

INSTITUTO BIOLÓGICO

PÓS-GRADUAÇÃO

DISSIPAÇÃO DO FUNGICIDA FLUOPICOLIDE EM NEOSSOLO E LATOSSOLO POR MEIO DE TÉCNICAS RADIOMÉTRICAS E CROMATOGRÁFICAS

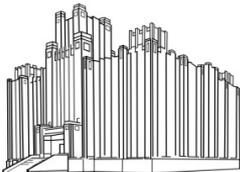
LUCILENE YURIKO MURAKAMI

Dissertação apresentada ao Instituto Biológico, da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, para obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Área de Concentração: Sanidade Animal, Segurança Alimentar e o Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Luchini

São Paulo
2014

	<p>SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS</p> <p>INSTITUTO BIOLÓGICO</p> <p>Pós-Graduação Av. Cons. Rodrigues Alves 1252 CEP 04014-002 - São Paulo - SP secretariapg@biologico.sp.gov.br</p>	 <p>INSTITUTO BIOLÓGICO</p>
---	--	---

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do candidato: LUCILENE YURIKO MURAKAMI

Título: DISSIPAÇÃO DO FUNGICIDA FLUOPICOLIDE EM NEOSSOLO E LATOSSOLO POR MEIO DE TÉCNICAS RADIOMÉTRICAS E CROMATOGRÁFICAS

Orientador: Dr. Luiz Carlos Luchini

Dissertação apresentada ao Instituto Biológico da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios para obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Área de Concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema.

Aprovada em:

Banca Examinadora

Prof. Dr.: Luiz Carlos Luchini

Instituição: Instituto Biológico

Assinatura:

Prof^a. Dr^a.: Mara M. de Andréa

Instituição: Instituto Biológico

Assinatura:

Dr^a.: Solange Papini

Instituição: Prefeitura Municipal de São Paulo – Coordenação de Vigilância em Saúde (COVISA)

Assinatura:

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais Vicente e Suely,
pelo amor, união e
apoio de sempre*

Ofereço

*Ao meu amor, Breno Henrique,
pelo carinho, apoio incondicional,
incentivo e compreensão*

Dedico

AGRADECIMENTOS

- À Deus por me ensinar que as conquistas são possíveis e recompensatórias diante das inúmeras dificuldades e esforços....
- Ao Prof. Dr. Luiz Carlos Luchini pela oportunidade, orientação e confiança durante esse trabalho e pelas contribuições à minha formação acadêmica;
- A Geisa Lara Resende pelo incentivo, motivação e pelos conselhos que engrandeceram minha carreira profissional e principalmente minha vida pessoal;
- À Bayer CropScience Brasil, em especial a todo Departamento Product Safety, Carla Steling e Ximena Patino pelo voto de confiança; Ricky Wu e Alex Ferreira pelo suporte;
- À Bayer CropScience Alemanha, em especial ao E-Fate Laboratory e ao Dr. Hans-Peter Stupp, Dr. Dieter Schaefer, Dr. Ulrich Menke, Dr. Gerhard Tarara, Alexander Nikolakis e Thomas Augustin pela cooperação e ensinamentos compartilhados;
- A Dra. Eliane Vieira, Regina Cristina Batista Ferreira, Gisele Santos pela suporte incondicional, ensinamentos, paciência, carinho e intervalos com cafés e conversas agradáveis no qual fazia meu trabalho mais estimulante.
- Ao professor Dr. Pablo Vidal pelo fornecimento dos solos utilizados neste trabalho;
- Ao laboratório Bioensaios, em especial ao Alexandre Brandelli pelas análises HPLC;
- Aos colegas de pós-graduação, em especial a Kelly Rossetti, pelas conversas, ajuda e companheirismo durante as nossas noites e madrugadas de análises no laboratório;

- *Aos meus pais por construírem essa família sólida baseada no amor, na compreensão, apoio nos momentos difíceis, sempre nos guiando para uma vida correta e digna.*

- *À minha irmã Adriana e prima Marina, pela convivência e conversas francas e divertidas. As árduas, com certeza me ajudaram a fortalecer.*

