

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

SIMONE TIEMI TAKETA BICALHO

AS MATAS CILIARES NA DINÂMICA DE DISTRIBUIÇÃO DE PESTICIDAS

Rio de Janeiro

2007

Simone Tiemi Taketa Bicalho

AS MATAS CILIARES NA DINÂMICA DOS PESTICIDAS



Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências (Microbiologia), como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências (Microbiologia).

Orientador: Prof. Tomaz Langenbach e co-orientação Dr. Luiz Carlos Luchini.

Rio de Janeiro

2007

FICHA CATALOGRÁFICA

S237 Bicalho, Simone Tiemi Taketa.
As matas ciliares na dinâmica de distribuição de
pesticidas/ Simone Tiemi Taketa Bicalho.- Rio de
Janeiro: UFRJ/IMPPG, 2007.

xi, 128 f.: il.

Orientador: Tomaz Langenbach

Tese (Doutorado em Ciências (Microbiologia)) –
UFRJ/ Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes ,
2007.
20-161 f.

1. Fitorremediação. 2. Herbicida. 3. Matas Ciliares.
4. Água superfície. 5. Cana-de-açúcar. 6. Microbiota.
I. Langenbach, Tomaz (Orient.). II. Universidade
Federal do Rio de Janeiro/IMPPG. III. Título.

CDD: 658.4

FOLHA DE APROVAÇÃO

Simone Tiemi Taketa Bicalho

AS MATAS CILIARES NA DINÂMICA DE DISTRIBUIÇÃO DE PESTICIDAS

Rio de Janeiro, 27 de agosto de 2007.

(Prof^a Leda Cristina Santana Mendonça-Hagler, DSc., Universidade Federal do Rio de Janeiro)

(Prof. Tomaz Langenbach, PhD, Universidade Federal do Rio de Janeiro)

(Prof^a Denise Maria Mano, DSc., Pontifícia Única Católica-Rio)

(Prof^o Ricardo Ribeiro Rodrigues, DSc., Universidade São Paulo/ ESALQ)

(Prof^o Fabio Veríssimo Correia, DSc., Instituto Politécnico de Saúde-ABACO)

DEDICATÓRIA

Dedico a DEUS, aos meus pais por terem me dado o mais precioso dos bens, o conhecimento por meio dos estudos, por vezes passando algumas privações.

Ao meu filho Pedro razão de minha vida e fruto do amor maravilhoso com meu marido Alim. Dedico ao meu marido por me amar.

Aos meus amigos que sempre me deram apoio incondicional, estando ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a DEUS por ter me permitido concluir mais uma importante e sonhada etapa de minha vida.

Ao meu pai por sempre ter me estimulado a correr atrás da realização dos meus sonhos, como a de ter uma profissão que realmente amasse.

À minha mãe que sempre esteve ao meu lado, estimulando-me em momentos difíceis e críticos do meu aprendizado.

Ào meu filho Pedro e meu marido e companheiro Alim pelos dias que não pude dar atenção por estar atarefada com as atividades relacionadas à tese e à pós-graduação.

Ao meu orientador e amigo Prof. Tomaz, por todo apoio e atenção dispensada e por compartilharmos o sonho de realizar esta maravilhosa tese.

Agradeço de coração a CAPES por ter me concedido a bolsa de estudos.

Ao apoio financeiro do PRONEX-RJ por permitir que o trabalho pudesse ser realizado.

À pós-graduação da Microbiologia por ter me aceitado com muito carinho e a todos da pós que sempre me apoiaram.

Gratidão total aos meus colegas da UFRJ e amigos do laboratório como Edir que sem ele não teria realizado esta tese, ao Fabio pelo ombro amigo, ao Jaime pelas conversas engrandecedoras sobre o trabalho.

À Denise, ao Hugo, a Gisele por terem se doado para realização desta tese. A Daniele pela sua amizade e por acreditar em nosso trabalho, dando continuidade a ele.

Sinto grande gratidão ao Dr. Luchini e a todos do Laboratório de Ecologia de Agroquímicos, Instituto Biológico, São Paulo, SP, como, Dra. Mara, Dra. Lia, Dr. Matallo, Claudia, Marina, D.Auxiliadora, Sr. Manoel, Solange, Mara Marchet, Dra. Terezinha, e todos da Instituição que me apoiaram e auxiliaram para realização de parte da tese.

À todos do Laboratório da Prof^a Leda, Prof. Andrew, Prof. Allen, Prof. Antônio Jorge, Prof. François Remi e Prof. Leopoldo pelo apoio e suporte.

Agradeço ao Felipe Brasil e seu amigo Milton por me indicarem o Prof. Ricardo Rodrigues a quem sou muito grata, pois sem ele não teríamos sequer iniciado os trabalhos da tese.

Ao Sr. Francisco da Secretaria Municipal do Meio Ambiente, Rio de Janeiro, RJ, pela doação das mudas utilizadas nos experimentos.

À todos aqueles que sempre me incentivarem e por estarem ao meu lado em todos os momentos.

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS

Atm	atmosfera
Bq	Becquerel
μ L	microlitro
mL	mililitros
L	litro
v/v	volume/volume
cm	centímetro
1/2 vida	Meia-vida
K _{ow}	Constante de partição octanol-água
°C	Graus Celsius
CaCO ₃	Carbonato de cálcio
C.O.	Carbono orgânico
DHA	Dehydrogenase activity
DAA	desetil-deisopropil-latrazina I
DEA	desetilatrazina
DIA	deisopropilatrazina
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FDA	Fluorescein Diacetate Acid
g	grama
g i.a. ha ⁻¹	Gramas de ingrediente ativo por hectare
HPLC	High Performance Liquid Chromatographic
Koc	Coeficiente de sorção
P.A.	Para Análise
PDA	Potato Dextrose Agar
TSA	Trypt Soy Agar
UFC	Unidade Formadora de Colônia
PS II	Fotossistema
Rf	Fator de recuperação
E	Leste
N	Norte
NE	Nordeste
NW	Noroeste
S	Sul
SE	Sudeste
SW	Sudoeste
W	Oeste

TPF	Triphenil Formazan
TTC	Trifeniltetrazólio
U.V.	Ultra-violeta

*“A gratidão só será pura e verdadeira se for
demonstrada em atitudes”
(autor desconhecido)*

RESUMO

Bicalho, Simone Tiemi Taketa. **As matas ciliares na dinâmica dos pesticidas**. Rio de Janeiro, 2007. Tese (Doutorado em Ciências – Microbiologia) – Instituto de Microbiologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

A contaminação dos rios e lagos por pesticidas tem efeitos danosos na flora e fauna, atingindo todas as formas de vida que utilizam estas águas. As matas ciliares estão adjacentes a estes corpos d'água e são protegidas por Lei. Torna-se da maior importância conhecer sua influência quanto à capacidade de retenção e biodegradação dos pesticidas, sob a qual não consta literatura referente à região tropical úmida. Esta tese tem um caráter pioneiro por apresentar as seguintes abordagens: uma de realizar um estudo de caso representando a realidade do campo e a outra com experimentos em microcosmos, utilizando herbicidas radiomarcados que possibilitam rastrear estas moléculas, a fim de conhecer o papel das plantas e da microbiota na distribuição e biodegradação dos pesticidas. O estudo de caso foi realizado em Orlandia, SP, nos anos de 2003 e 2004, no transecto constituído de cana-de-açúcar contígua à mata ciliar jovem e antiga. Foi determinada a presença de resíduos dos herbicidas diuron, hexazinone e tebuthiuron no solo. Os fatores climáticos de ambos os anos foram bem distintos com maior volume de chuvas e calor em 2003 do que em 2004 determinando o comportamento dos herbicidas. Resultados de campo de ambos os anos indicam que houve contaminação de áreas não-alvo (matas ciliares). As matas ciliares antigas puderam funcionar como faixa tampão reduzindo a contaminação de diuron e hexazinone movida pelo lençol d'água. A microbiota do solo pode também ter contribuído na degradação, diferentemente, para o tebuthiuron, que atingiu maiores concentrações no solo da mata ciliar antiga. Provavelmente o deslocamento do tebuthiuron para esta área ocorreu via aérea por volatilização, atingindo as folhas do dossel. Depois ele pode ter sido lavado pelas águas da chuva para o solo. Os experimentos em casa-de-vegetação foram conduzidos com as plantas *Cecropia hololeuca* Miq. e *Trema micrantha* Trécul, simulando um lençol d'água contaminado com herbicidas. As plantas podem diminuir a contaminação de pesticidas nas águas de subsolo, acumulando-os na sua biomassa vegetal. Esse acúmulo pode ser condicionado pela natureza química da molécula afetando diretamente a biodegradação, distribuição e acumulação do pesticida ao longo das plantas. A mineralização da atrazina promovida pela microbiota rizosférica foi expressiva. Integrando as informações, configurando a ciclagem como um fator de redução pela adsorção e biodegradação no solo, pode-se gerar uma ambivalência no balanço entre a introdução de poluentes via aérea, fortemente determinada por fatores climáticos, e a capacidade de retirá-los pela mata ciliar. A resultante pode ser de difícil previsão, por estar associada a uma complexa relação entre a aplicação dos pesticidas com as condições climáticas no período, que sempre são de grande variabilidade. Somente um acervo maior de informações, além de um estudo de caso realizado neste trabalho poderá responder se o processo de distribuição de pesticidas na mata ciliar tem um caráter aleatório ou se há uma regularidade no processo.

ABSTRACT

Bicalho, Simone Tiemi Taketa. **Riparian forest in the dynamic of pesticides distribution.** Rio de Janeiro, 2007. Tese (Doctor Science in Science – Microbiology) – Instituto de Microbiologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

Pesticide contamination in rivers and lakes promotes damage effects and reaches all life forms (fauna and flora) that use these waters. Brazilian Law protects riparian forest adjoining to these water bodies. It is of the utmost importance to know its influence concerning pesticide retention and biodegradation capacity. This work is pioneer, considering the lack of literature in humid tropical region. The approach adopted was a case study representing the field reality and complementary microcosms experiments in a greenhouse, where radiolabeled herbicides were used, which made it possible to know the pesticide dynamic promoted by plant and soil microbiote. The case study was carried out in Orlandia, São Paulo, in 2003 and 2004, in transect constituted of sugar cane next to young and old riparian forest. Determination of herbicides residues of diuron, hexazinone and tebuthiuron were done in soil samples. Climatic factors of both years were distinct with higher raining and heat in 2003 than in 2004, determining the herbicide behavior. Field results in both years indicated that there was nontarget area contamination. Old riparian forest could function as a buffer strip against contamination depletion of diuron and hexazinone moved by groundwater, which may have high contribution of soil microbiote degradation. Differently, tebuthiuron reached higher concentration in old riparian forest soil than did sugar cane. All results indicate that tebuthiuron movement to this area could be due to volatilization, contaminating the canopy which was washed by rain, reaching the soil. Greenhouse experiments were conducted with *Cecropia hololeuca* Miq. and *Trema micrantha* Trécul plants, simulating groundwater contaminated with tebuthiuron and atrazine. Plants could reduce pesticide contamination accumulated in their biomass conditioned by molecule chemical nature that directly affected pesticide biodegradation, distribution and accumulation throughout the plants. Atrazine mineralization was higher in the presence of rizospheric microbiote than in soil without plants, which did not occur in relation to tebuthiuron. The integration of information configure the cyclic system as a reduction factor for adsorption and biodegradation in soil, which could produce an ambivalent balance between the pesticide introduction by air - strongly determined by climatic factors -- and the capacity to remove them by riparian forest. The result could be difficult to predict because it is associated to a complex relation between pesticide application and climatic conditions (highly variable) in the period. Only with more collection information, together with a case study carried out in this work, could we answer whether the pesticide distribution process in riparian forest is an aleatory or a regular process.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Distribuição dos pesticidas no ambiente. Adaptada de DORES e DE-LAMONICA-FREIRE, 1999.
- Figura 2.** Estrutura química dos herbicidas do grupo das triazinas: atrazina e hexazinone.....
- Figura 3.** Rota de biodegradação da atrazina e seus metabólitos (DEA = desetilatrazina, DIA = deisopropilatrazina, DAA= desetil-deisopropilatrazina) (UETA et al., 2003).....
- Figura 4.** Rotas de degradação do hexazinone (GANAPATHY, 1996).....
- Figura 5.** Estrutura química dos herbicidas do grupo das uréias substituída: diuron e tebuthiuron.....
- Figura 6.** Etapas das reações de degradação química do diuron (SALVESTRINI et al., 2002).....
- Figura 7.** Rotas metabólicas de biodegradação do diuron por bactérias ou fungos (GIACOMAZZI e COCHET, 2004).....
- Figura 8.** Esquema de hidrólise do acetato de fluoresceína (ADAM e DUNCAN, 2001).....
- Figura 9 .** Estrutura da raiz e rizosfera, substâncias liberadas pela rizosfera e sua interação com a microbiota do solo (adaptado de Taiz, 2003).....
- Figura 10.** Processos relevantes durante a fitorremediação (TRAPP e KARLSON, 2001).....
- Figura 11.** Localização do município de Orlândia, SP.....
- Figura 12.** Transecto cana-de-açúcar, mata ciliar jovem e antiga até o Ribeirão do Rosário.....
- Figura 13.** Croqui dos microcosmos utilizados para experimento de fitorremediação em condições de casa-de-vegetação.....
- Figura 14.** Microcosmos contaminados com ^{14}C -pesticida.....
- Figura 15.** Bandeja de água aonde era fornecida a água para os microcosmos tratados com ^{14}C -herbicida.....
- Figura 16.** Distribuição pluviométrica ocorrida no período de 10 dias antes da aplicação de tebuthiuron até o dia da coleta, em 2003.....
- Figura 17.** Distribuição pluviométrica ocorrida no período de 10 dias antes da aplicação de diuron + hexazinone até o dia da coleta, em 2004.....

- Figura 18.** Resíduos de diuron e hexazinone ($\mu\text{g g solo}^{-1}$) detectados no transecto a. cana-de-açúcar, b. mata ciliar jovem, c. mata ciliar antiga, em 2003 e d. cana-de-açúcar, e. mata ciliar jovem, f. mata ciliar antiga, em 2004, nas profundidades de 0-80cm em 2003 e 0-120cm em 2004. Barras finas horizontais são o desvio padrão de cada profundidade.....
- Figura 19.** Resíduos de Tebuthiuron ($\mu\text{g g solo}^{-1}$) presentes no transecto a. cana-de-açúcar, b. mata ciliar jovem, c. mata ciliar antiga, em 2003 e 2004. Barras vermelhas representam o ano de 2003 e as azuis o de 2004. Barras finas horizontais são o desvio padrão da amostra de cada profundidade.....
- Figura 20.** *Cecropia hololeuca* em solo contaminado com 400g i.a. ha^{-1} de tebuthiuron aos 3 e 7 dias após a aplicação.....
- Figura 21.** *Trema micrantha* no início do bioensaio, aos 3 e 7 dias após a aplicação d de 132 g ha^{-1} hexazinone e 400 g ha^{-1} tebuthiuron.....
- Figura 22.** Percentagem média (n=3) acumulada de $^{14}\text{CO}_2$ capturado dos microcosmos tratados com ^{14}C -tebuthiuron contendo *C. hololeuca*, *T. micrantha* e controle (sem planta). As barras verticais são o desvio padrão de cada ponto da curva.....
- Figura 23.** Distribuição média (n=3) de radioatividade total recuperada (%) nas diferentes partes dos microcosmos controle (sem planta);contendo *C. hololeuca*, *T. micrantha*. Estas partes são o solo, rizosfera, raízes finas, caule e folhas, mineralização, voláteis e resíduos no prato de água situado abaixo dos microcosmos que foram contaminados com ^{14}C -tebuthiuron.....
- Figura 24.** Distribuição média de radioatividade recuperada (%) em relação ao aplicado presentes no solo, rizosfera e raízes finas coletadas de diferentes profundidades (0-25cm) dos microcosmos contaminados com ^{14}C -tebuthiuron, contendo (a) controle sem planta, (b) *C. hololeuca*, (c) *T. micrantha*. As barras verticais são o erro padrão.....
- Figura 25.** Distribuição radioatividade específica (% radioatividade aplicado por peso total (g) da amostra) em microcosmos tratados com ^{14}C -tebuthiuron contendo *C. hololeuca*, *T. micrantha* e controle.....
- Figura 26.** Percentagem média (n=3) acumulada de $^{14}\text{CO}_2$ capturado dos microcosmos contendo *C. hololeuca*, *T. micrantha* e Controle, produto da mineralização do ^{14}C -atrazina. As barras verticais são o desvio padrão de cada ponto da curva.....
- Figura 27.** Distribuição média (n=3) de radioatividade (%) nas diferentes partes dos microcosmos controle (sem planta), contendo *C. hololeuca*, *T. micrantha* e como o solo, rizosfera, raízes finas e grossas, caule e folhas, mineralização, voláteis e resíduos no prato de água situado abaixo dos microcosmos que foram tratados com ^{14}C -atrazina.....

- Figura 28.** Distribuição média de radioatividade recuperada (%) de porções de solo, rizosfera, raízes grossas e finas coletadas de diferentes profundidades (0-25cm) dos microcosmos tratados com ^{14}C -atrazina, contendo (a) controle sem planta; (b) *C. hololeuca* e (c) *T. micrantha*. As barras verticais são o erro padrão.....
- Figura 29.** Distribuição média de precipitação (mm), temperatura ($^{\circ}\text{C}$) máxima e mínima na área de estudo, município de Orlandia, SP, no período de 1998 a 2004.....
- Figura 30.** Distribuição da velocidade do vento (m s^{-1}) ocorrido no momento do registro e o vento máximo ocorrido durante 30min., e umidade relativa do ar ($^{\circ}\text{C}$) no dia (16/03/2007) da aplicação do tebutiuron na área de cana-de-açúcar.....
- Figura 31.** Distribuição da radiação e a temperatura do ar registrados no momento no dia (16/03/2007) da aplicação do tebutiuron na área de cana-de-açúcar.....

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Propriedades químicas, época de aplicação, persistência, solubilidade, coeficiente de sorção (K_{oc}) e mecanismo de ação da atrazina, diuron, hexazinone e tebuthiuron.....
- Tabela 2.** Doses de hexazinone, tebuthiuron e atrazina aplicados nos microcosmos ($n=3$) de *C. hololeuca*, *T. micrantha* e controle.....
- Tabela 3.** Dados de fase móvel, R_f e pureza (%) dos pesticida atrazina, hexazinone e tebuthiuron.....
- Tabela 4.** Composição granulométrica (%) de areia, silte e argila no perfil do solo (0 - 120 cm) nas áreas do transecto cana-de-açúcar, mata ciliar jovem e mata ciliar antiga.....
- Tabela 5.** Concentração de carbono orgânico (%) presente em amostras de solo provenientes do transecto cana-de-açúcar, mata ciliar jovem e mata ciliar antiga em diferentes profundidades.....
- Tabela 6.** Velocidade do vento média e máxima e direção predominante ocorridos em Franca, SP.....
- Tabela 7.** Somatório de resíduos ($\mu\text{g g}^{-1}$) de tebuthiuron, diuron e hexazinone detetados no transecto cana-de-açúcar, mata ciliar jovem e antiga, em 2003 (0-80cm) e 2004 (0-120cm).....
- Tabela 8.** Dados médios de pH, Carbono Orgânico (C.O.) (%); contagem de bactérias totais e fungos totais expressos em UFC g^{-1} de solo; e atividade desidrogenase (DHA ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)) e hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)), de amostras de solo do ano de 2003.....
- Tabela 9.** Percentual de radioatividade total recuperada (%), peso (g) e radioatividade específica ($\% \text{g}^{-1}$) do solo, rizosfera e raízes finas determinados nas camadas 0-23cm dos microcosmos com *Cecropia hololeuca*, *Trema micrantha* tratados com ^{14}C -tebuthiuron.....
- Tabela 10.** Percentual de radioatividade total recuperada (%), peso (g) e radioatividade específica ($\% \text{g}^{-1}$) do solo determinados nas camadas 0-23cm dos microcosmos controle tratado com ^{14}C -tebuthiuron.....
- ...
- Tabela 11.** Valores médios ($n=3$) de radioatividade (%), peso (g), radioatividade específica ($\% \text{g}^{-1}$) determinadas em folhas de *C. hololeuca* e *T. micrantha* que senesceram no experimento de fitorremediação em microcosmos. As folhas foram coletadas aos 33, 50, 70 e 78 dias após a aplicação do ^{14}C -tebuthiuron.....

- Tabela 12.** Radioatividade (%), peso (g) e radioatividade específica (% g⁻¹ do solo) do solo, rizosfera, raiz grossa e fina determinados nas camadas 0-23cm dos microcosmos com *Cecropia hololeuca*, *Trema micrantha* e controle, contaminados com ¹⁴C-atrazina (n=3)
- Tabela 13.** Percentual de radioatividade total recuperada (%), peso (g) e radioatividade específica (% g⁻¹) do solo determinados nas camadas 0-23cm dos microcosmos controle tratado com ¹⁴C-atrazina.....
- Tabela 14.** Contagem de bactérias e fungos presentes (UFC g⁻¹ solo) em solo provenientes da PUC-Rio adicionados de NPK (4-14-8), calcário e de solos provenientes de microcosmos contendo *C. hololeuca*, *T. micrantha* e sem planta (controle) tratados com e sem atrazina (300g i.a. ha⁻¹) (n=3).....
- Tabela 15.** Distribuição pluviométrica diária de cada mês do ano de 1998, no município de Orlandia, SP.....
- Tabela 16.** Distribuição pluviométrica diária de cada mês do ano de 1999, no município de Orlandia, SP.....
- Tabela 17.** Distribuição pluviométrica diária de cada mês do ano de 2000, no município de Orlandia, SP.....
- Tabela 18.** Distribuição pluviométrica diária de cada mês do ano de 2001, no município de Orlandia, SP.....
- Tabela 19.** Distribuição pluviométrica diária de cada mês do ano de 2002, no município de Orlandia, SP.....
- Tabela 20.** Distribuição pluviométrica diária de cada mês do ano de 2003, no município de Orlandia, SP.....
- Tabela 21.** Distribuição pluviométrica diária de cada mês do ano de 2004, no município de Orlandia, SP.....

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS.....	vi
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE TABELAS.....	xiv
1. INTRODUÇÃO.....	20
1.1. MATA CILIAR.....	23
1.2. PESTICIDA.....	26
1.2.1. Distribuição dos pesticidas no ambiente.....	27
1.2.2. Triazinas.....	30
1.2.3. Uréias Substituídas.....	38
1.3. DEGRADAÇÃO DOS PESTICIDAS.....	43
1.3.1. Degradação abiótica.....	43
1.3.2. Biodegradação.....	44
1.4. MICROBIOTA RIZOSFÉRICA.....	50
1.5. BIORREMEDIAÇÃO.....	54
1.5.1. Fitorremediação.....	56
2. OBJETIVOS.....	64
2.1. OBJETIVO GERAL.....	64
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	64
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	65
3.1. EXPERIMENTO EM CONDIÇÕES DE CAMPO.....	65
3.1.1. Área experimental.....	65

3.1.2. Herbicidas utilizados.....	66
3.1.3. Aplicação dos pesticidas e coleta das amostras de solo.....	66
3.1.4. Análise física e química das amostras de solo.....	68
3.1.5. Extração e análise de resíduos de pesticidas.....	69
3.1.6. Estudo microbiano do solo da área experimental.....	70
3.2. EXPERIMENTOS EM MICROCOSMOS.....	73
3.2.1. Solo.....	73
3.2.2. Espécies de mata ciliar utilizadas.....	74
3.2.3. Montagem dos microcosmos com plantas.....	75
3.2.4. Herbicidas utilizados.....	76
3.2.5. Bioensaio de sobrevivência de <i>Cecropia hololeuca</i> e <i>Trema micrantha</i> a diferentes doses de hexazinone e tebuthiuron e atrazina (produto comercial Gesaprim 500 SC).....	77
3.2.6. Aplicação dos herbicidas e avaliação da sobrevivência de embaúba e trema a diferentes doses de hexazinone, tebuthiuron e atrazina.....	78
3.3. EXPERIMENTO DE FITORREMEDIAÇÃO.....	79
3.3.1. Purificação dos herbicidas radiomarcados e preparo da solução estoque de ¹⁴ C-herbicida.....	79
3.3.2. Dinâmica de distribuição dos herbicidas em microcosmos com plantas.....	91
3.3.3. Determinação da mineralização.....	83
3.3.4. Determinação da quantidade de ¹⁴ C-voláteis.....	84
3.3.5. Coleta e processamento de amostras da planta.....	85
3.3.6. Determinação da radioatividade.....	86

3.5. ESTUDO DA MICROBIOTA DO SOLO.....	86
3.5.1. Estudo da microbiota do solo presente nos experimentos de fitorremediação de atrazina.....	87
4. RESULTADOS.....	88
4.1. EXPERIMENTO DE CAMPO.....	88
4.1.1. Análise do perfil do solo das áreas do transecto cana-mata ciliar.....	88
4.1.2. Dados meteorológicos	89
4.1.3. Resíduos de hexazinone e diuron.....	92
4.1.4. Resíduos de tebuthiuron.....	94
4.1.5. Microbiota do solo do transecto.....	96
4.2. BIOENSAIO DE SOBREVIVÊNCIA DE EMBAÚBA E TREMA A DIFERENTES DOSES DE HEXAZINONE, TEBUTHIURON E ATRAZINA.....	98
4.3. EXPERIMENTO DE FITORREMEDIAÇÃO EM MICROCOSMOS TRATADOS COM ¹⁴C-TEBUTHIURON.....	101
4.3.1. Altura, número de ramos, peso das folhas e caule.....	101
4.3.2. Mineralização e voláteis.....	101
4.3.3. Distribuição da radioatividade nas partes subterrâneas dos microcosmos - solo, rizosfera e raízes.....	103
4.3.4. Distribuição da radioatividade do ¹⁴C-tebuthiuron na parte aérea das plantas.....	105
4.3.5. Distribuição da radioatividade específica nas partes dos microcosmos.....	109
4.4. EXPERIMENTO DE FITORREMEDIAÇÃO EM MICROCOSMOS TRATADOS COM ¹⁴C-ATRAZINA.....	111
4.4.1. Altura, número de ramos, peso das folhas e caule.....	111
4.4.2. Mineralização e voláteis.....	112
4.4.3. Distribuição da radioatividade nas partes subterrâneas dos microcosmos - no solo, rizosfera e raízes.....	113

4.4.4. Distribuição de radioatividade nas partes aéreas das plantas nos microcosmos contaminados com ¹⁴ C-atrazina.....	118
4.4.5. Distribuição da radioatividade específica nos microcosmos com planta.....	118
4.5. MICROBIOTA SOLO DOS MICROCOSMOS.....	120
4.5.1. Microbiota do solo com atrazina.....	120
5. DISCUSSÃO.....	122
5.1. ESTUDO DE CAMPO NO TRANSECTO CANA-DE-AÇÚCAR ATÉ A MATA CILIAR.....	122
5.2. FITORREMEDIAÇÃO DE PESTICIDAS.....	127
5.3. MATAS CILIARES COMO BARREIRAS AOS AGROTÓXICOS.....	131
6. CONCLUSÕES.....	134
7. PERSPECTIVAS FUTURAS.....	135
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	136
ANEXO.....	153

1. INTRODUÇÃO

O aumento na produção agrícola brasileira demanda cada vez maior quantidade de insumos agrícolas, entre os quais agrotóxicos também denominados de pesticidas ou defensivos agrícolas. Atualmente, o Brasil é o oitavo maior consumidor mundial destes pesticidas, gerando divisas de US\$ 3.920 bilhões em 2006, sendo 38,5% foi aplicado na cultura da soja e 12,6% na cana-de-açúcar (SINDAG, 2007). No estado de São Paulo foram vendidos cerca de 104.233 toneladas (t) do produto comercial, rendendo US\$ 808.244.000. Dentre estes se destacam os herbicidas para os quais até agora não há substitutos biológicos, correspondendo a 55% das vendas de pesticidas no Brasil, e 46,4% em São Paulo (SINDAG, 2007). O uso destes pesticidas têm gerado problemas ambientais no mundo, como poluição de corpos d'água tais como rios e lagos, águas de subsolo, solo e ar (BLANCO, 1979; PIONKE e GLOTFELTY, 1990; RÜDEL, 1997; KADOKAMI, HIRAKI e JYOTATSU, 2002).

Os herbicidas agem sobre diversos processos nas plantas como a fotossíntese, o metabolismo de lipídios, entre outros (DEUBER, 2003). Resíduos destes xenobiontes podem atingir plantas não-alvo, e podem alterar e interferir na formação e perpetuação natural da biodiversidade vegetal nativa. Estes xenobiontes também têm efeitos danosos sobre outras formas de vida não-alvo como nos animais vertebrados e invertebrados e, sobretudo a fauna aquática. Já são bem conhecidos os efeitos toxicológicos agudos destes produtos sobre a fauna. Recentemente foi verificado que pequenas doses dos pesticidas no ambiente podem passar por um processo gradativo de bioacumulação que mesmo em baixas doses

podem agir como disruptores endócrinos e mutagênicos. (ARGEMI, CIANNI, PORTA, 2005; GRISOLIA, 2005). Estudos revelam efeitos preocupantes dos pesticidas como a feminilização de répteis (CRISP et al., 1998) e anfíbios (HAYES et al., 2006), redução da longevidade de peixes e bioacumulação em crustáceos (ISIDORI et al., 2005). Como na cadeia alimentar o homem consome não só produtos de origem agrícola, como também animais contaminados, há uma grande exposição a efeitos toxicológicos, constituindo um problema de saúde pública.

As conseqüências da exposição, ingestão, ou absorção dermal de pesticidas têm sido estudadas com maior ênfase por trazerem sintomatologia a longo prazo, gerada pela bioacumulação de pequenas doses (COCHRAN et al., 1995; DAHLGREN et al., 2007). Dentre as disfunções mais freqüentemente relatadas estão a redução da qualidade do esperma humano, hipotireoidismo, entre outras. (CRISP et al., 1998; GUIMARÃES, 2005).

Um dos grandes desafios do conhecimento científico atual está em identificar os produtos mais perniciosos a biota animal. Como a legislação brasileira ainda permite o uso de muitas substâncias danosas ao ambiente, a abordagem atualmente mais adequada é a de procurar minimizar seus efeitos com a prevenção e retenção da contaminação.

Como todas as formas de vida prescindem de água, consideramos que uma das prioridades seria a proteção destes mananciais.

Uma das possíveis estratégias para essa abordagem é o uso de vegetais, que podem apresentar função filtradora e também serem agentes de biorremediação, especificamente neste caso, de fitorremediação. Isto porque as plantas podem ser capazes de reter, conter e biodegradar compostos orgânicos, como os pesticidas. Podem também potencializar a biodegradação destes poluentes, direta ou

indiretamente, através de sua interação com microrganismos do solo (ENTRY, DONNELLY e EMMINGHAM, 1995, MEAGHER, 2000, GRINTIS et al., 2002). Estudos comprovam que a associação da mata ciliar com a microbiota do solo pode gerar uma biodegradação de certos pesticidas (ENTRY, DONNELLY e EMMINGHAM, 1995).

O fato das matas ciliares situarem-se entre a área agrícola e a água de superfície acaba remetendo a este bioma, possivelmente, o papel de barreira física à contaminação por pesticidas (HUBBARD e LOWRANCE, 1994). A sua proteção legal deve-se às suas funções no controle na redução do assoreamento das margens dos rios, na redução do escoamento superficial e como corredores ecológicos para a fauna (RODRIGUES, 2001).

Estudos empregando plantas de uso agrícola na retenção e biodegradação de pesticidas têm sido desenvolvidos (SCHROLL et al, 1992; MUSUMECI et al., 1994, LUDOVICE, ROSTON e TEIXEIRA, 2003). Sendo que pouco se tem estudado quanto ao papel efetivo das matas ciliares como barreira de retenção aos agrotóxicos. Apesar de elas serem protegidas por Lei, foram eliminadas em muitas regiões do país em troca do “desenvolvimento agrícola”. Logo, o seu resgate torna-se necessário pela sua importância ecológica ao ambiente, destacando-se principalmente a preservação da qualidade das águas.

Estudos sobre o potencial fitorremediador de xenobiontes pelas matas ciliares ainda são muito incipientes e não encontramos relatos em trabalhos realizados na região tropical, como o Brasil.

1.1. MATA CILIAR

A mata ou floresta ciliar é uma designação popular a toda e qualquer formação florestal às margens dos corpos d'água como rios, lagos, córregos, várzeas ou represas (RODRIGUES e LEITÃO FILHO, 2001). Na verdade, o termo refere-se a uma definição física e não fitogeográfica do local. Mata ciliar é a terminologia também utilizada na Legislação Brasileira que regulamenta a proteção das mesmas devido às suas funções, como contenção das margens, redução de assoreamento, manutenção da fauna e flora nativas (KAGEYAMA e GANDARA, 2001). O termo tem dado lugar à mata ou floresta ripária, que ocorrem em áreas ripárias. São aquelas que sofrem influência do tempo de residência da água no solo, definindo bem a fisionomia da vegetação nessas áreas às margens dos corpos d'água. O teor de umidade e a fertilidade do solo têm influência sobre a quantidade de serrapilheira produzida e na biodisponibilidade dos nutrientes, influenciando a atividade microbiana do solo (RIGOBELLO e NAHAS, 2004). No Brasil, ocorrem diversas formações florestais característicos das matas ciliares, algumas delas, de acordo com RODRIGUES (1999) são:

- floresta paludosa (ou floresta de brejo) – são florestas localizadas em áreas que permanecem encharcadas durante a maior parte do ano, possuindo vegetação característica desta condição, pois há um fluxo contínuo de água superficial dentro de pequenos canais carreando as folhas e restos vegetais, bem como as sementes e favorecendo o crescimento de espécies mais adaptadas. Ocorrem em solos orgânicos, gleissolos, areias quartzosas hidromórficas, plintossolos. Sua distribuição é fragmentada e apresenta baixa diversidade de espécies.

- Floresta estacional semidecidual ribeirinha – formação florestal ribeirinha determinada pelas estações do ano em que ocorre perda parcial das folhas, com dossel irregular entre 15 a 20m de altura. Ocorre ao longo da foz dos cursos d'água.
- Floresta estacional decidual ribeirinha – formação florestal condicionada a fatores edáficos e não climatológicos. Solo raso (litólico) com elevada acidez, baixa retenção hídrica no solo na seca. Mecanismos de defesa a déficits hídricos são o desenvolvimento, nos vegetais, de órgãos para absorção da umidade atmosférica ou de chuvas, armazenam água em algumas partes da planta e perdem totalmente as folhas.
- Cerrado – formação florestal arbustiva podendo ser composta de campo limpo, campo sujo. Ocorre em áreas em que o lençol freático é profundo com temperaturas mais elevadas e mais seca. A formação vegetal é predominantemente arbustiva podendo apresentar maior variabilidade.

Durante todo o trabalho será utilizado o termo mata ciliar que é mais genérico e melhor entendimento do trabalho. Dentre as formações florestais descritas acima, será enfatizado o estudo do sistema de floresta estacional semidecidual ribeirinho presente em várias regiões agrícolas como no estado de São Paulo. Neste sistema foram detectadas altas concentrações de macronutrientes na serrapilheira em relação às do cerrado. O cerrado possui uma maior eficiência na utilização do nutriente em relação às áreas de floresta estacional semidecidual. Sendo que florestas estacionais semidecíduais maduras e preservadas também podem apresentar maior eficiência. Isto indica que a taxa de ciclagem de nutrientes das matas ciliares variam de um ecossistema florestal para outro.

Matas ciliares formam uma barreira que evita o assoreamento dos rios decorrentes da erosão fluvial e fazem à contenção das margens dos rios, lagos e reservatórios assim como, armazenam água por mais tempo no solo devido à infiltração da mesma. Este tipo de vegetação é recomendado como prática conservacionista e funciona como uma faixa tampão ao escoamento superficial de pesticidas (LUDOVICE, ROSTON e TEIXEIRA, 2003; PINHO et al., 2004). Principalmente por ter a liteira sob a superfície do solo compondo o horizonte O e retendo certas moléculas de pesticidas por meio da adsorção (SULLIVAN e FELBECK, 1968; LAVY, MATTICE e KOCHENDEFER, 1989; PINHO et al., 2005).

Em vista de todas essas peculiaridades das matas ciliares, têm se resgatado este bioma em algumas regiões brasileiras. Em plantios florestais e recuperação de áreas degradadas empregam-se os plantios de espécies pioneiras e secundárias comumente presentes na região a ser restaurada. Principalmente no sudeste do Brasil têm-se empregado cerca de 60 ou mais espécies, utilizadas de acordo com o estudo fitossociológico que constitui de levantamento da fauna e flora presente na área e sua interação.

O resgate das matas ciliares é um fator que contribui de forma significativa no restabelecimento do equilíbrio hídrico de áreas adjacentes. Poucos são os estudos quanto ao potencial destas espécies como barreiras biológicas aos pesticidas, apesar de serem descritas como barreiras físicas aos mesmos.

1.2. PESTICIDAS

Pesticidas são substâncias químicas que visam o controle de pragas e doenças de uma cultura ou de uma área rural ou urbana. Os pesticidas são classificados de acordo com a finalidade, são denominados de fungicidas aqueles que controlam doenças fúngicas; inseticidas para controle de ataque de e para controlar plantas daninhas emprega-se os herbicidas.

Os herbicidas atuam diretamente na eliminação de plantas invasoras ou indesejáveis em áreas agrícolas, pastagens e reflorestamentos, e são utilizados em larga escala. Estudos confirmam que pesticidas atingem as águas de superfície e subterrâneas, trazendo graves conseqüências a biota aquática e terrestre, como o herbicida atrazina. Os efeitos podem ser tóxicos, cancerígenos, mutagênicos e teratogênicos, e variam de acordo com a dose e com o princípio ativo utilizados.

As primeiras preocupações com a contaminação ambiental foram relatadas por CARSON (1962) que observou que a população de gaviões estava diminuindo a cada ano. Isto ocorreu em conseqüência do uso de organoclorados como o DDT que bioacumulavam na cadeia trófica desses gaviões, resultando em menor resistência da casca do ovo dessas aves, reduzindo a taxa de natalidade dos mesmos. Esses pesticidas afetavam também o homem. Após diversos estudos, certos pesticidas foram banidos devido a seus efeitos nocivos ao ambiente como o DDT, sendo permitido o seu uso apenas em alguns países em desenvolvimento por ainda serem eficientes e baratos para o controle de vetores como os da malária.

Atualmente, há legislações que estabelecem limites mínimos de resíduos de alguns pesticidas encontrados no solo, água e alimentos, baseados em estudos de dinâmica dos pesticidas no ambiente.

1.2.1. Distribuição dos pesticidas no ambiente

Os pesticidas ao serem aplicados podem ser retidos (adsorvidos) às partículas argilosas e à fração orgânica do solo como a matéria orgânica e biomassa, e bioacumulados em células, aumentando sua persistência no ambiente (CAPRIEL, HAISCH e KHAN, 1987; HAYAR, MUNIER-LAMY e SCHIAVON, 1997; NAKAGAWA et al., 1995). Estes também podem ser desorvidos e novamente liberados para o solo. Podem também serem submetidos a processos de dispersão como a volatilização e transporte por deriva (“*drift*”), atingindo áreas não-alvo, lixiviação ou transportado por escoamento superficial (“*runoff*”) (KLÖPPEL e KÖRDEL, 1997; SNOO e WIT, 1998; CARLSEN, SPLÜD e SVENSMARK, 2006) (Figura 1.). Enquanto o processo de retenção e degradação reduz os problemas gerados pelos pesticidas, a dispersão amplia os aspectos deletérios dos mesmos.

