu 6 de 11 microrganismos testados em Placas de Petri, contendo meio-de-cultura (BURNET; HODGSON, 1991).

Apesar de estudos avaliando o efeito destes herbicidas aos microrganismos dos solos terem sido realizados, falta informação sobre o efeito da aplicação associada destes herbicidas. O efeito da mistura de defensivos agrícolas, avaliando diferentes combinações e tipos de solos devem ser conduzidos para concluir se a mistura de herbicidas pode alterar os efeitos sobre os microrganismos do solo, em comparação aos herbicidas isolados (CHU et al., 2008).

Diante disso, com o objetivo de avaliar o efeito de herbicidas sobre a microbiota do solo, foi avaliada a transformação de carbono por microrganismos após o tratamento de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl isolados e em mistura, em dois solos de textura e atributos contrastantes. Adicionalmente, o efeito destes herbicidas foi avaliado sobre a comunidade bacteriana.

5.2 Material e métodos

O efeito das aplicações de herbicidas sobre a transformação de carbono por microrganismos, foi realizado no Laboratório de Ecotoxicologia, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, USP, Piracicaba, SP. A metodologia utilizada baseou-se no guia "Soil Microorganisms: Carbon Transformation Test" (OECD, 2017), em que a respiração do solo foi induzida por glicose.

Os solos utilizados foram coletados na camada de 0-10 cm, após limpeza da camada vegetal presente na superfície do solo, em área de cultivo de cana-de-açúcar. Os solos foram classificados como Neossolo Quartizarênico órtico típico (RQ - S'22°34'25.1; H'048°00'37.9) e Latossolo Vermelho eutrófico (LVe - S'22°39'01.1; H'047°32'41.9).

Após a coleta, os solos foram peneirados (2 mm-malha) e mantidos em refrigeração a $4\pm 2^{\circ}\text{C}$, até análises posteriores. Amostras de solos foram analisadas no laboratório do Departamento de Ciência do Solo, ESALQ, USP, Piracicaba, São Paulo. Os resultados das análises químicas e físicas dos solos estão apresentados na Tabela 5.1.

Trezentos gramas dos solos (base seca) foram pesados em frascos (3 L). O teor de água do solo foi ajustado, adicionando água deionizada, para 75% da capacidade de campo. Em seguida, os frascos com os solos, foram pesados para ser possível o ajustamento do teor de água durante a condução do experimento, se necessário. Então, para garantir a retomada da atividade microbiana, os frascos foram incubados em sala escura a $20 \pm 2^\circ\text{C}$, por 10 dias, antes do tratamento com os herbicidas.

Tabela 5.1. Características químicas e físicas dos solos coletados em área de cultivo de cana-de-açúcar. Piracicaba, SP.

Atributos	Unidades	Solo Argiloso (LVe)	Solo arenoso (NQ)
pH (H ₂ O)	-	6,7	6,8
pH (KCL)	-	5,1	5,5
M.O	g kg ⁻¹	36,0	13,0
P	mg kg ⁻¹	33,0	29,0
K	mmolc kg ⁻¹	8,6	0,9
Ca	mmolc kg ⁻¹	32,0	14,0
1Mg	mmolc kg ⁻¹	12,0	5,0
H+Al	mmolc kg ⁻¹	50,0	20,0
SB	mmolc kg ⁻¹	52,6	19,9
CTC	mmolc kg ⁻¹	102,6	39,9
V	%	51	50
Areia Total	g kg ⁻¹	238,0	920,0
Silte	g kg ⁻¹	123,0	18,0
Argila	g kg ⁻¹	639,0	62,0
Classe textura	-	muito-argiloso	arenoso

Fonte: laboratório do Departamento de Ciência do Solo, ESALQ, USP, Piracicaba, São Paulo.

pH potencial hidrogeniônico, K potássio; Ca cálcio, Mg magnésio; CTC capacidade de troca catiônica; P fósforo; MO matéria orgânica; H+Al acidez potencial; BS saturação por base.

NQ Neossolo Quartzarênico órtico típico, LVe Latossolo Vermelho eutrófico. Classificação de acordo com Sistema Brasileiro de Solos (EMBRAPA, 2013).

Soluções foram preparadas com acetona e os padrões analíticos de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl, que apresentavam pureza de 98,7%; 99,5% e 98,9%, respectivamente. As concentrações dos herbicidas nas soluções foram calculadas de acordo com a maior dose recomendada da mistura formulada (1389 + 391 + 33 g i.a. ha⁻¹), considerando a profundidade do solo de 0,10 m, densidade de 1.200 kg m⁻³ cm e a quantidade de solo (300g – base seca) nos frascos. Foram aplicados 1,16; 0,32 e 0,05 µg g⁻¹ de solo (base seca), de diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl, respectivamente.

As soluções com os herbicidas isolados e a combinação dos três herbicidas (1200 μL) foram aplicados sobre o solo, em seguida o solo foi homogeneizado com espátula. Foi incluído tratamento controle, para os dois solos, sem aplicação de herbicidas. Após a aplicação, os frascos foram mantidos em sala escura a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ por 42 dias.

Antes da aplicação dos herbicidas e aos 7, 14, 28 e 42 dias após o tratamento (DAT) 10 gramas dos solos tratados coletados em triplicata dos frascos (3 L). As amostras foram transferidas para frascos de Bartha e alíquotas de 1 mL de solução preparada com glicose radiomarcada, mais padrão analítico, foi aplicada sobre o solo. As amostras de solos de cada frasco de Bartha foram tratadas com 5 kBq de ^{14}C -glicose ([D-(U- ^{14}C) Glicose]; atividade específica 11GBq mmol^{-1}). A solução com a glicose radiomarcada e não radiomarcada apresentava a concentração de 720 mg L^{-1} .