- *Às minhas famílias (desde São Paulo a Barrinha), em especial, Tio Mituru, Tia Neco, Tia Tu e Tina, por sempre estarem ao meu lado e acreditarem no meu potencial;*

- *Aos meus amigos, pelo carinho, incentivo e confiança em especial à Letícia Santiago e Débora Yasuda;*

- *Ao Instituto Biológico, em especial à Elisangela Lopes, funcionária da Pós-graduação e ao Sr. Roberto da biblioteca, pelos serviços prestados;*

- *À Dra. Mara M. De Andrea e Dra. Solange Papini pelas sugestões e conhecimentos compartilhados;*

- *De forma especial, gostaria de agradecer ao meu marido, Breno Henrique Silveira, que com amor, carinho, muita paciência e dedicação, sempre me acompanha e me incentiva em todos os momentos de nossa vida;*

- *Enfim, à todos que, de forma direta ou indireta, contribuíram no desenvolvimento deste trabalho.*

A todos vocês muito obrigada!

EPÍGRAFE

***“Que os vossos esforços desafiem as
impossibilidades, lembrai-vos de que as
grandes coisas do homem foram
conquistadas do que parecia impossível”.***

(Charles Chaplin)

RESUMO

MURAKAMI, L. Y. DISSIPACÃO DO FUNGICIDA FLUOPICOLIDE EM NEOSSOLO E LATOSSOLO POR MEIO DE TÉCNICAS RADIOMÉTRICAS E CROMATOGRÁFICAS. São Paulo. 2014. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico.

A persistência de um agrotóxico no solo depende dos processos de dissipação como evaporação, lixiviação, escoamento superficial, absorção pelas plantas e/ou por processos de degradação física, e biológica da molécula, sendo estes processos relacionados diretamente com a capacidade de adsorção dessas moléculas aos constituintes do solo. Neste trabalho, pretendeu-se investigar a taxa de mineralização do fungicida fluopicolide em dois solos brasileiros, coletados em área “in-crop” (área cultivada) e em área “off-crop” (área preservada), a 25°C; O estudo também abrangeu a influência do fungicida nos micro-organismos do solo após uma e quatro aplicações assim como a adsorção em área “in-crop” e área “off-crop” nos dois tipos de solos.

Amostras de Neossolo (solo arenoso) e Latossolo (argiloso) foram tratadas com [¹⁴C]-fluopicolide em mistura com fluopicolide a uma taxa de 0,2 mg kg⁻¹, equivalente a uma dose de aplicação no campo de 120 g ha⁻¹, assumindo uma densidade de solo de 1,2 g cm⁻³ e uma profundidade de 5 cm. As amostras foram incubadas no escuro até 130 dias e amostras foram analisadas aos 0, 30, 60 e 130 dias para verificação de radioatividade total. A mineralização foi verificada por coleta em KOH; A quantidade de ¹⁴C-fluopicolide disponível nos solos foi verificado por extração com acetonitrila e a quantidade do que permaneceu ligado ao solo foi verificado por combustão dos solos tratados. Finalmente, fez-se um balanço de radioatividade de todas as amostras medidas por CCL (contador de cintilação líquida) e as amostras provenientes da extração também foram verificadas por HPCL-radiodetector.

Para ambos os solos, indiferente das áreas serem preservadas ou cultivadas, os níveis de compostos extraíveis com solvente foram diminuindo com o tempo de incubação e a quantidade de resíduos ligados aumentou durante o estudo.

A recuperação total de radioatividade para o Neossolo de ambas as áreas variou de 93% a 117% durante todo período de incubação até 130 dias após o tratamento com o fungicida. Na área “in-crop”, a quantidade de resíduos extraíveis variou de 103% no dia da aplicação do ¹⁴C-fungicida a 88% aos 130 dias de estudo; na área “off-crop”, a recuperação de resíduos extraíveis foi de 105% a 77% no mesmo período. A quantidade de resíduos ligados detectada alcançou 4% e 5% respectivamente nas áreas “in-crop” e “off-crop” ao

final do intervalo do estudo. As taxas de formação de $^{14}\text{CO}_2$ aumentaram com o tempo, com uma mineralização moderada na área “off-crop” e baixa na área “in-crop” (em torno de 18% na área “off-crop” e 9% na área “in-crop”).