Os pesticidas podem sofrer degradação abiótica ou biótica. A abiótica são geradas pela ação da luz como a fotólise, calor gerando a termodegradação, alterações de pH gerando hidrólise e outros processos químicos de degradação (Figura 1.) (DORES e DE-LAMONICA-FREIRE, 1999). A degradação biótica é aquela promovida pela microbiota do solo e pela planta. Estes processos são dependentes das propriedades químicas de cada produto como a estrutura química, taxa de degradação, coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}), coeficiente de adsorção (K_d) e constante de gases da Lei de Henry, taxa de biodegradação.

Podem ocorrer mecanismos de recalcitrância desses xenobiontes favorecidos por não existir um processo ou organismos degradadores ativos, ou devido à impermeabilidade das células dos microrganismos, falta de indução de enzimas, cometabolismo e também por fatores ambientais.

Quando os pesticidas estão fortemente adsorvidos dificilmente se desorvem, formando o resíduo-ligado. A desorção pode ocorrer devido ao aumento da umidade do solo e da temperatura. As ligações físicas mais fracas entre a molécula do pesticida e a partícula do solo podem ser rompidas facilmente, e ocorrer a desorção gradativa, com conseqüente mobilização do pesticida ao longo do perfil do solo (lixiviação), podendo atingir as águas subterrâneas (PIONKE e GLOTFELTY, 1990). A intensidade de lixiviação varia de acordo com o tipo de solo como os arenosos, teor de matéria orgânica, saturação do solo, presença de plantas, regime de chuvas e também propriedades químicas dos pesticidas

A volatilização dos pesticidas consiste na sua transformação do estado líquido para o gasoso durante e/ ou após a aplicação, e os voláteis são carregados pelo vento para áreas adjacentes ao local aplicado. Este processo pode ser mais ativo em solos saturados e em períodos mais quentes (GOTFELD, 1984; VOUTSAS et al., 2005).

Outro mecanismo de dispersão dos pesticidas é o escoamento superficial ou “*runoff*” que consiste no transporte de solutos como partículas do solo e pesticidas dissolvidos na água de escoamento superficial. Este mecanismo pode ocorrer em áreas de certa declividade (>10%) do solo, associada à ocorrência de chuvas ou irrigação, durante ou após a aplicação do pesticida. Certas frações do solo como caulinita e matéria orgânica, bem como barreiras físicas como litteira e raízes das

plantas podem reduzir o “*runoff*” evitando a contaminação de águas de superfície (HUBBARD e LOWRANCE, 1994; SCHMITT et al., 1999).

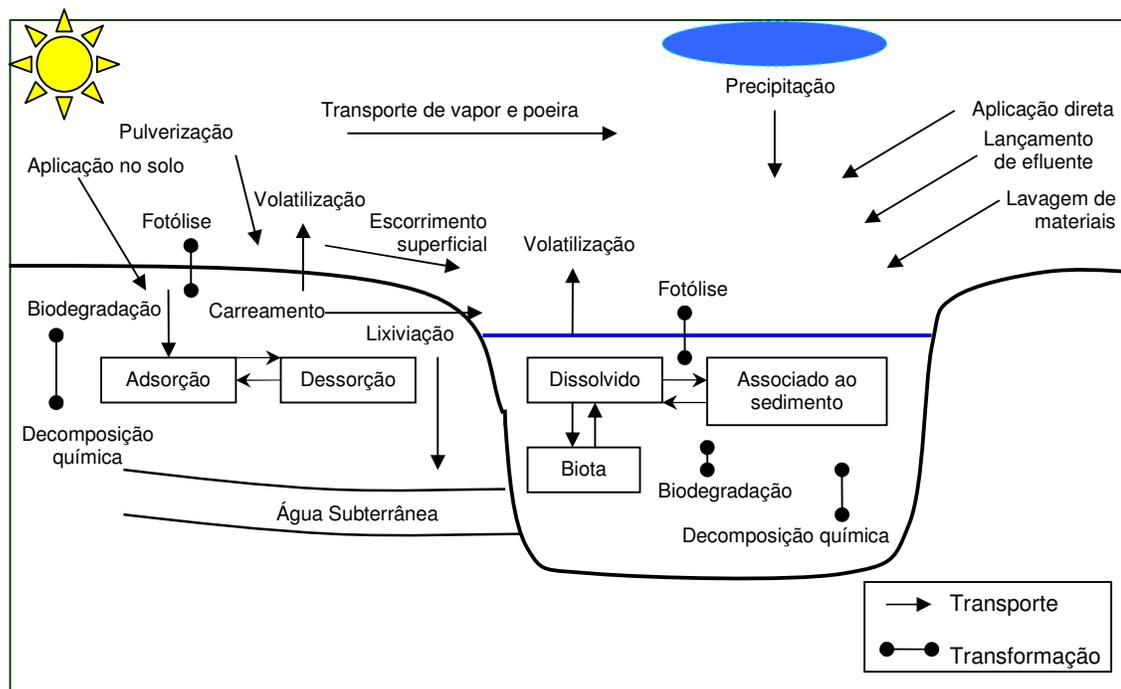


Figura 1. Distribuição dos pesticidas no ambiente. Adaptada de DORES e DELAMONICA-FREIRE, 1999.

Existem diversas formas de se minimizar a dispersão dos pesticidas aplicados na agricultura, como o emprego da pressão correta de aplicação, tipo de bicos de pulverização, condições climáticas como intensidade e direção do vento, pois ventos superiores a 3 m s^{-1} favorecem a perda por deriva. Aplicações em dias chuvosos favorecem a perda do pesticida por escorrimento superficial. Tudo isto constitui parte das Boas Práticas de Manejo, também denominada de Best Management Practices (BMP). O uso de faixas-filtro que são faixas de vegetação presente entre o local de aplicação dos pesticidas e os corpos d'água, têm sido empregado como barreiras de

retenção de contaminação (HUBBARD e LOWRANCE, 1994; EPA, 2000b, LUDOVICE, ROSTON e TEIXEIRA, 2003). Estudos com faixa-filtro de gramíneas de 5 e 10m de largura promoveram retenção de cerca de 74 e 90% da atrazina aplicada, evitando a contaminação maciça da água de superfície (LUDOVICE, ROSTON e TEIXEIRA, 2003). Mas a presença da fração orgânica na superfície do solo, bem como liteira, também podem reter e reduzir a quantidade de resíduos de atrazina na água de escoamento superficial (LAVY, MATTICE e KOCHENDEFER, 1989; PINHO et al., 2005). A eficiência na retenção de sedimentos está diretamente relacionada ao comprimento da faixa, mais do que com a altura da vegetação empregada (PEARCE et al., 1997).

1.2.2. Triazinas

As triazinas são um grupo químico de herbicidas que se caracteriza por apresentar o anel triazínico. O mecanismo de ação consiste na inibição do fotossistema II de plantas de folhas largas. Este grupo tem mostrado alto potencial de contaminação de águas de subsolo e se caracteriza pela persistência no ambiente, que aliada a sua dispersão, tem o tornado um dos vilões da poluição ambiental. Serão descritas as moléculas de atrazina e hexazinone (Figura 2.).

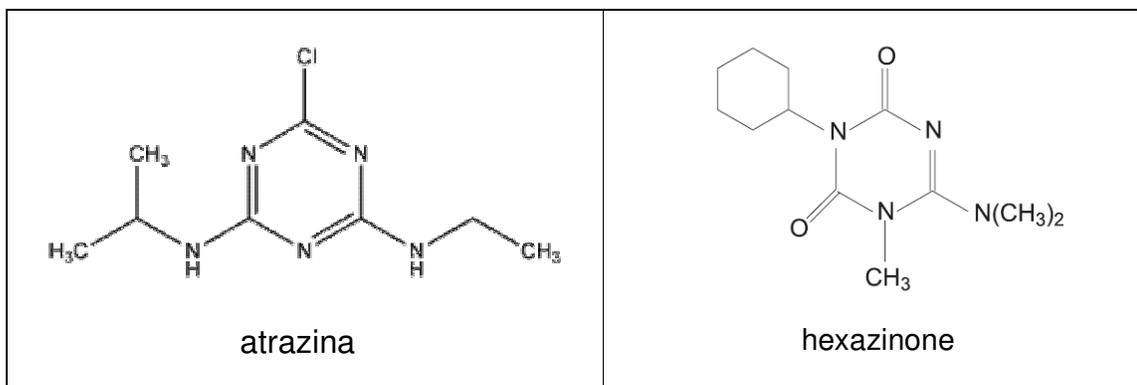


Figura 2. Estrutura química dos herbicidas do grupo das triazinas: atrazina e hexazinone.

A atrazina [2-chloro-4-(ethylamino)-6-(isopropylamino)-S-triazine] (Figura 2.) é um herbicida utilizado como pré e pós-emergente no controle de plantas daninhas em cana-de-açúcar e pós-emergente em culturas como milho e feijão. É muito empregado no sistema de plantio direto na região do Cerrado. Pode ser aplicado no solo e tem ação fisiológica sistêmica com ampla mobilidade apoplástica, translocando-se principalmente via xilema até as folhas. Atua diretamente na plastoquinona do fotossistema II (PS II) (DEUBER, 2003). É lipofílica com grande afinidade por matéria orgânica e argila. As principais características químicas desta molécula estão descritas na Tabela 1.

A atrazina tem demonstrado ser o maior contaminante das águas subterrâneas, chegando a ultrapassar com grande frequência os limites estabelecidos para água potável de $3 \mu\text{g mL}^{-1}$, na Europa e Estados Unidos (STRUTHER, JAYACHANDRAM & MOORMAN, 1998). Por este motivo foi banido em muitos países da Europa Central. No Brasil, embora tenha sido encontrado resíduos deste produto em água de superfície, tem o seu uso restrito apenas para o estado do Paraná (SYNGENTA, 2007).

O escoamento superficial ou “*runoff*”, promovido por fortes enxurradas, constitui uma das fontes de contaminação das águas de superfície (FRANK e SIRONIS, 1979; PINHO et al., 2004; CORREIA e LANGENBACH, 2006). Quando ocorrem chuvas intensas, dois dias após a aplicação da atrazina, são encontrados valores de 1,6% do total aplicado nas amostras provenientes do escoamento. Mas quando as chuvas ocorrem 15 dias após a aplicação do pesticida, há uma redução para <0,02% do pesticida nestas amostras da água de escoamento. Foi verificado que as concentrações de atrazina na fase aquosa eram até 100 vezes maiores na fase aquosa do que os de atrazina aderida às partículas (CORREIA E LANGENBACH, 2006). A contaminação por “*run-off*” é fortemente reduzida por uma zona tampão ou faixa-filtro constituído por gramíneas (LUDOVICE, ROSTON e TEIXEIRA, 2003) e com as matas ciliares que formam um filtro de retenção (LOWRANCE et al., 1997, EPA, 2000b). Alguns trabalhos citam que uma faixa-filtro de gramíneas ou mata, ambas com 10m de largura promove uma redução de cerca de 30% a 90% do total do pesticida aplicado (HUBBARD e LOWRANCE, 1994; LUDOVICE, ROSTON e TEIXEIRA, 2003, SCHOONOVER et al., 2006).

A maior parte da atrazina aplicada fica adsorvida às partículas do solo, em que cerca de 30% do aplicado fica indisponível à biodegradação pelos microrganismos (LANGENBACH, SCHROLL e PAIM, 2000). A atrazina sofre degradação abiótica pela ação da luz UV, pH, temperatura e biótica (SIRONIS, FRANK e SAWYER, 1973; FRANCIOSO, BAK, SEQUI, 1992; CERDEIRA et al., 2004) (Figura 3.). Quando ocorrem processos de degradação química, como a hidrólise, a atrazina se transforma principalmente em hidroxiatrazina (MANDELBAUM, WACKETT, ALLAN, 1995). A degradação microbiana pode promover também este processo de dechlorinação (MANDELBAUM, LAWRENCE e

ALLAN, 1993b). Os microrganismos do solo são capazes de degradar a atrazina por meio da N-dealquilação e clivagem do anel. A N-dealquilação da atrazina gera desetilatrizona (DEA) e deisopropilatrizona (DIA). O processo de hidrólise química no solo catalisa a dechlorinação da atrazina, enquanto a N-dealquilação e a clivagem do anel são realizados por microrganismos.

As vias de metabolização microbiana da atrazina estão esquematizadas na figura 3.

A taxa de mineralização do herbicida atrazina em experimentos de microcosmos com solos tropicais indeformados é muito baixa, variando entre 0,09 e 0,25% (LANGENBACH, SCHROLL e PAIM, 2000; CORREIA et al., 2007). Há outras referências com valores maiores de mineralização, muitas vezes em condições artificiais controladas distintas, como a variação da umidade que se encontra no ambiente (SCHROLL et al., 1992). Dentre os primeiros microrganismos degradadores descritos estão os fungos (KAUFMAN e BLAKE, 1970) e as bactérias do gênero *Pseudomonas* (MANDELBAUM, ALLAN, WACKETT, 1995). A atrazina também pode ser degradada por outros gêneros de bactérias ou por culturas mistas (ASSAF e TURCO, 1994, KONTCHOU e GSCHWIND, 1995, STRUTHER, JAYACHANDRAM e MOORMAN, 1998). A microbiota degradadora da atrazina presente no solo pode ser estimulada pela presença de plantas. Hassal (1991) sugere que algumas plantas, como as árvores do gênero *Populus*, podem metabolizar a atrazina, detoxificando a água de subsolo (CHANG, LEE e JE, 2005).

Tabela 1. Propriedades químicas, época de aplicação, persistência, solubilidade, coeficiente de sorção (Koc) e mecanismo de ação da atrazina, diuron, hexazinone e tebuthiuron.

Ingrediente Ativo	Grupo Químico	Época de aplicação	Persistência (1/2 vida)	Pressão de vapor (mbar)*	Solubilidade ($\mu\text{g g}^{-1}$)**	Taxa de Movimento do pesticida**	Coeficiente Sorção (Koc solo)**	Mecanismo de ação
Atrazina	Triazina	Pré-emergente	Média (60-120 dias)	4.10^{-4} a 20°C	33	Alto	100	Inibidor Fotossíntese (PS II)
Hexazinone	Triazina	Pré e Pós-emergente	Média (60-120 dias)	$2,7.10^{-7}$ a 25°C ; $8,5.10^{-5}$ a 96°C	33.000	Muito Alto	54	Inibidor Fotossíntese (PS II)
Diuron	Uréia substituída	Pré e Pós-emergente	Média (60-120 dias)	$4,1.10^{-6}$ a 50°C	42	Moderado	480	Inibidor Fotossíntese (PS II) e Respiração
Tebuthiuron	Uréia substituída	Pré-emergente	Muito Longa (>240 dias)	$2,7.10^{-6}$ a 20°C	2.500	Muito Alto	80	Inibidor Fotossíntese (PS II) e metabolismo lipídios, principalmente no processo de síntese

Fonte: *Deuber, 2003. Pesticide Manual; **Hornsby, Walchop and Herner, 1996.

emergência das plantas daninhas de folhas largas, na cultura da cana-de-açúcar (DUPONT, 2007).

O hexazinone também tem sido descrito como um dos grandes contaminantes de águas de subsolo devido a sua baixa adsorptividade às partículas do solo (Tabela 1.) (SADEGUI e ISENSEE, 1994; OLIVEIRA, KOSKINEN e FERREIRA, 2001, ZHU e LI, 2002). Estudos com hexazinone comprovam a ocorrência de injúrias à biota aquática como intoxicações, distúrbios no crescimento populacional, podendo ser letal para algumas espécies de peixes e anfíbios (WAN, WATTS e MOUL, 1988; BERRILL et al., 1994).

Quando ocorrem enxurradas, o hexazinone facilmente se transporta por “*runoff*” devido a sua alta solubilidade, cerca de 1000 vezes superior ao da atrazina (Tabela 1.), associada a sua baixa adsorção às frações do solo. Esta dispersão pode ser mais intensa em solos sem proteção vegetal como restos vegetais (liteira) e presença de plantas. Lavy, Mattice e Kochendefer (1989) observaram que o hexazinone pode ser retido pela liteira de áreas florestais e absorvido pelas plantas, pode ser assimilado pela microbiota ou lixiviar. A ocorrência de chuvas também pode gerar nova incorporação do hexazinone ao solo por meio da lavagem do mesmo adsorvido às superfícies foliares (LAVY, MATTICE, KOCHENDEFER, 1989; CALDERÓN et al., 2004).

Este pesticida, ao atingir solos de condutividade hidráulica alta, pode sofrer intensa lixiviação atingindo camadas mais profundas (30cm), quatro a seis semanas após a aplicação do pesticida tanto em solos argilosos quanto em solos arenosos do Canadá (ROY et al., 1989). Zhu e Li (2002) detectaram resíduos de hexazinone a 60cm de profundidade, após 90 dias da aplicação. Em condições controladas foi

detectado hexazinone em lixiviados de lisímetros de 150 cm de altura (STONE et al., 1993).

O hexazinone sofre degradação abiótica como fotodegradação e biótica como a degradação microbiana (GHASSEMI et al., 1981), sendo a degradação microbiana mais ativa que a fotodegradação em condições de solo (NEARBY et al., 1983). Segundo Rhodes (1980) e Rhodes (1987) a degradação microbiana pode quebrar o anel triazínico, liberando CO₂. As principais vias de degradação do hexazinone podem ser visualizadas na figura 4, envolvendo a demetilação e a hidroxilação da posição 4 do anel ciclohexil (GANAPATHY, 1996). Na rota de degradação são gerados os metabólitos A, B, C, D, E, F, G, H. O metabólito C tende a predominar em diversos solos, sendo que a demetilação que ocorre no processo de fotodegradação gera primeiramente o metabólito B e após 6 semanas em condições artificiais, são formados os metabólitos A e D (RHODES, 1987).

Estudos comprovam que este pesticida pode ficar biodisponível por mais de 18 meses no solo (LAVY, MATTICE, KOCHENDEFER, 1989), e sua biodegradação pode atingir a taxa de 45 a 75% de mineralização do total aplicado no solo (RHODES, 1980).

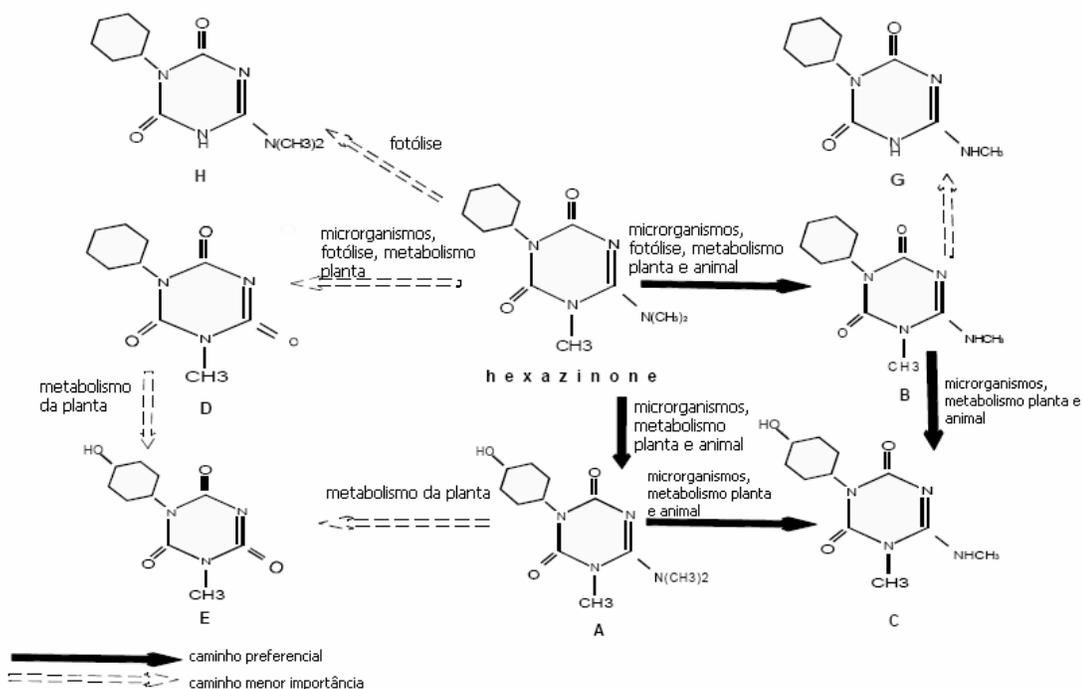


Figura 4. Rotas de degradação do hexazinone (GANAPATHY, 1996).

1.2.3. Uréias Substituídas

As uréias substituídas têm como mecanismo de ação a inibição do fotossistema II. Podem ser encontrados em formulados comerciais associados a outros princípios ativos. As uréias substituídas são absorvidas preferencialmente pelas raízes translocando-se via apoplasto para demais partes da planta (DEUBER, 2003). Em geral, são inibidores da fotossíntese. As principais características da molécula e sua forma de ação estão na Tabela 1. Serão descritas as moléculas de diuron e tebuthiuron (Figura 2.).

O diuron [3-(3,4-diclorofenil)-1,1-dimetil uréia] (Figura 5.) é um herbicida de amplo espectro de ação, utilizado principalmente na cultura de cana-de-açúcar e milho no controle de plantas daninhas de folhas largas (Tabela 1.) Possui afinidade com matéria orgânica presente no solo (LUCHINI, 1987).

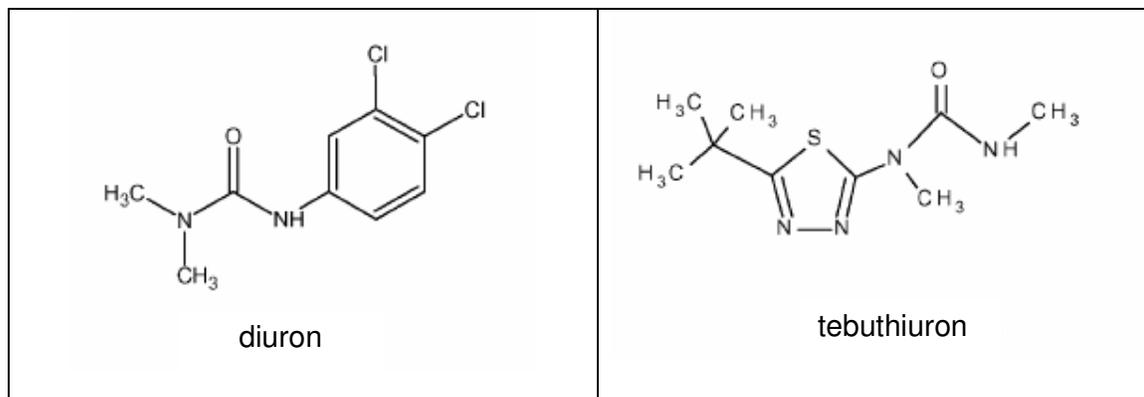


Figura 5. Estrutura química dos herbicidas do grupo das uréias substituída: diuron e tebuthiuron.

Apresenta certo grau de persistência no ambiente e moderada capacidade de se movimentar ao longo do perfil do solo, que varia de acordo com o teor de matéria orgânica e a ocorrência de chuvas após o período de aplicação do pesticida (Tabela 1.) (LUCHINI, 1987; MATALLO et al., 2003). Solos mais ácidos e temperaturas elevadas promovem a degradação abiótica da molécula, gerando metabólitos. Pode sofrer hidrólise e fotodegradação resultando no metabólito 3, 4-dicloroanilina (Figura 6). Esta forma é irreversível e é a mais presente no solo.

A hidrólise do diuron é catalisada por OH^- e H^+ . Logo, a matéria orgânica e a inorgânica dissolvidas na solução do solo servem de catalisadores do processo químico de degradação hidrolítica. Estas reações podem resultar em metabólitos, H_2O e CO_2 (Figura 6.).

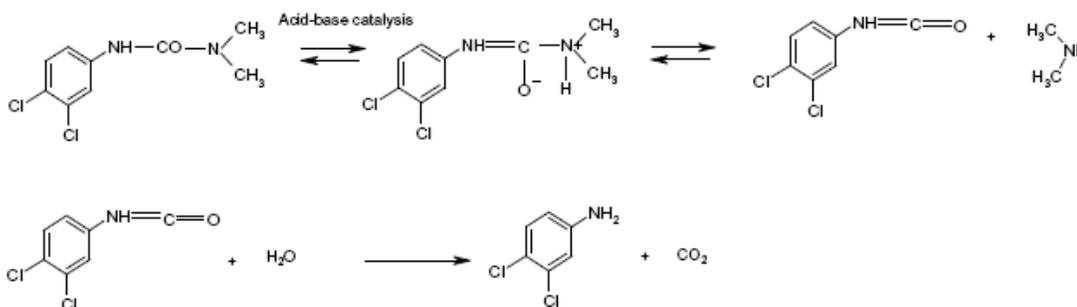


Figura 6. Etapas das reações de degradação química do diuron (SALVESTRINI et al., 2002).

Este herbicida também é biodegradado por uma mistura de microorganismos, como bactérias, fungos, actinomicetos ou por grupos específicos (ELLIS e CAMPES, 1982; MANDELBAUM, WACKETT, ALLAN, 1993a.). A rota de degradação biótica do diuron é dependente também das condições de oxigenação do solo. Condições aeróbias formam o 3, 4-dicloroanilina e este pode formar diferentes metabólitos em condições aeróbicas e anaeróbicas (Figura 7.).

A biodegradação da molécula promovida tanto pela microbiota do solo como fungos e bactérias quanto pela planta é bem característica (MUSUMECI et al., 1995; SALVESTRINI et al., 2002). Plantas, como a cana-de-açúcar, são capazes de metabolizar este herbicida transformando-o em moléculas não tóxicas (MUSUMECI et al., 1995).

O herbicida tebuthiuron (N-[5-(1,1-dimetiletil)-1,3,4-tiadiazol-2-il]-N,N'-dimetiluréia) é utilizado, no Brasil, exclusivamente na cultura da cana-de-açúcar para controle de gramíneas e folhas largas (Figura 5.). Este herbicida é aplicado via foliar e age de forma sistêmica, translocando-se na planta e atuando em várias partes da mesma (Tabela 1.). Tendo em vista as suas propriedades descritas na Tabela 1, como alta persistência e por ser uma molécula de baixa reatividade como o diuron,

tende a lixiviar com maior facilidade em solos arenosos em consequência de sua alta capacidade hidrofílica (GUSTAFSON, 1989, SPADOTTO, 2002; MATALLO et al., 2003, GOMES et al., 2006). Sofre influência de variações de pH, CTC e teor de matéria orgânica (GOMES et al., 2006).

Em condições temperadas, o tebuthiuron penetrou 17cm em solo arenoso após 8 meses da aplicação, com 326mm de chuva, (EMMERICH et al., 1984), e em condições tropicais, em neossolo quartzarênico (arenoso), atingiu 50cm de profundidade após um ano (GOMES et al., 2006).

Em condições brasileiras, o tebuthiuron permaneceu no solo por 365 dias após a aplicação (MATALLO et al., 2003) caracterizado por possuir reduzida taxa de degradação abiótica e biótica. A sua persistência no solo, denominada de efeito residual do herbicida, é uma característica desejável para o controle efetivo das plantas daninhas, não necessitando de reaplicações ao longo do ciclo da cultura. A alta persistência do herbicida, impede o cultivo de outras culturas suscetíveis ao tebuthiuron no solo tratado. O que tem promovido estudos de remoção e redução dos resíduos presentes no solo (PIRES, 2005). Foram detectados resíduos de tebuthiuron em plantas crescidas em área após 11 anos da aplicação de tebuthiuron (JOHNSEN e MORTONS, 1989). Estudos revelam que este produto possui toxicidade aguda e crônica em espécies de fauna e flora aquática estudadas (DAM et al., 2004).

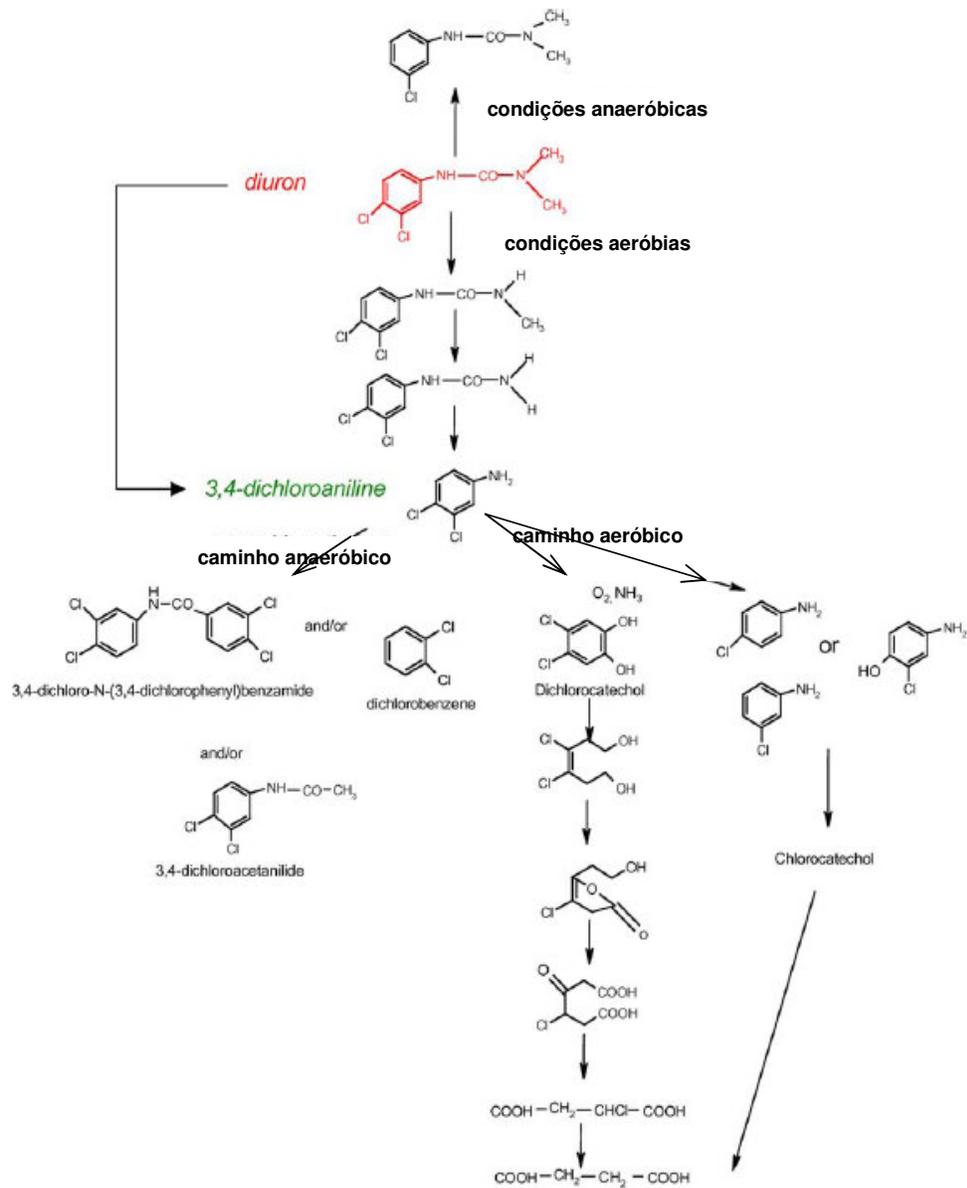


Figura 7. Rotas metabólicas de biodegradação do diuron por bactérias ou fungos (GIACOMAZZI e COCHET, 2004).

1.3. DEGRADAÇÃO DOS PESTICIDAS

A degradação é a transformação da molécula original em outras formas químicas como os metabólitos, conjugados e produtos inorgânicos. Quando a degradação é total denomina-se de mineralização (LASKOWSKI et al., 1983; MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). Este processo varia de acordo com a natureza química da molécula e as condições ambientais, que possibilitam a degradação física, química e biológica, sendo as duas primeiras denominadas abiótica e a última de biótica.

1.3.1. Degradação abiótica

A degradação abiótica é promovida pelas condições ambientais que favorecem as transformações e quebra das ligações químicas por processos físico-químicos como fotodegradação e hidrólise. A fotodegradação ocorre pela incidência de raios solares de baixo comprimento de onda, na faixa do U.V., entre 200 a 300 nm, sob os pesticidas gerando a fotoconversão ou decomposição da forma original da molécula por meio de quebra das ligações químicas originais (LASKOWSKI et al., 1983; LÁNYI e DINYA, 2005). Essa fotoconversão pode gerar metabólitos tóxicos como os fotoisômeros de organoclorados como aldrin e heptacloro. A luz solar incide sobre os pesticidas dispersos no ar, sobre as folhas e sobre resíduos bem próximos a superfície do solo como ocorre com o diuron e com algumas triazinas como a atrazina e terbutylazina (MANSOUR et al., 1998; GIACOMAZZI e COCHET, 2004), entre outros grupos químicos.

A hidrólise ocorre em presença dos íons de OH^- e H^+ , que catalisam o processo de redução e oxidação de alguns pesticidas como a atrazina, diuron, hexazinone, transformando-os em metabólitos. Este processo ocorre não só em presença de água no solo, mas também no solo onde há diversos componentes que favorecem esse processo, como a presença de matéria orgânica, diferentes concentrações de prótons e nêutrons determinando a CTC e o pH do solo. Solos ácidos ou alcalinos favorecem a degradação de moléculas como atrazina, que nestas condições transforma-se rapidamente em hidroxiatrazina. Ambientes com maior teor de matéria orgânica favorecem a degradação do diuron e atrazina (GIACOMAZZI e COCHET, 2004). Pode ocorrer também a hidrólise a partir dos metabólitos dos pesticidas, como ocorre com os metabólitos do diuron (Figura 5.). Temperaturas elevadas, superiores a 45°C , também favorecem a degradação abiótica de algumas triazinas, dentre elas a atrazina e o hexazinone, e de uréias, como diuron (HORNSBY; WAUCHOPE e HERNER 1996). Estes pesticidas que se degradam pelo calor são denominados de termolábeis.

1.3.2. Biodegradação

Processos de degradação química e física como a oxido-redução e a fotodegradação promovidos pela natureza, em geral, são processos parciais. Em contrapartida, processos biológicos promovidos pela ação de microrganismos (biodegradação) têm sido os principais mineralizadores dos pesticidas, promovendo a degradação total da molécula (DAGLEY, 1983).

A microbiota do solo pode utilizar os xenobiontes como fonte de nutrientes (catabolismo), energia ou simplesmente quebrar as moléculas (co-metabolismo). Em

geral, a biodegradação natural do solo é realizada por um consórcio de diversos grupos microbianos que se complementam no processo de degradação até a mineralização (GIACOMAZZI e COCHET, 2004).

A atividade de biodegradação dos pesticidas varia de acordo com alguns fatores como temperatura, água, disponibilidade de nutrientes, pH do solo. Temperaturas mais baixas diminuem o metabolismo da microbiota do solo, mas ambientes com temperaturas mais elevadas e solo úmidos, como os solos tropicais, promovem um estímulo no seu metabolismo, podendo haver melhores condições para biodegradação de compostos xenobiontes presentes no solo.

Devido a natureza química das moléculas de pesticidas, nem todas sofrem fácil degradação, persistindo no ambiente e trazendo sérios problemas ambientais descritos anteriormente. Estas moléculas têm sido alvo de estudo quanto à biodegradação, pois esta fica limitada a sua biodisponibilidade, pela competição com outros processos ambientais como a adsorção dos xenobiontes às partículas e à matéria orgânica do solo. Assim, os xenobiontes ganham persistência, já que sua adsorção impede física ou quimicamente o acesso dos microrganismos ou suas enzimas às moléculas dos pesticidas. Os microrganismos do solo ao utilizarem a matéria orgânica indígena podem promover a liberação dos resíduos de atrazina que estavam ligados às partículas do solo, tornando-os novamente disponíveis ao ambiente (HAYAR et al., 1997).

Alguns microrganismos podem bioacumular xenobiontes em sua biomassa, preservando-os de um processo de degradação (MUSUMECI, CAINELLI GEBARA e RÜEG, 1982). Isto só é revertido com a morte desses microrganismos bioacumuladores, quando as moléculas de xenobiontes são novamente disponibilizadas para o ambiente, podendo ser biodegradadas, reabsorvidas por

outras formas de vida ou readsorvidas às partículas de solo. Este processo é denominado de “carryover” ou de efeitos residuais (MUSUMECI et al., 1995, MANO, BUFF e LANGENBACH, 1996). O “carryover” pode ocorrer, por exemplo, com os pesticidas imazaquim e o tebuthiuron aplicados no solo, que devido a sua persistência, apresentam concentrações tóxicas para a próxima cultura (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002; PIRES et al., 2005).

Outros processos concorrentes, como a lixiviação para camadas profundas do solo que apresentam reduzida biomassa microbiana e volatilização, reduzem a exposição do xenobionte aos microrganismos.

Os microrganismos podem ser estimulados pela introdução de nutrientes ou por processo de cometabolismo com substâncias análogas. A introdução de nutrientes provenientes dos insumos agrícolas e de agrotóxicos utilizados no campo favorecem a maior atividade da microbiota do solo (SOUZA *et al.*, 1999, ANDREA e PETTINELLI, 2000). Mas a taxa de degradação pode estar relacionada à presença de microrganismos competentes e não devido a maior presença de matéria orgânica (ISSA e WOOD, 1999).

Aplicações sucessivas de atrazina favorecem a maior biodegradação deste pesticida, possivelmente pela seleção de população degradadora e trocas genéticas após as primeiras aplicações (BARRIUSO e HOUOT, 1996). Mesmo com intervalos sem aplicação da atrazina no solo, ao aplicá-la novamente na mesma área, ainda ocorre uma grande biodegradação do contaminante. Fica comprovado que a microbiota do solo possui uma “memória genética” para a biodegradação do xenobionte (ANDREA e PETINELLI, 2000).

Dentre os principais gêneros de procariotos descritos como biodegradadores de pesticidas estão o *Azospirillum* e o *Hafnia* que são bactérias Gram-negativas

aeróbias, fixadoras de N₂ atmosférico; os *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Alcaligenes*, *Paracoccus*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Flavobacterium*, são bastonetes Gram-negativos aeróbios; *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia*, bastonetes Gram-negativos anaeróbios; *Bacillus*, *Clostridium* e *Micrococcus*, coccus Gram-positivos esporulantes; e *Streptomyces* e os *Rhodococcus*, bastonetes não esporulantes (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

Estudos mostraram capacidade de biodegradação da atrazina por *Rhodococcus* sp., *Streptomyces grivoleus* (MANDELBAUM, WACKETT e ALLAN, 1993; GIACOMAZZI e COCHETT, 2004). A *Pseudomonas putida*, estirpe ADP também apresenta alto potencial de degradação das triazinas devido à ação de suas enzimas, mineralizando-a em até 30% da quantidade aplicada (NEWCOMBE e CROWLEY, 1999).