Após a aplicação de solução de ^{14}C -glicose os frascos foram fechados de forma que não houvesse troca gasosa com o ambiente. Para monitorar o $^{14}\text{CO}_2$ evoluído, do lado de cada frasco de Bartha, 10 mL de solução de 2M NaOH foi adicionada. Após doze horas de incubação, alíquota de 100 μL da solução de NaOH foi retirada em duplicata e misturada com 10 mL de solução cintiladora. A radioatividade presente na solução foi analisada por Espectrômetro de Cintilação Líquida (ECL).

Para a análise estatística, o fator “tratamento” variou em cinco níveis diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl (isolados e combinação dos três herbicidas) e controle. O segundo fator “solo” variou em dois níveis, arenoso e muito-argiloso. As análises foram realizadas para verificar o efeito entre condições mencionadas e a porcentagem de $^{14}\text{CO}_2$ evoluído, em relação ao total aplicado. O procedimento GLM (*General Linear Models Procedure*), com a instrução de mínimos quadrados foi usado e em seguida foram realizadas comparações múltiplas pelo teste de Tukey (5% de probabilidade). O teste foi realizado para cada data de avaliação de 7, 14, 28 e 42 dias após a aplicação, separadamente. As análises foram realizadas utilizando o software SAS (SAS® v.9.3, SAS Institute, Cary, NC).

Análise da comunidade bacteriana

Adicionalmente, as comunidades bacterianas dos solos foram avaliadas aos 42 dias após o tratamento dos herbicidas. A estrutura da comunidade bacteriana dos solos foi determinada pela técnica de T-RFLP (Polimorfismo do comprimento dos fragmentos da região terminal). Esta avaliação foi realizada no Laboratório de Microbiologia do Solo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP.

A extração do DNA do solo, foi realizada após coleta de amostras dos diferentes tratamentos. As amostras foram submetidas à extração do DNA utilizando *Power Soil DNA Isolation kit*, seguindo as instruções do fabricante.

A eficiência da extração foi avaliada por meio de eletroforese em gel agarose a 1% em tampão TAE (400 mM Tris, 20 mM ácido acético glacial, e 1 mM EDTA), onde foram aplicados 5 µL do DNA extraído junto a 3 µL de solução tampão de corrida Loading buffer 6x (Azul de bromofenol 0,05% (p/v); Sacarose 40% (p/v); EDTA 0,1M (pH 8,0) e SDS 0,025% (p/v). Após a eletroforese, o gel corado em solução de brometo de etídeo foi visualizado em luz ultravioleta (DNrBio-imaging Systems Minibis pro 16 mm). Em média, as extrações resultaram numa quantidade de 50 ng de DNA por microlitro (total da extração de 100 µL)

O DNA total extraído do solo foi submetido à amplificação com primers específicos para a região da subunidade menor do gene 16S DNAr (*8fm* e *926R*), especificamente usado para acessar o grupo das bactérias (Tabela 5.2).

As condições da *PCR* (*Polimerase Chain Reaction*) para amplificação do fragmento do gene 16S DNAr foram realizadas segundo Shütte et al. (2009), em reações contendo 1 µL da suspensão de DNA (~50 ng), 30 mM de MgCl₂, 0,2 mM de cada dNTP (adenina, citosina, timina e guanina), 0,20 pmol dos primers (*8fm* e *926R*) PCR buffer 1X e 2,5 unidades de Taq DNA polimerase, sendo o volume completado com água ultra-pura autoclavada, num total de 50 µL. As condições de amplificação foram: 95°C por 4 minutos; 30 ciclos de 95°C por 30 segundos; 57°C por 30 segundos; 72°C por 45 segundos; e uma extensão final 72°C por 10 minutos.

Ao final da etapa de amplificação, as amostras foram purificadas em placa de 96 poços (MicroAmp, Applied Biosystems), adicionando-se a reações 200 µL de isopropanol 100%, seguido de incubação por 2 horas a temperatura de -20°C. Em seguida, foi realizada a centrifugação a 4 500 rpm por 90 minutos, descarte do

sobrenadante, *spin* com a placa invertida, adição de 250 µL de etanol absoluto, centrifugação à 4 500 rpm por 1 hora e 30 minutos, *spin* com a placa invertida, descarte de sobrenadante e secagem das placas à 45°C por 15 minutos. O produto purificado foi então ressuspendido em 50 µL de água esterilizada e quantificado em gel de agarose 1,5%.

Tabela 5.2. Primers usados nas reações de amplificação dos fragmentos do gene 16S rDNA (T-RFLP)

Primer	Região-Alvo	Sequência	Técnica	Referência
8fm	Bactéria	AGAGTTTGATCMTGGCTCAG	<i>T-RFLP</i>	Schütte et al., (2009)
926R	Bactéria	CCGTCAATTCCTTTRAGTTT	<i>T-RFLP</i>	Schütte et al., (2009)

Os produtos de amplificação foram submetidos a clivagem com 5U da endonucleases *HhaI*, sendo após isto repetido o procedimento de purificação. O material precipitado final (após etanol) foi então ressuspendido em formamida HiDi. Este material foi então analisado em sequenciador automático ABI Life 3500 (AppliedBiosystems), utilizando matriz azul e o marcador padrão LIZ 600.