No solo argiloso (Latosolo), a recuperação total de radioatividade foi de 100% a 108% durante todo período de incubação até os 130 dias após o tratamento com o fungicida. Na área “in-crop”, a quantidade de resíduos extraíveis foi de 102% em relação a radioatividade aplicada logo após a aplicação do ^{14}C -fungicida e 81% ao final do estudo. Na área “off-crop”, a recuperação foi respectivamente de 99% à 84%. A quantidade de resíduos ligados foi 6% e 11% nas áreas “in-crop” e “off-crop” respectivamente no final do estudo. As taxas de formação de $^{14}\text{CO}_2$ também aumentaram com o tempo neste solo, mas atingiram aproximadamente 7% na área “off-crop” e 13% na área “in-crop”.

A influência de repetidas aplicações do agrotóxico na respiração da ^{14}C -glicose nos solos foi verificada comparando-se a evolução da taxa de mineralização após uma e quatro aplicações do agrotóxico, em intervalos de sete dias. Amostras de Neossolo e Latossolo, das áreas “in-crop” e “off-crop”, foram tratadas com fungicida fluopicolide à uma taxa de $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$ a cada aplicação. Os solos receberam também ^{14}C -glicose e os níveis de $^{14}\text{CO}_2$ formados foram coletados em KOH no intervalo de zero a catorze dias e a radioatividade foi quantificada por contagem de cintilação em líquido (CCL). Não houve influência do fluopicolide na atividade microbiana. Todos os solos, independente da quantidade de aplicações, tiveram comportamento similar ao da amostra controle.

Para a determinação dos coeficientes de adsorção (K_f e K_{foc}), aplicou-se o [^{14}C]-fluopicolide nas amostras de solo das duas áreas de Neossolo e Latossolo, em diferentes concentrações de fluopicolide. O ensaio foi conduzido em tubos de centrifugas, contendo amostras de 1,0 g de solo e 10,0 mL de CaCl_2 0,01M, em triplicatas. A concentração adsorvida foi calculada pela diferença entre a concentração aplicada e a da solução de equilíbrio após 24 horas, com base na atividade específica da molécula. Posteriormente, para o estudo de dessorção, a solução sobrenadante foi drenada e novos 10,0 mL de CaCl_2 0,01M foram adicionados em cada tubo. As isotermas de adsorção foram ajustadas ao modelo matemático de Freundlich e os coeficientes K_f foram utilizados no cálculo de K_{foc} .

Os valores dos coeficientes de Freundlich para a adsorção K_f para o Latossolo e Neossolo, nas áreas “off-crop” e “in-crop”, foram respectivamente 12,29; 10,03; 4,48 e 3,16 [$(\mu\text{g g}^{-1})(\text{mL } \mu\text{g}^{-1})^{1/n}$]; e os valores de K_{foc} foram 273,2; 223,9; 354,6 e 237,3 mL g^{-1} . Os resultados obtidos na adsorção indicam que o fungicida é uma molécula de média adsorção para o Latossolo e baixa adsorção para o Neossolo, segundo IBAMA (1996).

De modo geral, sob a condução desse estudo, detectou-se uma baixa mineralização do fluopicolide nos solos investigados. Não foi possível concluir sobre a influência do fungicida na respiração dos solos, pois todas as amostras dos dois solos, tanto para áreas “in-crop” e “off-crop”, apresentaram comportamento similar a seus respectivos controles. Os resultados obtidos na adsorção, indicam que o fungicida é classificado como média e baixa adsorção nos solos.

Sob as condições estudadas, não houve diferença no comportamento do fungicida nas áreas “in-crop” e “off-crop” em solos Neossolo e Latossolo.

Palavras-chave: fluopicolide, mineralização, adsorção, Neossolo, Latossolo

ABSTRACT

MURAKAMI, L. Y. DISSIPATION OF THE FLUOPICOLIDE FUNGICIDE IN NEOSSOLO AND LATOSSOLO BY RADIOMETRIC AND CHROMATOGRAPHIC TECHNIQUES. São Paulo. 2014. Dissertation (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico.