Alguns fungos fazem as reações de n-dealquilação e dehalogenação parciais de triazinas, e para isso muitas vezes é necessário o consórcio de bactérias e fungos para a degradação total do anel triazínico (HICKEY, HUSTER e LAMAR, 1994). Dentre os fungos relacionados à degradação da atrazina estão os gêneros *Mucor*, *Rhizopus*, *Phaerenochaete*, *Fusarium*, *Aspergillus* e *Rhizoctonia*. Os três últimos gêneros são também patógenos de plantas cultiváveis de grande importância econômica. Estudos têm sido desenvolvidos com fungos lignolíticos que atuam no complexo de clivagem de cadeias complexas da lignina e também sobre compostos aromáticos e alifáticos, por meio de enzimas de peroxidase lignolítica (BUMPUS et al., 1985, MASAPHY, LEVANON, HENIS, 1996, SILVA, MELLO, OLIVEIRA, 2004). A degradação biótica pode estar relacionada à detoxificação pela enzima citocromo monooxigenase P450, por exemplo, promovida pelo fungo *Phanerochaete chrysosporium* (BRENDING, FRILOUX e WALKER, 2002). Em áreas de cultivo

mínimo como o plantio direto, onde há a presença de restos vegetais, apresentou capacidade de biodegradação da atrazina superior a de um solo com plantio convencional, provavelmente devido a presença de fungos lignolíticos capazes de biodegradar também os pesticidas (CORREIA et al., 2007).

Uma das formas de se avaliar a taxa de biodegradação do xenobionte pela microbiota do solo é por meio da quantificação de CO₂ resultante da mineralização do composto. Para estes estudos utilizam-se compostos radiomarcados que permitem identificar o CO₂ originado da molécula em estudo. Experimentos com microcosmos contendo solos isentos de plantas apresentaram mineralização da atrazina variando entre 0,25% a 36% do aplicado (QUEIROZ e MONTEIRO, 2000, CORREIA e LANGENBACH, 2006). O maior ou menor desprendimento do ¹⁴CO₂ pode estar associado ao teor de argila presente em diferentes solos (NAKAGAWA et al, 1995, PEIXOTO, 1998), ao grau de compactação do solo, que afeta diretamente a aeração, e principalmente à temperatura e ao teor de água contido no solo (ANDRÉA et al., 2000, QUEIROZ e MONTEIRO, 2000). Moreno et al. (2007) observaram que solos de microcosmos que nunca haviam recebido aplicação de atrazina, apresentaram maior taxa de mineralização deste pesticida do que solos de áreas agrícolas que já haviam sido tratados previamente com atrazina.

O uso de técnicas para quantificar a biomassa microbiana presente em ambiente contaminado por xenobiontes é bem diverso. Em geral, a maior quantidade de biomassa microbiana tem correlação com maior taxa de biodegradação. Estudos de biomassa, utilizando o plaqueamento e contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) de fungos e bactérias têm sido utilizados para quantificar a microbiota presente no solo. Microrganismos com potencial para a degradação de xenobiontes são selecionados a partir de meio de cultura seletivos. Esta técnica

possui a limitação de determinar apenas os microrganismos cultiváveis que crescem nos meios nutritivos utilizados. Desta forma, não são detectados os não cultiváveis que correspondem a cerca 99% da população microbiana do solo. Para determinação dos microrganismos não-cultiváveis existem diversos métodos de análise moleculares, que identificam grupos de organismos presentes no solo e também podem quantificar a presença e a atividade de genes funcionais de degradação do xenobionte em estudo.

Outras estratégias para avaliar a biomassa presente no solo é a quantificação da atividade da desidrogenase (DHA) (TABATABAI, 1982) e da hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) (ADAM e DUNCAN, 2001).

A DHA tem se mostrado sensível em solos impactados por xenobiontes (FERREIRA, 2002). Esta técnica consiste na utilização de cloreto trifeniltetrazólio (TTC) como acceptor de elétron, sendo reduzido pelas enzimas desidrogenase resultando num precipitado vermelho que é o trifeniltetrazólio formazan (TTF). Este produto final é medido colorimetricamente em colorímetro ou espectrofotômetro, e quantificado com base na equação da curva de calibração obtida com diferentes concentrações de TTF.

As esterases são enzimas livres, como as exoenzimas ou enzimas de membrana que hidrolisam ligações ésteres, presentes em muitas moléculas orgânicas, em moléculas de ácidos e álcoois, e estão relacionadas à degradação de compostos orgânicos. Para a determinação de sua atividade é utilizado o método da quantificação da hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA). Esse substrato é incolor e quando hidrolisado pelas estereases gera um composto fluorescente amarelado, a fluoresceína, cuja concentração pode ser determinada pela intensidade colorimétrica medida a 490 nm em espectrofotômetro (Figura 8.). Esta

técnica detecta células vivas e ativas e não esporos e células na fase estacionária de crescimento.

1.4. MICROBIOTA RIZOSFÉRICA

A presença de raízes possui a principal função de sustentação da planta e absorção de água e nutrientes para dentro da mesma; alterando as características físico-químicas do solo e estimulando o desenvolvimento de outras formas de vida como os microrganismos, por meio de substâncias liberadas pela raiz tais como os exudatos, secreções, géis (Figura 9). Os exudatos são compostos de baixa massa molecular, solúveis em água e de alta diversidade química e as secreções são moléculas de alta massa molecular. Polissacarídeos ácidos denominados de mucilagens são também liberadas pelas raízes. Estas substâncias podem ativar os genes das enzimas responsáveis pelo metabolismo microbiano de degradação de poluentes orgânicos recalcitrantes (OLSON et al., 2003).

A zona de influência radicular, de cerca de 0,01 a 3mm de distância da raiz, é denominada de rizosfera subdividida em ectorrizosfera, parte externa das raízes, e endorrizosfera que abrange as células do córtex, e o rizoplano ou mucigel é a área entre a raiz e o solo composta de colóide orgânicos e minerais, células microbianas e seus produtos metabólicos. Na rizosfera também são liberados compostos oriundos da lise das células da epiderme, denominados de lisados (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002) (Figura 9). O pH da rizosfera é dependente da extrusão de H^+ e HCO_3^- , influenciando

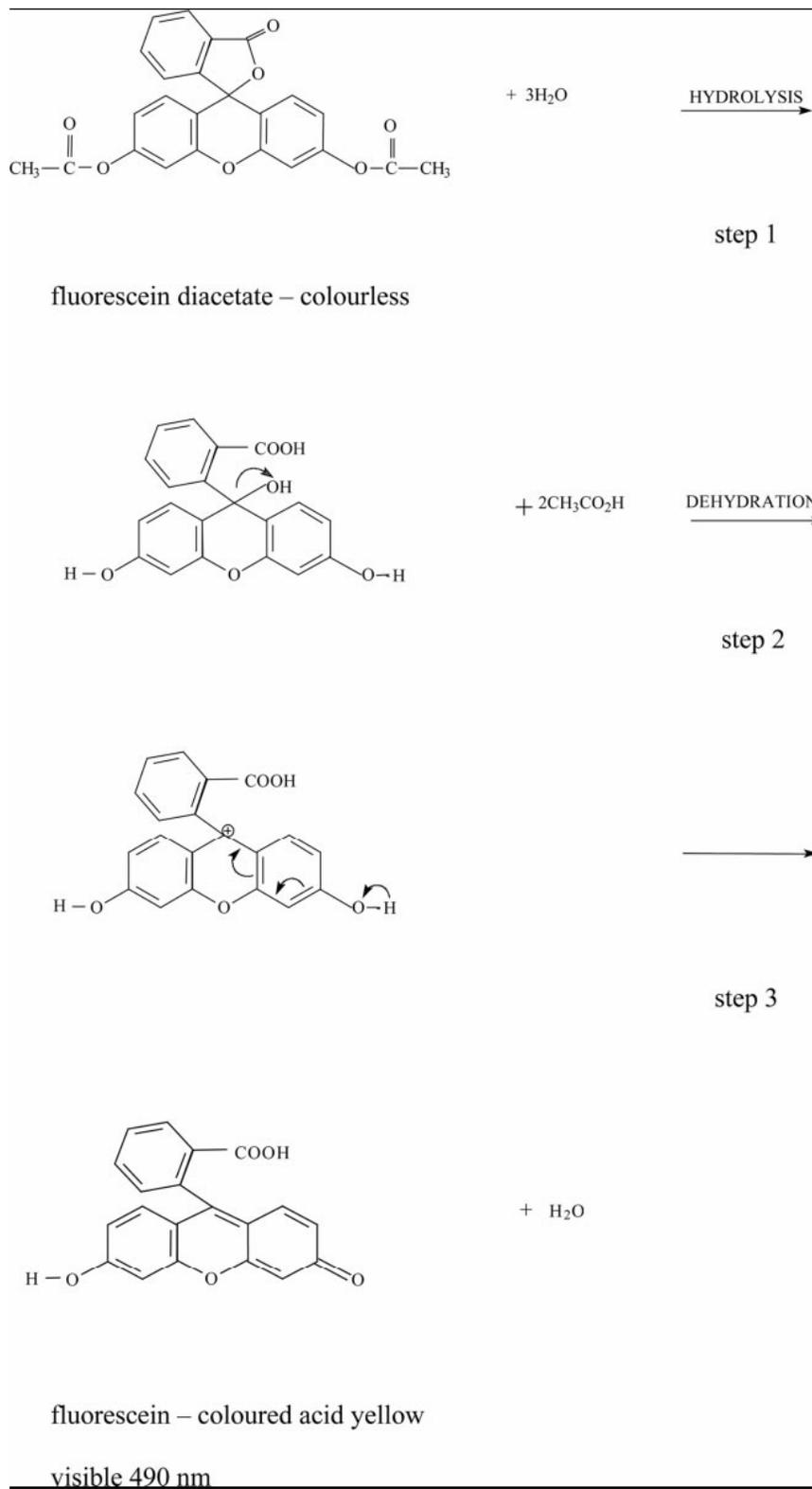


Figura 8. Esquema de hidrólise do acetato de fluoresceína (ADAM e DUNCAN, 2001).

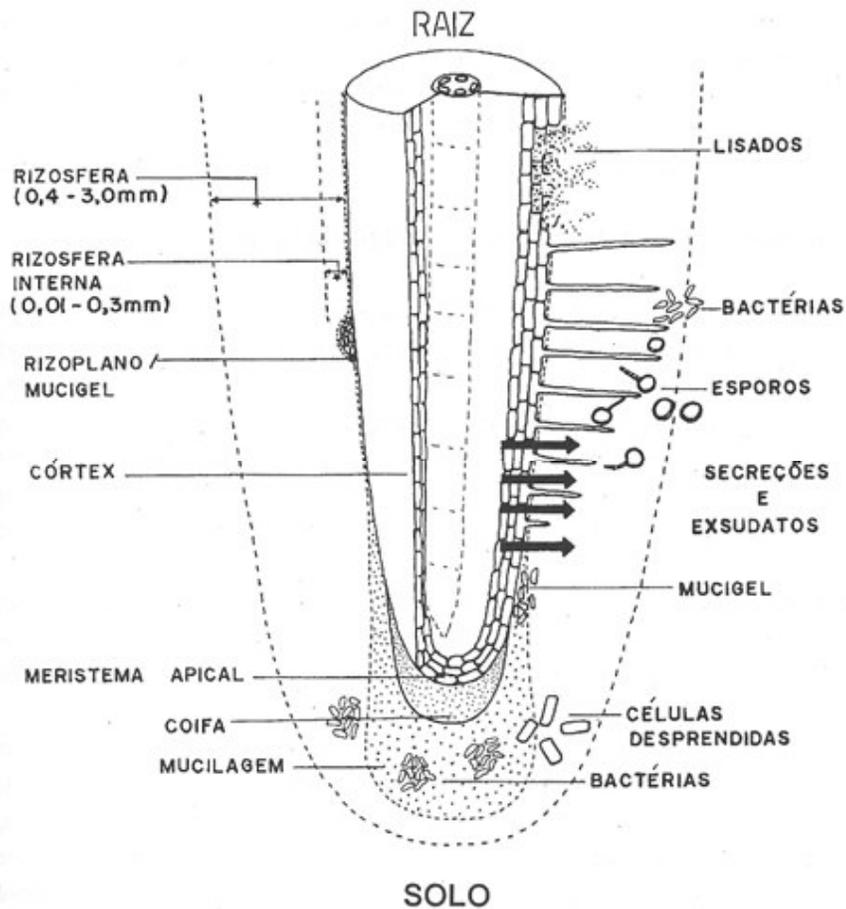


Figura 9 . Estrutura da raiz e rizosfera, substâncias liberadas pela rizosfera e sua interação com a microbiota do solo (adaptado de Taiz, 2003).

A rizosfera é caracterizada também pela presença de microrganismos, como os saprófitos, simbiontes e patogênicos. Ocorre uma maior diversidade microbiana na rizosfera em relação ao solo não-rizosférico, pois as substâncias depositadas neste sistema não favorece especificamente uma determinada espécie (PAPAVIZAS e DAVEY, 1961 *apud* MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). A espécie da planta, condições edafoclimáticas presentes no sistema influencia a maior ou menor disponibilidade de nutrientes para planta, favorecendo ou não determinados grupos de microrganismos. Condições como temperatura e diferença de potencial hídrico da rizosfera pode favorecer grupo de microrganismos em relação a outros, como em

casos onde a tensão do potencial hídrico de 15 bar, os fungos e bactérias estão ativos e as bactérias dormentes (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). O excesso de água no solo pode desfavorecer a atividade de microrganismos fixadores de nitrogênio, e a osmolaridade pode afetar na fixação de microrganismos simbiotes. Estresses mecânicos do solo como impedimento físico ao crescimento radicular pode alterar a fisiologia radicular, promovendo maior liberação de exudatos. Os microrganismos podem também estimular a exsudação das plantas, favorecendo a fixação de CO₂ (BARBER e MARTIN, 1976). A pressão parcial de O₂ e CO₂ é dependente da respiração da raiz e da microbiota.

Os microrganismos rizosféricos atuam sobre a maior disponibilidade de nutrientes como a solubilização de fosfatos de baixa solubilidade; atuam na fixação biológica de nitrogênio; participa do processo de nitrificação e denitrificação; mineraliza a matéria orgânica do solo; reduz sulfatos de ferro e manganês; promovem a síntese de quelantes de metais, podendo imobilizar temporariamente os nutrientes do solo. Eles podem também produzir substâncias reguladoras de crescimento das plantas como as auxinas, giberelinas, citoquininas, etileno e ácido abscísico. Há espécies que geram patogenicidade na planta.

Há grupos de microrganismos rizosféricos que infectam e colonizam os tecidos da raiz sem trazer danos a mesma como as bactérias fixadoras de nitrogênio, como o rizóbio, em simbiose com leguminosas, e as micorrizas que são fungos das raízes. Ambos são afetados com o impacto da aplicação de pesticidas. Esse dano varia de acordo como o modo de ação do pesticida e a quantidade e o período de aplicações recebidas (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). Plantas micorrizadas são mais tolerantes a estresses ambientais e tendem a ser mais

tolerantes a metais, pois suas raízes acumulam mais metais em relação a parte aérea.

Na rizosfera há a presença de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCP ou PGPR), que vivem na rizosfera sem estabelecer relações simbióticas com as plantas e produzem substâncias promotoras de crescimento vegetal, interferindo na nutrição das plantas e controlam patógenos (RYU et al., 2003).

A atividade da microbiota rizosférica tem sido um dos fatores importantes no processo de fitorremediação de xenobiontes. Para quantificar a eficiência da biorremediação promovida pelos microbiota rizosférica, têm se utilizado a metodologia de captura de CO₂ como um dos produtos finais da degradação de pesticidas.

1.5. BIORREMEDIAÇÃO

Entre os diversos métodos de remoção e/ou degradação de resíduos de xenobiontes como os químicos ou físicos, a biorremediação mostrou-se ser uma das alternativas com melhor relação custo benefício para grandes áreas contaminadas, como ocorre na agricultura. Neste caso, outros métodos não são aplicáveis pelos altos custos. A biorremediação também pode ser implementada em locais de difícil acesso como os lençóis de água. Este método consiste em utilizar processos biológicos de degradação realizados por microrganismos, plantas ou suas enzimas.

O processo de biorremediação microbiana consiste na capacidade de biodegradação dos xenobiontes pelos microrganismos do solo. Uma das formas de

estimular este tipo de biodegradação seria o manejo dos nutrientes necessários para estimular microrganismos que tenham alta capacidade de biodegradação. Pode também ser realizado por meio de inoculação de grande quantidade de biomassa de determinados microrganismos como do gênero *Pseudomonas* (GENTRY, RENSING e PEPPER, 2004). Outras estratégias podem ser utilizadas como o cometabolismo, que consiste na introdução de certos xenobiontes que induzem determinadas enzimas capazes de degradar outras substâncias de interesse (RICHARDS e SHIEH, 1986). A engenharia genética, que manipula os genes funcionais de interesse em microrganismos é uma ferramenta também capaz de potencializar a capacidade de biodegradação de contaminantes pela microbiota (ANG, ZHAO e OBBARD, 2005).

A introdução de microrganismos degradadores não autóctones, está limitada a sua capacidade de sobreviver no ambiente onde fora aplicado, para depois atuar na biodegradação do xenobionte. Por isso, estudos têm sido realizados para selecionar microrganismos com potencial de biodegradação provenientes da própria região de contaminada, para minimizar os problemas de adaptação ambiental, (aclimatação) da espécie (GENTRY, RENSING e PEPPER, 2004).

Foi comprovado que uma das formas de se ultrapassar essa limitação da biorremediação assistida por microrganismos seria o uso de plantas no solo pois a sua presença favorece a maior biodegradação do xenobionte por meio do estímulo da microbiota rizosférica pelos exudatos radiculares (FANG, RADOSEVICH, FUHRMANN, 2001, PIRES et al., 2006). A presença de plantas é algo desejável em qualquer ambiente pois compõem também a paisagem e não necessita de tantos cuidados quanto os demais métodos de biorremediação e remediação química ou

física. Comparativamente, a fitorremediação tem mostrado melhores resultados que a biorremediação promovida por microrganismos na superfície de água e solo.

1.5.1. Fitorremediação

A biorremediação promovida pelas plantas é denominada de fitorremediação. É uma alternativa mais viável por favorecer os processos de desintoxicação ou redução de resíduos de extensas áreas contaminadas (SCHNOOR et al., 1995, BANKSTON et al., 2002, DOTY et al., 2003; CHANG, LEE e JE, 2005), e por ser de baixo custo (CHANG, LEE e JE, 2005), de fácil implantação e manutenção, além de ser ecologicamente desejável por manter as características originais do solo (WHITE, 2001, BANKSTON et al., 2002). Este método favorece a indisponibilidade do produto por meio da ação dos exsudatos das raízes ou a sua estabilização na planta.

A fitorremediação é um processo que potencializa a biorremediação na superfície do solo e de corpos d'água pela sua capacidade de concentrar maior quantidade de poluentes nas raízes, assim como de aumentar em até duas ordens de grandeza a população microbiana rizosférica. Sua limitação reside em não ser um método de remediação que atinja camadas mais profundas, além do domínio das raízes das plantas (zona de degradação pelas raízes), e sua implementação depende da tolerância das plantas, a serem utilizadas, ao contaminante (SCHNOOR, 1997, EPA, 2000a).

Os principais processos de fitorremediação variam conforme a natureza química dos poluentes, como por exemplo os poluentes orgânicos e metais pesados (EPA, 1998). Os poluentes orgânicos podem ser degradados total ou parcialmente

pela planta, enquanto contaminantes inorgânicos como os metais pesados tendem a se acumular na biomassa vegetal ou formar quelatos no solo. A fitorremediação é regida por processos físicos, químicos e principalmente biológicos conforme ilustra a figura 10. O contaminante ao ser aplicado no ambiente pode ser absorvido pela planta pelas raízes e pode ficar retido na sua biomassa vegetal. O contaminante pode ser liberado pela planta novamente para o ambiente, por meio da evapotranspiração, volatilização e senescência das folhas e galhos.

A fitorremediação é composta por diferentes processos, sendo principalmente a rizofiltração, fitoextração, fitodegradação, rizodegradação, fitoestabilização, e fitovolatilização (Figura 10.) (EPA, 2000b, TRAPP e KARLSON, 2001).

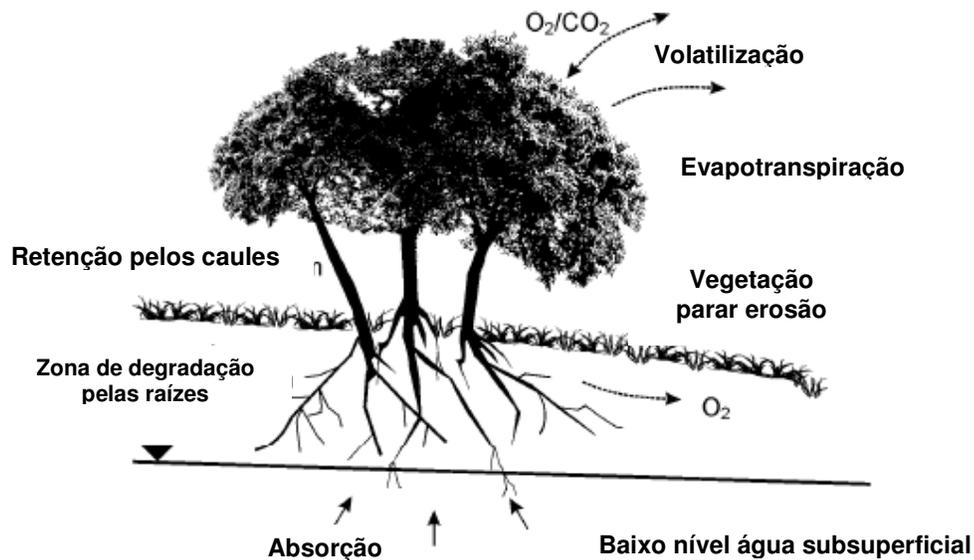


Figura 10. Processos relevantes durante a fitorremediação (TRAPP e KARLSON, 2001).

Na rizofiltração ocorre a adsorção ou precipitação do contaminante sobre as raízes ou absorção do mesmo presente na solução do solo pelas raízes ou outras partes da planta. Em geral ocorre com metais pesados e substâncias lipofílicas presentes na água. A fitoextração caracteriza-se pela absorção de contaminantes do solo ou da água, e conseqüente transporte destes para outras partes da planta, acumulando-os nos tecidos (SALT et al., 1998, HANSEN, 2000, LASAT, 2002). Este mecanismo de descontaminação de poluentes orgânicos também ocorrem na fitoextração de poluentes inorgânicos como os metais pesados: zinco, cádmio, níquel, selênio, arsênio, cromo, intensamente pesquisada. Algumas plantas são denominadas de hiperacumuladoras por sobreviverem à absorção dos metais em quantidades acima do tolerado pelas demais plantas fitoextratoras (LASAT, 2002). A fitoextração contínua de metais pela planta está associada à formação de quelatos de metais com peptídeos reduzindo a fitotoxicidade; compartimentalização, que seria o acúmulo de fitoquelatinas e cádmio dentro do vacúolo das células; a biotransformação consiste na redução da toxicidade dos metais através de redução química do elemento ou a incorporação dos mesmos em compostos orgânicos; e mecanismos de reparo celular (SALT et al., 1998). É importante, ressaltar que o sucesso da fitoextração também reside na biodisponibilidade do metal, absorção pela raiz e translocação do mesmo.

Chang, Lee e Je (2005) estudaram a capacidade de fitorremediação de árvores de álamo das espécies *Populus maximowiczii*, *P. glandulosa* e *P. euramericana*, concluíram que há uma estreita relação entre remoção de atrazina da solução e transpiração acumulada, ou seja, houve uma maior absorção do produto dissolvido na água favorecida pela maior taxa de transpiração da planta.

A fitodegradação é a atuação direta da planta no processo de degradação do contaminante por processos metabólicos que ocorrem dentro da planta. Muitos xenobiontes se transformam em metabólitos dentro da planta como ocorre com a atrazina na planta álamo e diuron em cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) (MUSUMECI et al., 1995, CHANG, LEE e JE, 2005). Em estudo de translocação de agrotóxicos utilizando plantas não contaminadas crescidas em ambiente fechado tratadas com os agrotóxicos dispersos no ar e outras crescidas em solo contaminado foi observado um comportamento diferenciado quanto a cada grupo de agrotóxicos. Neste trabalho, as plantas puderam absorver o que estava no ar e translocar o tricloroetileno (TCE), clorobenzeno e o metil-t-butileter (MTBE) para as raízes, o herbicida s-triazina terbutilazina foi absorvido somente pelas raízes e translocado para os brotos, enquanto os herbicidas clorotoluron e o ácido tricloroacético (TCA) foram translocados para ambas as direções, ou seja, da raiz para os brotos e vice-versa (SCHROLL et al., 1994). Plantas de cana-de-açúcar também foram capazes de absorver o diuron pelas raízes e translocá-lo ao longo da sua parte aérea, metabolizando-o a compostos menos tóxicos ao ambiente (MUSUMECI et al., 1995).

A rizodegradação também conhecida como biorremediação assistida por plantas, consiste na ação de microrganismos da rizosfera (biodegradação) sobre os contaminantes, utilizando-os como fonte de nutrientes e de energia bem como a atuação das raízes das plantas por meio de exudatos que estimulam os microrganismos da rizosfera, potencializando os processos de biodegradação. Este estímulo pode aumentar a biomassa microbiana rizosférica em torno de duas ordens de grandeza, sendo maior do que o solo não rizosférico ("bulk soil") (HANSEN, 2000). Como exemplo temos o álamo (*Populus sp*) que é capaz de absorver e metabolizar grandes quantidades de atrazina (SCHNOOR et al., 1995). Este é um

dos processos desejáveis e utilizados para fitorremediação de petróleo, PAH (Poliaromáticos halogenados), compostos clorados, pesticidas, pentaclorofenol (WALTON e ANDERSON, 1990, ANDERSON e WALTON, 1995, EPA, 2000b, PIRES et al., 2005). Os exudatos rizosféricos ativam enzimas do solo bem como liberam enzimas no solo capazes de metabolizar o xenobionte. Desta forma, há uma ação muito mais dinâmica do que a biorremediação promovida apenas por microrganismos. Este é um dos processos relevantes no processo de fitorremediação de compostos orgânicos como os pesticidas.

Técnicas como a bioaumentação que promovem o aumento da população de microrganismos degradadores no solo, como a bactéria *Pseudomonas* sp., estirpe ADP, tem se mostrado eficientes na degradação do herbicida atrazina, mineralizando-a em até 30% da quantidade aplicada (NEWCOMBE e CROWLEY, 1999).

A fitoestabilização tem sido um dos requisitos ao selecionar plantas para fitorremediar extensas áreas fortemente poluídas (JAPENGA, 2002), pois as plantas liberam substâncias que imobilizam os poluentes. Neste processo as plantas são capazes de imobilizar ou de absorver/ adsorver e/ou precipitar os contaminantes presentes no solo, na rizosfera. A imobilização pode ocorrer pela transformação dos xenobiontes da forma solúvel para não-solúvel, promovida pelo potencial redox da região radicular. O processo de absorção ou adsorção do pesticida à rizosfera além de imobilizar os poluentes, evitando assim sua migração para a água do solo e para o ar, também reduz a biodisponibilidade do mesmo a entrar na cadeia alimentar. É utilizado para evitar a disseminação da poluição das áreas contaminadas e reduzir os efeitos ecotoxicológicos das áreas poluída.

No processo de fitovolatilização, a planta absorve e transpira o poluente, liberando-o para a atmosfera ou a sua forma modificada (metabólito). Há alguns poluentes que são absorvidos pelas raízes e passam através da planta até as folhas e evaporam ou volatilizam para a atmosfera (SCHROLL et al., 1992). Ocorre em árvores em crescimento como, o álamo (*Populus* sp.), que pode chegar a volatilizar 90% do TCE que foi absorvido (BANKSTON et al., 2002). Esta planta apresentou sob condições simuladas a absorção do TCE pela raiz e subsequente translocação via vascular, eliminando-o para atmosfera através de sua transpiração, além de transformar o poluente em CO₂ e resíduos não identificados (BANKSTON et al., 2002). O álamo pode incorporar o CO₂ liberado através da fotossíntese de suas folhas e também adsorver voláteis de TCE pela superfície cuticular da planta (BANKSTON et al., 2002). Estudo realizado com plantas de milho indicaram que há alguma volatilização de terbutilazina e metabólitos voláteis pela planta, cerca de 0,30% e este processo continuou por até um ano após o início do estudo (SCHROLL et al., 1992).

A fitorremediação de águas potáveis pode ser realizada em plantas cujas raízes atuam como bombas hidráulicas, por serem capazes de absorver grande volume de água. Como exemplo, temos a árvore de álamo que chega a transpirar cerca de 50 a 300 galões de água por dia (DAVIS et al., 1993).

Um importante efeito das raízes das plantas sobre o crescimento microbiano está no fato de que podem aumentar a disponibilidade de oxigênio e sua difusão e favorecer o transporte de soluto movido pelo maior fluxo de água em direção a planta potencializado pela evapotranspiração. A presença de árvores em áreas encharcadas têm apontado para o aumento da capacidade de oxidação na rizosfera,

contribuindo para a remediação de poluentes e aumento da atividade de biodegradação microbiana (DAVIS et al., 1993, BANKSTON et al., 2002).

A capacidade de fitorremediação da planta está diretamente relacionada quanto à tolerância ao xenobionte, natureza química da molécula em particular o K_{ow} , tipo de solo e clima (ALGORTA e GARBISU, 2001) Espécies que possuem sistema radicular bem ramificado, como gramíneas, têm sido utilizadas como zona tampão ao pesticida por reter e filtrar o pesticida evitando a contaminação de águas de superfícies (EPA, 2000a, LUDOVICE, ROSTON e TEIXEIRA, 2003).

Há trabalhos selecionando plantas climatizadas para ambientes temperados e alguns para tropicais como o álamo (*Populus* sp) para descontaminação de gasolina local contaminado e a mucuna verde para fitorremediação de tebuthiuron presente no solo (MORENO e CORSEUIL, 2001; PIRES et al., 2005). Estudos recentes descrevem o aumento da degradação de poluentes na rizosfera da planta, como as triazinas, ciclohexano e tricloroetileno (BANKSTON et al., 2002; BOULDIN et al., 2006; PEREIRA et al., 2006).

O uso de plantas que possuem o mecanismo de absorver grandes volumes de água contaminada, de forma a conter ou controlar a migração do contaminante para a água de superfície é conhecido como controle hidráulico. Estes mecanismos podem ser aplicados em áreas como as matas ciliares. Tal formação vegetal pode funcionar como barreira de controle hidráulico do fluxo do excesso de nutrientes, como o nitrogênio na forma de nitrato de lençóis de água contaminados em direção ao curso d'água (LOWRANCE et al., 1984, CEY et al., 1999) e provavelmente de pesticidas.

O estágio de desenvolvimento da planta pode influenciar no potencial fitorremediador de pesticidas, como ocorre com matas ciliares mais antigas, que são

capazes de promover maior biodegradação da atrazina e 2,4-D do que formações mais jovens em área de temperada (HUBBARD e LOWRANCE, 1994; ENTRY, DONNELLY e EMMINGHAM, 1995; LOWRANCE e SHERIDAN, 2005).

Apesar dos inúmeros trabalhos com biorremediação realizado por plantas (fitorremediação), pouco se estudou quanto ao papel da mata ciliar no processo de fitorremediação de pesticidas em região tropical. Portanto é importante obter informações da dinâmica dos pesticidas determinados pelas matas ciliares nas condições tropicais úmidas.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Estudar as funções da mata ciliar na distribuição e degradação dos agrotóxicos, tendo em vista a proteção da águas de superfície, verificando sua capacidade de estimular a microbiota rizosférica em degradar estes pesticidas.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

✓ Conhecer a distribuição dos agrotóxicos no no solo numa área de transecto com plantio de cana de açúcar à mata ciliar em condições de campo.

✓ Estudar qual a capacidade de mineralização da associação das plantas de mata ciliar a microbiota do solo.

✓ Determinar a capacidade de translocação da atrazina e do tebuthiuron nas plantas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. EXPERIMENTO EM CONDIÇÕES DE CAMPO

A coleta realizada no ano de 2003 foi determinada como sendo o controle do experimento de campo, avaliando a concentração de resíduos de pesticidas existentes no transecto das áreas estudadas.

3.1.1. Área experimental

A área de estudo situava-se sob a região do Aquífero Guarani, No Município de Orlandia, São Paulo (Figura 11), nas coordenadas 20°39'30" S, 47°53'04" W, 768 m altitude (Figura 12.). A região é caracterizada por chuvas intensas entre a primavera e verão (200-300 mm mês⁻¹) com outono e inverno seco (0-75mm mês⁻¹). O clima é tipicamente tropical com savana (Aw) de acordo com classificação de Köppen, com temperatura média de 22°C. O solo utilizado foi identificado como um Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico, com textura média, de acordo com classificação da (EMBRAPA, 1999). O estudo foi realizado no transecto com cultivo de cana-de-açúcar, tendo contígua uma mata ciliar jovem que fora implantada sob uma antiga área de cana-de-açúcar em 2002 (20 x 30 m) e ao lado desta a mata ciliar antiga de mais de 30anos (30 x 30m) (Figura 12.). A área estava localizada ao lado da nascente do Ribeirão do Rosário.

3.1.2. Herbicidas utilizados

Os herbicidas estudados foram o diuron, hexazinone e tebuthiuron. Foram aplicados formulados comerciais destes herbicidas, que foram: Velpar-K em pó da DuPont que contem diuron e hexazinone; e Combine SC da DowAgrosciences que contém tebuthiuron.



Figura 11. Localização do município de Orândia, SP.

3.1.3. Aplicação dos pesticidas e coleta das amostras de solo

A área de cana-de-açúcar recebeu as seguintes aplicações do produto comercial Velpar-K (ingrediente ativo (i.a.) de diuron+hexazinone): em 26/11/1998

(936,0 + 264,0 g i.a. ha⁻¹), em 25/01 e 01/12/1999 (936 + 264,0 g a.i. ha⁻¹ e 1216,8 + 343,2 g i.a. ha⁻¹), respectivamente, em 08/03/2001 2001 (514,0 + 145,2 g a.i. ha⁻¹) e em 16/03/2004 (1174,7 + 331,3 g a.i. ha⁻¹). O produto comercial Combine (tebuthiuron) foi aplicado apenas em 20/01/2003 (1620,0 g i.a. ha⁻¹). Foram coletadas amostras de solo em 5 pontos formando uma amostra composta de cada uma das três áreas do transecto, durante 17 a 20/03/2003 e 18 a 20/05/2004 (Figura 12).

A primeira coleta foi realizada em 2003, nas profundidades de 0-20cm, 20-40cm, 40-60cm e 60-80cm. Devido à presença de grandes concentrações de resíduos de pesticida em camadas mais profundas (60-80 cm) do perfil das áreas estudadas, decidiu-se realizar a segunda coleta, em 2004, até a profundidade de 100-120cm. A segunda coleta ocorreu após um intenso período de chuvas. Todas as amostras coletadas foram secas, peneiradas em malha de 2 mm e armazenadas a -10 °C até o momento da extração e análise química e a -3°C para as análise microbiológicas.

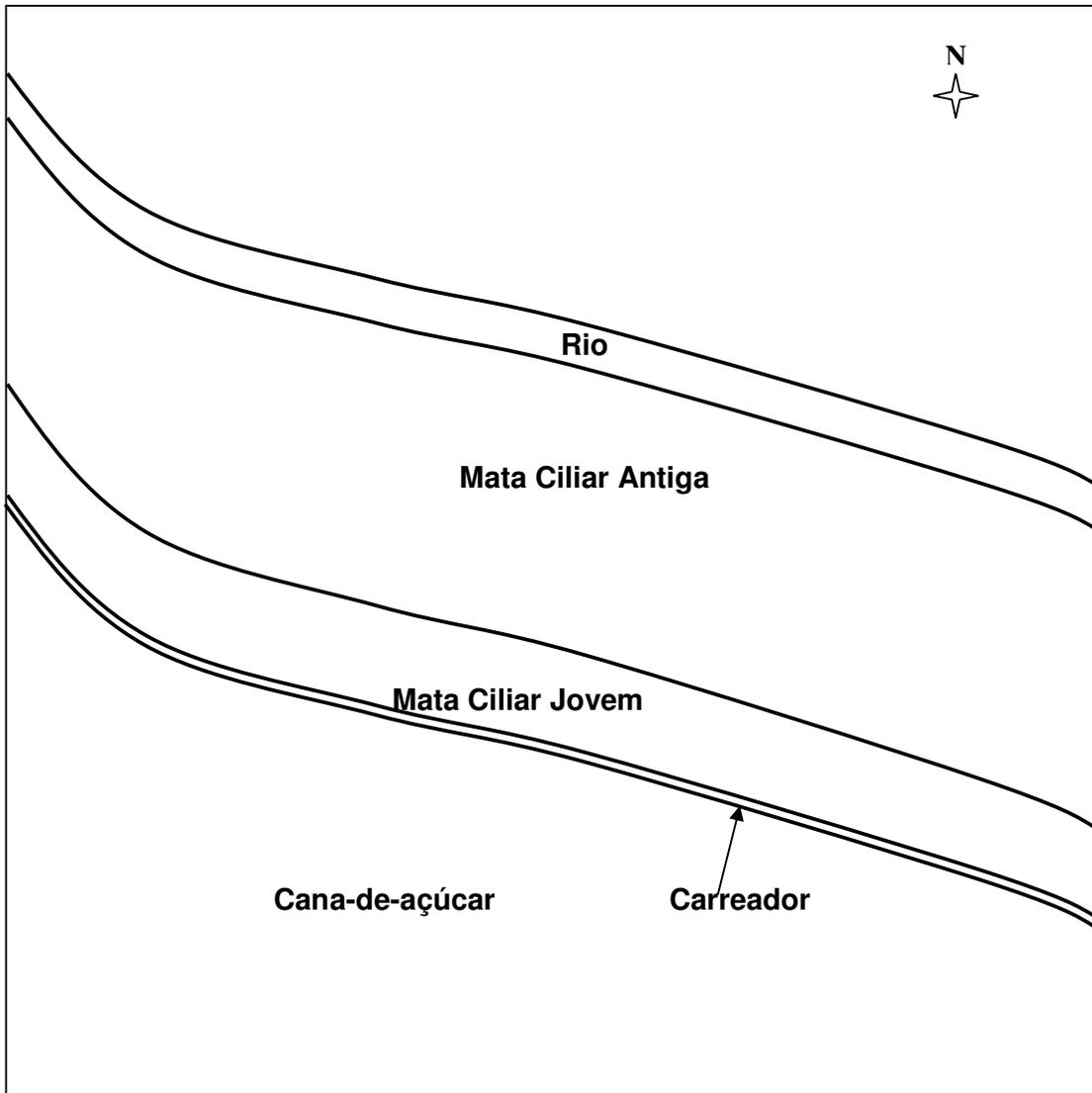


Figura 12. Transecto cana-de-açúcar, mata ciliar jovem e antiga até o Ribeirão do Rosário.