As leituras dos eletroferogramas foram realizadas pelo programa Gene Mapper®, resultando em picos, dos quais foram consideradas tamanho, altura e área, sendo tais valores ajustados com o padrão *GS600LIZ*, e diferenciados ao nível de 0,5 par de base. A extração dos dados do *T-RFLP* gerou uma matriz com conjuntos de quantidade e abundância de fragmentos de restrição terminais (*TRFs*) descrevendo os grupos de bactérias que compunham as amostras de solo. A diversidade bacteriana associada aos tratamentos foi estimada pelo índice de Shannon (H') com base nas abundâncias relativas das áreas dos picos e nos números de TRF's oriundos do T-RFLP.

5.3 Resultados e Discussão

Para 7, 28 e 42 dias foi detectada interação entre “solo” e “tratamento”, indicando que os solos e tratamentos com os herbicidas influenciaram na evolução de $^{14}\text{CO}_2$ a partir da glicose. Aos 14 DAT não foi observada interação “solo” e “tratamento”. A média da evolução de $^{14}\text{CO}_2$ antes da aplicação dos herbicidas foi de 12,69% para solo arenoso e 15,90% para solo muito-argiloso.

Em relação ao efeito dos herbicidas isolados, não foi observado efeito na evolução $^{14}\text{CO}_2$ no tratamento com hexazinone, em relação ao controle, nos solo

muito-argiloso e arenoso. Houve aumento da evolução $^{14}\text{CO}_2$ nos tratamentos com diuron, nos solos arenoso e argiloso, e com sulfometuron-methyl em solo arenoso, aos 42 DAT.

Tabela 5.3. Porcentagens de $^{14}\text{CO}_2$ evoluído (% do total aplicado) após aplicação de ^{14}C -glicose em solos tratados com diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl isolados, em mistura e tratamento controle (sem aplicação de herbicida) aos 7, 14, 28 e 42 dias após a aplicação. Piaracicaba, SP.

Solo	Tratamento herbicidas	% $^{14}\text{CO}_2$ evoluído (% total aplicado)			
		Dias após o tratamento			
		7	14	28	42
Mt-argiloso	Controle	12,42 A	10,39 AB	14,62 A	11,35 B
	Diuron	13,19 A	10,87 AB	12,56 A	13,58 A
	Hexazinone	14,30 A	10,47 AB	13,31 A	11,36 B
	Sulfometuron-methyl	14,47 A	10,85 AB	13,91 A	13,32 B
	Mistura ¹	14,81 A	12,01 AB	15,15 A	11,37 B
Arenoso	Controle	9,61 B	7,98 BC	9,20 B	11,20 B
	Diuron	10,07 B	6,72 C	11,55 B	15,52 A
	Hexazinone	9,31 B	6,36 C	9,45 B	11,96 B
	Sulfometuron-methyl	8,00 B	6,36 C	10,78 B	14,27 A
	Mistura ¹	8,25 B	9,10 ABC	10,09 B	15,40 A
	Média	11,24	9,11	12,93	12,30
	F	0,001	1,22	5,52	11,69
	CV%	6,06	11,00	6,50	5,22

A análise estatística foi realizada separadamente por data de avaliação. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.¹ combinação dos herbicidas diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl. Mt-argiloso=muito-argiloso

Cycoń e Piotrowska-Seget (2009), de forma similar, observaram maior taxa de respiração nos tratamentos com diuron nas doses 7,5 e 150,0 mg i.a. kg⁻¹ de solo, aos 7, 14 e 28 DAT. Em outro estudo, após tratamento com linuron, outro herbicida da classe das feniluréias, foi observado pico de respiração de solo após 7, 14 e 28 dias de incubação, principalmente quando foi testada maior dose do herbicida (17,5 mg kg⁻¹) (CYCON; KACZYNNKA, 2004).

Berger (1998), avaliou a degradação de diuron e de outros herbicidas do grupo das feniluréias como o linuron, isoproturon, monuron e fenuron, além de seus metabólitos, por 19 estirpes de fungos e bactérias isoladas do solo. Neste estudo, foi observado que a maioria dos fungos foram capazes de diminuir a concentração dos herbicidas em meio-de-cultura. Porém, apenas algumas bactérias foram capazes de biotransformá-los. O fungo *Cylindrocarpon candidum* degradou apenas diuron e chlorotoluron, enquanto que *Cladosporium herbarum* degradou apenas isoproturon.

Ainda sobre o estudo de Berger (1998), nenhum dos microrganismos investigados foi capaz de utilizar os herbicidas como única fonte de carbono, o que indica que a biotransformação foi por co-metabolismo. Entretanto, Cycoń e Piotrowska-seget (2009) observaram aumento na unidade formadoras de colônias de bactérias heterotróficas, aos 14 e 28 dias após o tratamento com diuron em doses crescentes, em relação ao controle, o que pode indicar que estes microrganismos utilizaram o herbicida como fonte de carbono ou energia.

Em estudo foi realizado por Busse, Fiddler e Ratcliff (2004) avaliou-se o efeito de aplicações sulfometuron-methyl sobre biomassa microbiana e a taxa de respiração do em solos de floresta, os quais apresentavam variação de pH de 5,8 a 6,4 e teor de matéria orgânica solos entre 39 a 172 g kg⁻¹. Apesar destes fatores estarem relacionados com a sorção (BEYER JR. et al., 1988; WEHTJE et al., 1987), e consequentemente a sua biodisponibilidade, não foi observado efeito do herbicida sobre os microrganismos dos solos.