The pesticide persistence on soil depends on dissipation process as evaporation, leaching, run off, sorption by plants and/or physical and biological processes from the molecule, and these processes are directly correlated with sorption capacity of these molecules on soils. On this study, the objectives were to investigate the rate of mineralization of fluopicolide fungicide in two Brazilian soils (from “in-crop” and “off-crop” areas) at 25°C; The study also included the influence of this fungicide in soil microorganism after one and four applications as well as adsorption of this compound on “in-crop” and “off-crop” areas, from these two soils.

Samples of Neossolo (loamy sand soil) and Latossolo (clay) were treated with [¹⁴C]-fluopicolide at a rate of 0.2 mg kg⁻¹, equivalent to the field application rate of 120 g ha⁻¹, assuming a soil bulk density of 1.2 g cm⁻³ and a mixing depth of 5 cm. The samples were incubated in the dark for up to 130 days and samples were analyzed at 0, 30, 60 and 130 days to verify total radioactivity. The mineralization was verified by KOH sampling; the ¹⁴C-fluopicolide amount extractable in the soil was verified by extraction with acetonitrile and quantities of remaining non-extractable residues was checked by treated soil combustion. Finally, the radioactivity balance of all samples was investigated by LSC (Liquid Scintillation Counting) and samples from extraction were also analyzed by HPLC- radiodetector.

For both soils, regardless whether it is “in-crop” or “off-crop” area, the total levels of solvent extractable radioactivity declined over the course of incubation period. The non-extractable residues levels increased in the end of study.

The total recovery of radioactivity for Neossolo from both areas was in range of 93% to 117% all over 130 day incubation period after fungicide treatment. In “in-crop” area, the percentage of extractable residues was 103%, immediately following application of ¹⁴C-fungicide to 88% at 130 days of study, and for “off-crop” area from 105% to 77% for the same interval respectively. The amount of non-extractable residues detected were 4% and 5% for “in-crop” and “off-crop” area respectively at end of study. Levels of ¹⁴CO₂ formation increased with time although the overall mineralization was moderate for “off-crop” area and low for “in-crop” area (around 18% for “off-crop” and 9 % for “in-crop” area).

In the silt clay (Latosolo), the range of total radioactivity recovery was 100% to 108% all over 130 day incubation period after fungicide treatment. For “in-crop” area, the percentage of extractable residues was 102% regarding to radioactivity applied immediately following application of ^{14}C -fungicide and 81% at the end of study. In “off-crop” area recovery was 99% to 84% respectively. The amount of non-extractable residues was 6% and 11% for “in-crop” and “off-crop” area respectively at end of study. Levels of $^{14}\text{CO}_2$ formation increased with time although the overall contributions were approximately 7% for “off-crop” and 13% for “in-crop” area.

The pesticide influence after sequence applications on ^{14}C -glucose respirometry on soils was verified in order to compare the evolution of mineralization rate from one and four applications of pesticide in interval of seven days. Samples of Neossolo and Latossolo, from “in-crop” area and “off-crop” area, were treated with fluopicolide fungicide at a rate of 0.2 mg kg^{-1} , for each application. The ^{14}C -glucose was also added in the soil samples and the levels of $^{14}\text{CO}_2$ were collected by KOH on interval from zero to fourteen days and the radioactivity was quantified by liquid scintillation counting (LSC). There was no fluopicolide influence on microbial bioactivity. In all soils, independent on quantities of applications, its influence had a similar behavior compared with to control sample.

To establish the adsorption coefficients (K_f e K_{foc}), the [^{14}C]-fluopicolide was applied on soil samples of “in-crop” and “off-crop” areas of Neossolo and Latossolo, with different fluopicolide concentrations. The assay was carried out in centrifuge tubes containing 1.0 g of soil sample and 10.0 mL of CaCl_2 0,01M, in triplicate. The adsorbed concentration was calculated by difference between the applied concentration and the concentration in the equilibrium solution after 24 hours, using the specific activity of the molecule. Subsequently, to perform the desorption study, the adsorption supernatant was drained out and 10.0 mL of CaCl_2 0,01M was added in each tube. The sorption isotherms were fitted using the Freundlich equation and K_f coefficients were employed to calculate the K_{foc} values.