3.1.4. Análise física e química das amostras de solo

Foram coletadas amostras compostas de solo de 0-120 cm de cada uma das três áreas do transecto. As amostras foram secas a temperatura ambiente, depois foram peneiradas em peneira de malha de 2 mm. Em seguida, as amostras por

camada de cada área, foram analisadas quanto composição granulométrica. A composição granulométrica foi realizada pelo método do densímetro simplificado que constituía de 50g de terra fina seca ao ar (TFSA), em seguida, foi colocado em recipiente de vidro com tampa e foi adicionado 250mL de solução dispersante (10g de hexametáfosfato de sódio + 4 g de hidróxido de sódio/ 1 L de solução). Colocou-se o recipiente bem fechado em agitador mecânico e agitar por 16 horas. O conteúdo do recipiente foi transferido para uma proveta de 1 L, completando o volume com água. Para a leitura do branco, foi colocado 250 mL de solução dispersante em uma proveta de 1 L e completado o volume com água. Para determinação de argila+silte, o conteúdo da proveta foi agitado manualmente por 40” e aguardou-se a decantação por mais 40 segundos, procedendo à leitura no densímetro em g/L. Para determinação da fração argila, aguardou-se decantar por 2 horas após a agitação manual e procedeu-se à leitura no densímetro novamente.

Os componentes do complexo sortivo, pH em água e em KCl 1N e carbono orgânico foram determinados segundo Embrapa (1979).

3.1.5. Extração e análise de resíduos de pesticidas

A extração de resíduos dos herbicidas do solo foi realizada com 50g de solo de cada ponto de cada área, em triplicata, em sistema de soxhlet por 8 horas, utilizando 250mL metanol P.A. como solvente de extração. Após este processo, foi quantificado o volume recuperado do extrato. Uma alíquota de 100mL de cada extrato foi levado à secura em rotaevaporador Büchi à 40°C. Em seguida, o extrato foi ressuspendido a 5ml com metanol grau HPLC e analisado por cromatografia líquida de alta eficiência em Cromatógrafo Shimadzu, com coluna varian C18

(4.6mmx250mm), detector UV, operando a 254nm e volume de injeção de 20 μ L. A fase móvel utilizada foi acetonitrila: água (40:60 v/v) e metanol:água (45:55 v/v) com fluxo 1,0 mL.min⁻¹.

Foram realizados testes de recuperação para os herbicidas estudados pelo Laboratório de Ecologia de Agroquímicos do Instituto Biológico, SP, utilizando 50g de solo + 40 μ g do herbicida padrão analítico (n=3), e os valores obtidos foram: 87,75% para Diuron; 89,28% para tebuthiuron e 46% para hexazinone.

3.1.6. Estudo microbiano do solo da área experimental

As amostras foram coletadas em março de 2003, das áreas citadas no item 3.1.1., nas profundidades: 0-20cm, 20-40cm e 60-80cm. Estas foram imediatamente armazenadas sob refrigeração e em seguida em geladeira (-3°C) até o momento das análises que foram realizadas após 5 dias da coleta. Foram realizadas análises para a quantificação da população de bactérias e fungos heterotróficos viáveis e cultiváveis e avaliadas as atividades enzimáticas das desidrogenases e esterases. Para a quantificação de fungos e bactérias cultiváveis presentes no solo não-rizosférico foi utilizado o método de plaqueamento realizando a leitura das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) para as três áreas em estudo nas profundidade de 0-20cm, 20-40cm e 60-80cm (TROLDENIER, 1996). A profundidade de 40-60cm de todas as áreas do transecto não foram analisadas. Para este procedimento foi realizada uma diluição seriada em tubos, pesando o equivalente a 5g de solo e a este foi adicionado 45 mL solução de dispersão contendo pirofosfato de sódio 0,1% e Tween 80, 0,1%, constituindo a solução 10⁻¹. Em seguida, esta solução foi agitada com a amostra em agitador orbital por 20 min. a 200 rpm. Após este processo, foi

transferido 1mL dessa primeira solução para um tubo contendo 9 mL de solução salina estéril (0,85% NaCl) constituindo a solução 10^{-2} . Deste tubo, foi retirado 1mL e em seguida, transferido para outro e assim sucessivamente até que todas as diluições seriadas até 10^{-9} estivessem prontas. Cinco placas de petri contendo o mesmo meio de cultura foram inoculadas com 0,1 mL da diluição de interesse e a solução foi espalhada com auxílio de uma alça de Drigalsky. Para a plaqueamento de bactérias heterotróficas totais foi utilizado o meio Trypt Soy Agar (TSA) a 10% formulado (diluições 10^{-6} a 10^{-9}) e para fungos totais, o meio Potato Dextrose Agar (PDA) formulado (diluições 10^{-2} a 10^{-5}). As placas para contagem de bactérias heterotróficas totais foram incubadas a temperatura de crescimento de 28°C e para a contagem de fungos totais a 24°C . As leituras do número de unidades formadoras de colônias foram realizadas às 24, 48 e 72h após a inoculação. A formulação do meio TSA é de 15 g de triptona, 5 g de peptona de soja, 5 g de cloreto de sódio, 15 g de agar dissolvidos em 1 L de água destilada. O meio PDA é composto de 200 g de infusão de batata, 20 g glicose, 15 g agar dissolvidos em 1 L de água destilada. Ambos os meios foram esterilizados em autoclave, a 121°C (1 atm), por 15 minutos. Foi vertido o meio em condições de assepsia junto à chama do bico de Bunsen e em câmara de fluxo laminar, cerca de 15 ml em cada caixa de Petri esterilizada.

A atividade da desidrogenase, com cinco réplicas, foi analisada segundo Tabatabai (1987) para as camadas 0-20cm, 20-40cm e 60-80cm. Cinco amostras, cada uma composta de 3g de solo seco ao ar, e peneirado em malha de 2 mm, para cada tratamento, foram incubadas com CaCO_3 acrescidos de Trifeniltetrazólio (TTC) por 24h à 24°C . Em seguida, o solos foram transferidos para cinco tubos de ensaio com rosca, onde foram adicionados 10mL de metanol. Os tubos foram agitados em vortex e o sobrenadante foi filtrado e transferido para um balão volumétrico de

100mL. Este procedimento foi repetido 5 vezes e em seguida, completou-se o volume com metanol. A concentração de TPF liberado foi quantificada de acordo com a curva de calibração com concentrações padrões de trifenil formazan (0 a 5 $\mu\text{g TPF mL}^{-1}$) medida em espectrofotômetro a 295 nm.

A atividade de oxidação de compostos orgânicos por meio da quantificação da hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) foi avaliada segundo Adam e Duncan (2001) somente na profundidade de 0-20cm das três áreas estudadas. Alíquotas de 2g de solo fresco e peneirado em malha de 2mm foi colocado em frascos de vidro, em triplicata, (n=3) de 50mL, onde foram adicionados 15mL de tampão fosfato de potássio 60mM a pH 7,6 e solução estoque 0,2 mL 1000 $\mu\text{g FDA mL}^{-1}$, para iniciar a reação. Os brancos (controle) foram preparados sem adição do substrato de FDA. Os frascos foram tampados e agitados manualmente e colocados em incubadora orbital a 100rpm por 20min. a 30°C. Em seguida, foi adicionado clorofórmio: metanol (2:1 v/v) para cessar a reação e novamente os frascos foram tampados e agitados manualmente de forma vigorosa. O conteúdo dos frascos foram transferidos para tubos de centrifuga de 50mL e centrifugados a 2000 rpm por 3 minutos. O sobrenadante de cada amostra foi filtrado em papel Whatman, nº2 em fracos cônicos de 50mL e absorvância da solução medida em espectrofotômetro a 490nm. A concentração de fluoresceína liberada durante o processo foi calculada de acordo com a curva de calibração com concentrações padrões de 0 a 5 μg de fluoresceína mL^{-1} , que foram preparadas a partir da solução padrão de 20 μg de fluoresceína mL^{-1} . O zero foi utilizado como branco antes da leitura de cada amostra.

3.2. EXPERIMENTOS EM MICROCOSMOS

Os microcosmos foram montados simulando um lençol d'água contaminado.

As mudas das espécies de plantas utilizadas foram cedidas pela Secretaria de Meio Ambiente do Município do Rio de Janeiro, RJ. Elas foram cultivadas em um composto orgânico de resíduos sólidos urbanos (FERTILURB), em condições de viveiro da Secretaria de Meio Ambiente do Município do Rio de Janeiro, RJ.

3.2.1. Solo

Para montagem dos microcosmos não foi utilizado o mesmo solo da área do experimento de campo por apresentar altas concentrações de tebuthiuron, que comprometeria os resultados dos experimentos em casa-de-vegetação. Foi utilizado um solo com mesma classificação agrônômica, que seja um Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico, textura média. Esse solo é proveniente da área experimental da PUC-Rio, Rio de Janeiro. A caracterização físico-química e granulométrica mostrou os seguintes resultados quanto a composição do solo 40% areia; 16% silte; 44% argila; 3.6% material orgânica, pH 4,9. O solo foi peneirado, em malha de 2mm e em seguida, recebeu calagem com 10g calcário de rocha e foi acrescentado 30g de NPK 4-14-8 por microcosmo. Cada muda de 30cm de altura foi retirada do saquinho plástico cuidadosamente e a raiz da muda foi submersa em um recipiente com água e lavada para retirar os resíduos de substrato, sem danificar a parte radicular.

3.2.2. Espécies de mata ciliar utilizadas

Foram utilizadas espécies vegetais empregadas em projetos de reflorestamento e recuperação de matas ciliares, que são a *Cecropia hololeuca* Miq. e a *Trema micrantha* (L.) Blum. São espécies pioneiras, de rápido crescimento, perenes e comumente encontradas no Brasil. Suas mudas são produzidas em viveiro ao longo do ano, viabilizando a condução dos experimentos em casa-de-vegetação. As duas são heliófitas. A *C. hololeuca* é conhecida vulgarmente como embaúba, embaúva-prateada, embaúva-preta entre outros e pertence à família Cecropiaceae. Segundo Lorenzi (1992) apresenta porte de 6 a 12m, tronco de 20 a 30cm de diâmetro, suas folhas são peltadas variando de 50 a 60cm de diâmetro, 6 a 10 cm profundo-lobadas, coriáceas e sua nervação é pilosa. Esta espécie está presente em floresta estacional semidecidual. Ocorre tanto em formações primárias quanto secundárias. É muito conhecida pelo seu uso medicinal, apresenta raízes aéreas e o interior de seu tronco oco (entrenós) onde vivem formigas (IPEF, 2007).

A *Trema micrantha* é conhecida vulgarmente como crindiúva, pau-pólvora, gurindiba, periquiteira entre outros nomes, pertence à família Ulmaceae. Seus frutos são apreciados pela avifauna. Também empregada para uso medicinal (AMORIM et al., 2006), possui porte que varia de 5 a 12m, tronco de 20 a 40cm de diâmetro, com sistema radicular preponderantemente pivotante bem ramificada (AMORIM et al., 2006). Suas folhas são simples, apresentando a face superior áspera e a inferior pubescente, de 7 a 10cm de comprimento por 3 a 4cm de largura (LORENZI,1992). Sua madeira também serve de matéria-prima para fabricação de pólvora bem como para lenha e carvão. Está presente em formações secundárias e em floresta estacional semidecidual ribeirinha.

Algumas espécies da mata ciliar como *Cecropia hololeuca* Miq. e a *Trema micrantha* (L.) Blum. são classificadas como plantas daninhas ou seja, como espécies indesejáveis em áreas agrícolas e de pastagem (LORENZI, 2000). As folhas da *T. micrantha* geram intoxicação em animais como caprinos, ovinos e bovinos, sendo indesejáveis em sistema de pastagem (TRAVERSO et al., 2004).

3.2.3. Montagem dos microcosmos com plantas

Os microcosmos eram constituídos de tubo PVC com 40 cm de altura e 15 cm de diâmetro e foi fechado no fundo com uma tela de nylon com malha de 0,5 mm. Cada microcosmo foi preenchido com solo e uma planta, disposta sob uma bandeja (Figura 13 e 14).

O microcosmo foi inicialmente preenchido com 3 cm de areia lavada. Em seguida, foi colocada uma muda por microcosmo. Para tal procedimento, segurou-se uma muda deixando-a suspensa dentro do microcosmo, e o solo foi sendo acrescentado até atingir a altura de 20 cm acima da camada da areia, enterrando totalmente as raízes. Em seguida, o microcosmo foi regado com 200 mL de água. Após esta montagem, os microcosmos permaneceram por 20 dias na casa-de-vegetação para aclimatar-se às condições locais e a rega dos microcosmos foi realizada colocando 200mL de água em bandejas situadas abaixo dos mesmos, 3 vezes por semana. A bandeja Nesse período, a temperatura média da casa-de-vegetação foi de 30°C.

3.2.4. Herbicidas utilizados

Para os experimentos em condições simuladas neste trabalho, foram escolhidos três herbicidas como modelos: a atrazina e hexazinone, do grupo das triazinas e o tebuthiuron, do grupo das uréias substituídas. O primeiro, por ser amplamente utilizado na agricultura brasileira em diversas culturas como a cana-de-açúcar e milho (MANDELBAUM, WACKETT & ALLAN, 1993), o segundo por ser altamente lixiviável e foi encontrado em grandes profundidades de solo, e o último, por ser empregado exclusivamente na cultura da cana-de-açúcar e possui alta persistência e grande potencial de lixiviação (SPADOTTO, 2002; GOMES et al., 2006; MATALLO et al., 2003, MATALLO et al., 2005).

Foram utilizados apenas os herbicidas que apresentaram maior concentração nos perfis de solo estudados em Experimento de campo como o hexazinone e tebuthiuron. Ambos de grau técnico, sendo o primeiro cedido pela DuPont e o outro pela DowAgroSciences do Brasil. A atrazina também foi utilizada por ser uma molécula amplamente estudada no Laboratório de Ecotoxicologia da UFRJ. Foi utilizado o produto comercial Gesaprim 500SC. As doses utilizadas constam na tabela 2.

3.2.5. Bioensaio de sobrevivência de *Cecropia hololeuca* e *Trema micrantha* a diferentes doses de hexazinone e tebuthiuron e atrazina (produto comercial Gesaprim 500 SC)

Foram realizados bioensaios em microcosmos, conduzidos em casa-de-vegetação, para determinar a concentração máxima de hexazinone, tebuthiuron que possibilitasse a sobrevivência de espécies de mata ciliar utilizadas em recuperação de áreas desmatadas. Após determinar a dose de tolerância das plantas aos herbicidas hexazinone e tebuthiuron, foi realizado o bioensaio com esta dose para o herbicida atrazina. Foram estudadas as espécies da *Cecropia hololeuca* (Embaúba) e *Trema micrantha* (Trema) por serem espécies pioneiras, logo de rápido crescimento, de diferentes sistemas florestais, distribuição foliar distinta, e possuem a produção de mudas ao longo do ano, permitindo a realização de ensaios em condições controladas (microcosmos).

Os bioensaios com hexazinone e tebuthiuron duraram 90 dias e com atrazina 100 dias.

Os tratamentos foram as diferentes doses de herbicidas aplicados em cada espécie, em triplicata (Tabela 2). O controle foram os microcosmos que não receberam a aplicação de herbicida.

3.2.6. Aplicação dos herbicidas e avaliação da sobrevivência de embaúba e trema a diferentes doses de hexazinone, tebuthiuron e atrazina

Um dia antes do início do bioensaio foi interrompida a rega para que o solo não ficasse excessivamente úmido. As soluções de aplicação dos herbicidas foram preparadas em metanol na concentração conforme tabela 2. Foi aplicado 1mL de cada solução de aplicação de cada herbicida na parte inferior do microcosmo, nas doses descritas na tabela 2. A aplicação foi realizada na porção arenosa, favorecendo sua absorção pelas raízes, simulando a dinâmica em condições de solo saturado contaminado. Após 24h da aplicação foi retomada a rega similar ao período de aclimatação descrito no item 3.2.3.

Os dados sobre esses bioensaios foram obtidos através de monitoramento do estado em que as plantas se encontravam, registrando fotograficamente suas alterações aos 7 dias e ao término do experimento.

Tabela 2. Doses de hexazinone, tebuthiuron e atrazina aplicados nos microcosmos (n=3) de *C. hololeuca*, *T. micrantha* e controle.

Herbicida	Dose (g i.a. ha ⁻¹)	<i>C. hololeuca</i>	<i>T. micrantha</i>	Controle
Hexazinone	132	X	X	-
	66	X	X	-
	33	X	-	-
Tebuthiuron	400	X	X	-
	200	X	X	-
	100	X	-	-
Atrazina	300	X	X	-

3.3. EXPERIMENTO DE FITORREMEDIAÇÃO

Foram estudadas os herbicidas atrazina e tebuthiuron que possuem comportamento diferenciado no ambiente após aplicação. A atrazina é uma molécula triazínica, amplamente estudada, com meia-vida de 60 dias, e que possui alta afinidade por matéria orgânica e baixa solubilidade em água. O tebuthiuron é uma uréia substituída, meia-vida de 365 dias, com baixa afinidade por matéria orgânica e alta solubilidade em água.

Para estes ensaios foram utilizados herbicidas atrazina e tebuthiuron radiomarcados. Antes de sua utilização foi necessário proceder a sua purificação, conforme descrito a seguir.

3.3.1. **Purificação dos herbicidas radiomarcados e preparo da solução estoque de ^{14}C -herbicida**

Os herbicidas radiomarcados, de atrazina e tebuthiuron, foram purificados pelo método de cromatografia em camada fina ou delgada (TLC - Thin Layer Chromatographic) para obter soluções de alta pureza (>97%). Todos os solventes utilizados eram de grau HPLC da marca TEDIA e a água Milli-Q da MilliPore.

As placas de TLC utilizadas foram tratadas com as fases móveis de cada molécula do herbicida (Tabela 3). Após secas ao ar, foram ativadas em estufa a 105°C por uma hora. A solução contendo a molécula marcada com ^{14}C foi purificada três vezes em cromatografia de camada fina. Em cada placa foi aplicado, com um capilar, toda a solução do radionuclídeo em uma faixa horizontal com auxílio de um

capilar, deixando um espaço livre para aplicação de 10 μL de solução padrão do herbicida ($100\mu\text{g mL}^{-1}$) de grau cromatográfico. As placas foram colocadas em cuba de vidro contendo a respectiva fase móvel e a corrida foi finalizada próximo a borda superior da placa. Após retirada da placa e sua secagem a temperatura ambiente procedeu-se a revelação da mancha do produto, com lâmpada UV no comprimento de 254 nm. A porção da placa que continha a faixa do produto foi cortada em pedaços que foram colocados em um frasco. Esse material foi lavado três vezes sucessivamente com 5mL de metanol, com tratamento de ultrasson de 5 min. em cada interstício. Cada solução estoque foi obtida filtrando-se esta solução em Millipore 0,25 μm . Desta solução retirou-se uma alíquota de 5 μL que, após diluição de 1:100 em metanol, teve sua radioatividade medida através de cintilação líquida em cintilador Beckman. A superfície restante do TLC foi fracionada em faixas de 2 em 2cm e cada faixa foi cortada em pedaços menores, e submersa em vial contendo 10mL solução cintiladora e quantificada em cintilador líquido da Beckman. Essa radioatividade correspondia aos produtos de degradação (metabólitos) de cada pesticida, e o valor de sua radioatividade também foi usado para calcular o percentual de pureza do produto final usado nos experimentos.

Complementarmente, foram realizados testes de pureza e foram aplicados 5 μL da solução estoque em placas de TLC 5x10cm e procedeu-se a corrida da mesma forma como acima descrito. Após revelação com a lâmpada ultravioleta fracionou-se a placa e cada faixa foi diretamente medida em vial contendo solução cintiladora.

As fases móveis utilizadas para purificação dos ^{14}C -herbicidas e com os dados de fator de recuperação (Rf) e grau de pureza química (%) estão na tabela 3.

Tabela 3. Dados de fase móvel, Rf e pureza (%) dos pesticida atrazina, hexazinone e tebuthiuron.

Pesticida	Fase Móvel	Rf	Pureza (%)
Atrazina	Diclorometano: CH ₃ OH (95:5 v/v)	0,75	97
Tebuthiuron	CH ₃ OH:H ₂ O (90:10 v/v)	0,74	97

3.3.2. Dinâmica de distribuição dos herbicidas em microcosmos com plantas

Os experimentos foram conduzidos, em triplicata, com as mesmas espécies vegetais utilizadas no bioensaio. Os experimentos foram constituídos dos seguintes tratamentos: controle – microcosmo com solo contaminado com ¹⁴C-herbicida, sem planta; *Cecropia hololeuca* - microcosmo com solo contaminado com ¹⁴C-herbicida, com planta de *Cecropia hololeuca*; e *Trema micrantha* - microcosmo com solo contaminado com ¹⁴C-herbicida, com planta de *Trema micrantha*.

Para estes experimentos foram utilizados os herbicidas atrazina e tebuthiuron radiomarcados, aplicados diluídos com os produtos comerciais, da mesma forma que para os bioensaios na porção inferior arenosa, conforme descrição ítem 3.2. A quantidade do herbicida a ser aplicado foi calculada com base na área do microcosmo e de acordo com os resultados dos bioensaios.

Para os experimentos de fitorremediação com atrazina radiomarcada cada microcosmo recebeu 300 g i.a. ha⁻¹, que corresponde a 10% da concentração agrônômica recomendada (3 kg i.a. ha⁻¹), da mistura da solução comercial Gesaprim 500 SC e a ¹⁴C atrazina. A solução aplicada por microcosmo era composta de 1,06 µL da atrazina comercial (Gesaprim 500 SC) que corresponde a 530 µg de atrazina,

acrescidos de 222 μL de ^{14}C -atrazina (98% de grau de pureza). Cada microcosmo recebeu um total de 125.590 Bq.

Nos experimentos de fitorremediação com tebuthiuron cada microcosmo recebeu a dose utilizada em aplicação de campo que é de 900g i.a. ha^{-1} de tebuthiuron. A solução aplicada por microcosmo foi composta de 100 μL de tebuthiuron padrão técnico (97% pureza), contendo 159 μg de tebuthiuron, acrescida de 310 μL de ^{14}C -tebuthiuron (97% de grau de pureza). Cada microcosmo recebeu 133.658 Bq.

Após a aplicação dos pesticidas, a parte superior do microcosmo foi coberta com uma lâmina de espuma de poliuretano (3 x 15 cm), para capturar os voláteis (RÜDEL, 1997, ARTHUR et al., 2000; CORREIA et al., 2006), que por sua vez foi coberta com plástico sem prejudicar a parte aérea da planta (Figura 13 e 14). Posicionou-se um tubo de fibra de vidro entre o plástico e o poliuretano para capturar o CO_2 radioativo liberado pela superfície do solo, decorrente da mineralização do ^{14}C -herbicida pela microbiota do solo. O tubo se interligava às armadilhas químicas de captura de CO_2 radioativo contendo 40mL da mistura de etanolamina e etilenoglicolmonobutyleter (1:1 v/v) que eram mantidas sob refrigeração para maior eficiência do sistema. Um sistema de bomba promoveu a passagem de um fluxo de ar pelo microcosmo, pelas duas armadilhas químicas e filtro de carbono ativado com fluxo de 17 L h^{-1} controlado por um rotâmetro (Figura 13). A água de rega foi fornecida conforme descrito no bioensaio descrito no item 3.2.3. (Figura 15).

3.3.3. Determinação da mineralização

As amostras das armadilhas químicas de captura de CO₂ radioativo foram colhidas nos primeiros 15 dias após aplicação do herbicida, três vezes por semana e no período posterior a este, passou a ser coletado duas vezes por semana. Em cada uma das coletas, foi quantificado o volume total recuperado da solução de captura de CO₂ radioativo e uma alíquota de 5 mL foi transferida para um vial contendo 5 mL de solução cintiladora aquasolv (4g PPO, 0,25g POPOP, 333mL Triton X-100 e 667mL tolueno) e medido em cintilador líquido da Beckman.

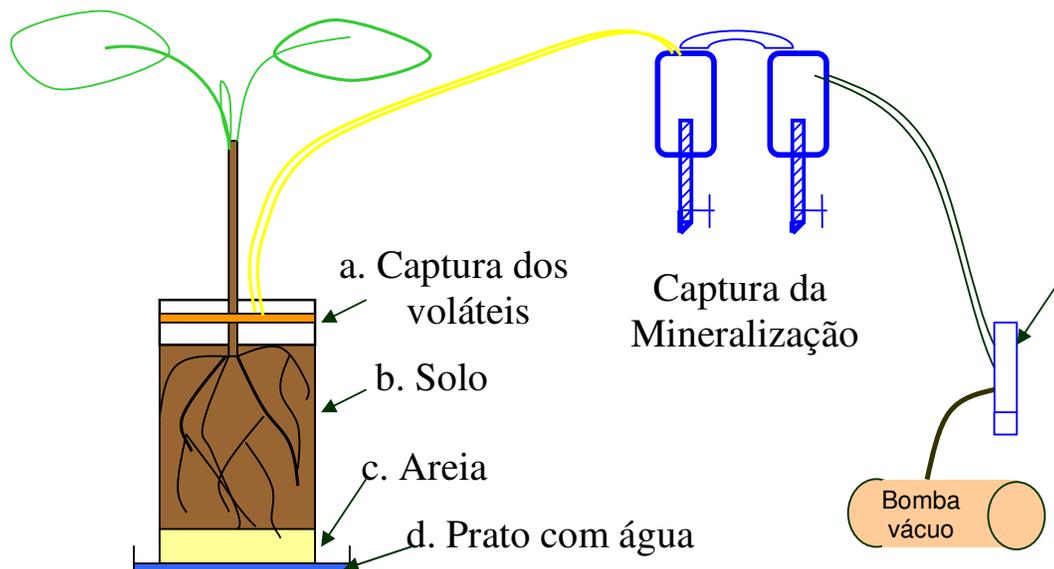


Figura 13. Croqui dos microcosmos utilizados para experimento de fitorremediação em condições de casa-de-vegetação.



Figura 14. Microcosmos contaminados com ^{14}C -pesticida.



Figura 15. Bandeja de água aonde era fornecida a água para os microcosmos tratados com ^{14}C -herbicida.

3.3.4. Determinação da quantidade de ^{14}C -voláteis

Para a análise dos voláteis de tebuthiuron, as armadilhas de poliuretano foram trocadas aos 33, 49 e 67 dias após a aplicação do herbicida. Foram

analisados os voláteis também ao término do experimento. Para atrazina não houve a troca das espumas ao longo do experimento, os voláteis foram determinados apenas ao término do experimento.

Os voláteis radioativos retidos na espuma de poliuretano foram extraídos com 200 mL de acetona. Este extrato foi levado a secar a 45°C em rotaevaporador e ressuspendido com 10 mL de solução cintiladora aquasolv. Os vials contendo esta solução foram levados para contagem em Cintilação Líquida Beckman.

3.3.5. Coleta e processamento de amostras da planta

Ao término dos experimentos foram medidas a altura da planta, número folhas e ramos, e peso das folhas e caule. As folhas caídas, que haviam senescido foram coletadas aos 33, 50, 70 dias após o início dos experimentos e no término do experimento, aos 78 dias. Tanto estas quanto as folhas presas ao caule, foram fatiadas em frações delgadas e o caule foi processado em um moinho e foram pesadas e depois armazenadas até a análise.

Foi realizada a separação da porção arenosa (3 cm) do solo. O solo contido no microcosmo foi fracionado a partir do fundo em camadas de 5 em 5 cm. Em cada fração as raízes foram separadas do solo. Destas retirou-se a rizosfera, porção do solo fortemente aderido às raízes, após agitação manual e remoção do solo com auxílio de pincel macio, sob uma bandeja contendo papel alumínio. As raízes foram separadas em raízes grossas ($\varnothing > 1\text{mm}$) e finas ($\varnothing < 1\text{mm}$), para cada camada, cortadas em frações menores, pesadas e armazenadas para posterior análise.

As amostras de solo rizosférico e não-rizosférico foram secas à temperatura ambiente, homogeneizadas exaustivamente, pesadas e armazenadas até a análise.

3.3.6. Determinação da radioatividade

Para determinação da radioatividade contida nestas amostras de solo não-rizosférico, solo rizosférico, e caule foram pesadas em balança analítica, porções, em triplicata, desses materiais entre 0,5 e 1,0 g. Para amostras de folhas, raízes finas e grossas pesou-se porções em triplicata de 0,1 a 0,5 g. Após esta etapa as amostras foram queimadas em Oxidizer Zinsser (Oximat 500). O $^{14}\text{CO}_2$ obtido da queima foi absorvido numa solução cintiladora (1 litro aquasolv + 666 mL metanol + 416 mL metanolamina) e colocado para quantificar a radioatividade num cintilador líquido da Beckman.

Os valores de radioatividade foram expressas em percentagem(%), que é a radioatividade determinada na fração do microcosmo dividida pela radioatividade total aplicada.

A radioatividade específica é a radioatividade determinada em cada fração do microcosmo, após a coleta, e foi dividida peso da fração (g).

3.4. ESTUDO DA MICROBIOTA DO SOLO

Nos experimentos em microrcosmos com plantas foi necessário realizar a adubação de NPK 4-14-8 e correção de pH até 7,0 com adição calcário de rocha conforme descrito no item 3.2.1., para a sobrevivência das mudas a serem adicionadas ao microcosmo. Esta parte do estudo foi avaliado o efeito da adição de um fertilizante e correção do pH no comportamento microbiano do solo proveniente da área experimental PUC-Rio, utilizado nos ensaios em microcosmos. Foram

avaliadas amostras do solo quanto à biomassa de bactérias heterotróficas totais, fungos totais, em condições naturais do solo e após receber adubação de NPK (4-14-8) e calcário conforme recomendação técnica. O procedimento é o mesmo aplicado no item 3.1.2. sendo os meios de cultura utilizados o TSA 10% formulado para bactérias, pois os microrganismos cresceram melhor nessa concentração, Czapek Dox Agar (sacarose 30,0g; nitrato de sódio 3,0g; sulfato de magnésio 0,5g; cloreto de potássio 0,5g; sulfato de ferro II 0,01g; fosfato de potássio bibásico 1,0g; agar 18g; 1L de água destilada) para fungos totais. As leituras de unidades formadoras de colônias (UFC) foram avaliados às 24 e 48h após incubação, para bactérias e 24 h, 48h e 7 dias para fungos.

3.4.1. Estudo da microbiota do solo presente nos experimentos de fitorremediação de atrazina

Ao término do experimento de fitorremediação com atrazina foram coletadas amostras de solo rizosférico agitando manualmente as raízes por três vezes e removendo o restante com auxílio de pincel macio e ,em seguida, armazenada sob refrigeração para análise.

As amostras de solo rizosférico foram processadas e avaliadas quanto a biomassa de fungos totais por meio de leitura de contagem de plaqueamento em meio Czapek Dox DOX; bactérias heterotróficas totais utilizando o meio TSA 10% formulado, conforme descrito no item 3.1.6.

4. RESULTADOS

4.1. EXPERIMENTO DE CAMPO

4.1.1. Análise do perfil do solo das áreas do transecto cana-mata ciliar

O perfil do solo das áreas do transecto eram predominantemente arenosos variando de 70 a 58% de areia e 20 a 35% de argila (Tabela 4).

Tabela 4. Composição granulométrica (%) de areia, silte e argila no perfil do solo (0 - 120 cm) nas áreas do transecto cana-de-açúcar, mata ciliar jovem e mata ciliar antiga.

Profundidade (cm)	Cana-de-açúcar			Mata Ciliar Jovem			Mata Ciliar Antiga		
	Argila	Silte	Areia	Argila	Silte	Areia	Argila	Silte	Areia
0-20	25	5	70	28	14	58	30	5	79
20-40	30	6	64	25	10	65	32	6	82
40-60	30	6	64	24	10	66	32	6	62
60-80	35	1	64	21	8	71	31	7	71
80-100	24	8	68	28	4	68	28	4	68
100-120	26	6	68	30	2	68	30	2	68
Desvio Padrão	3,77	2,13	2,43	3,00	4,00	4,35	4,42	16,82	1,12

A concentração de carbono orgânico (C.O.) na camada de 0-20cm da cana-de-açúcar (0,62%) foi significativamente menor que o conteúdo das demais áreas do transecto, nesta mesma profundidade (Tabela 5.). Nas demais profundidades, o conteúdo C.O. da cana-de-açúcar e da mata ciliar jovem foram semelhantes. A mata ciliar antiga apresentou maior incorporação de C.O. em todo o seu perfil em relação a cana e a mata ciliar jovem.

No momento da coleta das amostras de solo, o lençol d'água das áreas de mata ciliar jovem e antiga foram encontradas, respectivamente, a profundidade de

50cm e 40cm em 2003. Em 2004, o lençol estava a 50 cm de profundidade na mata ciliar jovem e 40cm na mata antiga.

Tabela 5. Concentração de carbono orgânico (%) presente em amostras de solo provenientes do transecto cana-de-açúcar, mata ciliar jovem e mata ciliar antiga em diferentes profundidades.

Profundidade (cm)	Cana-de-açúcar	Mata Ciliar Jovem	Mata Ciliar Antiga
0-20	0.62 bA	0.81 aA	1.02 aA
20-40	0.56 bA	0.67 bA	1.00 aA
40-60	0.44 bAB	0.50 bAB	0.80 aA
60-80	0.38 bB	0.44 aB	0.55 aB
80-100	0.23 bB	0.29 bB	0.44 aB
100-120	0.20 bB	0.26 bB	0.40 aB

Valores médios (n=3). Dados seguidos de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% significância

4.1.2. Dados meteorológicos

Em 2003, choveu intensamente antes da aplicação do pesticida (Figura 16) e a precipitação acumulada foi de 575 mm no período entre o dia (1/01) da aplicação do tebuthiuron até a coleta da amostra do solo (20/02). No ano de 2004 a precipitação acumulada foi de 244,5 mm no período entre o dia (06/03) da aplicação do diuron+hexazinone até o dia (06/04) da coleta da amostra de solo (Figura 17).

A variação da temperatura nos períodos citados acima foi de 21 à 34°C em 2003 e 18 a 29°C em 2004 (Figura 17).

Durante o dia da aplicação do tebuthiuron no primeiro ano, em 20/01/2003, o vento registrado pela estação meteorológica de Franca variou de 4 a 5 m s⁻¹ (média) e em 16/03/2004 na aplicação de diuron + hexazinone foi de 4 m s⁻¹ (Tabela 6.).

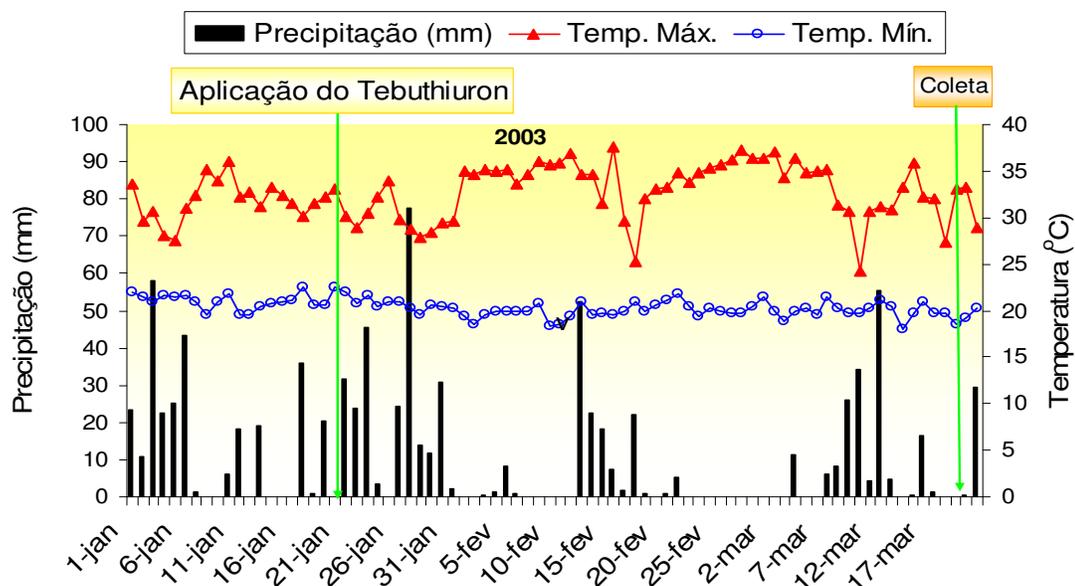


Figura 16. Distribuição pluviométrica ocorrida no período de 10 dias antes da aplicação de tebuthiuron até o dia da coleta, em 2003.

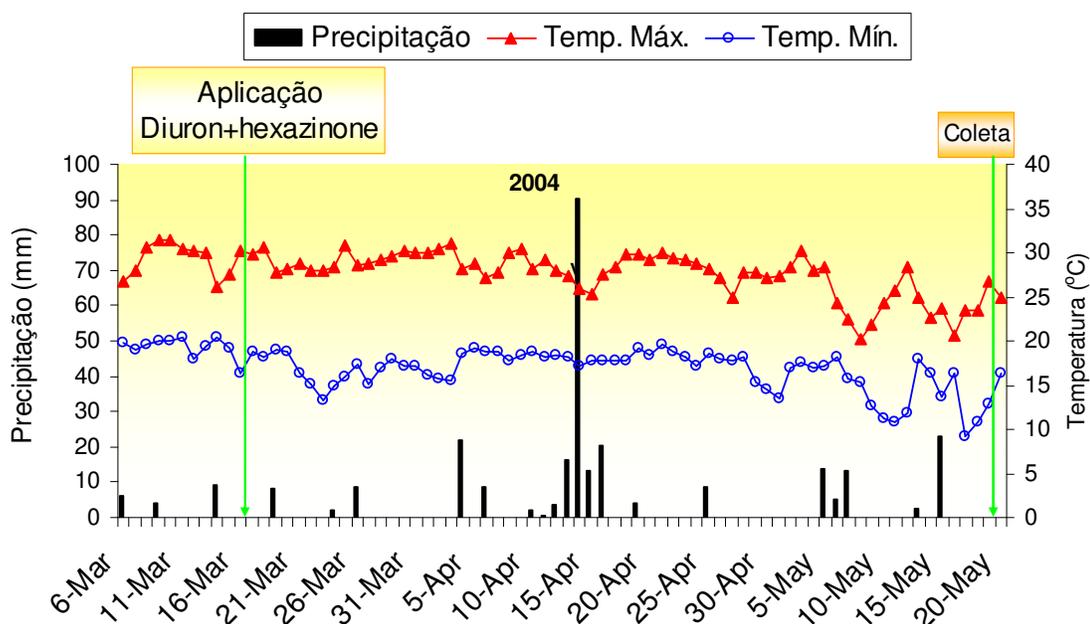


Figura 17. Distribuição pluviométrica ocorrida no período de 10 dias antes da aplicação de diuron + hexazinone até o dia da coleta, em 2004.

O regime pluviométrico pode ter influenciado na flutuação dos lençóis d'água nas coletas de 2003 e 2004. Em 2003, a água do lençol d'água foi encontrada a partir da profundidade de 40-60 cm na mata ciliar jovem e 20-40cm na mata ciliar antiga e em 2004 a partir das profundidades de 60-80cm e 40-60cm nas matas ciliar jovem e antiga, respectivamente. Na área da cana-de-açúcar não foi encontrado o lençol d'água em nenhuma das profundidades coletadas, em ambos os anos.

Tabela 6. Velocidade do vento média e máxima e direção predominante ocorridos em Franca, SP.