Porém, em outro estudo realizado por Burnet e Hodgson (1991) foi observado efeito negativo de sulfometuron-methyl a microrganismos, pois, o herbicida inibiu o crescimento de 6 de 11 microrganismos testados em placas de Petri, contendo meio-de-cultura (pH 6,7). Sulfometuron-methyl foi considerado mais potente em relação a inibição de crescimento microbiano que chlorsulfuron. Os autores atribuíram este comportamento a maior solubilidade de sulfometuron-methyl a solventes hidrofóbicos, devido ao seu maior pKa (BEYER JR. et al., 1988), o que permitiria o herbicida entrar mais rapidamente nas células.

Loganayagi e Ramesh (2015) observaram que a taxa de respiração do solo (areia-franca; pH 6,4) foi 2,6% e 6,6% maior, em relação ao controle, quando aplicada as doses de 0,02 e 0,20 µL de metsulfuron-methyl por quilograma de solo, respectivamente, após aplicação de glicose.

Maior evolução ¹⁴CO₂ a partir da glicose ocorreu no tratamento em mistura comparado ao controle, em solo arenoso, e ao tratamento em mistura em solo muito-argiloso, aos 42 DAT (Tabela 5.3). Este resultado, pode ser devido aos efeitos dos tratamentos de sulfometuron-methyl e diuron sobre atividade dos microrganismos, observados no solo arenoso. Contudo, a aplicação em mistura não potencializou o efeito dos herbicidas, pois a porcentagem de ¹⁴CO₂ evoluído em mistura foi igual ao tratamento com diuron e sulfometuron-methyl isolados, neste solo (p>0,05).

O fato da aplicação em mistura ter afetado os microrganismos dos solos em solo arenoso, pode ser devido ao menor teor de matéria orgânica e argila presente neste solo (Tabela 5.1). Solos com alto teor de matéria orgânica e teor de argila tem-se mostrado diminuir a biodisponibilidade de herbicidas na solução do solo e, conseqüentemente, a exposição de organismos a estas moléculas (AHTIAINEN; VANHALA; MYLLYMÄKI, 2003).

Beulke e Malkomes (2001) observaram maior taxa de respiração nos tratamentos com metazachlor e dinoterb em solo com maior teor de matéria orgânica (MO 71 g kg⁻¹; pH 5,9), comparado ao solo que apresentava a mesma textura (franco-arenosa), porém menor teor de matéria orgânica e maior pH (MO 13 g kg⁻¹; pH 6,9). Foram observadas diferenças na taxa de respiração nos tratamentos com metazachlor e dinoterb, em relação ao controle, quando avaliadas diferentes temperaturas de incubação (20°C e 30°C). Entretanto, essas diferenças foram similares entre os dois solos, não havendo forte influência de um solo em relação ao outro.

O potencial dos herbicidas afetarem a microflora do solo é influenciado pelas condições ambientais e atributos dos solos. Pois, estes fatores afetam a persistência dos herbicidas, biodisponibilidade e atividade toxicológica. Contudo, devido a complexa interação desses fatores, uma relação clara em relação ao efeito de herbicidas, condições ambientais e características dos solos é difícil de ser encontrada (BEULKE; MALKOMES, 2001).

Efeitos de defensivos agrícolas aplicados isolados e em mistura sobre microrganismos, foram avaliados em outros estudos. O efeito inibitório de chlorpyrifos nos microrganismos do solo aumentou quando o fungicida estava combinado com chlorothalonil. As populações de bactérias, fungos e actinomicetos diminuiu em 44,1%, 61,1% e 72,8%, respectivamente, em relação ao controle quando chlorpyrifos estava isolado (1 DAT). Quando aplicada a mistura de chlorpyrifos + chlorothalonil a redução foi de em 55,2%, 79,3% e 85,8%, para os mesmos microrganismos (CHU et al., 2008).

Houve redução de 23,6% da biomassa microbiana (média obtida aos 15 e 60 DAT) em relação ao controle, quando aplicado a mistura de trifloxysulfuron-sodium + ametryn. Quando aplicado ametryn isolado a redução da biomassa microbiana foi de 14,4% e não foi observado efeito de trifloxysulfuron-sodium isolado sobre os microrganismos. Os autores sugeriram uma provável ação sinérgica dos herbicidas, ou intoxicação dos microrganismos pelos aditivos da formulação comercial, que

poderia ter contribuído para redução da biomassa microbiana no tratamento em mistura (REIS et al., 2008).

Em outro estudo, houve redução de 35,2%, 38,6% e 42,9% na biomassa microbiana total do solo após tratamento com glyphosate, diflufenican e a mistura dos dois herbicidas, respectivamente em relação ao controle (180 DAT). A redução da atividade de urease também foi observada no tratamento em mistura, no mesmo solo. Em solo arenoso, não foi observada diferença significativa entre os tratamentos isolados ou em mistura, em relação ao controle (TEJADA, 2009).

O quociente metabólito (qCO_2), proposto por Anderson e Domsch (1985), refere-se a taxa respiratória (evolução CO_2) por unidade de biomassa microbiana no solo. Dessa forma, se ocorrer o aumento da respiração do solo e redução da biomassa microbiana após a aplicação de defensivos agrícolas, maiores valores de qCO_2 serão obtidos. Este quociente prediz que altos valores de qCO_2 indicam um ambiente instável ou mais longe do equilíbrio.

Santos et al. (2005), em sistema de plantio convencional, obtiveram o valor de qCO_2 de 7,28 no tratamento com a mistura de fluazifop-p-butil + fomesafen, enquanto que a média obtida nos tratamentos com herbicidas isolados foi de 2,58. Os autores sugeriram, que os herbicidas isolados afetaram uma parcela da comunidade sensível a cada produto e a aplicação em mistura de ambos potencializou o efeito inibitório.