The Freundlich coefficients K_f for adsorption for Latossolo and Neossolo, on “off-crop” and “in-crop” areas, were 12.29;10.03; 4.48 e 3.16 [$(\mu\text{g g}^{-1})(\text{mL } \mu\text{g}^{-1})^{1/n}$]; and regarding to K_{foc} were 273.2; 223.9; 354.6 e 237.3 mL g^{-1} . The sorption results indicates the fungicide is a molecule of `medium` adsorption in Latossolo soil and `low` adsorption in Neossolo soil, according to IBAMA (1996).

In general, under this study conditions, there were a low fluopicolide mineralization on these soils. It was not possible to conclude any fluopicolide influence on microbial activity. All samples (both of in-crop” and “off-crop” areas, from Latossolo and Neossolo) had similar behavior compared with respectively control samples. The adsorption results indicates the fungicide is a molecule of `medium` and `low` adsorption in soil.

Under this study conditions, there was no difference on fungicide behavior on “in-crop” e “off-crop” areas of Neossolo and Latossolo

Key words: fluopicolide, mineralization, sorption, Neossolo, Latossolo

LISTA DE ABREVIATURAS

%	Porcentagem
+/-	Mais ou menos
°C	Graus Celsius
µg	Microgramo
mg	Miligramo
µL	Microlitro
g	Gramo
mL	Mililitro
dm	Decímetro
kg	Quilogramo
mL	Mililitro
cm	Centímetro
ha	Hectar
MBq	Megabecquerel

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	Informações sobre fluopicolide.	13
TABELA 2 -	Coordenadas Geográficas das Regiões dos solos	15
TABELA 3 -	Análise química dos solos	16
TABELA 4 -	Análise física dos solos	16
TABELA 5 -	Carbono de biomassa microbiana dos solos	17
TABELA 6-	Médias das somatórias de $^{14}\text{CO}_2$ produzido em cada replicata a partir do ^{14}C -fluopicolide até 130 dias de incubação	25
TABELA 7-	Recuperação de ^{14}C -fluopicolide no Latossolo em áreas “in-crop” e “off-crop”	31
TABELA 8-	Recuperação de ^{14}C -fluopicolide no Neossolo em áreas “in-crop” e “off-crop”	31
TABELA 9-	Médias das somatórias de $^{14}\text{CO}_2$ produzido em cada replicata a partir do ^{14}C -glicose após repetidas aplicações de fluopicolide no Latossolo	34
TABELA 10-	Médias das somatórias de $^{14}\text{CO}_2$ produzido em cada replicata a partir do ^{14}C -glicose após repetidas aplicações de fluopicolide no Neossolo	35
TABELA 11-	Parâmetros avaliados nos ensaios de adsorção e dessorção do fluopicolide nos Latossolo e Neossolo	36

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 -	Molécula do fungicida fluopicolide radiomarcado	14
FIGURA 2-	Frasco biométrico	19
FIGURA 3 -	Mineralização do ¹⁴ C-fluopicolide	25
FIGURA 4 -	Cromatograma representativo do padrão analítico do fluopicolide frio e radiomarcado	26
FIGURA 5 -	Cromatograma representativo da amostra do extrato após 130 dias de incubação, Latossolo, área “in-crop” – replicata 1	27
FIGURA 6 -	Cromatograma representativo da amostra do extrato após 130 dias de incubação, Latossolo, área “off-crop” – replicata 1	28
FIGURA 7 -	Cromatograma representativo da amostra do extrato após 130 dias de incubação, Neossolo, área “in-crop” – replicata 1	29
FIGURA 8 –	Cromatograma representativo da amostra do extrato após 130 dias de incubação, Neossolo, área “off-crop” – replicata 1	30
FIGURA 9 –	Influência do fluopicolide na atividade microbiana do Latossolo	33
FIGURA 10 –	Influência do fluopicolide na atividade microbiana do Neossolo	33