Ano	Vento médio (m seg ⁻¹)		Direção predominante do vento	Ano	Vento médio (m seg ⁻¹)		Direção predominante do vento
	Média	Máx.			Média	Máx.	
2003				2004			
20/1	4	5	NW	16/3	4	4	S
21/1	4	4	NW	17/3	3	4	E
22/1	2	3	N	18/3	1	2	E
23/1	4	4	N-NW	19/3	2	3	N-NE
24/1	0	0	-	20/3	3	2	NW-SW
25/1	2	3	E-W	21/3	3	3	S
26/1	2	3	N-SW	22/3	1	2	E-SE
27/1	3	4	NE-W	23/3	1	2	E-NE
28/1	2	3	NW	24/3	2	3	NE-E
29/1	2	3	N-NW	25/3	2	3	NE
30/1	1	2	NE	26/3	1	2	W
31/1	1	2	NE-SW	27/3	1	2	NE-E
1/2	1	3	NE	28/3	1	2	NE
2/2	2	4	E-W	29/3	1	3	N-S
3/2	3	3	NE-E	30/3	1	2	N-SW
4/2	1	2	E	31/3	1	2	N-E
5/2	3	4	N	1/4	1	2	N-S
6/2	3	4	E-NE	2/4	1	3	NE
7/2	1	2	NE	3/4	2	3	N-NW
8/2	1	3	E	4/4	2	4	N-E
9/2	2	3	E-S	5/4	1	4	S
10/2	1	2	NE-E	6/4	1	2	NE
11/2	1	4	SW	7/4	1	2	NW-SW
12/2	2	3	E	8/4	2	3	E
13/2	3	4	NE-NW	9/4	1	2	N
14/2	1	3	S	10/4	1	2	SE
15/2	1	2	NW	11/4	0	0	NE
16/2	3	4	NE-NW	12/4	2	3	NE
17/2	3	5	NW	13/4	3	4	E
18/2	2	3	NW	14/4	1	2	E
19/2	3	4	N-S	15/4	1	2	N-W

4.1.3. Resíduos de hexazinone e diuron

O comportamento de distribuição dos resíduos de hexazinone e diuron foi diferenciado comparando dos dois anos de estudo.

Em 2003, resíduos de diuron e hexazinone estavam presentes em todas as camadas de solo das áreas do transecto em quantidades inferiores a $0,8 \mu\text{g i.a. g}^{-1}$ de solo (Figura 18. a.-c.) (Tabela 6.). Resíduos de diuron estavam concentrados na camada superficial da área de cana-de-açúcar e mata ciliar jovem e não foram detectados na mata ciliar antiga (Figura 18). Os valores de hexazinone tiveram uma distribuição crescente ao longo do perfil do solo, tendo sua maior concentração em camadas mais profundas das áreas estudadas.

Em 2004, houve nova aplicação de diuron+hexazinone e estes pesticidas atingiram áreas de mata ciliar jovem e antiga, principalmente nas camadas mais profundas de 80-120cm (Figura 18. d.-f.). A partir da área de aplicação (cana-de-açúcar) até a mata ciliar antiga ocorreu uma redução gradativa dos resíduos de diuron e hexazinone (Tabela 7). Na área de cana-de-açúcar houve maior concentração de diuron na camada superficial 0-20cm ($5,4 \mu\text{g g}^{-1}$), e para hexazinone apresentou maior concentração na camada superficial 0-20cm ($5,4 \mu\text{g g}^{-1}$) e na camada 100-120cm ($3,15 \mu\text{g g}^{-1}$).

A camada 100-120cm da mata ciliar jovem apresentou maior concentração de resíduos de hexazinone e diuron em relação a camada 0-20cm.

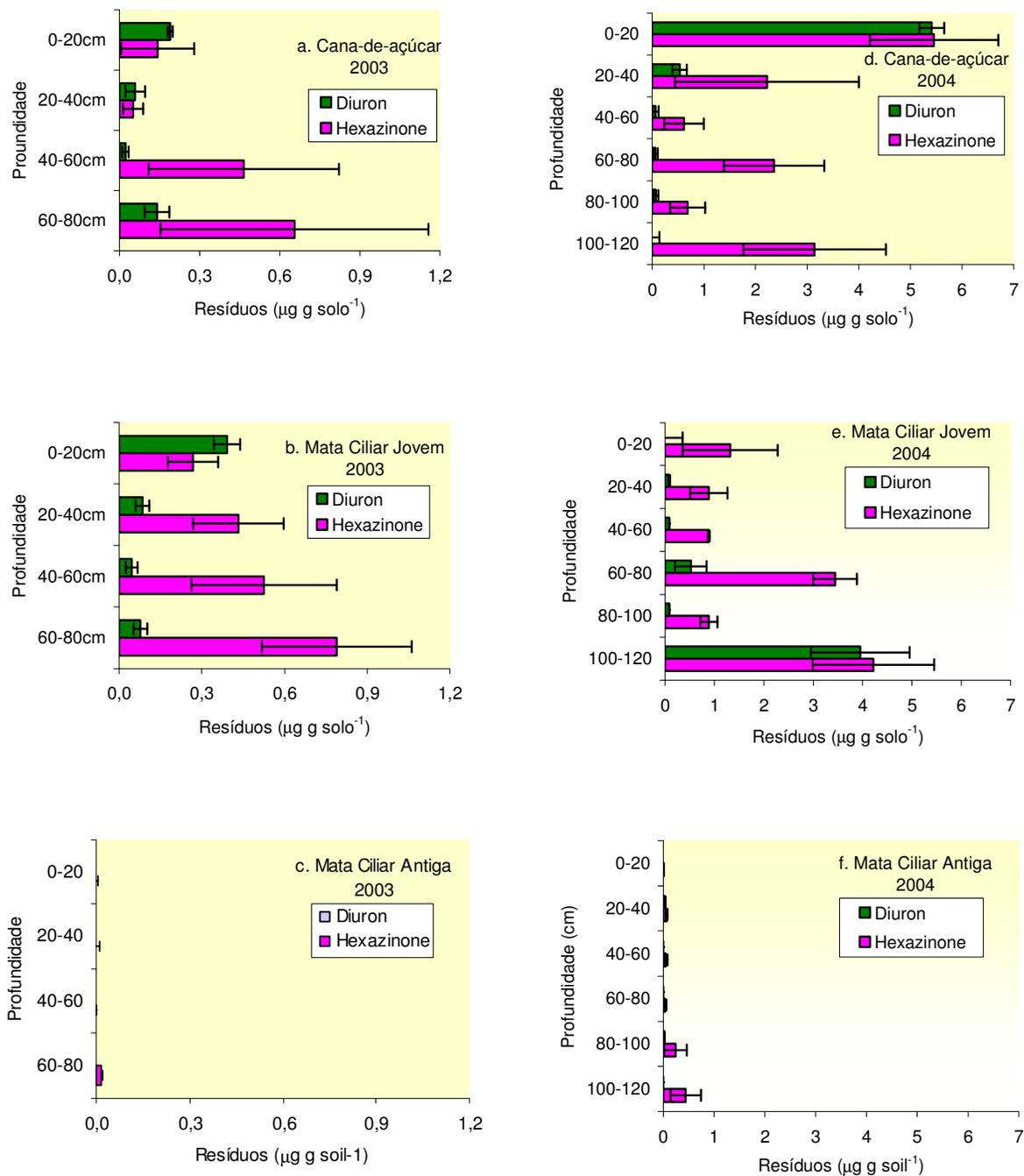


Figura 18. Resíduos de diuron e hexazinone ($\mu\text{g g solo}^{-1}$) detectados no transecto a. cana-de-açúcar, b. mata ciliar jovem, c. mata ciliar antiga, em 2003 e d. cana-de-açúcar, e. mata ciliar jovem, f. mata ciliar antiga, em 2004, nas profundidades de 0-80cm em 2003 e 0-120cm em 2004. Barras finas horizontais são o desvio padrão de cada profundidade.

4.1.4. Resíduos de tebuthiuron

Em 2003, o montante total de resíduos de tebuthiuron presente ao longo do perfil do solo foi menor na área de cana-de-açúcar ($28,1 \mu\text{g g}^{-1}$) comparado com mata ciliar jovem ($35,7 \mu\text{g g}^{-1}$) atingindo altos valores na mata ciliar antiga ($115,9 \mu\text{g g}^{-1}$) (Tabela 7.). A distribuição dos resíduos de tebuthiuron nas áreas do transecto concentrou-se mais na camada superficial do solo (0-20 cm) reduzindo-se gradativamente nas camadas mais profundas (Figura 19). Na mata ciliar antiga ocorreu o decréscimo ao longo do perfil até a camada de 40-60cm a partir do qual a camada mais profunda 60-80cm mostrou um aumento para $34,1 \mu\text{g g}^{-1}$ (Figura 19-c.).

Em 2004, não foi aplicado o tebuthiuron, e houve uma redução da sua concentração nas três áreas estudadas do transecto (Figura 19). A redução total de tebuthiuron no perfil (0-120cm) do solo, em 2004 quando comparado aos valores de 2003, foi de 38%; 10%; e 82% para a área de cana-de-açúcar, mata ciliar jovem e velha, respectivamente (Tabela 7). A mata ciliar jovem apresentou maior concentração total de resíduos de tebuthiuron sobretudo na camada superficial, do que as áreas de cana-de-açúcar e mata ciliar antiga (Figura 18). Destaca-se que na mata ciliar jovem as camadas de 40-80 cm apresentaram valores maiores de tebuthiuron em 2004, do que no ano da aplicação. Resíduos deste herbicida foram encontrados em camadas mais profundas (80-120cm) em todo o transecto em valores em torno de $5 \mu\text{g g}^{-1}$ (Tabela 7).

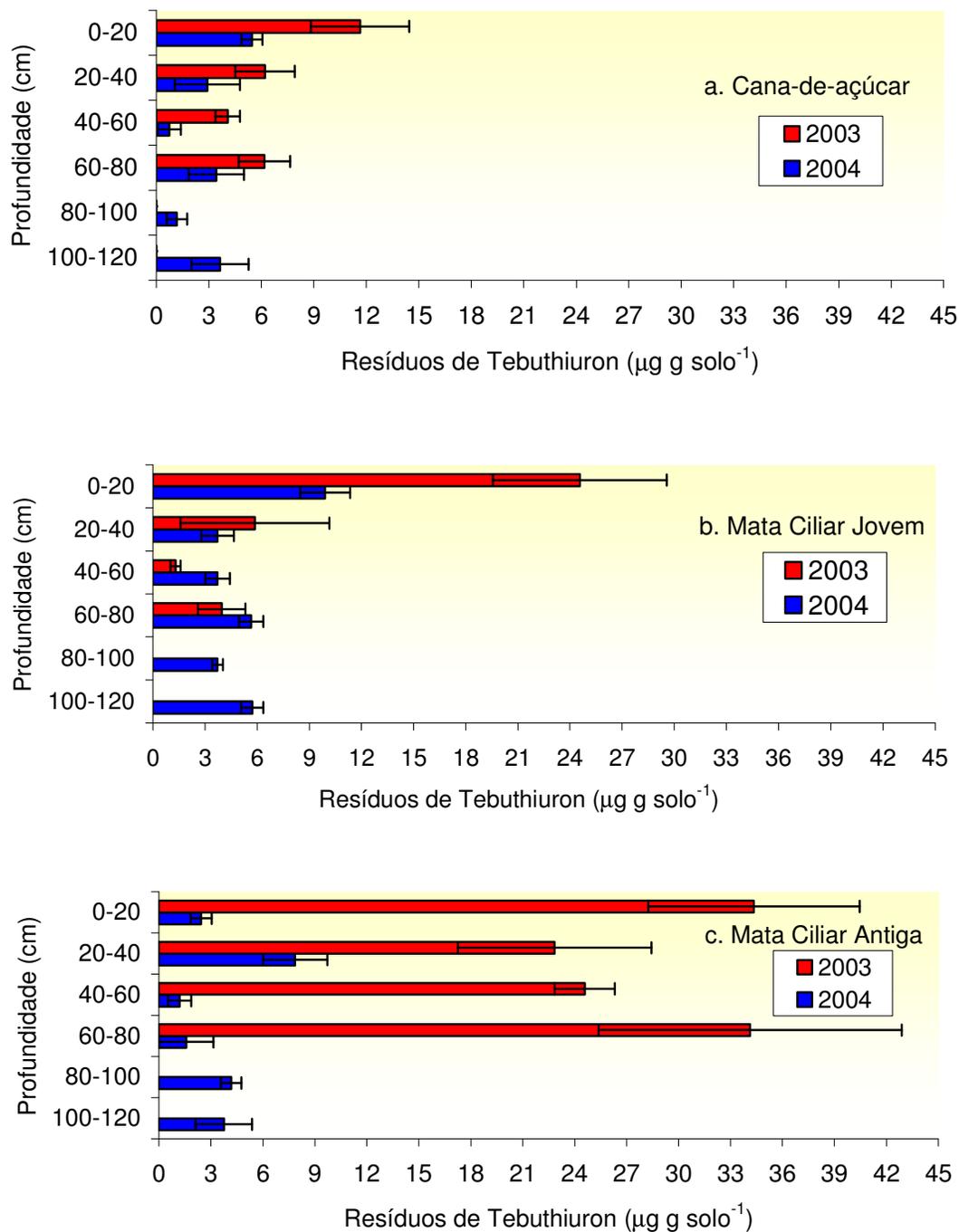


Figura 19. Resíduos de Tebuthiuron ($\mu\text{g g}^{-1}$) presentes no transecto a. cana-de-açúcar, b. mata ciliar jovem, c. mata ciliar antiga, em 2003 e 2004. Barras vermelhas representam o ano de 2003 e as azuis o de 2004. Barras finas horizontais são o desvio padrão da amostra de cada profundidade.

Tabela 7. Somatório de resíduos ($\mu\text{g g}^{-1}$) de tebuthiuron, diuron e hexazinone detetados no transecto cana-de-açúcar, mata ciliar jovem e antiga, em 2003 (0-80cm) e 2004 (0-120cm).

Herbicidas	Ano (Somatório do perfil)	Áreas do Transecto		
		Cana-de- açúcar	Mata Ciliar Jovem	Mata Ciliar Antiga
Tebuthiuron	2003 (0-80cm)	28,12	35,72	115,89
	2004 (0-120cm)	17,38	32,46	21,03
Diuron	2003 (0-80cm)	0,41	0,60	0,00
	2004 (0-120cm)	10,00	4,72	0,04
Hexazinone	2003 (0-80cm)	1,32	2,02	0,85
	2004 (0-120cm)	14,48	11,64	0,03

4.1.5. Microbiota do solo do transecto

O valor médio do pH de 5,4, foi semelhante entre os perfis das áreas de cana-de-açúcar, mata ciliar jovem. Na mata ciliar antiga o valor do pH foi 4,4 , mais ácido que nas outras duas áreas (Tabela 8). A quantidade de carbono orgânico (C.O.) foi baixa, variando de 0,33 à 1,02%. As camadas mais superficiais apresentaram um percentual maior de C.O., e decresceu gradativamente ao longo do perfil.

Tabela 8. Dados médios de pH, Carbono Orgânico (C.O.) (%); contagem de bactérias totais e fungos totais expressos em UFC g⁻¹ de solo; e atividade desidrogenase (DHA (µg.mL⁻¹)) e hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA (µg.mL⁻¹)), de amostras de solo do ano de 2003.

Área	Profundidade	pH	C.O. (%)	Bactérias (UFC g ⁻¹)	Fungos (UFC g ⁻¹)	DHA (µg/mL)*	FDA (µg/mL)*
Cana-de-açúcar	0-20cm	5,6	0,66	3 x 10 ⁶	2 x 10 ⁵	46,34 ± 0,02 A	1,31 ± 0,18A
	20-40cm	5,4	0,57	2 x 10 ⁶	3 x 10 ⁴	10,24 ± 0,01 B	
	60-80cm	5,5	0,27	2 x 10 ⁵	8 x 10 ³	11,82 ± 0,10 B	
Mata Ciliar Jovem	0-20cm	5,6	0,81	7 x 10 ⁶	2 x 10 ⁵	45,31 ± 0,01 A	1,02 ± 0,1a
	20-40cm	5,5	0,57	1 x 10 ⁶	3 x 10 ⁴	28,86 ± 0,02 B	
	60-80cm	5,5	0,33	4 x 10 ⁵	7 x 10 ³	12,08 ± 0,01 C	
Mata Ciliar Antiga	0-20cm	4,5	1,02	3 x 10 ⁷	5 x 10 ⁵	119,33 ± 0,02 A	1,44 ± 0,1A
	20-40cm	4,4	0,33	2 x 10 ⁷	1 x 10 ⁵	110,56 ± 0,05 A	
	60-80cm	4,3	0,51	2 x 10 ⁷	3 x 10 ⁴	24,40 ± 0,01 B	

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna, dentro de cada área, não difere entre si estatisticamente pelo teste de Tukey 5% significância.

* Valores médios (n= 5) ± erro padrão

A mata ciliar antiga foi a área que apresentou maior concentração de C.O e de contagem de microrganismos. As contagens de bactérias foram semelhantes para as três camadas de solo da mata ciliar antiga ao contrário das outras áreas. Na área de cana-de-açúcar e na de mata ciliar jovem as contagens de bactérias foram semelhantes para as duas primeiras camadas e diminuíram de uma ordem de grandeza para a camadas de 60 a 80 cm de profundidade. A contagem de fungos decaíram de uma ordem de grandeza para cada uma das camadas estudadas, a partir da camada superior, para as áreas de cana-de-açúcar e de mata ciliar jovem.

Para a mata ciliar antiga as diferenças entre as duas camadas superiores e a inferior foi de 50%. A mata ciliar antiga apresentou contagem de microrganismos superior aos das demais áreas em todas as camadas do perfil do solo. A atividade de desidrogenase (DHA) foi superior nas camadas superficiais das áreas do transecto, destacando-se a mata ciliar antiga, que apresentou também alta DHA na camada de 20-40cm. Quanto ao FDA, embora a mata ciliar antiga apresente valor superior as demais áreas, não há diferença significativa entre as áreas estudadas.

4.2. BIOENSAIO DE SOBREVIVÊNCIA DE EMBAÚBA E TREMA A DIFERENTES DOSES DE HEXAZINONE, TEBUTHIURON E ATRAZINA

Após o início dos bioensaios, no terceiro dia após a aplicação dos herbicidas hexazinone e tebuthiuron, as plantas de *C. hololeuca* e *T. micrantha* apresentaram sintomas de necrose do limbo foliar nas maiores doses de hexazinone (132 g i.a. ha⁻¹) e de tebuthiuron (400g i.a. ha⁻¹) (Figura 20.). No sétimo dia após a aplicação, todas as plantas de *T. micrantha* que haviam recebido a aplicação dos herbicidas em todas as doses apresentavam necrose acentuada (Figura 21.). As plantas de *C. hololeuca* conseguiram se recuperar dos efeitos dos herbicidas, resultando em 100% de sobrevivência em todos os tratamentos. O oposto foi observado com *T. micrantha*, com o dessecamento de grande parte das plantas durante a segunda a terceira semana após a aplicação, resultando na morte total das plantas tratadas com os herbicidas.

No bioensaio com atrazina, foi aplicada apenas a dose de 300g i.a. ha⁻¹ que corresponde a um décimo da dose de campo, todas as plantas das espécies estudadas estavam vivas e sadias ao término do bioensaio.

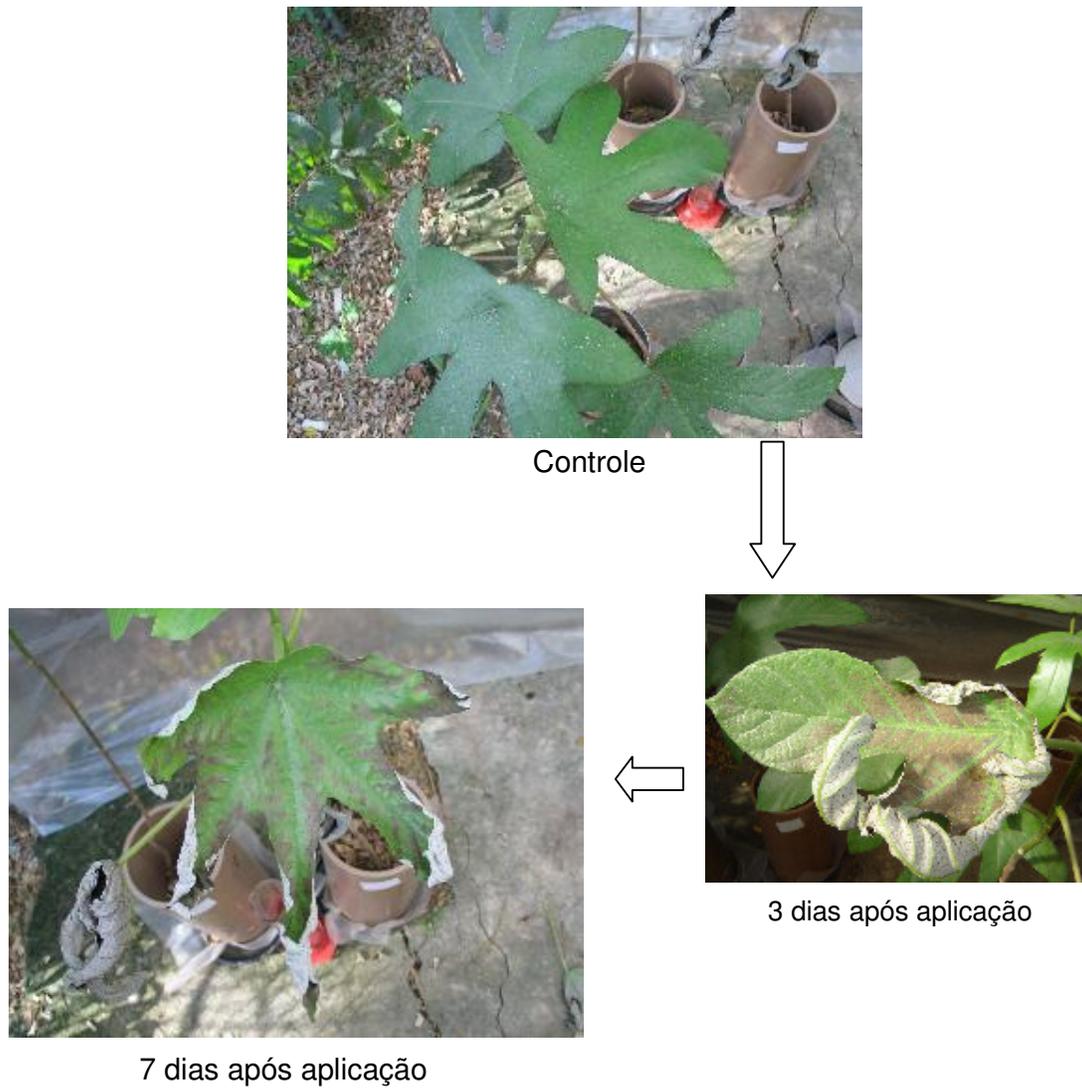


Figura 20. *Cecropia hololeuca* em solo contaminado com 400g i.a. ha⁻¹ de tebuthiuron aos 3 e 7 dias após a aplicação.

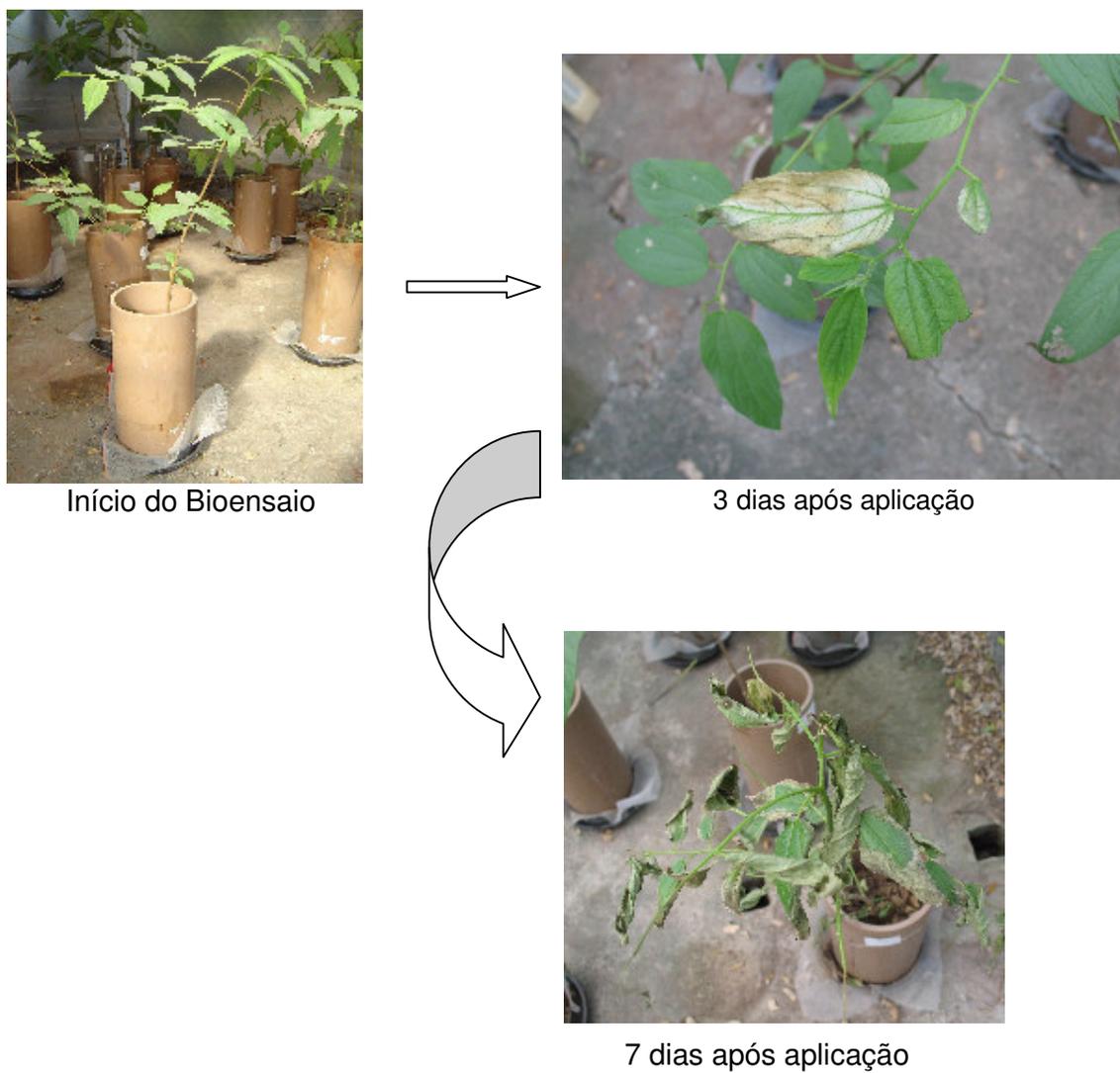


Figura 21. *Trema micrantha* no início do bioensaio, aos 3 e 7 dias após a aplicação d de 132 g ha^{-1} hexazinone e 400 g ha^{-1} tebuthiuron.

4.3. EXPERIMENTO DE FITORREMEDIAÇÃO EM MICROCOSMOS TRATADOS COM ^{14}C -TEBUTHIURON

Após 30 dias da aplicação do ^{14}C -tebuthiuron plantas de *T. micrantha* de dois microcosmos morreram sobrevivendo apenas uma planta, conforme bioensaio. Haviam raízes presentes até a profundidade de 23cm. Ambas as espécies estudadas apresentaram apenas raízes finas ($\varnothing < 1 \text{ mm}$).

A recuperação média da radioatividade total aplicada por microcosmo, incluindo todas as partes dos microcosmos, foi de $97 \pm 4\%$; $81 \pm 6\%$; e $93 \pm 5\%$ para o controle, *C. hololeuca* e *T. micrantha*, respectivamente.

4.3.1. Altura, número de ramos, peso das folhas e caule

A *C. hololeuca*, com $56 \pm 5\text{cm}$ de altura, apresentou maior porte em relação a *T. micrantha*, com $50 \pm 4\text{cm}$. A *C. hololeuca* e a *T. micrantha* tiveram em média 4 ± 2 ramos e 6 ± 2 ramos, respectivamente. As folhas ($22,76 \pm 5,00\text{g}$) e caule ($14,79 \pm 8,64 \text{ g}$) de *C. hololeuca* eram mais pesadas que as da *T. micrantha*, com peso de $7,67 \pm 1,78 \text{ g}$ para as folhas e $3,16 \pm 2,18\text{g}$ para o caule.

4.3.2. Mineralização e voláteis

A mineralização foi medida com a quantificação de CO_2 radioativo ($^{14}\text{CO}_2$) total liberada. Após 80 dias da aplicação do ^{14}C -tebuthiuron, a mineralização total de cada tratamento contendo *C. hololeuca*, *T. micrantha* e controle foi de $0,92\%$; com a

foi de 0,83% e no controle foi de 0,56% do total de radioatividade aplicada (Figura 22). Durante todo o experimento as curvas de mineralização acumulada dos microcosmos com ambas as plantas mostraram valores de $^{14}\text{CO}_2$ maiores do que os dos microcosmos controle, contaminados e sem plantas.

Os valores totais dos voláteis determinados foram de 0,04, 0,02 e 0,005% do aplicado nos microcosmos, com *C. hololeuca*, *T. micrantha* e controle, respectivamente (Figura 23).

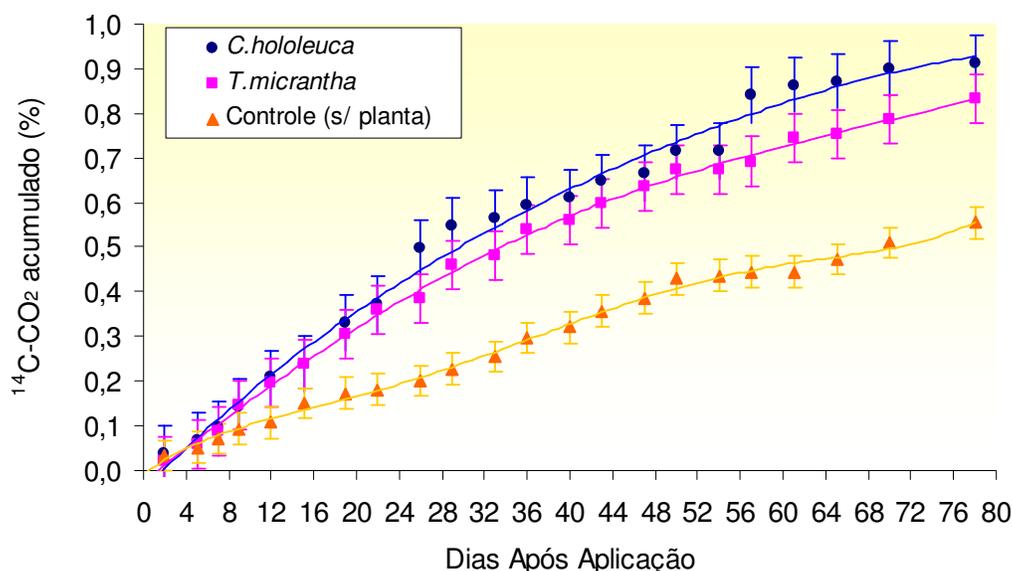


Figura 22. Percentagem média (n=3) acumulada de $^{14}\text{CO}_2$ capturado dos microcosmos tratados com ^{14}C -tebutiuron contendo *C. hololeuca*, *T. micrantha* e controle (sem planta). As barras verticais são o desvio padrão de cada ponto da curva.

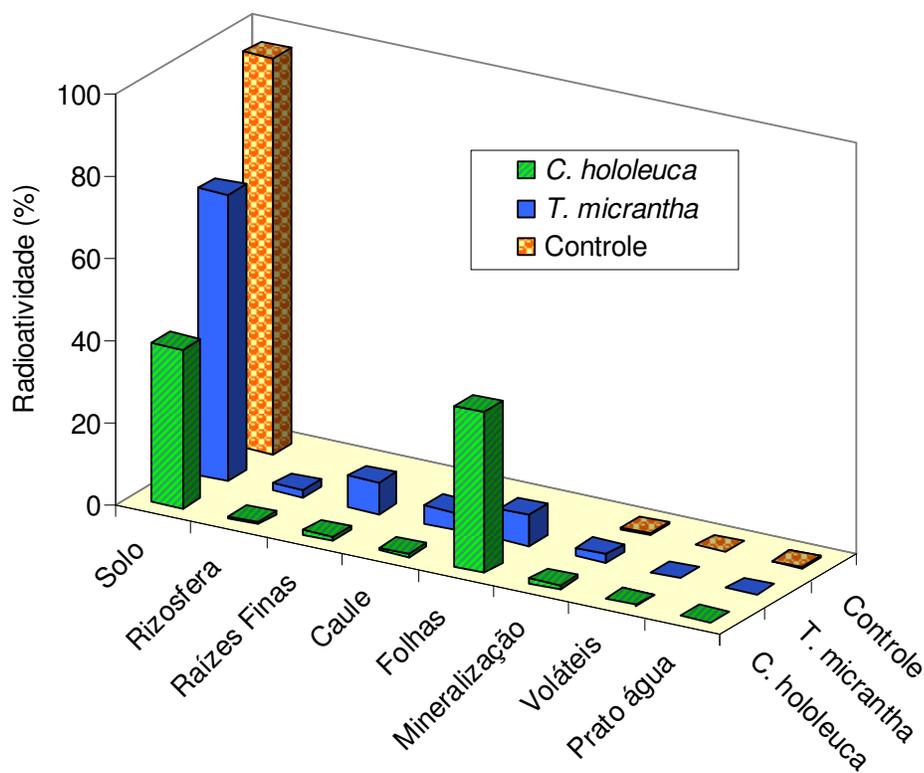


Figura 23. Distribuição média (n=3) de radioatividade total recuperada (%) nas diferentes partes dos microcosmos controle (sem planta); contendo *C. hololeuca*, *T. micrantha*. Estas partes são o solo, rizosfera, raízes finas, caule e folhas, mineralização, voláteis e resíduos no prato de água situado abaixo dos microcosmos que foram contaminados com ^{14}C -tebutiuron.

4.3.3. Distribuição da radioatividade nas partes subterrâneas dos microcosmos - solo, rizosfera e raízes

A recuperação média da radioatividade total (radioatividade recuperada relacionada a radioatividade aplicada) contida em todo o solo dos microcosmos controle, *Cecropia hololeuca* e *Trema micrantha* foi de $83 \pm 2\%$, $34 \pm 10\%$ e $70 \pm$

1%, respectivamente (Figura 23)., sendo que cerca de 0,5 a 2% da radioatividade recuperada foram detetados no solo rizosférico (Tabela 9.).

A *Cecropia hololeuca* e *Trema micrantha* foram capazes de absorver para a sua biomassa, em média, $45 \pm 5\%$ e $20 \pm 7\%$ da radioatividade total aplicada no solo (Figura 23).

Em ambas as espécies estudadas não houve a presença de raízes com diâmetro superior a 1mm, sendo denominadas raízes finas (Figura 23.). A massa total de raízes (g) foi maior na *Trema micrantha* (11,38g) que na *Cecropia hololeuca* (6,78g), sendo maior nas camadas mais superficiais do microcosmo (Tabela 9). Nos microcosmos com ambas as espécies, a massa das rizosferas e das raízes foi maior na camada de 5-10 cm. Mas a radioatividade nas raízes de *C. hololeuca* foi maior na camada de 10-15 cm e nas raízes de *T. micrantha* foi maior na camada de 5-10cm (Tabela 9.).

A camada de 15-20cm, em todos os tratamentos, apresentou maior peso do solo em relação às demais camadas (Figura 24). A maior massa de solo pode ter influenciado na radioatividade específica que também foi maior na camada de 15-20cm em todos os tratamentos (Tabela 9 e 10).

Ocorreu maior acúmulo de ^{14}C -tebuthiuron na camada de solo de 15-20cm de profundidade, em todos os tratamentos, havendo maior distribuição da radioatividade para camadas mais superficiais do solo na presença das espécies vegetais quando comparado ao controle (Tabela 9. e 10.).

4.3.4. Distribuição da radioatividade do ^{14}C -tebuthiuron na parte aérea das plantas

Foi observado que as plantas de *C. hololeuca* e de *T. micrantha* foram capazes de translocar e acumular respectivamente $45 \pm 5\%$ e $20 \pm 8\%$ do ^{14}C -tebuthiuron aplicado no solo e acumulá-los, principalmente em suas folhas (Figura 23).

A radioatividade detectada no caule da *C. hololeuca*, com 1,2%, foi inferior a da *T. micrantha*, com 4,4%. O inverso foi observado quanto a biomassa do caule, em que o caule da *C. hololeuca*, com 19,43g, era mais pesado que a da *T. micrantha*, com 7,67g.

A radioatividade específica na *C. hololeuca* foi crescente a partir da senescência da primeira folha, aos 33 Dias Após Aplicação (DAA), alcançando o seu ápice aos 50 DAA. Em seguida, foi reduzindo gradativamente, e abruptamente na última coleta aos 78 DAA. (Tabela 11.). Os valores de radioatividade específica presente nas folhas da *T. micrantha* foi máximo aos 33 DAA a partir do qual decresceu até a morte da planta.

Tabela 9. Percentual de radioatividade total recuperada (%), peso (g) e radioatividade específica (% g⁻¹) do solo, rizosfera e raízes finas determinados nas camadas 0-23cm dos microcosmos com *Cecropia hololeuca*, *Trema micrantha* tratados com ¹⁴C-tebuthiuron.