Resultado semelhante foi obtido Braga et al. (2014), em que maior taxa respiratória foi observada nos tratamentos com fomesafen e a mistura de fluazifop-p-butil + fomesafen, em relação ao controle, em área de plantio de mandioca. Contudo, houve um decréscimo no carbono da biomassa microbiana quando aplicado a mistura dos herbicidas, o que aumentou o valor de qCO_2 .

Diante dos resultados obtidos nos estudos citados, fica claro que nem sempre é possível relacionar o aumento da evolução CO_2 a efeitos positivos ou aumento da população microbiana, após a aplicação de herbicidas. De acordo com Cycon e Kaczynska (2004) a atividade metabólica de microrganismos não é só afetada pelo tamanho da população, mas também pela atividade de cada população.

No entanto, a porcentagem de $^{14}CO_2$ evoluído foi igual entre os tratamentos com herbicida isolados ou mistura quando comparado ao controle aos 7, 14 e 28 DAT, dentro de cada solo (Tabela 5.3). Isso indica um efeito neutro dos herbicidas sobre a atividade microbiana. Aos 42 DAT, possivelmente algum metabólito resultante da

degradação dos herbicidas foi produzido, o que pode ter afetado os microrganismos dos solos.

Tixier et al. (2000) observaram que dois metabólitos, produzidos a partir de biodegradação de diuron, foram três vezes mais tóxicos que o composto original, utilizando bioteste de bioluminescência com *Vibrio fischeri* (Microtox®). Os autores concluíram que é necessário avaliar os produtos de degradação e seu efeito a organismos não alvo. Foi observado que a biotransformação de herbicidas feniluréias é, em geral, mais rápida que a de seus metabólitos (BERGER, 1998).

Em relação à comunidade bacteriana, pode-se observar na figura 5.1 que no solo muito-argiloso, valores acima de 3 do índice de Shannon (H) foi observado nos tratamentos sem aplicação de herbicidas e com hexazinone.

Em estudo realizado por Tortella et al. (2013), o índice Shannon (H) foi similar entre os tratamentos com atrazina (40 mg kg⁻¹) e controle aos 0, 30, 40 e 60 DAT, em sistema de purificação (*biobeds*). O que indicou que o herbicida não teve efeito imediato na diversidade microbiana. Porém, aos 10, 70 e 90 DAT foi observada diferença entre tratamento com herbicida e controle, sendo observado um aumento nos índices, o que indica maior riqueza bacteriana após aplicação do herbicida, sugerindo uma possível adaptação ou tolerância dos microrganismos

Nos tratamentos com diuron, o índice (H) foi abaixo de 3 e nos tratamentos com sulfometuron-methyl e mistura dos três herbicidas, os valores foram próximos a 2 e 1, respectivamente, no solo argiloso (Figura 5.1). Provavelmente, o menor valor observado no tratamento em mistura foi devido ao efeito combinado dos herbicidas diuron e sulfometuron-methyl sobre a comunidade bacteriana. Contudo, diferença na evolução de ¹⁴CO₂ deste solo só foi observada no tratamento com diuron, aos 42 DAT (Tabela 5.3).

Figura 5.1. Porcentagens de $^{14}\text{C}\text{CO}_2$ evoluído (% do total aplicado) após aplicação de ^{14}C -glicose em solos tratados com diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl isolados, em mistura e tratamento controle (sem aplicação de herbicida) aos 7, 14, 28 e 42 dias após a aplicação. As barras representam o erro padrão das médias.

Mt-Argiloso: muito-Argiloso.

Figura 5.1. Valores de diversidade da comunidade bacteriana, determinada pelo teste de *Shannon H'* , em solo muito-argiloso tratados com diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl aplicados isolados e em mistura. No tratamento controle não houve aplicação de herbicidas.

No solo arenoso (Figura 5.2), o índice (H) foi maior que 4 nos tratamentos com diuron, sulfometuron-methyl e sem aplicação de herbicidas, indicando que estes tratamentos não afetaram a diversidade microbiana neste solo. Contudo, maior evolução de $^{14}\text{CO}_2$ do tratamento com estes herbicidas foi observado em relação ao controle (Tabela 5.3).

Cycoń e Piotrowska-Seget (2009) observaram resultado diferentes, pois houve diminuição da taxa de respiração por microrganismos após aplicação de diuron (1 DAT) na maior dose testada (150 mg kg^{-1} de solo) e diminuição do índice EP em comparação ao controle, na mesma data de avaliação. O índice EP (análise de eco-fisiologia) é uma modificação do índice de Shannon (H), em que a distribuição da população de bactérias é avaliada em meio-de-cultura ágar (classe de cada população/população total) (DE LEIJ; WHIPPS; LYNCH, 1994).

Figura 5.2. Valores de diversidade da comunidade bacteriana, determinada pelo teste de Shannon H' , em solo arenoso tratados com diuron, hexazinone e sulfometuron-methyl aplicados isolados e em mistura. No tratamento controle não houve aplicação de herbicidas.

Nos tratamentos com hexazinone e a mistura dos três herbicidas, os índices foram aproximadamente 3 e 2, respectivamente, em solo arenoso. Isto indica diminuição da diversidade de bactérias em relação ao tratamento sem aplicação de herbicidas. O tratamento em mistura dos herbicidas aumentou a evolução de $^{14}\text{CO}_2$, em relação ao controle, em solo arenoso. Contudo, não foi observado efeito de hexazinone sobre a atividade dos microrganismos, em ambos os solos (Tabela 5.3).

Isto pode ter acontecido, devido a habilidade de alguns microrganismos crescer em presença de defensivos agrícolas resultando num efeito compensatório, em relação a possíveis efeitos negativos (CYCON; PIOTROWSKA-SEGET, 2009). Qualquer mudança na estrutura da comunidade, somente terá consequências no ecossistema se as espécies mais tolerantes não compensar biogeoquimicamente funções normalmente realizadas por grupos eliminados (WIDENFALK et al., 2008).

Ahtiainen, Vanhala e Myllymäki (2003) não observaram efeito da aplicação de herbicidas (chlorsulfuron, MCPA e benzoate), inseticidas (dimethoate e pirimicarb) e fungicidas (carboxin-imazalin e propiconazole) sobre a população de microrganismos no solo. Os autores sugeriram, que população heterogênea de microrganismos foram

expostas a estes compostos, e que espécies resistentes podem ter camuflado possível efeito negativo a espécies mais sensíveis.

Este comportamento foi observado em outros estudos. Em estudo realizado com sedimento de lagos, avaliando doses baixas e altas de glyphosate (150 e 150 000 $\mu\text{g kg}^{-1}$), a atividade bacteriana, biomassa total de fungos e bactérias não foi afetada pela exposição dos microrganismos ao herbicida. No entanto, diferenças na comunidade bacteriana foram observadas por T-RFLP, mostrando que certos grupos de bactérias foram estimulados a baixa concentração do herbicida (WIDENFALK et al., 2008).

A mistura formulada de três ingredientes ativos, diflufenican, mesosulfuron-methyl e iodosulfuron-methyl-sodium aumentou a contagem de bactérias organotróficas, sendo obtida correlação positiva entre o aumento da dose da mistura e unidades formadoras de colônia, aos 30 e 60 DAT. Porém, houve decréscimo do índice EP quando avaliada a maior dose da mistura aos 60 DAT (BAĆMAGA et al., 2015).

O presente estudo forneceu informações importantes relacionadas ao efeito da aplicação de herbicidas isolados e combinados na microbiota do solo. Apesar de não ser observada redução da atividade microbiana (evolução de $^{14}\text{CO}_2$), os resultados obtidos na análise da comunidade bacteriana sugeriram efeitos na diversidade. Entretanto, estudos avaliando a diversidade microbiana em maior número de amostragem, em diferentes épocas de coletas, devem ser realizados.

5.4 Conclusão

Hexazinone não influenciou a evolução de $^{14}\text{CO}_2$. Diuron, sulfometuron-methyl e a aplicação da mistura dos três herbicidas aumentaram evolução $^{14}\text{CO}_2$ no solo arenoso. Os resultados obtidos na análise da comunidade bacteriana indicam que a mistura dos herbicidas em ambos os solos, além de diuron e sulfometuron-methyl em solo argiloso e hexazinone em solo arenoso, afetou a diversidade microbiana.

Referências

- AHTIAINEN, J. H.; VANHALA, P.; MYLLYMÄKI, A. Effects of different plant protection programs on soil microbes. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 54, n. 1, p. 56–64, 2003.
- AISLABIE, J.; LLOYD-JONES, G. A review of bacterial degradation of Pesticides. **Australian Journal os Soil Research**, v. 33, p. 925–942, 1995.
- ANDERSON, T.-H.; DOMSCH, K. H. Determination of ecophysiological maintenance carbon requirements of soil microorganisms in a dormant state. **Biology and Fertility of Soils**, v. 1, p. 81–89, set. 1985.
- BAĆMAGA, M. et al. Microbial and enzymatic activity of soil contaminated with a mixture of diflufenican + mesosulfuron-methyl + iodosulfuron-methyl-sodium. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 22, n. 1, p. 643–656, 2015.
- BERGER, B. M. Parameters Influencing Biotransformation Rates of Phenylurea Herbicides by Soil Microorganisms. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 60, n. 2, p. 71–82, 1998.
- BEULKE, S.; MALKOMES, H. Effects of the herbicides metazachlor and dinoterb on the soil microflora and the degradation and sorption of metazachlor under different environmental conditions. **Biology and Fertility of Soils**, v. 33, p. 467–471, 2001.
- BEYER JR., E. . et al. Herbicides: chemistry, degradation, and mode of action. In: KEARNEY, P. .; KAUFMAN, D. . (Eds.). . **Sulfonylureas**. New York: Marcel Dekker, 1988. p. 117–189.
- BRAGA, R. R. et al. Soil microbial activity, weed control and growth of cassava after application of herbicide. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 4, p. 1050–1058, 2014.
- BURNET, M.; HODGSON, B. Differential effects of the sulfonylurea herbicides chlorsulfuron and sulfometuron methyl on microorganisms. **Archives of Microbiology**, v. 155, n. 6, p. 521–525, 1991.
- BUSSE, M. D.; FIDDLER, G. O.; RATCLIFF, A. W. Ectomycorrhizal formation in herbicide-treated soils of differing clay and organic matter content. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 152, n. 1–4, p. 23–34, 2004.
- CHAKRAVARTY, P.; CHATARPAUL, L. Non-target effect of herbicides: I. Effect of glyphosate and hexazinone on soil microbial activity. Microbial population, and in-vitro growth of ectomycorrhizal fungi. **Pesticide Science**, v. 28, n. 3, p. 233–241, 1990.
- CHU, X. et al. Degradation of chlorpyrifos alone and in combination with chlorothalonil and their effects on soil microbial populations. **Journal of Environmental Sciences**, v. 20, n. 4, p. 464–469, 2008.