Camada	<i>Cecropia hololeuca</i>			<i>Trema micrantha</i>		
	Radioatividade (%)	Peso (g)	Radioatividade Específica (% g ⁻¹)	Radioatividade (%)	Peso (g)	Radioatividade Específica (% g ⁻¹)
	SOLO			SOLO		
0-5cm	0,820	473	0,002	4,408	571	0,008
5-10cm	2,179	860	0,003	10,117	710	0,014
10-15cm	10,760	810	0,013	15,322	658	0,023
15-20cm	18,322	1000	0,018	35,611	1055	0,034
20-23cm	1,611	560	0,003	4,257	490	0,009
Somatório	33,692	3703		69,714	3485	
	RIZOSFERA			RIZOSFERA		
0-5cm	0,059	2,39	0,025	0,020	7,94	0,003
5-10cm	0,067	18,06	0,004	0,761	42,96	0,018
10-15cm	0,319	15,43	0,021	0,638	18,67	0,034
15-20cm	0,066	4,54	0,015	0,448	10,88	0,041
20-23cm	0,001	0,34	0,004	0,0003	0,08	0,003
Somatório	0,512	40,75		1,867	80,52	
	RAÍZES FINAS			RAÍZES FINAS		
0-5cm	0,045	1,29	0,035	0,102	1,21	0,084
5-10cm	0,276	3,01	0,092	6,320	6,88	0,918
10-15cm	0,419	1,75	0,239	0,930	1,96	0,474
15-20cm	0,226	0,68	0,335	0,262	1,26	0,208
20-23cm	0,044	0,06	0,709	0,03	0,07	0,390
Somatório	1,011	6,78		7,639	11,38	

Tabela 10. Percentual de radioatividade total recuperada (%), peso (g) e radioatividade específica (% g⁻¹) do solo determinados nas camadas 0-23cm dos microcosmos controle tratado com ¹⁴C-tebuthiuron

Camada	Radioatividade (%)	Peso (g)	Radioatividade específica (% g⁻¹)
0-5cm	1,96	643	0,003
5-10cm	1,34	677	0,002
10-15cm	11,00	670	0,016
15-20cm	58,67	1145	0,051
20-23cm	9,86	528	0,019
Somatório	82,83	3.663	-

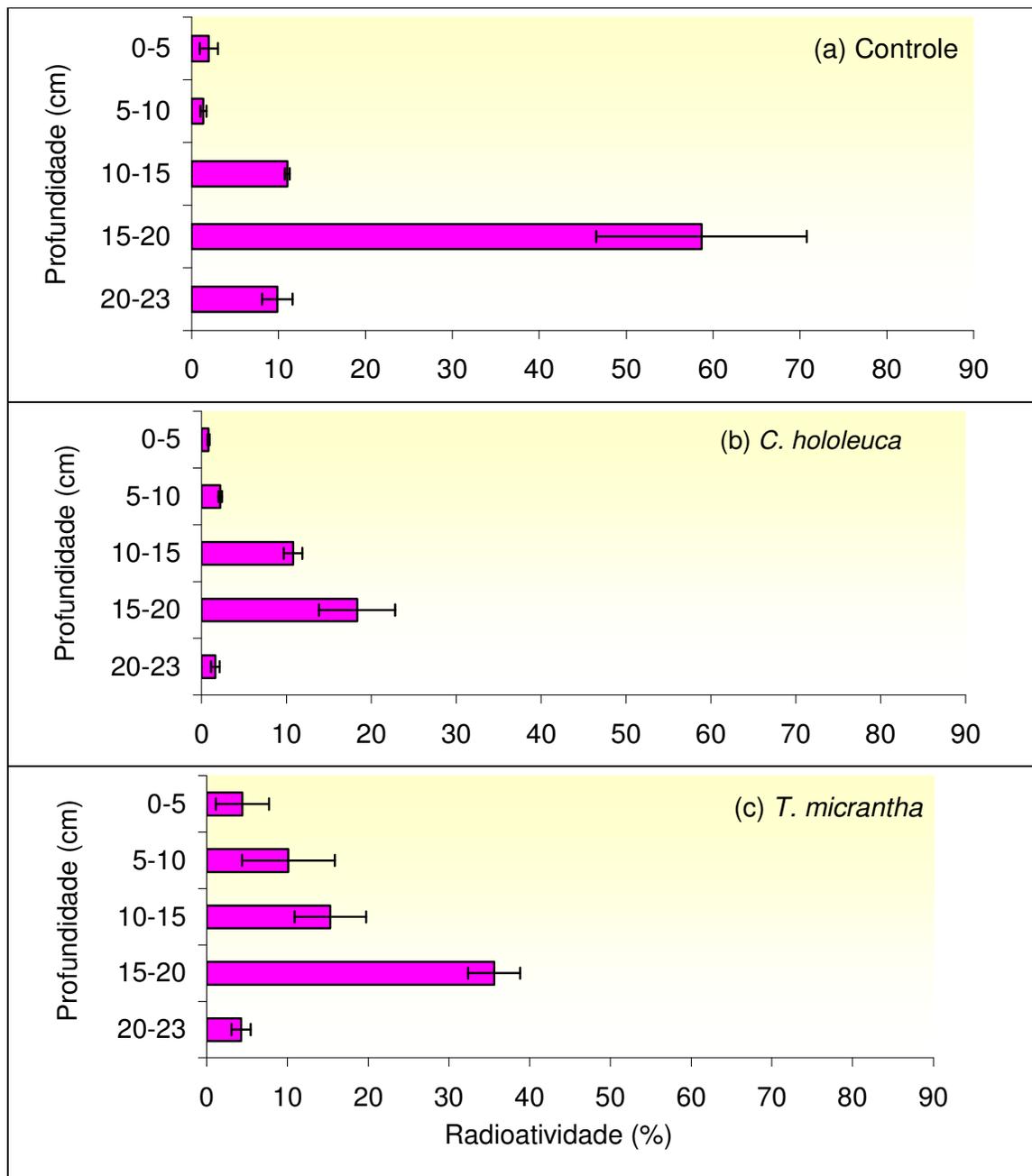


Figura 24. Distribuição média de radioatividade recuperada (%) em relação ao aplicado presentes no solo, rizosfera e raízes finas coletadas de diferentes profundidades (0-25cm) dos microcosmos contaminados com ^{14}C -tebutiuron, contendo (a) controle sem planta, (b) *C. hololeuca*, (c) *T. micrantha*. As barras verticais são o erro padrão.

4.3.5. Distribuição da radioatividade específica nas partes dos microcosmos

Nos microcosmos com *C. hololeuca* a radioatividade específica (% radioatividade recuperada/ g da amostra seca), presente no solo, foi maior na camada de 15-20cm com 0,018 % g⁻¹ (Tabela 9.), onde havia também maior quantidade de radioatividade e peso do solo.

Para as amostras de rizosfera a maior recuperação do herbicida foi de 0,025 % g⁻¹, detectada na camada de 0-5cm de profundidade (Tabela 9.), e nas raízes foi de 0,335 % g⁻¹, na camada de 15-20cm (Figura 25).

Tabela 11. Valores médios (n=3) de radioatividade (%), peso (g), radioatividade específica (% g⁻¹) determinadas em folhas de *C. hololeuca* e *T. micrantha* que senesceram no experimento de fitorremediação em microcosmos. As folhas foram coletadas aos 33, 50, 70 e 78 dias após a aplicação do ¹⁴C-tebuthiuron.

Dias após aplicação	<i>C. hololeuca</i>			<i>T. micrantha</i>		
	Radioatividade (%)	Peso (g)	Radioatividade específica (%/g)	Radioatividade (%)	Peso (g)	Radioatividade específica (%/g)
33	9,66	1,09	8,831	1,09	0,11	10,197
50	14,49	1,19	12,126	9,18	0,98	9,391
70	8,92	0,78	11,444	5,71	0,75	7,650
78	6,83	4,40	1,551	-	-	-
Média	9,97	1,87	8,49	5,33	0,61	9,08

Nas raízes da *T. micrantha* a radioatividade específica total, na camada de 0-15cm, foi maior do que nas raízes de *C. hololeuca*. Na *C. hololeuca* as raízes apresentaram maior radioatividade específica na camada mais profunda (20-23cm),

com valor de 0,709 % g amostra⁻¹, e na *T. micrantha* foi na camada de 5-10cm, com 0,918% g amostra⁻¹. Na *C. hololeuca* as maiores radioatividades específicas foram 0,709% g amostra⁻¹ para as raízes na camada mais profunda (20-23cm), para as rizosferas, de 0,021%, na camada de 10-15cm e para o solo, de 0,018% g⁻¹, na camada de 15-20cm. Na *T. micrantha* a radioatividade específica nas raízes foi de 0,918% g amostra⁻¹, detectada na camada de 5-10cm, de 0,041% g⁻¹ para a rizosfera, na camada de 15-20cm e 0,034% g⁻¹ no solo (Tabela 9.).

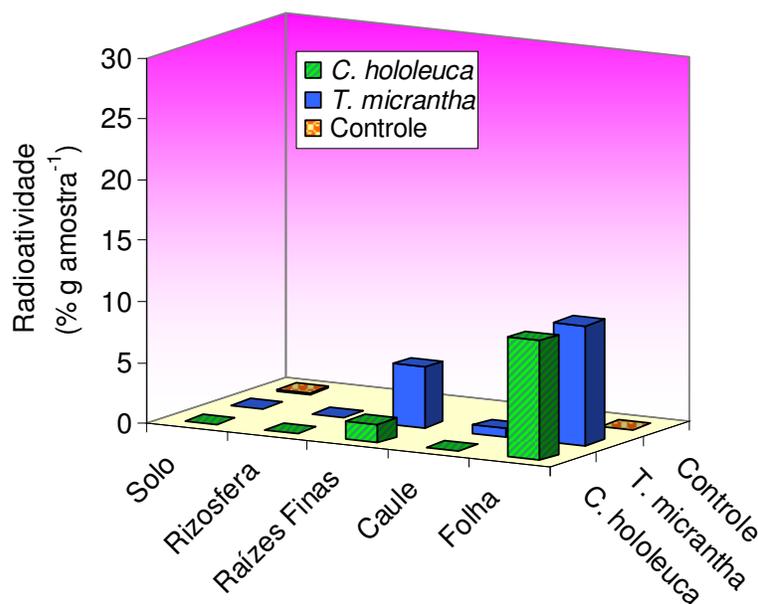


Figura 25. Distribuição radioatividade específica (% radioatividade aplicado por peso total (g) da amostra) em microcosmos tratados com ¹⁴C-tebuthiuron contendo *C. hololeuca*, *T. micrantha* e controle.

As espécies estudadas apresentaram radioatividade específica em sua parte aérea (folha + caule) maior que o solo e a rizosfera (Figura 25). As folhas de *T. micrantha* apresentaram radioatividade específica 1% superior ao da *C. hololeuca*

(Tabela 10.). A radioatividade específica determinado no caule da *T. micrantha* (0,6 % g⁻¹) foi superior ao da *C. hololeuca* (0,09 % g⁻¹).

4.4. EXPERIMENTO DE FITORREMEDIAÇÃO EM MICROCOSMOS TRATADOS COM ¹⁴C-ATRAZINA

Todas as plantas de ambas as espécies utilizadas estavam vivas ao término do experimento e não perderam folhas ao longo do mesmo. Havia raízes até a parte mais profunda do microcosmo. Ambas as espécies estudadas apresentaram raízes finas ($\varnothing < 1$ mm).e grossas ($\varnothing > 1$ mm).

A radioatividade total recuperada de todas as partes do microcosmo foi de 99 ± 7%, 120 ± 16% e 111 ± 20% para o microcosmos controle (sem planta), *C. hololeuca*, *T. micrantha*, respectivamente.

4.4.1. Altura, número de ramos, peso das folhas e caule

A *C. hololeuca*, com 71 ± 5cm, apresentou maior porte em relação a *T. micranta*, com 57 ± 7cm. A *C. hololeuca* e a *T. micranta* tiveram em média 7 ± 1 e 5 ± 1 ramos, respectivamente. As folhas (21,36 ± 9,78g) e caule (27,25 ± 10,24 g) de *C. hololeuca* eram mais pesadas que as da *T. micrantha*, com 6,89 ± 2,09 g de folhas e 9,28 ± 4,64g de caule.

4.4.2. Mineralização e voláteis

A mineralização total nos microcosmos contendo *C. hololeuca*, *T. micrantha* foi de 10,2 %, 10,9%, respectivamente, e de 1,2% para os microcosmos controle, sem planta (Figura 26). A mineralização com presença da *C. hololeuca* iniciou-se aos 28 dias após aplicação (DAA) enquanto na presença de *T. micrantha* o processo iniciou-se de forma reduzida na mesma data e com inflexão próximo aos 30 DAA. As taxas de mineralização de ^{14}C -atrazina, entre as espécies mantiveram-se semelhantes, e após 72 DAA elas se igualaram. A *T. micrantha* apresentou um pequeno aumento da mineralização em relação a *C. hololeuca* e aos 82 DAA iniciou-se a queda da taxa de mineralização acumulada da *T. micrantha*.

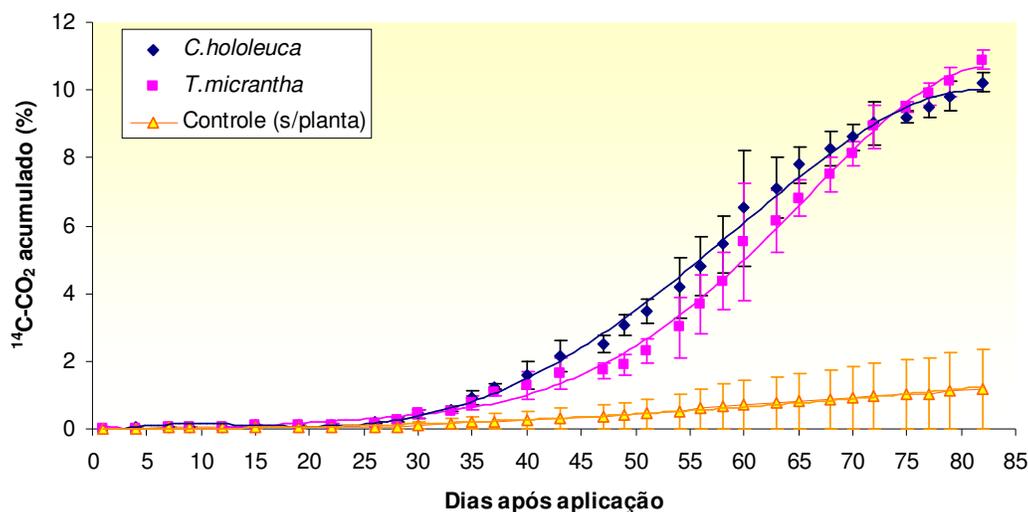


Figura 26. Percentagem média (n=3) acumulada de $^{14}\text{CO}_2$ capturado dos microcosmos contendo *C. hololeuca*, *T. micrantha* e Controle, produto da mineralização do ^{14}C -atrazina. As barras verticais são o desvio padrão de cada ponto da curva.

Os valores dos voláteis determinados foram de 0,04, 0,02 e 0,005% do aplicado nos microcosmos, com *C. hololeuca*, *T. micrantha* e controle, respectivamente (Figura 27).

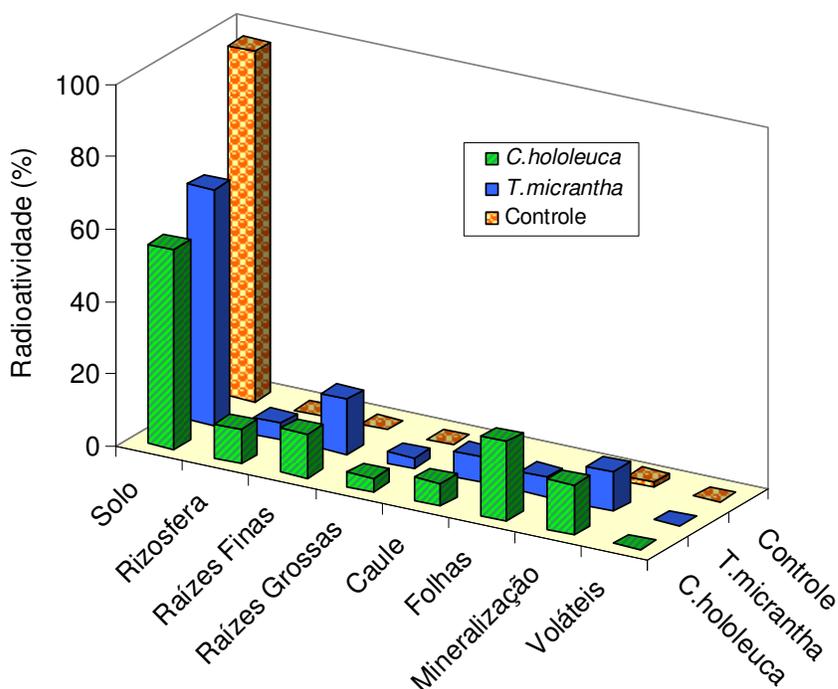


Figura 27. Distribuição média (n=3) de radioatividade (%) nas diferentes partes dos microcosmos controle (sem planta), contendo *C. hololeuca*, *T. micrantha* e como o solo, rizosfera, raízes finas e grossas, caule e folhas, mineralização, voláteis e resíduos no prato de água situado abaixo dos microcosmos que foram tratados com ^{14}C -atrazina.

4.4.3. Distribuição da radioatividade nas partes subterrâneas dos microcosmos - no solo, rizosfera e raízes

O microcosmo controle apresentou maior radioatividade total (%) e específica, e peso do solo, na camada de 15-20cm (Tabela 13).

A *Cecropia hololeuca* e *Trema micrantha* foram capazes de absorver na sua biomassa em média $45 \pm 14\%$ e $35 \pm 16\%$ da radioatividade total aplicada no solo (Figura 28). A radioatividade se deslocou no solo a partir da camada de aplicação (20-23cm), distribuindo-se com valores maiores para as camadas de 15-20 cm para *C. hololeuca* com 27,2%, *T. micrantha* com 42,6% e controle com 76,9% em relação a radioatividade total aplicada (Figura 28).

As camadas superiores apresentaram valores decrescentes. Houve maior deslocamento para as camadas 5-15cm em microcosmos com plantas em comparação ao controle sem plantas (Figura 28). Na camada superficial de 0-5cm apresentou radioatividade igual a 0,07% na *C. hololeuca* (Tabela 12).

A massa total das raízes de *C. hololeuca* foi maior que a da *T. micrantha*, relação semelhante à observada a quantidade de radioatividade na rizosfera destas plantas (Tabela 12). A rizosfera da *C. hololeuca* apresentou radioatividade inferior a 8% do aplicado, concentrando-se na camada de 15-20 cm (Tabela 12). A radioatividade total presente na parte radicular (raízes grossas + raízes finas) da *C. hololeuca* e *T. micrantha* foi de 17,5% e 18 % , cerca de 2 e 4 vezes superiores às suas respectivas rizosferas.

A quantidade de biomassa das raízes finas predominou sobre a das raízes grossas na relação raiz fina/ raiz grossa, em *C. hololeuca* foi de 9,40g/ 6,52g e o inverso na *T. micrantha* de 4,89g/ 6,49g (Tabela 12). A radioatividade total foi de 5,1% e de 12,3% respectivamente para as raízes grossas e finas de *C. hololeuca* e de 3,0% e 15,2% respectivamente para as raízes grossas e finas de *T. micrantha*.

Nas raízes grossas da *C. hololeuca* foi observado uma quantidade de radioatividade proporcional à biomassa radicular, o que não ocorreu para a *T. micrantha*. Nas raízes finas, em ambas as espécies, os valores de radioatividade

foram maiores na camada de 15-20cm enquanto que a maior massa radicular foi observada na camada superior de 10-15cm (Tabela 12).

Tabela 12. Radioatividade (%), peso (g) e radioatividade específica (% g⁻¹ do solo) do solo, rizosfera, raiz grossa e fina determinados nas camadas 0-23cm dos microcosmos com *Cecropia hololeuca*, *Trema micrantha* e controle, contaminados com ¹⁴C-atrazina (n=3).

Camada	<i>Cecropia hololeuca</i>			<i>Trema micrantha</i>		
	Radio-atividade (%)	Peso (g)	Radioatividade Específica (% g ⁻¹)	Radio-atividade (%)	Peso (g)	Radioatividade Específica (% g ⁻¹)
SOLO						
0-5cm	0,07	250	0,000	0,00	150	0,000
5-10cm	4,31	980	0,004	3,42	653	0,005
10-15cm	20,42	910	0,022	15,02	890	0,017
15-20cm	25,83	705	0,037	42,60	957	0,045
20-23cm	3,17	427	0,007	4,01	400	0,010
Somatório	53,81	3272	-	65,06	2900	-
RIZOSFERA						
0-5cm	0,002	0,67	0,003	-	-	-
5-10cm	0,308	32,93	0,009	0,210	16,12	0,013
10-15cm	2,810	67,52	0,042	0,948	26,10	0,036
15-20cm	4,617	87,36	0,053	3,267	15,41	0,212
20-23cm	0,178	11,15	0,016	0,136	0,24	0,577
Somatório	7,915	199,63	-	4,560	57,86	-
RAIZES FINAS						
0-5cm	0,004	0,069	0,055	-	-	-
5-10cm	0,484	1,635	0,296	0,097	0,557	0,175
10-15cm	3,602	3,833	0,940	3,434	2,254	1,524
15-20cm	5,782	2,201	2,627	11,602	1,887	6,148
20-23cm	2,426	1,664	1,458	0,044	0,192	0,231
Somatório	12,299	9,403	-	15,179	4,890	-
RAIZES GROSSAS						
0-5cm	0,002	0,028	0,075	0,000	0,050	0,000
5-10cm	0,511	1,403	0,364	1,456	1,400	3,140
10-15cm	3,489	4,285	1,086	1,148	4,290	4,687
15-20cm	0,869	0,714	2,434	0,398	0,710	1,500
20-23cm	0,046	0,087	0,526	0,000	0,090	0,000
Somatório	5,161	6,517	-	3,002	6,490	9,327

Tabela 13. Percentual de radioatividade total recuperada (%), peso (g) e radioatividade específica (% g⁻¹) do solo determinados nas camadas 0-23cm dos microcosmos controle tratado com ¹⁴C-atrazina.

Camada	Radioatividade (%)	Peso (g)	Radioatividade específica (% g⁻¹)
0-5cm	-	-	-
5-10cm	0,66	421	0,002
10-15cm	8,62	524	0,016
15-20cm	76,94	724	0,106
20-23cm	10,54	260	0,041
Somatório	96,77	1929	-

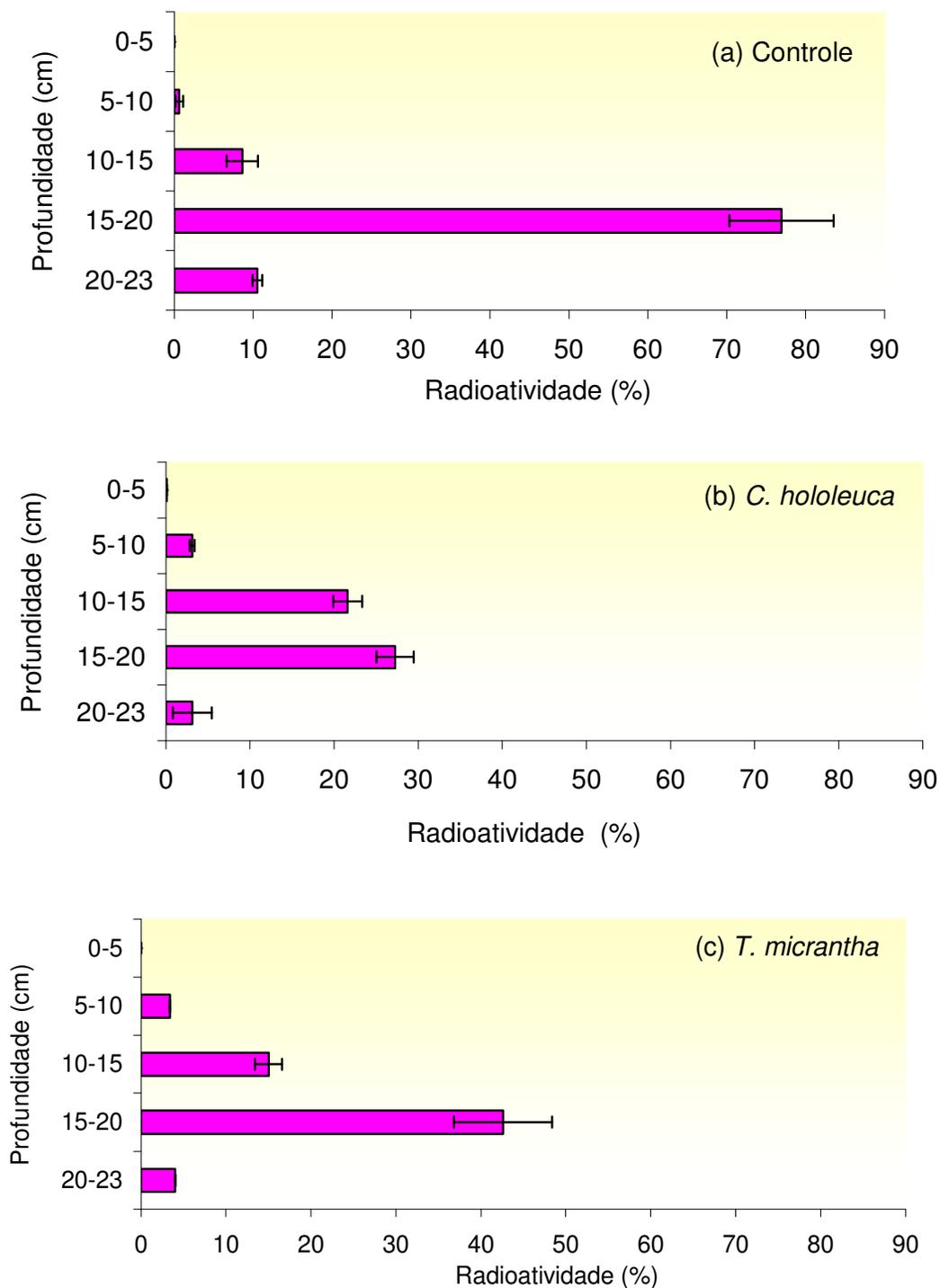


Figura 28. Distribuição média de radioatividade recuperada (%) de porções de solo, rizosfera, raízes grossas e finas coletadas de diferentes profundidades (0-25cm) dos microcosmos tratados com ^{14}C -atrazina, contendo (a) controle sem planta; (b) *C. hololeuca* e (c) *T. micrantha*. As barras verticais são o erro padrão.

4.4.4. Distribuição de radioatividade nas partes aéreas das plantas nos microcosmos contaminados com ^{14}C -atrazina

Foi observado que as plantas de *C. hololeuca* e de *T. micrantha* foram capazes de translocar e acumular respectivamente $29 \pm 9\%$ e $13 \pm 3\%$ do ^{14}C -atrazina aplicado e acumulá-los, principalmente em suas folhas (Figura 27). As folhas de *C. hololeuca* apresentaram o triplo de radioatividade em relação aos seus caules (Figura 27). A *T. micrantha* apresentou 2% a mais de radioatividade em suas folhas quando comparado ao seu caule, apesar de apresentar maior peso do seu caule, de 10 g, quando comparada a 1 g das suas folhas.

Folhas da *C. hololeuca* apresentaram radioatividade cinco vezes maior que as da *T. micrantha* e o peso de suas folhas também foi cerca de 40% maior que a *T. micrantha* (Figura 27). A radioatividade detectada no caule da *T. micrantha* foi 1% superior ao da *C. hololeuca*, apesar de apresentar massa (g) cerca de três vezes inferior ao da *C. hololeuca* (Figura 27).

4.4.5. Distribuição da radioatividade específica nos microcosmos com planta

Para *C. hololeuca* a radioatividade específica total no solo, rizosfera, raízes finas e grossas foi máxima na camada de 15-20cm, com os respectivos valores de 0,037, 0,053, 2,627, 2,434 % g^{-1} (Tabela 12).

Na *T. micrantha* a radioatividade específica no solo, com 0,045% g^{-1} e raízes finas, com 6,148 % g^{-1} , foi máxima na camada de 15-20cm. Na rizosfera os valores máximos ocorreram na camada de aplicação do ^{14}C -atrazina, 20-23cm, com valor de

0,577 % g⁻¹ e para as raízes grossas ocorreram os maiores valores na camada de 10-15 cm com valor de 4,687 % g⁻¹.

A radioatividade específica média (% g⁻¹) para ambas as espécies aumenta na seguinte ordem: solo, rizosfera, raízes grossas e finas (Figura 29), os valores reduzem no caule, a partir do qual ganham aumento no valor da radioatividade específica nas folhas (Figura 29). Esses dados apresentam-se em ordem inversa aos dos valores absolutos de radioatividade, onde a maior quantidade de radioatividade ocorre no solo e nas raízes (Figura 27).

Ambas as espécies tiveram maior acúmulo de radioatividade específica na parte radicular principalmente nas raízes grossas da *T. micrantha* (Figura 29). A *C. hololeuca* também apresentou maior acúmulo de radioatividade específica em suas raízes, com maior acúmulo nas raízes finas (Figura 29).

A parte radicular da *T. micrantha* apresentou valor médio 3,7 vezes superior ao da parte aérea da planta, acumulando preferencialmente nas raízes grossas. No caso de microcosmos com *C. hololeuca* houve a distribuição preferencial também nas raízes, mas nestas plantas a maior detecção de radioatividade ocorreu nas raízes finas (Figura 28).

A parte aérea das duas espécies estudadas apresentaram valor da radioatividade específica cerca de 5 vezes superior ao do caule (Figura 28). As folhas de ambas as espécies estudadas apresentaram maior radioatividade específica que o caule (Figura 29).

O valor da radioatividade específica nas plantas de *T. micrantha* foi de cerca de 30 % g⁻¹, sendo maior que para *C. hololeuca*, que foi de 13 % g⁻¹ (Figura 29).

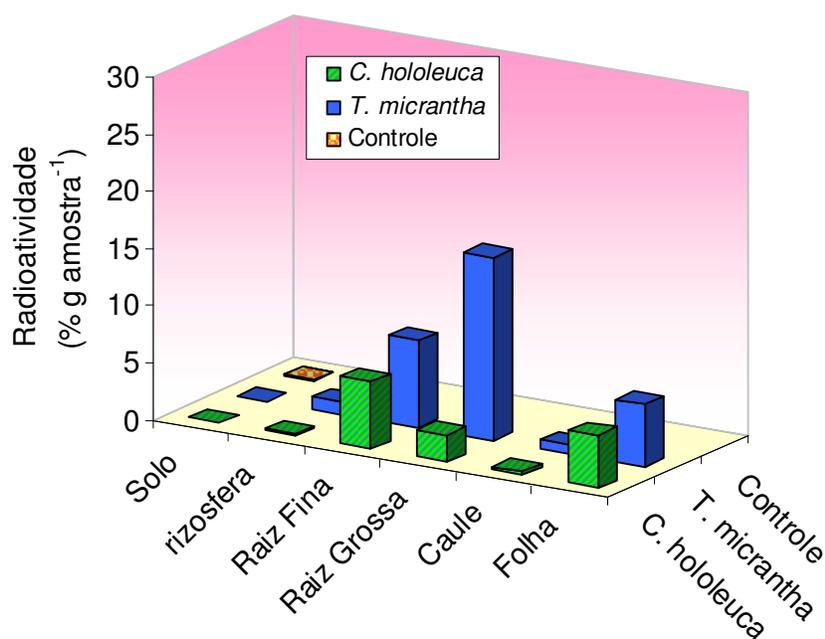


Figura 29. Distribuição média da radioatividade específica (% aplicado g amostra⁻¹) em diferentes partes dos microcosmos contaminados com ¹⁴C-atrazina contendo *C. hololeuca*, *T. micrantha* e controle (sem planta) como solo, rizosfera, raízes finas e grossas, caule e folha.

4.5. MICROBIOTA SOLO DOS MICROCOSMOS

4.5.1. Microbiota do solo com atrazina

A quantidade de bactérias cultiváveis não sofreu alteração com a adição de NPK e calcário. A população bacteriana se manteve constante de 4×10^4 para 3×10^4 UFC g solo⁻¹ (Tabela 14). Maiores valores foram observados em microcosmos adubados em presença das espécies de *C. hololeuca* e *T. micrantha*.

Nos experimentos em microcosmos com e sem planta contaminados com ¹⁴C-atrazina, houve estímulo ao crescimento dos fungos apresentando valores

semelhantes entre 7 a 9×10^3 UFC g solo⁻¹. A adição de NPK + calcário estimulou o crescimento fúngico de 2×10^5 para 2×10^8 UFC g solo⁻¹ (Tabela 14).

Tabela 14. Contagem de bactérias e fungos presentes (UFC g⁻¹ solo) em solo provenientes da PUC-Rio adicionados de NPK (4-14-8), calcário e de solos provenientes de microcosmos contendo *C. hololeuca*, *T. micrantha* e sem planta (controle) tratados com e sem atrazina (300g i.a. ha⁻¹) (n=3).

Tratamento	Bactérias	Fungos
Solo não-rizosférico	4×10^4	2×10^5
Solo não-rizosférico +NPK+calcário	5×10^4	2×10^8
Solo não-rizosférico +NPK+calcário+ atrazina	3×10^5	7×10^3
Solo rizosférico+NPK+calcário+ <i>C. hololeuca</i>	4×10^6	1×10^2
Solo rizosférico +NPK+calcário+ atrazina+ <i>C. hololeuca</i>	2×10^6	7×10^3
Solo rizosférico +NPK+calcário+ <i>T. micrantha</i>	2×10^7	1×10^3
Solo rizosférico +NPK+calcário+ atrazina+ <i>T. micrantha</i>	2×10^6	9×10^3

5. DISCUSSÃO

5.1. ESTUDO DE CAMPO NO TRANSECTO CANA-DE-AÇÚCAR ATÉ A MATA CILIAR

No estudo de campo foram utilizados os herbicidas tebuthiuron e a formulação mista de diuron + hexazinone. A mistura havia sido aplicada também em anos anteriores aos das coletas, enquanto o tebuthiuron foi aplicado somente em 2003. Para os herbicidas diuron e hexazinone, tanto a mata ciliar jovem quanto antiga mostrou ser uma barreira efetiva de água de superfície. As maiores concentrações destes dois produtos na mata ciliar jovem foram observadas abaixo de 40 cm, região aonde são encontradas menores densidades de raízes deste tipo de mata. Ao contrário com o tebuthiuron, foram detectadas maiores concentrações na mata ciliar antiga do que na jovem principalmente das camadas superficiais até 80 cm de profundidade.

A questão que se coloca é como esta contaminação ocorreu, tendo em vista de tratar-se de moléculas distintas e que não foram aplicadas diretamente na mata.

Analisaremos primeiro as possibilidades de contaminação pelo transporte das águas. Os parâmetros físico-químicos que implicam na maior mobilidade dos contaminantes são a solubilidade do produto em água e seu coeficiente de adsorção em solos (FRANCIOSO, BAK e SEQUI, 1992). Os produtos apresentam solubilidade em água na seguinte ordem decrescente: hexazinone, tebuthiuron e por fim diuron. A capacidade de adsorção às partículas de solo apresenta a ordem inversa da solubilidade, partindo da maior adsorção pelo diuron seguido pelo tebuthiuron e pelo

hexazinone (Tabela 1.). Somente estes parâmetros teóricos não explicam os resultados obtidos.

O diuron e hexazinone sofrem lixiviação na área com cana-de-açúcar, resultando uma maior contaminação no perfil do solo (Figura 18-a), fato observado principalmente em 2004 em que há maior concentração de resíduos nas camadas mais profundas do perfil (OLIVEIRA, KOSKINEN e FERREIRA, 2001, ZHU e LI, 2002). Na mata ciliar jovem e antiga, as maiores concentrações de hexazinone foram encontradas nas camadas mais profundas, com solo saturado, sugerindo que a contaminação se dê a partir do lençol d'água.

No caso do tebuthiuron, a sua distribuição na mata ciliar antiga é distinta das demais moléculas, porém nas camadas mais profundas também há um aumento, provavelmente devido à contaminação movida pelo lençol d'água, pois hexazinone e tebuthiuron são altamente solúveis em água (Tabela 1.). Apesar do valor aplicado de diuron ser cerca de 3,5 vezes superior ao do hexazinone, o diuron apresentou valores inferiores aos do hexazinone nas amostras coletadas. Este fato pode ser decorrente da transformação deste herbicida em metabólitos, que não foram determinados neste trabalho. Estudos comprovam que o diuron é degradado total ou parcialmente na rizosfera de cana-de-açúcar (LUCHINI et al., 1993, MUSUMECI et al., 1995). Na mata ciliar jovem a distribuição de diuron não acompanhou a do hexazinone, apesar de terem sido aplicados conjuntamente, na mesma formulação. Isto se deve possivelmente pelo alto nível de degradação do diuron.

Os valores de hexazinone encontrados no transecto, em 2004, foram equivalentes tanto na área de cana-de-açúcar, quanto na mata ciliar jovem, ocorrendo uma redução drástica de 90% do valor total deste herbicida na mata ciliar antiga. A menor concentração do hexazinone na mata ciliar antiga pode ter diversas

explicações; uma delas sendo sua maior retenção no deslocamento pela área de cana-de-açúcar e mata ciliar jovem, funcionando como filtro, chegando a menores concentrações para mata ciliar antiga. No solo saturado da mata ciliar antiga ocorre o movimento das águas em direção aos rios, carreando contaminantes das áreas adjacentes. Outra possibilidade seria uma maior biodegradação, formação de resíduos fortemente ligados e por fim maior absorção pelas árvores da mata ciliar antiga de maior porte e por fim a coexistência de alguns desses fatores simultaneamente. A mata ciliar pode funcionar como uma barreira biológica de retenção de pesticidas até aonde atinge as suas raízes.

A alta contaminação da mata ciliar antiga por tebuthiuron num perfil de distribuição de cima para baixo não pode ser explicada pelo movimento do lençol d'água. Assim discutiremos a possibilidade de contaminação pela via do "runoff" ou do escoamento superficial, pois havia uma barreira física como as bordas do carreador (estrada de escoamento de produção em área de cana-de-açúcar). Na literatura, o "runoff", em geral, não ultrapassa o valor de 5% do pesticida aplicado no campo agrícola (PINHO et al., 2005; CORREIA e LANGENBACH, 2006) e este valor, mesmo baixo, decresce quanto maior for o trajeto entre o local de aplicação e o local de observação (LUDOVICE, ROSTON e TEIXEIRA, 2003). Como a mata ciliar antiga apresentou concentrações cerca de três vezes maiores que a da mata ciliar jovem, que está adjacente a área de aplicação, o "runoff" não pode ser a principal causa do processo de contaminação para tebuthiuron na área não-alvo, pois há uma barreira física que impede este movimento de dispersão de resíduos.

A distribuição do tebuthiuron no perfil do solo da mata ciliar antiga, com concentrações decrescentes da superfície para camadas mais profundas do solo indica que sua entrada deve ter ocorrido pela superfície do solo (Figura 10.). Esta

maior concentração no perfil do solo é um forte indício de que a contaminação ocorre por via aérea. Uma das possibilidades a serem considerada é a dispersão como a deriva no momento da aplicação (drift) e a volatilização. O “drift” é condicionado principalmente pela pressão de vapor da molécula, pressão de aplicação nos bicos, o vento presente e a gravidade imprimindo um movimento descendente. As condições de aplicação das moléculas, em particular a pressão nos bicos de aplicação, foram as mesmas e isto não explica o comportamento tão distinto do tebuthiuron das demais moléculas na mata ciliar antiga, haja vista que os parâmetros físico-químicos não apresentam diferenças que justificassem o “drift”. O vento ocorrido do ano de 2003 e 2004 nos dias das aplicações não ultrapassou 5 m s^{-1} . Se tivesse ocorrido um “drift” expressivo do contaminante, o solo da mata ciliar jovem deveria apresentar altos valores de tebuthiuron por estar mais próxima à cana-de-açúcar do que a mata ciliar antiga. Com isso o “drift” não parece ser a principal causa da maior contaminação da mata ciliar antiga pelo tebuthiuron, uma vez que este diminui a medida que se aumenta a distância em relação ao ponto de aplicação (CARLSEN, SPLÜD, SVENSMARK, 2006).

A outra alternativa seria o processo de volatilização. Neste processo a tendência é das moléculas ascenderem para o ar e se movimentarem para outras áreas sob a ação dos ventos (No caso, o dossel de maior porte fica mais exposto à contaminação, como ocorre com a mata ciliar antiga em relação a jovem). Os fatores determinantes da volatilização são as características das moléculas como a pressão de vapor e a capacidade de adsorção ao solo, as condições mecânicas de aplicação e as condições climáticas. Como o tebuthiuron não se distingue dos outros dois herbicidas nem pela sua pressão de vapor ou pela sua capacidade de adsorção, esses fatores não explicariam os maiores valores de volatilização desta

molécula. O fato das condições mecânicas de aplicação, tais como a pressão nos bicos de pulverização, terem sido as mesmas, aponta para a conclusão de que este não foi o fator determinante.