CYCON, M.; KACZYNNKA, A. Effects of selected pesticides on soil microbial activity in nitrogen and carbon transformation. **Pestycydy**, v. 1–2, p. 5–13, 2004.

CYCON, M.; PIOTROWSKA-SEGET, Z. Changes in bacterial diversity and community structure following pesticides addition to soil estimated by cultivation technique. **Ecotoxicology**, v. 18, p. 632–642, 15 jul. 2009.

DE LEIJ, F. A. A. M.; WHIPPS, J. M.; LYNCH, J. M. The use of colony development for the characterization of bacterial communities in soil and on roots. **Microbial Ecology**, v. 27, p. 81–97, jan. 1994.

DUPONT Front ®. Disponível em: <<http://www.dpfront.com.br/index.php>>. Acesso em: 4 fev. 2017.

EMBRAPA, E. B. DE P. A. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3. ed. Brasília: Embrapa Solos, 2013.

ESTOK, D.; FREEDMAN, B.; BOYLE, D. Effects of the herbicides 2,4-D, glyphosate, hexazinone, and triclopyr on the growth of three species of ectomycorrhizal fungi. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 42, n. 6, p. 835–839, 1989.

LOGANAYAGI, C.; RAMESH, A. Metsulfuron Methyl - Effect On Soil Microflora. **The International Journal of Engineering An Sciences (IJES)**, v. 4, p. 4–12, 2015.

MACIEL, C. D. G. Métodos de Controle de Plantas Daninhas. In: MONQUERO, P. A. (Ed.). **Aspectos da Biologia e Manejo das Plantas Daninhas**. São Carlos: Rima Editora, 2014. p. 129–144.

MAPA. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 17 fev. 2017.

MOREIRA, F. M. DE S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2006.

MUÑOZ-LEOZ, B. et al. Non-target effects of three formulated pesticides on microbially-mediated processes in a clay-loam soil. **Science of The Total Environment**, v. 449, p. 345–354, abr. 2013.

NGIGI, A. et al. Isolation and identification of hexazinone-degrading bacterium from sugarcane-cultivated soil in Kenya. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 92, n. 3, p. 364–368, 24 mar. 2014.

OECD. **Test No. 217: Soil Microorganisms: Carbon Transformation Test**. Disponível em: <http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-217-soil-microorganisms-carbon-transformation-test_9789264070240-en>. Acesso em: 23 fev. 2017.

OLIVEIRA, M. ; BRIGHENTI, A. M. Comportamento dos herbicidas no ambiente. In: OLIVEIRA JR., R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. (Eds.). **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas**. Curitiba: Omnipax, 2011. p. 263–304.

REIS, M. R. et al. Atividade microbiana em solo cultivado com cana-de-açúcar após aplicação de herbicidas. **Planta Daninha**, v. 26, n. 2, p. 323–331, jun. 2008.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. L. S. **Guia de herbicidas**. 6. ed. Londrina: Edição dos autores, 2011.

SANTOS, J. B. et al. Atividade microbiana do solo após aplicação de herbicidas em sistemas de plantio direto e convencional. **Planta Daninha**, v. 23, n. 4, p. 683–691, dez. 2005.

SHANER, D. L. **Herbicide Handbook. . 10th Edition**. 10. ed. Champaign: Weed Science Society of America, 2014.

SHÜTTE, U. M. . et al. Bacterial succession in glacier foreland of the high arctic. **The ISME Journal**, v. 3, p. 1258–1268, 2009.

SINGH, B. K.; WALKER, A.; WRIGHT, D. J. Degradation of chlorpyrifos, fenamiphos, and chlorothalonil alone and in combination and their effects on soil microbial activity. **Environmental toxicology and chemistry / SETAC**, v. 21, n. 12, p. 2600–2605, 2002.

TEJADA, M. Evolution of soil biological properties after addition of glyphosate, diflufenican and glyphosate+diflufenican herbicides. **Chemosphere**, v. 76, n. 3, p. 365–373, jul. 2009.

TIXIER, C. et al. Fungal biodegradation of a phenylurea herbicide, diuron: structure and toxicity of metabolites. **Pest Management Science**, v. 56, p. 455–462, 2000.

TORTELLA, G. R. et al. Atrazine dissipation and its impact on the microbial communities and community level physiological profiles in a microcosm simulating the biomixture of on-farm biopurification system. **Journal of Hazardous Materials**, v. 260, p. 459–467, set. 2013.

UNIVERSITY OF HERTFORDSHIRE. **Pesticide properties database**. Disponível em: <<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/index2.htm>>. Acesso em: 4 fev. 2017.

WEHTJE, G. et al. Sorption and mobility of sulfometuron and imazapyr in five Alabama soils. **Weed Science**, v. 33, p. 858–864, 1987.

WIDENFALK, A. et al. Effects of pesticides on community composition and activity of sediment microbes – responses at various levels of microbial community organization. **Environmental Pollution**, v. 152, n. 3, p. 576–584, abr. 2008.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- De uma forma geral, a sorção de diuron e hexazinone foi maior nos solos com maior teor de matéria orgânica. O valor de $K_{d,app}$ de sorção de sulfometuron-methyl foi maior no solo que apresentava menor valor de pH comparado com os outros solos. Afirmando a importância do pH do solo na sorção desse herbicida.

- A mineralização dos três herbicidas foi maior no solo muito-argiloso, o qual apresentava maior teor de matéria orgânica. A mobilidade de hexazinone e sulfometuron-methyl foi maior nas colunas com solo arenoso. Porcentagem maior que 95% foi recuperada de diuron (% do total aplicado) na primeira camada (0-5 cm) das colunas de solo. E não foi observado efeito dos solos na mobilidade do herbicida.

- Efeito da aplicação em mistura foi detectada nos lixiviados do solo argiloso aplicados com diuron. Entretanto, a diferença entre a porcentagem de diuron no tratamento em mistura e isolado foi baixa ($<0,04$). Tornando difícil mensurar a importância da aplicação em mistura com hexazinone e sulfometuron-methyl no seu processo de lixiviação. A mineralização, dessorção e sorção de diuron aos solos não foram influenciadas pela presença de hexazinone e sulfometuron-methyl.

- A aplicação em mistura teve influência no comportamento de hexazinone nos solos. A presença de diuron na solução diminuiu a sorção de hexazinone em um, dos cinco solos avaliados. Além disso, a porcentagem de hexazinone detectada nos lixiviados foi maior, quando estava em mistura com diuron e sulfometuron-methyl, em solo arenoso. A porcentagem de hexazinone mineralizado, também foi maior quando em mistura com os outros herbicidas.

- No caso de sulfometuron-methyl, a aplicação em mistura aumentou a mineralização do herbicida, contudo, não afetou a lixiviação tampouco a sorção do herbicida.

- Maior evolução de $^{14}\text{CO}_2$ a partir da glicose foi observada nos tratamentos com sulfometuron-methyl, em solo arenoso, e com diuron, em solo arenoso e muito-

argiloso, em relação ao controle aos 42 DAT, indicando aumento da atividade microbiana nestes tratamentos.

- A aplicação em mistura de diuron + hexazinone + sulfometuron-methyl aumentou a evolução de $^{14}\text{CO}_2$ no solo arenoso, em relação ao controle. Porém, as médias das porcentagens não foram diferentes comparadas as porcentagens dos tratamentos com diuron e sulfometuron-methyl isolados. Portanto, não houve aumento dos efeitos sobre a atividade dos microrganismos com a aplicação da mistura dos herbicidas. Os resultados da análise da comunidade bacteriana indicam menor diversidade nas amostras em que diuron + hexazinone + sulfometuron-methyl foram aplicados.

- Estes resultados sugerem que a aplicação em mistura pode afetar o comportamento dos herbicidas no solo, mas isso depende do processo (mineralização, lixiviação e sorção etc.) e do herbicida sendo avaliado. Além disso, foi observado efeito da aplicação em mistura sobre os microrganismos do solo, o que leva a concluir que a avaliação do efeito da aplicação de herbicidas em mistura, como também de outros defensivos agrícolas, deve ser consideradas em estudos que avaliam o destino final desses compostos no ambiente.

APÊNDICES

APÊNDICE A: Histórico aplicação de herbicidas na Fazenda da Barra onde o solo arenoso (Neossolo Quartizarênico órtico típico) foi coletado. Piracicaba, SP.

Aplicação (mês/ano)	Herbicida	Concentração p.c.	Área (ha)	Consumo médio (L ou kg)
01/2011	Glyphosate	480 g L ⁻¹	7,35	6,489
05/2011	Ametryn	500 g L ⁻¹	33,25	0,199
05/2011	Metolachlor	960 g L ⁻¹	33,25	3,129
05/2011	Mesotrione	480 g L ⁻¹	33,25	0,219
05/2011	Flumioxazin	500 g kg ⁻¹	33,25	0,269
04/2012	Tebuthiuron	500 g L ⁻¹	33,23	1,612
04/2012	Isoxaflutole	750 g kg ⁻¹	33,23	0,001
04/2012	Metolachlor	960 g L ⁻¹	33,23	2,149
11/2013	2,4-D + Picloram	433,7 + 27 g L ⁻¹	33,23	1,499
11/2013	Metolachlor	960 g L ⁻¹	33,23	2,84
11/2013	Diuron + hexazinone	488 + 142 g kg ⁻¹	33,23	2,096
10/2014	Sulfentraone	500 g L ⁻¹	33,23	1,36
10/2014	Isoxaflutole	750 g kg ⁻¹	8,00	0,125
10/2014	Metolachlor	960 g L ⁻¹	25,23	3,156

p.c.: produto comercial

APÊNDICE B: Histórico aplicação de herbicida na Fazenda Palmeiras, onde o solo muito-argiloso (Latossolo Vermelho eutrófico) foi coletado. Piracicaba, SP.

Aplicação (mês/ano)	Herbicida	Concentração p.c.	Área (ha)	Consumo médio (L ou kg)
10/2013	Diuron + hexazinone	533 + 67 g kg ⁻¹	9,00	2,5
01/2013	Tebuthiuron	500 g L ⁻¹	9,00	1,5
01/2013	Metolochlor	960 g L ⁻¹	9,00	3
01/2013	Mesotrione	480 g L ⁻¹	9,00	0,3
10/2013	Metribuzin	480 g L ⁻¹	18,56	2,465
10/2013	Metolochlor	960 g L ⁻¹	18,56	3,149
01/2015	Diuron + hexazinone	533 + 67 g kg ⁻¹	18,56	3,003
01/2015	2,4-D + Picloram	433,7 + 27 g L ⁻¹	18,56	1,701
01/2015	Diclosulam	480 g kg ⁻¹	18,56	0,106
01/2015	MSMA	790 g L ⁻¹	18,56	1,009
08/2016	Imazapyr	266,3 g L ⁻¹	18,56	2,05
08/2016	Glyphosate	480 g L ⁻¹	18,56	4,12
08/2016	2,4-D + Picloram	433,7 + 27 g L ⁻¹	18,56	0,794

p.c.: produto comercial