As condições climáticas como chuvas e temperatura na aplicação do tebuthiuron no ano de 2003 foram distinta do período de aplicação do hexazinone e diuron no ano de 2004 (SPENCER, 1987). O volume de chuvas no período após a aplicação do pesticida até a coleta das amostras, em 2004, foi 2,35 vezes menor que o aplicado no tebuthiuron no ano anterior. Em períodos mais secos o solo fica menos saturado, favorecendo a maior adsorção da molécula às suas partículas, que reduzem a sua mobilidade no ambiente, através de processos como a volatilização. Períodos chuvosos provocam maior saturação do solo reduzindo a adsorção dos pesticidas no solo, como ocorreu no período após a aplicação do tebuthiuron. Desta forma, o pesticida fica disperso na solução do solo e é mais facilmente volatilizado (SPENCER, 1987; FAY e SILVA, 2004). Estudos sobre o processo de volatilização ressaltam que a maior taxa de volatilização de pesticidas está diretamente relacionada à adição de água ao solo (CORREIA et al., 2007). Isto pelo fato do contaminante estar dissolvido na solução do solo e sempre próximo à superfície do solo, de forma que, com a evaporação da água do solo, e a água carrega consigo o contaminante, que também se volatiliza e se dispersa de acordo com o vento, pressão atmosférica, umidade existente. A associação da umidade do solo com o calor favoreceu a maior volatilização, como observado na variação de temperatura diurna, em que a volatilização foi maior no período mais quente do dia em relação ao período mais frio (GOTFELD, 1984, VOUTSAS et al., 2005). Segundo a Lei de Henry, a partição relativa do poluente entre a fase líquida e gasosa é influenciada pela temperatura (PAASIVIRTA et al., 1999). As condições de aplicação do

tebuthiuron comparadas às do diuron e hexazinone foram favoráveis à volatilização do tebuthiuron, pelo alto índice pluviométrico e maiores temperaturas.

O tebuthiuron volatilizado pode se depositar sobre as folhas. Assim, as matas, de forma geral, e as matas ciliares, em específico, podem funcionar como filtros de retenção de contaminantes dispersos no ar carregados pelo vento e provenientes de grande áreas agrícolas vizinhas ou não. Como o período entre a aplicação do tebuthiuron e a amostragem foi de apenas dois meses, não ocorreu uma senescência expressiva que explicasse a contaminação do solo pelos restos de folhas. O tebuthiuron, por ser uma molécula hidrofílica, possivelmente foi pouco adsorvido nas ceras superficiais das folhas, ficando assim expostos à remoção pelas chuvas, atingindo a superfície do solo, como observado nas análises do solo.

Analisando alguns aspectos da capacidade de biodegradação do solo observa-se que na camada superficial da mata ciliar antiga há um maior teor de C.O., biomassa medida em DHA e contagem de UFC de bactérias e de fungos, em relação às demais áreas do transecto. O valor da biomassa da mata ciliar jovem foi semelhante a da cana-de-açúcar, por ter sido uma antiga área de cana. Esses parâmetros são importantes na biodegradação do diuron e hexazinone, mas não tem influência maior sobre a taxa de biodegradação do tebuthiuron, conforme experimento em microcosmos realizado em nosso laboratório (SPADOTTO, GOMES, HORNSBY, 2002).

5.2. FITORREMEDIAÇÃO DE PESTICIDAS

O pesticida, neste caso, radiomarcado, quando aplicado na superfície dos solos, sofre forte adsorção, reduzindo a biodisponibilidade, tanto para microrganismos, quanto para a planta. Para evitar isto, os pesticidas foram aplicados

na parte mais profunda dos microcosmos, aumentando-se com isso o contraste no estudo da dinâmica de tebuthiuron e atrazina sob influência da planta. Esta metodologia experimental tem, como outro aspecto importante, a simulação do lençol d'água pelo fornecimento de água na parte inferior do microcosmo, condição para qual não encontramos informações na literatura a fim de comparações.

A *Cecropia hololeuca* apresentou grande potencial de ser um fitorremediador dos pesticidas estudados, atendendo às condições básicas de sobrevivência aos pesticidas utilizados. A *Trema micrantha* pode ser uma bioindicadora de contaminação de lençóis d'água por pesticidas, por ter se mostrado sensível quanto a sua sobrevivência em presença dos pesticidas hexazinone e tebuthiuron. A radioatividade total de ^{14}C -tebuthiuron e de ^{14}C -atrazina detectada na *Cecropia hololeuca* foi de 66% e 45%, respectivamente, com valores superiores aos da *Trema micranth*, que foi de 30% e 35%, respectivamente. A maior radioatividade específica total do ^{14}C -tebuthiuron na *Cecropia hololeuca* em relação a *Trema micrantha* deve-se à menor capacidade de sobrevivência desta última ao pesticida, e por isto não viabiliza um processo contínuo de bioacumulação. Isto, no entanto, não ocorre com a ^{14}C -atrazina, com a qual a *Trema micrantha* sobrevive na concentração utilizada e com isso, ocorre uma maior bioacumulação, comparado ao tebuthiuron. Na distribuição da radioatividade de ^{14}C -atrazina chama a atenção a maior retenção nas raízes das espécies estudadas, principalmente na *Trema micrantha*, ficando todas as outras partes da planta, inclusive as folhas, com valores inferiores da mesma. Tal fato não ocorre na *Cecropia hololeuca* com o tebuthiuron, na qual a capacidade de retenção nas raízes é muito inferior, permitindo uma acumulação maior nas folhas. Isto sugere que na *Cecropia hololeuca* a acumulação do tebuthiuron é maior do que a da atrazina, possivelmente devido a maior solubilidade

do tebuthiuron em água ($2.500\mu\text{g g}^{-1}$) quando comparado a da atrazina ($33\mu\text{g g}^{-1}$), garantindo seu maior deslocamento. Pois a atrazina é mais lipossolúvel que o tebuthiuron.

O deslocamento destes pesticidas das camadas mais profundas para as mais superficiais do microcosmo pode ser explicado pela evapotranspiração das plantas, haja vista que o montante total de resíduos no solo em microcosmos com planta é menor que o mesmo sem plantas. Esse processo inicia-se com a fitoextração, concentrando o contaminante na porção do solo mais próxima à raiz, como observado na Figura 10, assim como observado anteriormente por outros autores. (BARBOSA, 2001). Os valores da radioatividade relativos ao ^{14}C -tebuthiuron foram um pouco maiores na rizosfera do que no solo não-rizosférico (“bulk-soil”), tanto em *Cecropia hololeuca* quanto para *Trema micrantha*, e bem maior para ^{14}C -atrazina, o que caracteriza um diferencial no comportamento das moléculas no ambiente.

A principal responsável pela mineralização mais intensa dos pesticidas estudados é a rizosfera, na qual a população microbiana é maior que a do solo não-rizosférico. Enquanto que em presença de atrazina o aumento da população microbiana na rizosfera é de até dez vezes, com tebuthiuron este número não chega a se duplicar, com valores finais abaixo de 1% da radioatividade aplicada, confirmando a baixa taxa de biodegradação do tebuthiuron (MANDELBAUM et al., 2002, MATALLO et al., 2003, CORREIA et al., 2007).

O solo utilizado, apesar de ter baixo teor de carbono, possui uma população microbiana oligotrófica com alta capacidade de utilizar várias moléculas orgânicas como fonte de carbono. A presença das espécies utilizadas neste solo adubado estimulou a população bacteriana em relação à fúngica. No entanto, a adição de atrazina suprimiu o crescimento bacteriano, enquanto estimulou um pouco a

população fúngica . Estes fungos podem estar contribuindo para mineralização do pesticida em sistema de microcosmos.

O montante do $^{14}\text{C-CO}_2$ capturado nos sistemas de fitorremediação foi superior ao citado por Correia e Langenbach (2006), que foi de 0,25% do aplicado, pois estes aplicaram a ^{14}C -atrazina na parte superior dos microcosmos em solos indeformados. O fato de termos utilizado o mesmo solo, mas peneirado e homogeneizado, com a aplicação do pesticida na parte inferior dos mesmos, reduziu a adsorção do pesticida ao solo aumentando a biodisponibilidade do pesticida e por decorrência viabilizando o maior acesso das enzimas e da microbiota do solo aos pesticidas, aumentando sua taxa de degradação.

Na natureza, o que se pode esperar é que de um modo geral as taxas de mineralização sejam mais baixas devido às condições continuamente variáveis de umidade e temperatura do solo, condição esta controlada nos microcosmos representando uma condição artificial de deformação (MANDELBAUM et al., 2002). Há muitos trabalhos sobre a mineralização de pesticidas em plantas de uso agrícola e pouco se têm estudado quanto a capacidade de biodegradação da microbiota rizosférica de espécies de mata ciliar de área tropical (Langenbach et al., 2000). Com a abordagem metodológica utilizada não foi possível separar a participação da rizosfera e do bulk-soil no processo de mineralização.

A maior concentração de radioatividade relativa na raiz não está associada a maior biomassa vegetal, como se imaginava, e sim a radioatividade presente no solo. Nas espécies estudadas, a distribuição da radioatividade relativa de ^{14}C -tebuthiuron e de ^{14}C -atrazina é crescente a partir do solo não-rizosférico em direção a rizosfera e às raízes, decrescendo no caule e aumentando novamente nas folhas. Isto mostra que o caule parece ser um sítio de passagem dos pesticidas. A

radioatividade de ^{14}C -atrazina concentrou-se nas raízes, talvez por ser mais lipofílica. Com isso o xenobionte radioativo poderia se adsorver um pouco, principalmente nas raízes grossas da *Trema micrantha* micrantha, provavelmente por serem por terem uma composição mais lipídica. A concentração de ^{14}C -tebuthiuron utilizada inibiu o desenvolvimento de raízes grossas tanto em *Cecropia hololeuca* quanto em *Trema micrantha*, pois o pesticida afeta diretamente no metabolismo e síntese de lipídios.

No caso do ^{14}C -tebuthiuron pode-se comprovar que as espécies estudadas foram capazes de absorver o pesticida e translocá-lo até as folhas. Quando estas senescem devido à alta concentração do herbicida, caem e há uma contaminação da superfície do solo. Na *Trema micrantha*, o fluxo ascendente do tebuthiuron resultou na morte das plantas. A continuidade do fluxo ascendente do pesticida na *Cecropia hololeuca* aumenta o teor de resíduos nas folhas, que vão caindo, que, após certo período de tempo, se reduz nas folhas mais novas, não gerando mais clorose e senescência precoce. A perda das folhas aparenta ser um mecanismo de defesa da planta no processo de desintoxicação da mesma, até que não haja mais tebuthiuron disponível na solução do solo. Com a queda das folhas ocorre a degradação das mesmas, com a liberação dos resíduos para o ambiente e reinicia-se o processo de distribuição no solo e absorção pela planta.

5.3. MATAS CILIARES COMO BARREIRAS AOS AGROTÓXICOS

A concepção de que as matas ciliares funcionam como barreiras aos agroquímicos aplicados próximos a ela, encontra resultados contraditórios, como a filtração dos contaminantes do lençol d'água ou, por outro lado, a introdução de

contaminantes via aérea pelo dossel. Os dados da literatura, que mostram que a barreira de mata ciliar atuaria como um empecilho ao escoamento superficial pela liteira (PINHO et al., 2004) não encontram sustentação no estudo de caso apresentado (LUDOVICE, ROSTON e TEIXEIRA, 2003). A distribuição superficial dos resíduos no transecto não sugerem que isso seja um processo intenso de escoamento superficial neste caso, o que não significa que não seja uma barreira significativa na maioria dos casos. A infiltração da água promove a lixiviação do pesticida até os lençóis d'água, com o possível deslocamento lateral para áreas vizinhas. Essa lixiviação dos contaminantes encontra sua barreira não só na sua adsorção às partículas de solo, filtrando o material pelo percurso, como também pela forte adsorção das moléculas dos pesticidas à biomassa vegetal, conforme observado no nosso experimento em microcosmos. Em 70 dias houve absorção de cerca de 50% do total pesticida aplicado em sistema simulando um lençol d'água contaminado. A distribuição dos herbicidas utilizados neste trabalho mostrou que os resíduos são encontrados mais nas raízes do que no solo e sobretudo nas folhas de *Cecropia hololeuca* e *Trema micrantha*. Nessa dinâmica podem ocorrer processos relacionados a uma fitoestabilização, fitodegradação e fitovolatilização, mitigadores da contaminação e que precisam ser mais estudados.

Se a literatura mostra que as gramíneas funcionam como protetores da contaminação de águas de superfície ("buffer strip"), no Brasil temos a Legislação, que protege as matas ciliares e acredita-se que, pela dinâmica da biomassa vegetal, seja capaz de mitigar a contaminação introduzida no dossel. A pesquisa apresentada levanta desafios que envolvem as possíveis resultantes entre a contaminação via aérea e a capacidade da biomassa vegetal em dissipar esta contaminação. A outra questão seria identificar as espécies vegetais com maior

capacidade de remediação, que teriam, como desdobramento biotecnológico, a sua utilização mais intensa em recomposição de matas.

6. CONCLUSÕES

- ✚ As matas ciliares são potenciais fitorremediadoras de pesticidas presentes tanto em solo, água de sub-solo como também no ar.
- ✚ A *Cecropia hololeuca* mostrou ser uma planta fitorremediadora de tebuthiuron, diuron e hexazinone, por tolerar as altas doses deste produto presente no solo.
- ✚ A *Trema micrantha* é uma possível bioindicadora de contaminação de solo e água de sub-solo por resíduos dos pesticidas citados acima.
- ✚ A natureza genética das espécies estudadas influem na distribuição dos resíduos acumulados em sua biomassa.
- ✚ A natureza química da molécula do pesticida é um determinante do seu potencial de fitorremediação.
- ✚ Fatores climáticos como precipitação, temperatura ambiente, insolação, ventos entre outros influem nos diferentes processos de distribuição de contaminantes no ambiente.
- ✚ A presença de plantas no solo favorecem a microbiota indígena permitindo grande aumento de mineralização em moléculas biodegradáveis.

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

Este trabalho permitiu um maior esclarecimento sobre a dinâmica de distribuição dos pesticidas no ambiente, ambiente este que é muito mais dinâmico que o conhecimento humano. É necessário realizar ainda muitos estudos para compreender melhor o papel da mata ciliar em áreas contaminadas, próximas às áreas contaminadas ou situadas próximas à área agrícola e contaminadas por pesticidas, bem como o impacto destes resíduos de pesticidas presentes na mata, que possam afetar a fauna presente na mata, principalmente aves, animais e insetos que se alimentam de partes das plantas já estudadas na tese. Faz-se necessário estudar o nível de degradação dos pesticidas dentro das diferentes partes da planta e promovido pelos diversos processos de fitorremediação de pesticidas. Para isso é necessário também estudar o potencial de adsorção e dessorção dos pesticidas pelas diferentes partes da planta, principalmente a parte aérea como as folhas; a evapotranspiração e potencial de crescimento da *C. hololeuca* e *T. micrantha*, que são afetados pela contaminação de pesticidas e os mecanismos de volatilização de pesticidas em ambientes como cana-de-açúcar e mata ciliar. Ainda faltam estudos quanto à capacidade de filtração dos contaminantes dispersos na atmosfera, pelas matas ciliares, bem como estudar o nível de contaminação por pesticidas dispersos na atmosfera durante e após a aplicação dos mesmos. Expandir os estudos quanto ao potencial de biorremediação para outras espécies vegetais, como as de crescimento secundário, como a *Calophyllum brasiliensis*, que não foi realizado em nosso trabalho para que possamos enfim registrar mais resultados em pesquisas sobre a fitorremediação de pesticidas pela mata ciliar, área cujo o conhecimento ainda é muito incipiente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAM, G.; DUNCAN, H. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 33, p. 943-951, 2001.

ALGORTA, I.; GARBISU, C. Phytoremediation of organic contaminants in soils. **Bioresource Technology**, v. 79, n. 3, p.273-277, 2001.

AMORI, I.L. de; FERREIRA, R. A.; DAVIDE, A. C.; CHAVES, M. M. F. Aspectos morfológicos de plântulas e mudas de trema. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n.1, p. 86-91, 2006.

ANDERSON, T.A.; WALTON, B. Comparative fate of (C¹⁴) trichloroethylene in the root zone of plants from a former solvent disposal site. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 14, p. 2041-2047, 1995.

ANDREA, M. M., PETTINELLI, A. Efeito de aplicações de pesticidas sobre a biomassa e a respiração de microrganismos de solos. **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v. 67, p. 223-228, 2000.

ANG, E. L.; ZHAO, H.; OBBARD, J. P. Recent advances in the bioremediation of persistent organic pollutants via biomolecular engineering. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 37, n. 5, p. 487-496, 2005.

ARGEMI, F., CIANNI, N., PORTA, A. Disrupción endócrina: perspectivas ambientales y salud pública. **Toxicologia ambiental**, v. 39, n. 3, p. 291-300, 2005.

ARTHUR, E.L.; PERKOVISCH, B. S.; ANDERSON, T. A.; COAST, J. R. Degradation of an atrazine and metolachlor herbicide mixture in pesticide-contaminated soils from two agrochemical dealerships in Iowa. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 119; p. 75–90, 2000.

ASSAF, N.A.; TURCO, R.F. Accelerated biodegradation of atrazine by a consortium is possible in culture and soil. **Biodegradation**, v. 5, p. 29-35, 1994.

ATIENZA, J.; TABERNERO, M. T.; ÁLVAREZ-BENEDÍ, J.; SANS, M. Volatilization of triallate affected by soil texture and air velocity. **Chemosphere**, v. 42, p. 257-261, 2001.

BANKSTON, J.L.; SOBA, D.L.; KOMOS, A.T.; DWYER, D.F. Degradation of trichloroethylene in wetland microcosms containing broad-leaved cattail and eastern cottonwood. **Water Research**, v. 36, p. 1539-1546, 2002.

BARBER, D. A., MARTIN, J. K. The release of organic substances by cereal roots into soil. **New Phytology**, v. 76, p. 69-80, 1976.

BARRIUSO, E.; HAUAT, S. Rapid mineralization of the s-triazine ring of atrazine in soils in relation to soil management. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 28, n. 10/11, p. 1341-1348, 1996.

BENDING, G. D.; FRILOUX, M.; WALKER, A. Degradation of contrasting pesticides by white rot fungi and its relationship with ligninolytic potential. **FEMS Microbiology Letters**. v.212, p. 59-63, 2002.

BERRILL, M.; BERTRAN, S.; MCGILLIVRAY, L.; KOLOHON, M.; PAULI, B. Effects of Low Concentrations of Forest-Use Pesticides on Frog Embryos and Tadpoles. **Environmental Toxicology Chemistry**, v. 13, n. 4, p. 657-664, 1994.

BLANCO, H. G. Destino, comportamento e resíduos dos herbicidas no solo. **Biológico**, v45, n.11/12, p.225-248, 1979.

BOULDIN, J. L.; FARRIS, J. L.; MOORE, M. T., SMITH, S. Jr.; COOPER, C. M. Hydroponic uptake of atrazine and lambda-cyhalothrin in *Juncus effuses* and *Ludwigia peploides*. **Chemosphere**, v. 65, p. 1049–1057, 2006.

BUMPUS, J. A., TIEN, M., WRIGHT, D. W., AUST, S. D. Oxidation of persistent environmental pollutants by a white-rot fungus. **Science**, v. 228, p. 1434-1436.

CALDERÓN, M. J.; ORTEGA, M.; HERMOSÍN, M. C.; GARCÍA-BAUDÍN, J. CORNEJO, J. Hexazinone and simazine dissipation in forestry field nurseries. **Chemosphere**, v. 54, p. 1-8, 2004.

CAPRIEL, P.; HAISCH, A.; KHAN, S. U. Distribution and nature of bound (nonextractable) residues of atrazine in a mineral soil nine years after the herbicide application. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 33, p. 567-569, 1985.

CARLSEN, S.C.K.; SPLÜD, N. H.; SVENWMARK, B. Drift of 10 herbicides after tractor spray application 2. Primary drift. **Chemosphere**, v. 64, p. 778-786, 2006.

CARSON, R. Silent Spring. Boston: Houghton Mifflin Company, 1962.

CASTRO, C.M.B. Perturbadores endócrinos ambientais: uma questão a ser discutida. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.7, n. 1/ 2, p. 4-5, 2002.

CEY, E.E.; RUDOLPH, D. L.; ARAVENA, R.; PARKIN, G. Role of the riparian zone in controlling the distribution and fate of agricultural nitrogen near a small stream insouthern Ontario. **Journal of Contaminant hydrology**, v. 37, p. 45-67, 1999.

CERDEIRA, A. L.; SANTOS, N. A. G.; UETA, J; SHUHAMA, I.K.; PESSOA, M. C.; SMITH, S. Jr., LANCHOTE, V. L. Atrazine in water and biodegradation in a recharge area of Guarany aquifer in Brazil. **Bulletin Environmental Contamination Toxicology**, v. 73, n. 1, p. 117-124, 2004.

CERDEIRA, A. L.; DORNELAS-DE SOUZA, M.; BOLONHEZI, D.; QUEIROZ, S.CN.; FERRACINI, V. L.; LIGO, M. A. V.; PESSOA, M. C. P. Y.; SMITH, S. Effects of sugar cane mechanical harvesting followed by no-tillage crop systems on leaching of triazine herbicides in Brazil. **Bulletin Environmental Contamination Toxicology**, v. 75, p. 805-812, 2005.

CERDEIRA, A. L.; SANTOS, N. A. G.; PESSOA, M. C. P. Y.; GOMES, M. A. F; LANCHOTE, V. L. Herbicide leaching on a recharge area of the Guarany Aquifer in Brazil. **Journal of Environmental Science and Health, part B**, v. 40, p. 159-165, 2005.

CHAMEL, A., VITTON, N. Sorption and diffusion of ¹⁴C-atrazine through isolated plant cuticles. **Chemosphere**, v. 33, n. 6, p. 995-1003, 1996.

CHANG, S.-W.; LEE, S.-J.; JE, C.-H. Phytoremediation of atrazine by Poplar trees: toxicity, uptake and transformation. **Journal of Environmental Science and Health Part B**, v. 40, p.801-81, 2005.

COCHRAN, R.C.; KISHIYAMA, J., ALDOUS, C.; CARR, W.C. Jr.; PFEIFER, K.F. Chorpyrifos: Hazard assessment base don a review of the effects of short-term and long-term exposure in animals and humans. **Food and Chemical Toxicology**, v.33, n.2, p.165-172, 1995.

CORREIA, F.V.; LANGENBACH, T. Dinâmica da distribuição e degradação de atrazina em Argissolo Vermelho Amarelo sob condições de clima tropical úmida. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, p. 183-192. 2006.

CORSEUIL, H. X.; MORENO, F. N. Fitorremediação de aquíferos contaminados por gasolina. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 6, n. 1 e 2, p. 1-7, 2001.

CRISP, T.M.; CLEGG, E.D.; COOPER, R.L.; WOOD, W.R.; ANDERSON, D.G.; BAETCKE, K.; HOFFMANN, J.L.; MORROW, M.S.; RODIER, D.J.; SCHAEFFER, J.E.; TOUART, L.W.; ZEEMAN, M.G.; PATE, Y.M. Environmental endocrine disruption: an effects assessment and analysis. **Environmental Health Perspectives**, v.1, s.1, p. 11-56, 1998.

DAGLEY, S. Biodegradation and biotransformation of pesticides in the earth's carbon cycle. **Residue Reviews**, v.85, p. 127-137, 1983.

DAHLGREN, J.; TAKHAR, H.; SCHECTER, A.; SCHMIDT, R.; HORSACK, R.; PAEPKE, O.; WARSHAW, R.; LEE, A.; ANDERSON-MAHONEY, P. Residential and biological exposure assessment of chemicals from a wood treatment plant. **Chemosphere**, 2007. Disponível em: www.sciencedirect.com. Acesso em: 05 fev. 2007.

DAM, v. R. A.; CAMILLERI, C.; BAYLISS, P.; MARKICH, S. J. Ecological risk assessment of tebtuhiuron following application on tropical Australian Wetlands. **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 10, n. 6, p. 1069-1097, 2004.

DAVIS, L.C.; ERICKSON, L.E.; LEE, E.; SHIMP, J.F.; TRACY, J.C. Modeling the effects of plants on the bioremediation of contaminated soil and ground water. **Environmental Progress**, v.12, n.1, p.67-75, 1993.

DEUBER, R. **Ciência das plantas infestantes**. v.1: Fundamentos. Ed. Funep 2ª. Edição, 2003. 452p.

DORES, E. F. G. de C.; DE-LAMONICA-FREIRE, E. M. Contaminação do ambiente aquático por pesticidas: vias de contaminação e dinâmica dos pesticidas no ambiente aquático. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 9, p.1-18. 1999.

DOTY, S.L., SHANG, T. Q., WILSON, A. M., MOORE, A. L., NEWMAN, A., STRAND, S. E., GORDON, M. P. Metabolism of the soil and groundwater contaminants, ethylene dibromide and trichloroethylene, by the tropical leguminous tree, *Leuceana leucocephala*. **Water Research**, v. 37, n. 441-449, 2003.

DOUSSET, S.; CHAUVIN, C.; DURLET, P. THÉVENOT, M. Transfer of hexazinone and glyphosate through undisturbed soil columns in soils under Christmas tree cultivation. **Chemosphere**, v. 57, p. 265-272, 2004.

DUPONT. DUPONT BRASIL, Produtos agrícolas – herbicidas. Disponível em: http://www.ag.dupont.com.br/detProduto.php?codproduto=16&codcategoria_produto=2. Acesso em: 02 fev. 2007.

ELLIS, P.A.; Camper, N.D. Aerobic degradation of diuron by aquatic micro organisms. **Journal of Environmental Science and Health: Part B**, v. 17, p. 277–289, 1982.

EMMERICH, W. E.; HELMER, J. D.; RENARD, K. G.; LANE, L. J. Fate and effectiveness of tebuthiuron applied to a rangeland watershed. **Journal of Environmental Quality**, v. 13, n. 3, p. 382-386, 1984.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA-EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro, 1979. 271p.

ENGELEN, B.; MEIKEN, K.; WINTZINGERODE, F.; HEUER, H.; MALKOMES, H.P.; BACKHAUS, H. Monitoring impact of pesticide treatment on bacterial soil communities by metabolic and genetic fingerprinting in addition to conventional testing procedures. **Applied and Environmental Microbiology**, v.64, p.2814-282, 1998.

EPA - U.S. Environmental Protection Agency (US EPA), 1998. A Citizen's Guide to Phytoremediation, Office of Solid Waste and Emergency Response (5102G) EPA 542-F-98-001 August 1998. Disponível em: <http://www.engg.ksu.edu/chsr/outreach/resources/docs/metals.pdf> Acesso em 15 nov. 2003.

EPA - Environmental Protection Agency, 2000a. Conservation buffers to reduce pesticide losses. Disponível em: <ftp://ftp.wcc.nrcs.usda.gov/downloads/pestmgmt/newconbuf.pdf>. Acesso em: 19 nov. 2006.

EPA - Environmental Protection Agency, 2000b. Introduction to Phytoremediation. EPA-report EPA/600/R-99/107. Disponível em: <http://clu-in.org/techpubs.htm>. Acesso em: 20 mai. 2000.

ENTRY, J. A.; DONNELLY, P. K.; EMMINGHAM, W.H., Atrazine and 2, 4-D mineralization in relation to microbial biomass in soils of young-, second-, and old-growth riparian forests. **Applied Soil Ecology**, v. 2, p.77-84, 1995.

FAY, E. F.; SILVA, C. M. M. de S. Comportamento e destino de agrotóxicos no ambiente solo-água. In: Célia Maria M. de Souza Silva e Elisabeth Francisconi Fay

(Ed). **Agrotóxicos e Ambiente**. EMBRAPA: Informação Tecnológica. Brasília, DF, 2004. 400p.

FRANCIOSO, O.; BAK, E.; ROSSI, N.; SEQUI, P. Sorption of atrazine and trifluralin in relation to the physio-chemical characteristics of selected soils. **The Science of the Total Environment**, v.123/ 124, p. 503-512, 1992.

FRANK, R., SIRONI, G.J. Atrazine: its use in corn production and its loss to stream waters in Southern Ontario. **Science of Total Environment**, v.12, n. 3, p.223-239, 1979.

FANG, C., RADOSEVICH, M., FURHMANN, J. J. Atrazine and phenanthrene degradation in grass rhizosphere soil. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 33, p. 671-678, 2001.

FUSCALDO, F.; BEDMAR, F.; MONTERUBBIANESI, G. Persistence of atrazine, metribuzin and simazine herbicides in two soils. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 11, p. 2037-2044, 1999.

GANAPATHY, C. Environmental fate of hexazinone. 1996. Disponível em: <http://www.cdpr.ca.gov/docs/emppm/pubs/fatememo/hxzineone.pdf> Acesso em: 20 mar. 2001.

GENTRY, T. J.; RENSING, C.; PEPPER, I. L. New approaches for bioaugmentation as a remediation technology. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 34, n. 5, p. 447-494.,2004.

GLOTFELTY, D. W.; TAYLOR, A. W.; TURNER, B. C.; ZOLLER, W. H. Volatilization of surface-applied pesticides from fallow soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 32, p. 638-643, 1984.

GIACOMAZZI, S.; COCHET, N. Environmental impact of diuron transformation: a review. **Chemosphere**, v.56, p. 1021–1032, 2004.

GRISOLIA, C. K. In: **Agrotóxicos: mutações, câncer e reprodução**. 1. ed. Brasília: Editora da Universidade de Brasília, 2005. v.1. 392 p.

GOMES, M. A. F.; SPADOTTO, C. A.; LANCHOTTE, V. L. Ocorrência do herbicida tebuthiuron na água subterrânea da microbacia do Córrego do Espreado, Ribeirão Preto – SP. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v.11, p.65-76, 2001.

GOMES, M. A.; SPADOTTO, C.A.; PEREIRA, A.S.; MATALLO, M.B.; LUCHINI, L.C. Movimento do herbicida tebutiuron em dois solos representativo das áreas de recarga do aquífero Guarani. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 10, n. 2, p. 479–483, 2006.

GRINITS, E.V.; HOLSCHUH, L.M.; BOTERO, S.W. Fitorremediação. Disponível em: <http://www.fitorremediação.hpg.com.br>. Acesso em: 04 mai. 2002.

GUIMARÃES, J. R.P.F. Disruptores endócrinos no meio ambiente: um problema de saúde pública e ocupacional. p. 1-13. 2005. Disponível em: http://www.acpo.org.br/biblioteca/03_interferentes_hormonais/joao_roberto.pdf
Acessado em: 17 jan 2007.

HANSEN, C. Phytoremediation as an Alternative to Traditional Soil and Groundwater Remediation Techniques. 2000. Disponível em: <http://www.et.byu.edu/~clarissa/ce540> Acesso em: 04 mai. 2002.

HASSAL, K.A. In: **The biochemistry and uses of pesticide structure, metabolism, mode of action and uses**. 2. ed. New York, VCH publishers. 1990.

HAYAR, S.; MUNIER-LAMY, C.; SCHIAVON, M. Physico-chemical versus microbial release of ¹⁴C-atrazine bound residues from a loamy clay soil incubated in laboratory microcosms. **Chemosphere**, v.34, n. 12, p. 2683-2697, 1997.

HAYES, T.B.; STUART, A.A.; MENDONZA, M.; COLLINS, A.; NORIEGA, N.; VONK, A.; JOHNSTON, G.; LIU, R.; KPODZO, D. Characterization of atrazine-induced gonadal malformations in africanclawed frogs (*Xenopus laevis*) and comparisons with effects of an androgen antagonist (cyproterone acetate) and exogenous estrogen (17β-estradiol): support for the demasculinization/feminization hypothesis. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, suplement 1, p. 134-141. 2006.

HEUER, H.; KRESEK, M.; BAKER, P.; SMALLA, K.; WELLINGTON, E.M.H. Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16s rRNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients. **Applied and Environmental Microbiology**, v.63, p.3233-3241, 1997.

HICKEY, W.; FUSTER, D. J.; LAMAR, R. T. Transformation of atrazine in soil by *Phanerochaete chrysosporium*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 26, p. 1665-1671, 1994.

HORNSBY, A.G.; WAUCHOPE, R.D.; HERNER, A.E. In: **Pesticide properties in the environment**. New York: Springer-Verlag, 1996. 227 p.

HUBBARD, R.K.; LOWRANCE, R.R. Riparian forest buffer system research at the coastal plain experiment station, Tifton, GA. **Water, Air & Soil Pollution**, v.77, n.3-4, p.409-43, 1994.

ISIDORI, M.; LAVORGNA, M.; NARDELLI, A.; PARRELLA, A. Toxicity on crustaceans and endocrine disrupting activity on *Saccharomyces cerevisiae* of eight alkylphenols. **Chemosphere**, v. 64, n. 1, p. 135-143, 2005.

ISSA, S.; WOOD, M. Degradation of atrazine and isoproturon in the unsaturated zone: a study from Southern England. **Pesticide Science**, v. 55, p. 539-545, 1999.

JAPENGA, J. Decision support tools for the management of environmental recovery activities. In: **II International workshop on micropollutants in the environment** (4th to 06th of december 2002). UFRJ, IBCCF, Rio de Janeiro, 2002.

JOHNSEN, T. N., Jr.; MORTON, H. L. Tebuthiuron persistence and distribution in some semiarid soils. **Journal of Environmental Quality**, v. 18, p. 433-438, 1989.

JOLY, C.A.; SPIGOLON, J.R.; LIEBERG, S.A.; SALIS, S.M.; ADAIR, M.P.M.; METZGER, J.P.W.; ZICKEL, C.S.; LOBO, P. C.; SHIMABUKURO, M.T.; MARQUES, M.C.M.; SALINO, A. Projeto Jacaré-Pepira – O Desenvolvimento de um modelo de recomposição da mata ciliar com base na florística regional. In: Ricardo Ribeiro Rodrigues, Hermógenes de Freitas Leitão Filho (Ed). **Matas Ciliares: Conservação e Recuperação**. 2. ed. São Paulo: Ed. Universidade de São Paulo: Fapesp, 2001. p. 271-287.

JORDAHL, J.L.; FOSTER, L.; SCHNOOR, J.L.; ALVAREZ, P. Effect of hybrid poplar trees on microbial populations important to hazardous waste bioremediation. **Environmental toxicology and chemistry**, v.16, p.1318-132, 1997.

JORGENSEN, S.E. Removal of heavy metals from compost and soil by ecotechnological methods. **Ecological Eng.**, v.2, p.89-100, 1993.

KADOKAMI, K.; HIRAKI, T.; JYOTATSU, T. Environmental surveys of toxic chemicals in aquatic environments in Japan. **Lakes & Reservoirs: Research and Management**. V.7, p.: 309–315, 2002.

KAGEYAMA, P.Y.; GANDARA, F.B. Recuperação de áreas ciliares. In: Ricardo Ribeiro Rodrigues, Hermógenes de Freitas Leitão Filho (Ed). **Matas Ciliares: Conservação e Recuperação**. 2. ed. São Paulo: Ed. Universidade de São Paulo: Fapesp, 2001 p. 249-269, 2001.

KAGEYAMA, P.Y.; GANDARA, F.B.; OLIVEIRA, R.E.; MORAES, L.F.D. In: Kageyama. **Restauração da mata ciliar** – manual para recuperação de áreas ciliares e microbacias. Rio de Janeiro: Semads 2001. 104p.

KAUFMAN, D. D.; BLAKE, J. Degradation of atrazine by soil fungi. **Soil biology and biochemistry**, v. 2, p.73-80, 1970.

KLÖPPEL, H.; KÖRDEL, W. Pesticide volatilization and exposure of terrestrial ecosystems. **Chemosphere**, v. 35, n. 6, p. 1271-1289, 1997.

KOCHIAN, L.V. Plantas help clean up toxic soils. *Trends in plant science*, v.5, n.9. 2000.

KONTCHOU, C. U.; GSCHWIND, N. Mineralization of the herbicide atrazine in soil inoculated with a *Pseudomonas* strain. **Journal of agriculture food chemistry**, n.43, p.2291-2294. 1995.

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. 1996.

LANGENBACH, T.; SCHROLL, R.; PAIM, S. Fate and distribution of ¹⁴C-atrazine in a tropical oxisol. **Chemosphere**, v.40, p.449-455. 2000.

LÁNYI, K.; DINYA, Z. Photodegradation study for assessing the environmental fate of some triazine-, urea- and thiolcarbamate-type herbicides. **Microchemical Journal**, v. 80, p. 79-87. 2005.

LASAT, M.M. Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms. *Journal of Environmental Quality*, v.31, p. 109-120. 2002.

LASKOWSKI, D.A.; SWANN, R.L.; McCALL, P.J.; BIDLACK, H.D. Soil degradation studies. **Residue Review**, v.85. p. 139-147. 1983.

LAVY, T.T.; MATTICE, J.D.; KOCHENDEFER, J.N. Hexazinone persistence and mobility of a steep forested watershed. **Journal of Environmental Quality**, v.18, p.507-514. 1989.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa, SP: Ed. Plantarum. 1992.568p.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**. 3ª. Ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2000. 640p.

LOWRANCE, R.; SHERIDAN, J.M. Surface runoff water quality in a managed three zone riparian buffer. **Journal of Environmentl Quality**, v.34, p.1851-1859. 2005.

LOWRANCE, R., TODD, R., FAIL, J, HENDRICKSON, O. Jr., LEONARD, R., ASMUSSEN, L. Riparian forests as nutrient filtes in agricultural watersheds. **Bioscience**, v.34, n.6, 1984.

LOWRANCE, R.; VELLIDIS, G.; WAUCHOPE, R. R.; GAY, R; BOSCH, D. D. Herbicide transport in a managed riparian forest buffer system. **Transactions of the ASAE**, v. 40, n. 4, p. 1047-1057. 1997.

LUDOVICE, M. T. F; ROSTON, D. M.; TEIXEIRA FILHO, J. Efeito da faixa-filtro na retenção de atrazina em escoamento superficial. Rev. Bras. **Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 7, n.2, p.323-328, 2003.

LUCHINI, L. C. Adorção-dessoração dos herbicidas paraquat, diuron e 2,4-D em seis solos brasileiros. Piracicaba, 1987. 91p. (Dissertação de tese de mestrado).

LUCHINI, L. C.; COSTA, M.; OSTIZ, B.S.; MUSUMECI, M.R.; NAKAGAWA, L. E., ANDREA, M. M.; MATALLO, M. Behaviour of Diuron in a Sandy Clay and Clay Soils, from São Paulo State, Brazil. **In: Symposium Pesticide Chemistry Degradation and Mobility of Xenobiotics**, 9., 1993, Piacenza. **Proceedings...** Italia: (s.n.), 1983. p. 127-133.

MANDELBAUM, R. T.; WACKETT, L.P.; ALLAN, D. L. Mineralization of the s-triazine ring of atrazine by stable bacterial mixed cultures. **Applied Environmental Microbiology**, v. 59, p. 1695-1701. 1993a.

_____. Rapid hydrolysis of atrazine to hydrozatraine by soil bacteria. **Environmental Science & Technology**, v. 27, p. 1943-1946. 1993b.

MANDELBAUM, R. T.; ALLAN, D. L.; WACKETT, L. P. Isolation and characterization of a Pseudomonas sp. that mineralizes the s-triazine herbicide atrazine. **Applied and Environmental Microbiology**, v.61, p.1461-1457. 1995.

MANSOUR., M; FEICHT, E.A.; BEHECHTI, A.; SCHEUNERT, I. Experimental approaches to studying the photostability of selected pesticides in water and soil. **Chemosphere**, v.35, n. 1-2, p. 39-50. 1997.

MASAPHY, S., LEVANON, D., HENIS, Y. Degradation of atrazine by the lignocellulolytic fungus *Pleurotus pulmonarius* during solid-state fermentation. **Bioresource Technology**, v. 56, p. 207-214. 1996.

MATALLO, M. B.; SPADOTTO, C. A.; LUCHINI, L. C.; GOMES, M. A. F. Sorption, degradation and leaching of tebutiuron and diuron in soil columns. **Journal of Environmental Science and Health – Part B**, Fairfax, v.40, p.39-43. 2005.

MATALLO, M. B.; LUCHINI, L. C.; GOMES, M. A. F.; SPADOTTO, C. A.; CERDEIRA, A. L.; MARIN, G. C. Lixiviação dos herbicidas tebutiuron e diuron em colunas de solo. **Pesticidas: R. Ecotoxicol. E Meio Ambiente**, Curitiba, v. 13, p. 83-90., jan./dez. 2003

MEAGHER, R. B. Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants. **Current Opinion in Plant Biology**, v.3, n.2, p.153-162. April 2000.

MELLONI, R.; PEREIRA, E. G.; TRANNIN, I. C. B.; SANTOS, D. R.; MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Características biológicas de solos sob mata ciliar e campo cerrado no sul de Minas Gerais. *Ciência agrotec.*, Lavras, v.25, n.1, p. 7-13, jan./fev.2001.

MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL. **Portaria 1.339 de 18 de novembro de 1999**. In: Doenças relacionadas ao trabalho. Brasília: Ministério da Saúde do Brasil, 2001, 580 p.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Xenobióticos no solo. In: *Microbiologia e Bioquímica do solo*. Lavras, Ed. UFLA, 626 p. 2002.

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

MUSUMECI, M. R.; CAINELLI GEBARA, V. C. B., RÜEG, E. F. Adsorção do aldrin e seus metabólitos por fungos isolados de solos. **Ciência e Cultura (SBPC)**, v. 34, p. 381-385, 1982.

MUSUMECI, M. R.; NAKAGAWA, L. E.; LUCHINI, L. C.; MATALLO, M. B., ANDREA, M. M. Degradação do diuron-¹⁴C em solo e em plantas de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, n. 6, p. 775-778, jun. 1995.

MUYZER, G., SMALLA, K. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. *Antonie Van Leeuwenhoek*, n. 73, p.127-141. 1998.

NAKAGAWA, L. E., LUCHINI, L. C., MUSUMECI, M. R., ANDREA, M. M. Comportamento da atrazina em solos brasileiros em condições de laboratórios. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 4, p. 471-476, abr. 1995.

NEWCOMBE, D.A., CROWLEY, D.E. Bioremediation of atrazine-contaminated soil by repeated application of atrazine-degrading bacteria. **Applied Microbiol Biotechnology**, v. 51, p.877-882. 1999.

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

OLSON, P. E., McCutcheon, S., Schnoor, J. L., Reardon, K. F., Pilon-Smits, E. A. H. Ecology of rhizosphere bioremediation. IN: *Phytoremediation: transformation and control of contaminants*. 940p., 2003. p. 317-354. Steven C. McCutcheon e Jerald L. Schnoor.

PALMA, G.; SÁNCHEZ, A.; OLAVE, Y.; ENCINA, F.; PALMA, R.; BARRA, R. Pesticide levels in surface waters in na agricultural-forestry basin in Southern Chile. **Chemosphere**, v. 57, p. 763-770. 2004.

PEIXOTO, M. F. S. P. Distribuição do herbicida ¹⁴C-atrazina na matéria orgânica de dois solos e remobilização de seus resíduos ligados em ácido fúlvicos. Piracicaba, Universidade de São Paulo. 1998. 80p. (Tese de Doutorado).

PEREIRA, R. C.; CAMPS-ARBESTAIN, M.; GARRIDO, R. B.; MACÍAS, F.; MONTERROSO, C. Behaviour of a α -, β -, γ -, e δ - hexachlorocyclohexane in the soil-plant system of a contaminated site. **Environmental Pollution**, v. 144, p. 210-217. 2006.

PINHO, A. P., MATOS, A. T., COSTA, L. M., MORRIS, L. A., JACKSON, R. C., WHITE, W., MARTINEZ, M. A. Retenção de atrazina picloran e caulinita em zona ripária localizada em área de silvicultura. **Engenharia na Agricultura**, Viçosa, v.12, n.4, p.260-270, out-dez. 2004.

PIRES, F. R.; SOUZA, C. M.; CECON, P. R.; SANTOS, J. B.; TÓTOLA, M. R.; PROCÓPIO, S. O., SILVA, A. A.; SILVA, C. S. W. Inferências sobre atividade

rizosférica de espécies com potencial para fitorremediação do herbicida tebuthiuron. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, p. 627-634. 2005.

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

QUEIROZ, B.P.V. Biorremediação. In: ENCONTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGIA AMBIENTAL, 8, 2002, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: UFRJ: IMPPG., 2002. p.

RAMALHO, J. F. G. P.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; VELLOSO, A. C. X. Contaminação da microbacia de Caetés com metais pesados pelo uso de agroquímicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.7, p.1289-1303, jul.2000.

RAMOS, D.P.; CASTRO, A.F.; CAMARGO, M.N. Levantamento detalhado de solos da área da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, Série Agronomia, v. 8, p. 1-27. 1993.

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

RICHARDS, D. J., SHIEH, W. K. Biological fate of organic priority pollutants in the aquatic environment. **Water Research**, v. 20, n. 9, p. 1077-1090, 1986.

RIGOBELLO, E. C., NAHAS, E. Seasonal fluctuations of bacterial population and microbial activity in soils cultivated with eucalyptus and *Pinus*. **Scientia Agricola**, v. 61, p. 88-93, 2004

RODRIGUES, R.R. A vegetação de Piracicaba e municípios do entorno. **Circular Técnica IPEF** (Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais), n. 189, Piracicaba, 1999. 17p.

RODRIGUES, R.R. Projeto Jacaré-Pepira – O desenvolvimento de um modelo de recomposição da mata ciliar com base na florística regional. In: Rodrigues, R.R., Leitão Filho, H.F. Eds. Matas Ciliares: Conservação e Recuperação. 2ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo: Fapesp, 2001. p. 271-28, 2001.

RÜDEL, H. Volatilisation of pesticides from soil and plants surfaces. **Chemosphere**, v. 35, n. 1/2, p. 143-152, 1997.

- RYU, C.-M., FARAG, M. A., HU, C.-H., MUNAGALA, S. R., WEI, H.-X, PARÉ, P. W., KLOPPER, J. W. Bacterial volatiles promote growth in Arabidopsis. **PNAS**, v. 100, n. 8, p. 4927-4932. 2003.
- SADEGUI, A.M.; ISENSEE, A.R. Spatial distribution of atrazine residues in soil and shallow groundwater:effect of tillage and rainfall timing. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 48, p. 67-76, 1994.
- SALVESTRINI, S., DI CERBO, P.; CAPASSO, S. Kinetics of the chemical degradation of diuron. **Chemosphere** 48, 69–73., 2002.
- SALT, D.E.; SMITH, R. D.; RASKIN, I. Phytoremediation. **Annual Review Plant Biology**, v.49, n. 1, p.643-668, 1998.
- SCHOONOVER, J.E.; WILLIARD, K.W.J., ZACKZEK, J.J., MAGUN, J.C., CARVER, A.D. Agricultural sediment reduction by giant cane and forest riparian buffers. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 169, p. 303-31., 2006.
- SCHNOOR, J.L., LIGHT, L.A., MCCUTCHEON, S.C., WOLFE, N.L., CARREIRA, L.H. Phytoremediation of organic and nutrient contaminants pilot and full-scale studies demonstrating the promise for remediating hazardous wastes in soils and sediments. **Environmental Science & Technology**, v. 29, p. 318-323, 1995.
- SCHNOOR, J. L. Phytoremediation. **Ground-Water Remediation Technologies Analysis Center**, Technology Evaluation Report, 37p., 1997. Disponível: <http://www.gwrtac.org>. Acesso em: 25 jun. 2006.
- SCHROLL, R., BIERLING, B., CAO, G. DÖRFLER, U. LAHANIATI, M., LANGENBACH, T., SCHEUNERT, I., WINKLER, R. Uptake pathways of organic chemicals from soil by agricultural plants. **Chemosphere**, v.28, n. 2, p. 297-303, 1994.
- SCHROLL, R., LANGENBACH, T., CAO, G., DÖRFLER, U. SCHNEIDER, P., SCHEUNERT, I. Fate of [¹⁴C] terbutylazine in soil-plant systems. **The Science of the Total Environment**, v. 123/124, p. 377-389, 1992.
- SILVA, C. M. M. de S., MELO, I. S. de, OLIVEIRA, P. R. Produção de Enzimas ligninolíticas por fungos isolados de solos sob cultivo de arroz irrigado. In: **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, n. 18, Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004. 16p.

SIRONS, G.J.; FRANK, R.; SAWYER, T. Residues of atrazine, cyanazine, and their phytotoxic metabolites in a clay loam. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 21, n. 6, p. 1016-1020, 1973.

SNOO, G.R.; WIT, P. J. Buffer zones for reducing pesticide drift to ditches and risks to aquatic organisms. **Ecotoxicology and environmental safety**, v.41, n. 1, p. 112-118, 1998.

SILVA, C. M. M. S., MELO, I. S., OLIVEIRA, P. R. Produção de enzimas ligninolíticas por fungos isolados de solos sob cultivo de arroz irrigado. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, n. 18, 18p. 2004.

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA DEFESA SANITÁRIA (SINDAG). Consumo mundial de defensivos agrícolas. Disponível em: <http://www.sindag.com.br/html/banco.php3> Acesso em: 05 mai. 2006.

SPADOTTO, C. A. Screening method for assessing pesticide leaching potential. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v.12, p.69-78, 2002.

SPADOTTO, C. A., GOMES, M. A. F., HORNSBY, A. G. Pesticide leaching potential assessment in multi-layered soils. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v.12, p.1-13, 2002.

SPENCER, W. F. Volatilization of pesticide residues. In: J. W. Biggar and J. N. Seiber (Ed.). **Fate of pesticides in the environment: Proceedings of a technical seminar**. Agricultural Experiment Station Division of Agriculture and Natural Resources. University of California. 1987. 157p.

STONE, D. M.; HARRIS, A. R., KOSKINEN, W. C. Leaching of soil-active herbicides in acid, low base saturated sands: worst-case conditions. **Environmental Toxicology Chemistry**, v. 12, p. 399-404. 1993.

STRUTHERS, J.K.;JAYACHANDRAN; MOORMAN, T.B. Biodegradation of atrazine by *Agrobacterium radiobacter* J14 and use of this strain in bioremediation of contaminated soil. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 64, p.3368-3375. 1998.

SULLIVAN, J.D., Jr.; FELBECK, T., Jr. A study of the interaction of s-triazine herbicides with humic acids from three different soils. **Soil Science**, v. 106, n. 1, p. 42-52. 1968.

SYNGENTA, 2007. Disponível em: <http://www.syngenta.com.br/cs/index.asp>
Acessado em 10 ago. 2007.

TABATABAI, M. A. Soil Enzymes. In: Methods of Soil Analysis. Part 2 – Chemical and Microbial Properties. Second edition. Edited by A.L. Page, R. H. Miller and D. R. Keeney, Madison, American Society of Agronomy, pp. 903-947. 1982.

TAIZ, L., ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. Terceira edição. Porto Alegre, Artmed Editora, 719 p. 2004.

TRAPP, S., KARLSON, U. Aspects of phytoremediation of organic pollutants. **Journal Soil & Sediments**, v. 1, p.1-7. 2001.

TRAVERSO, S. D.; CORRÊA, A. M. R.; SCHMITZ, M.; COLODEL, E. M.; DRIEMEIER, D. Intoxicação experimental por *Trema micrantha* (Ulmaceae) em bovinos. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 24, n. 4, p. 211-216, out./dez. 2004.

TRINDADE, P.V.O. **Avaliação das técnicas de bioaugmentação e bioestimulação no processo de biorremediação de solo contaminado por hidrocarbonetos de petróleo.** Dissertação M.Sc., UFRJ/EQ, Rio de Janeiro - RJ. 127 p., 2002

TROLDENIER, G. Plate Count Technique. In: Methods in soil biology. Editores Franz, S, Öhlinger, R., Kandeler, E., Margesin, R. Springer – Verlag Berlin Heidelberg, p.20-26. 1996.

TORSVIK, V., SALTE, K., SORHEIM, R., GOKSOYR, J. Comparison of phenotypic diversity and DNA heterogeneity in a population of soil bacteria. Applied and Environmental Microbiology, v.56, p.776-781. 1990.

UETA, J., PEREIRA, N. L., SHUHANA, I. K., CERDEIRA, A. L. Biodegradação de herbicidas e biorremediação – Microrganismos degradadores do herbicida atrazina. Disponível em: <http://www.herbario.com.br/bot/toxicologia/biodegre.htm> Acessado em: 05 Jun 2004.

VOUTSAS, E.; VAVVA, C.; MAGOULAS, K.; TASSIOS, D. Estimation of the volatilization of organic compounds from soil surfaces. **Chemosphere**, 58, p. 751-758, 2005.

WALTON, B., ANDERSON, T.A. Microbial degradation of trichloroethylene in the rhizosphere potential application to biological remediation of waste sites. Applied and Environmental Microbiology, v. 56, p.1012-1016. 1990.

WAN, M. T.; WATTS, R. G.; MOUL, D. J. Evaluation of the Acute Toxicity to Juvenile Pacific Salmonids of Hexazinone and its Formulated Products: Pronone 10G, Velpar L, and Their Carriers. **Bulletin of Environmental Contamination Toxicology**, v. 41, n. 4, p. 609-616. 1988.

WHITE, P.J. Phytoremediation assisted by microorganisms. **TRENDS in Plant Science**, v.6, n.11, p.502. 2001.

YAO, Y.; TUDURI, L.; HARMER, T.; BLANCHARD, P.; WAITE, D.; POISSANT, L.; MURPHY, C.; BELZER, W.; AULAGNIER, F.; LI, Y.-F; SVERKO, E. Spatial and temporal distribution of pesticide air concentrations in Canadian agricultural regions. **Atmospheric Environment**, v.40, p. 4339-4351. 2006.

Anexo

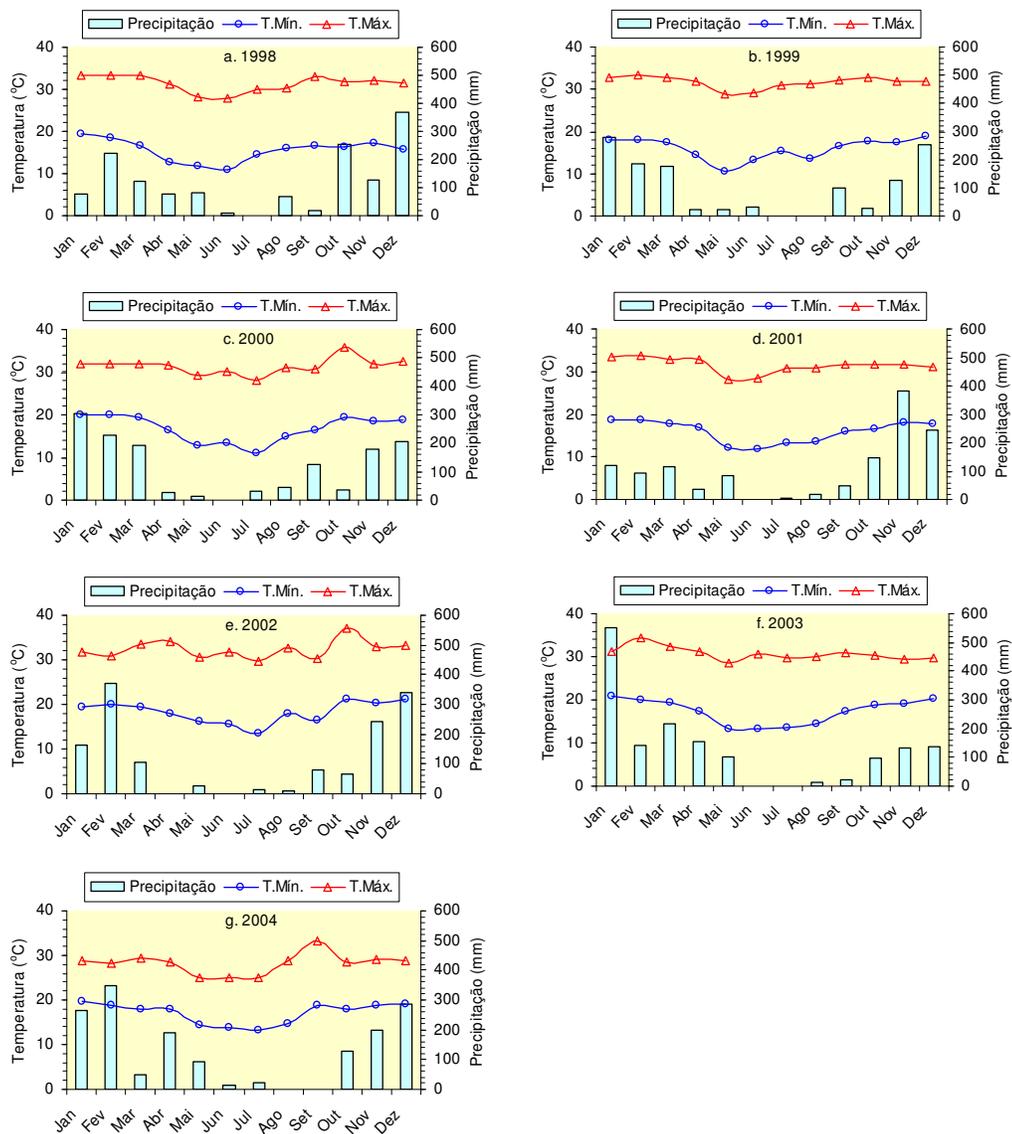


Figura 29. Distribuição média de precipitação (mm), temperatura (°C) máxima e mínima na área de estudo, município de Orlandia, SP, no período de 1998 a 2004.

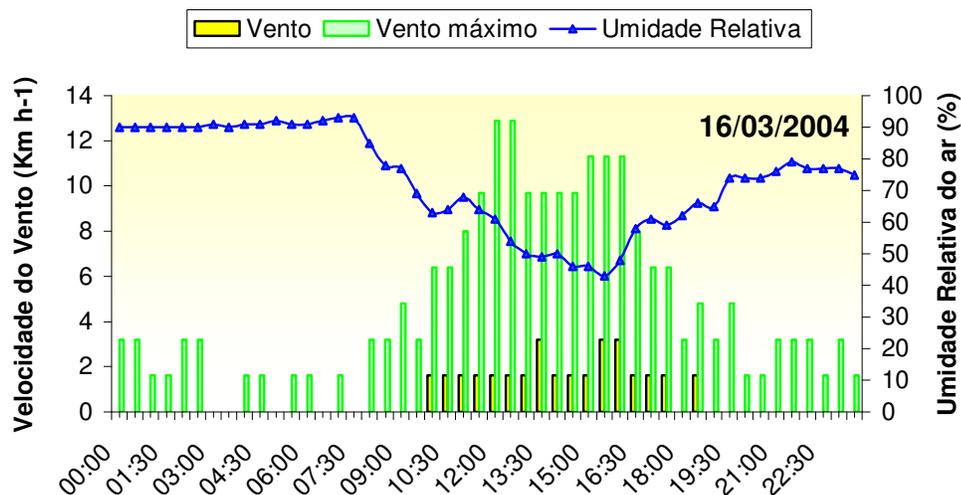


Figura 30. Distribuição da velocidade do vento (m s^{-1}) ocorrido no momento do registro e o vento máximo ocorrido durante 30min., e umidade relativa do ar ($^{\circ}\text{C}$) no dia (16/03/2007) da aplicação do tebuthiuron na área de cana-de-açúcar.

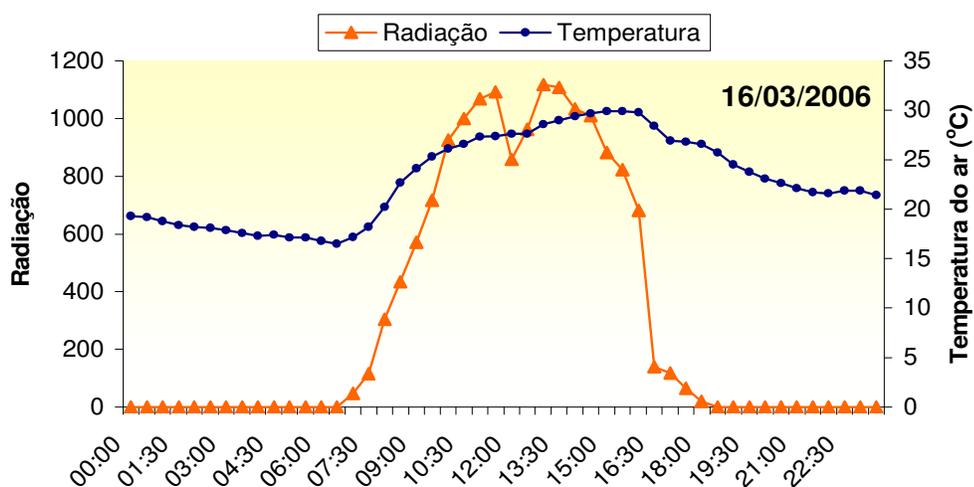


Figura 31. Distribuição da radiação e a temperatura do ar registrados no momento no dia (16/03/2007) da aplicação do tebuthiuron na área de cana-de-açúcar.

Tabela 15. Distribuição pluviométrica diária de cada mês do ano de 1998, no município de Orlandia, SP.

Diário	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Média
1	0,00	0,00	24,90	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,00	2,33
2	0,00	8,80	6,00	0,00	0,00	6,50	0,00	0,00	0,00	0,00	11,40	0,00	2,73
3	0,00	0,00	3,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,30	0,00	0,84
4	0,00	0,00	3,00	0,00	43,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,80	4,35
5	0,00	29,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,70	0,00	7,50	0,00	38,10	6,33
6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	9,70	0,00	0,00	0,00	7,90	1,47
7	8,50	0,00	0,00	4,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	30,80	4,40	0,00	4,04
8	19,20	0,00	0,00	1,50	0,00	0,00	0,00	7,50	0,00	6,20	0,00	3,80	3,18
9	2,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	34,90	0,90	0,00	3,10	63,30	8,73
10	0,00	22,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	13,40	0,00	0,00	5,50	36,90	6,48
11	14,90	0,00	9,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	16,20	0,00	13,20	4,49
12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,00	0,17
13	0,00	63,40	2,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	47,60	0,60	9,53
14	0,00	35,10	4,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,40	3,90
15	0,00	13,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	42,90	0,00	51,50	9,02
16	5,20	16,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	25,50	0,00	0,50	3,98
17	0,00	2,90	4,40	4,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	37,10	0,00	8,10	4,76
18	0,00	0,00	5,10	0,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	10,20	1,34
19	0,00	0,00	5,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,48
20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,40	0,00	0,00	0,30	0,00	0,00	0,00	0,31
21	0,00	0,00	5,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,43
22	0,00	8,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	19,30	2,33
23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	27,00	2,25
24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
25	0,00	12,40	4,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,90	4,10	0,00	37,30	5,56
26	0,00	10,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	42,20	43,90	9,30	8,78
27	0,00	0,00	8,60	14,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	38,80	3,80	0,00	5,49
28	26,10	0,00	0,00	47,90	0,00	0,00	0,00	0,00	5,60	0,00	0,00	11,20	7,57
29	0,00	0,00	0,00	1,70	37,50	0,00	0,00	0,00	3,20	0,00	0,00	2,70	4,10
30	0,00	0,00	2,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,30	0,40	0,00	0,00	0,32
31	0,00	0,00	32,20	0,00	0,00	0,00	0,00	3,70	0,00	1,00	0,00	9,00	6,56
Somatório	76,50	223,30	122,30	77,00	80,90	9,90	0,00	69,90	19,20	252,70	126,00	367,10	118,73

Tabela 16. Distribuição pluviométrica diária de cada mês do ano de 1999, no município de Orândia, SP.

Diário	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Média
1	0,00	0,00	64,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,34
2	1,60	1,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,27
3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	24,50	2,04
4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,40	41,70	3,51
5	4,80	11,50	0,00	0,00	3,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,10	0,00	2,10
6	39,60	13,10	0,00	2,10	17,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,99
7	27,20	6,10	0,00	1,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,10	0,00	14,20	4,43
8	0,00	0,00	1,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,00	2,10	27,10	90,00	11,08
9	47,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	23,30	0,00	14,50	0,00	7,07
10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,90	0,41
11	0,00	9,70	42,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	29,00	0,00	0,00	0,60	6,83
12	16,50	0,00	33,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,10	0,00	18,80	3,20	6,05
13	1,70	39,30	0,00	0,00	0,00	6,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	16,30	5,34
14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,50	0,00	0,00	18,50	2,00
15	10,80	2,90	0,00	4,90	0,00	0,00	0,00	0,00	3,70	0,00	0,00	0,00	1,86
16	2,00	16,90	0,00	9,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,34
17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	16,60	6,80	0,00	0,00	1,95
18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,40	0,00	10,00	0,00	1,12
20	0,00	7,00	0,00	0,00	0,00	11,90	0,00	0,00	0,00	0,00	24,00	0,00	3,58
21	0,00	34,60	4,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,10	0,00	14,00	0,00	4,68
22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,50	0,04
23	0,00	0,00	29,60	5,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	11,50	0,40	3,94
24	0,00	13,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,08
25	1,50	12,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,10	0,00	0,00	1,81
26	5,30	4,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,40	0,00	12,50	2,25
27	20,30	0,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,70	2,39
28	19,30	11,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,53
29	14,10		0,00	0,00	0,00	14,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,80	3,04
30	67,40		2,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,35
31	0,00		0,00		0,00		0,00	0,00		0,00		12,20	1,74
Somatório	279,10	184,30	178,00	23,60	20,90	33,20	0,00	0,00	97,70	25,50	125,40	252,00	101,64

Tabela 17. Distribuição pluviométrica diária de cada mês do ano de 2000, no município de Orlandia, SP.

Diário	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Média
1	24,50	29,90	17,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	34,20	0,00	0,00	0,00	8,83
2	55,00	3,80	2,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,60	0,00	0,00	29,20	8,58
3	28,50	5,40	5,20	0,00	0,00	0,00	0,00	3,30	0,00	0,00	4,40	19,10	5,49
4	25,00	2,70	4,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,30	2,50	1,00	3,38
5	5,50	1,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	26,50	0,00	1,30	0,00	2,90
6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,20	0,00	0,00	0,00	0,27
7	0,00	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,42
8	0,00	5,30	14,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	16,70	0,00	0,00	0,00	3,00
9	0,00	22,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,92
10	0,00	15,50	13,20	11,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,35
11	0,00	18,30	2,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,90	7,10	2,94
12	0,00	38,00	1,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,70	0,00	5,60	1,60	4,25
13	0,00	1,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	24,60	0,00	36,10	0,90	5,26
14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,50	0,00	0,21
15	0,00	7,50	2,20	0,00	0,00	0,00	6,00	5,30	0,00	0,00	0,00	26,20	3,93
16	0,00	0,00	2,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,10	0,00	0,70	61,70	5,78
17	35,70	0,00	8,60	0,00	0,00	0,00	0,00	11,00	0,00	0,00	0,60	11,30	5,60
18	0,00	0,00	4,00	14,70	0,00	0,00	2,40	0,00	0,00	0,00	25,60	4,60	4,28
19	3,20	0,00	13,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	0,60	1,45
20	0,00	8,30	2,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,00	1,07
21	0,00	0,00	51,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,50	0,00	5,33
22	0,00	18,00	13,50	0,00	0,00	0,00	16,30	0,00	0,00	3,70	0,00	0,00	4,29
23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,10	0,00	0,00	0,00	21,70	0,00	2,32
24	15,80	0,00	14,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	16,30	0,00	0,70	3,93
25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,90	0,20	0,51
26	77,00	0,00	7,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,60	7,00	23,90	10,08
27	8,00	6,90	5,50	0,00	12,30	0,00	0,00	0,00	0,00	2,40	0,00	3,50	3,22
28	2,50	38,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	21,60	0,00	0,00	0,00	0,70	5,27
29	0,00	0,00	1,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	23,70	0,00	2,08
30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,70	0,00	0,00	0,00	0,60	18,70	11,90	2,99
31	25,00	0,00	3,30	0,00	0,00	0,00	0,00	5,60	0,00	0,00	0,00	0,00	4,84
Somatório	305,70	228,00	190,70	26,20	12,30	1,70	30,80	46,80	126,60	33,90	176,90	206,20	115,48

Tabela 18. Distribuição pluviométrica diária de cada mês do ano de 2001, no município de Orândia, SP.

Diário	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Média
1	0,00	2,10	0,00	23,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,20	0,00	2,22
2	0,00	0,00	3,30	6,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,80	1,20	0,00	1,48
3	2,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,40	0,00	0,38
4	0,00	0,50	0,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,00	0,00	0,49
5	0,00	0,00	1,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,60	0,78
6	0,00	14,60	32,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	21,70	5,74
7	0,00	0,00	5,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	11,50	0,00	0,00	1,45
8	7,50	2,10	12,60	4,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	40,30	0,00	3,30	5,82
9	0,30	0,00	5,50	1,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,64
10	0,60	19,80	3,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,40	8,90	0,00	2,77
11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,70	0,00	0,00	0,90	121,30	0,00	10,24
12	6,50	2,40	0,30	0,00	13,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,70	5,70	2,53
13	4,70	0,00	0,00	0,00	14,20	0,00	0,00	0,00	2,30	0,00	1,00	17,60	3,32
14	18,50	2,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	17,00	0,00	5,60	35,20	6,57
15	0,50	1,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	11,00	0,00	0,00	3,20	1,35
16	0,00	26,50	0,00	0,00	8,90	0,00	0,00	0,00	0,00	6,10	0,00	13,10	4,55
17	0,00	1,10	0,00	0,00	33,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,50	22,30	4,74
18	0,00	0,70	0,00	0,00	0,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	56,80	0,00	4,83
19	2,80	0,00	1,50	0,00	0,00	0,40	0,00	0,00	0,00	33,10	31,80	0,00	5,80
20	0,00	3,50	0,00	0,00	0,00	0,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,60	0,53
21	1,10	0,00	1,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	49,00	0,00	46,90	8,19
22	0,20	0,00	0,00	0,80	0,00	0,00	0,00	3,20	0,50	0,00	0,00	15,70	1,70
23	0,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,40	0,00	0,00	3,90	0,00	0,52
24	0,80	8,80	0,00	0,00	0,20	0,00	2,20	9,70	0,00	0,00	1,80	0,00	1,96
25	27,30	6,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,10	0,00	0,00	0,00	2,88
26	7,20	0,00	1,20	0,00	9,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	14,80	0,00	2,76
27	0,30	0,00	32,80	0,00	1,90	0,00	0,00	0,00	2,80	0,00	0,00	15,70	4,46
28	36,50	0,00	1,70	0,00	0,50	0,00	0,00	4,90	1,30	0,00	12,60	4,70	5,18
29	0,10		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	14,10	0,00	54,80	24,00	8,47
30	1,30		7,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	58,90	4,80	6,61
31	0,00		1,30		0,00		0,00	0,00		0,00		0,00	0,19
Somatório	119,30	92,20	113,40	36,50	82,70	0,70	2,90	19,40	50,10	148,10	384,20	244,10	107,80

Tabela 19. Distribuição pluviométrica diária de cada mês do ano de 2002, no município de Orândia, SP.

Diário	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Média
1	27,60	1,50	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,30	2,70	0,00	2,50	0,00	2,97
2	0,00	2,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,40	0,66
3	0,00	0,00	0,80	0,00	6,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,50	0,62
4	0,00	0,00	2,90	0,00	1,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,30	3,90	2,50	0,89
5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,00	5,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	10,50	0,00	0,00	0,00	1,35
7	3,40	96,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,80	0,00	0,00	22,50	10,39
8	16,10	10,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,60	2,30
9	0,00	10,00	10,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	11,00	0,00	0,00	5,00	3,03
10	0,00	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,20	16,30	1,92
11	0,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,90	0,00	0,00	0,00	31,90	135,40	14,18
12	32,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,80	76,90	9,22
13	34,30	0,00	1,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,95
14	18,70	5,70	1,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,70	0,70	3,24
15	5,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	19,80	5,10	2,54
16	0,00	61,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,70	0,00	0,00	19,10	7,24
17	0,00	29,90	16,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,80	4,95
18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	34,00	0,20	2,85
19	0,30	15,90	18,30	0,00	7,60	0,00	0,00	0,00	0,00	2,40	2,50	6,60	4,47
20	0,40	28,50	0,00	0,00	8,90	0,00	0,00	0,00	18,60	0,00	0,00	6,80	5,27
21	8,10	30,00	12,20	0,00	2,00	0,00	0,60	0,00	1,10	0,00	6,70	11,10	5,98
22	1,10	11,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,60	0,00	2,30	0,00	22,20	0,00	3,12
23	0,00	48,60	21,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	25,70	0,00	2,60	0,00	8,18
24	0,00	0,40	6,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,58
25	2,00	2,10	1,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	11,20	16,70	7,80	3,43
26	11,30	11,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	31,30	1,60	4,61
27	1,10	0,00	3,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	24,40	20,80	0,00	4,13
28	0,00	0,00	11,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	29,90	0,00	3,44
29	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,20	0,00	21,30	0,00	0,00	2,59
30	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,50	0,20	1,60	0,57
31	1,50		0,00		0,00		9,70	3,50		1,00		1,80	2,50
Somatório	165,30	371,60	107,20	0,00	26,70	0,00	12,80	11,00	81,50	65,10	244,70	340,30	118,85

Tabela 20. Distribuição pluviométrica diária de cada mês do ano de 2003, no município de Orândia, SP.

Diário	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Média
1	23,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	9,00	2,70
2	10,90	0,00	0,00	0,00	14,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	18,20	3,63
3	58,00	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	4,89
4	22,60	1,10	11,20	41,20	0,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	51,00	10,66
5	25,10	8,10	0,00	0,00	68,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,20	0,00	8,71
6	43,20	0,80	0,00	5,50	4,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	33,20	0,00	7,27
7	1,30	0,00	5,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,80	9,80	8,20	2,17
8	0,00	0,00	8,20	0,00	0,00	0,00	0,00	3,10	0,00	1,20	0,00	0,80	1,11
9	0,00	0,00	26,00	50,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	39,00	0,00	3,20	9,93
10	6,20	0,00	34,20	22,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	19,00	0,00	0,00	6,86
11	18,00	0,00	4,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	15,40	0,00	0,00	3,15
12	0,00	52,20	55,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,00	4,20	9,49
13	19,00	22,50	4,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	22,20	0,20	5,73
14	0,00	18,00	0,00	28,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,88
15	0,00	7,30	0,30	0,00	0,00	0,00	0,00	5,00	4,60	0,00	6,70	7,40	2,61
16	0,00	1,60	16,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00	0,00	6,80	0,00	2,40
17	36,00	22,00	1,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	26,00	0,20	7,13
18	0,90	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,40	0,20	0,29
19	20,20	0,00	0,00	3,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,40	0,00	2,00
20	0,00	0,80	0,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12
21	31,80	5,20	29,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,80	0,00	0,00	5,61
22	23,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,40	0,80	9,60	3,06
23	45,30	0,00	0,00	0,00	14,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	0,20	3,80	5,33
24	3,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,40	2,00	0,50
25	0,00	0,00	7,40	0,00	0,00	0,00	0,00	4,60	0,00	0,00	5,40	0,20	1,47
26	24,20	0,00	7,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,40	10,40	0,00	0,00	1,40	3,69
27	77,50	0,00	3,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,60	0,80	1,60	2,00	7,28
28	13,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,80	1,20	14,20	2,49
29	11,90		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,80	0,00	0,20	1,26
30	30,70		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,20	0,00	3,90
31	2,10		0,00		0,00		0,00	0,00		16,80		0,00	2,70
Somatório	549,30	141,10	217,60	152,40	102,30	0,00	0,00	13,10	20,60	99,00	133,70	136,20	130,44

Tabela 21. Distribuição pluviométrica diária de cada mês do ano de 2004, no município de Orlandia, SP.

Diário	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Média
1	15,80	0,50	8,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,00	0,00	0,00	2,50
2	5,60	0,00	0,00	0,00	0,00	3,30	0,00	0,00	0,00	12,00	15,50	9,80	3,85
3	1,80	1,00	0,10	0,00	0,00	7,40	0,00	0,00	0,00	10,20	0,00	36,10	4,72
4	1,20	6,20	0,00	22,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	14,30	3,65
5	2,10	0,00	0,00	0,00	13,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,70	4,70	2,78
6	31,00	36,50	6,30	8,70	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	1,60	7,51
7	8,50	0,00	0,00	0,00	13,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,10	2,16
8	20,40	0,00	0,00	0,00	0,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,40	1,75
9	21,90	0,00	4,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,80	3,25
10	0,00	0,00	0,00	2,10	0,00	0,00	11,70	0,00	0,00	14,30	0,50	38,00	5,55
11	0,00	0,00	0,00	0,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	45,50	0,00	3,85
12	0,00	0,00	0,00	3,80	0,00	1,20	0,00	0,00	0,00	6,40	0,00	0,00	0,95
13	2,50	2,00	0,00	16,30	2,70	0,00	0,00	0,00	0,00	35,40	0,00	0,00	4,91
14	0,00	88,00	9,00	90,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	15,62
15	11,00	28,10	0,00	13,10	23,20	2,20	0,00	0,00	0,00	4,30	29,10	0,00	9,25
16	0,00	0,00	0,00	20,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,80	0,00	8,00	0,00	2,43
17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,60	0,00	9,20	0,50	0,86
18	0,00	0,00	0,00	0,20	0,00	0,00	3,30	0,00	0,20	21,20	44,60	28,30	8,15
19	0,00	0,00	8,30	4,20	0,00	0,00	5,00	0,00	0,00	0,00	13,70	11,20	3,53
20	0,00	23,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	11,40	2,93
21	4,60	1,20	0,00	0,00	11,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	64,80	6,84
22	16,70	10,60	0,00	0,00	0,00	0,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	26,40	4,53
23	5,40	65,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,10	6,29
24	0,00	26,60	1,80	0,00	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,80	2,56
25	16,30	51,40	0,00	8,50	2,20	0,00	0,00	0,00	0,00	3,30	0,00	0,10	6,82
26	55,10	0,00	8,90	0,00	3,00	0,00	0,00	0,00	0,00	15,10	3,00	12,20	8,11
27	44,50	6,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,60	0,00	4,65
28	1,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,20	0,00	0,65
29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,70	2,60	0,61
30	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,40	0,22
31	0,00		0,00		18,00		0,00	0,00		0,00		0,00	2,57
Somatório	266,00	347,50	47,40	190,50	93,40	14,70	20,00	0,00	1,60	127,20	198,30	288,60	132,93