SUMÁRIO

1.0	INTRODUÇÃO	1
2.0	OBJETIVO GERAL	4
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
3.0	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1	Definição de Agrotóxicos.....	5
3.2	Dinâmica dos agrotóxicos.....	6
3.3	Fatores que influenciam na dissipação de agrotóxicos.....	8
3.4	Aplicação de tecnologia nuclear na agricultura	11
3.5	Fungicida fluopicolide	13
4.0	MATERIAL E MÉTODOS.....	14
4.1	Fungicida fluopicolide	14
4.2	Amostras de solo.....	15
4.3	Capacidade máxima de retenção de água (CMRA)	17
4.4	Conteúdo de água presente no solo	18
4.5	Ajuste da quantidade de água no solo a 60% CMRA.....	18
4.6	Mineralização do fluopicolide.....	18
4.7	Extração do ¹⁴ C-fluopicolide nas amostras de solo	19
4.8	Determinação dos resíduos ligados de ¹⁴ C-fluopicolide.....	21
4.9	Influência de aplicações repetidas de fluopicolide na atividade microbiana.....	21
4.10	Ensaio de adsorção e dessorção.....	22
5.0	RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
6.0	CONCLUSÕES.....	37
7.0	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38

1.0 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o crescimento da população mundial tem forçado o aumento da produção de alimentos, por meio da abertura de novas fronteiras agrícolas e da intensificação do uso do solo, com a adoção de tecnologias como a utilização de fertilizantes, variedades melhoradas, plantios adensados, agroquímicos e, recentemente, a introdução de plantas transgênicas, dentre outras (OLIVEIRA & BRIGHENTI, 2011). Com isso, atualmente há um grande consumo de agrotóxicos devido à necessidade de produção em ampla escala de determinadas culturas vegetais e criação de espécies de animais de interesse econômico. Devido a esse consumo, o uso de agrotóxicos tem despertado atenção pela possibilidade de ocorrer problemas de contaminação ambiental, de animais e do homem.

Os agrotóxicos podem atingir o solo diretamente ou indiretamente e no ambiente edáfico podem alterar a atividade microbiana, estimulando-a, servindo como fonte de carbono e nitrogênio, ou inibindo-a, devido à sua toxicidade (BARTHA et al., 1976). Sendo os micro-organismos vitais para a fertilidade do solo por meio da degradação da matéria orgânica (BEELEN & DOELMAN, 1997), qualquer alteração na microbiota pode influenciar a fertilidade do solo.

Em países desenvolvidos, rigorosos mecanismos de regulamentação e aplicação de agrotóxicos são postos em práticas para garantir sua utilização segura e manuseio correto. Os esquemas de controle, para garantir que a aprovação para a venda e uso de agrotóxicos, são baseados em dados científicos que apoiam a eficácia contra as pragas-alvos e determinam o perigo para a saúde humana e o meio ambiente. O uso dos agrotóxicos na maioria dos países em desenvolvimento é, no entanto, baseado exclusivamente nas recomendações do fabricante. Essas recomendações, que incluem dados sobre propriedades toxicológicas e ambientais, embora úteis, podem não ser apropriadas para as condições locais, uma vez que foram testados sob diferentes condições climáticas e sócios-culturais. Com a intensificação da agricultura e o aumento do uso de agrotóxicos, a necessidade de se estudar seus efeitos colaterais sobre diversas propriedades de solo e das plantas é muito importante para evitar acidentes indesejáveis (GLOVER-AMENGOR & TETTEH, 2008).

Dentre os fatores que influenciam o comportamento de agrotóxicos nos solos, a estrutura química do composto deve ser cuidadosamente avaliada, porque a presença de anéis aromáticos, as moléculas complexas, ou ainda, a presença de átomos de cloro nas moléculas oferecem maior recalcitrância dos compostos no ambiente (ATLAS & BARTHA, 1993; ANDRÉA et al., 1994). Entende-se por compostos recalcitrantes aquelas substâncias cujas moléculas apresentam ligações de maior estabilidade, sendo portanto de maior dificuldade de degradação química e/ou biológica (ATLAS & BARTHA, 1993), apresentado como consequência, maior persistência.

Depois da aplicação de um agrotóxico, vários processos físicos, químicos, físico-químicos e biológicos determinam seu comportamento. Além disso, o destino de agrotóxicos no ambiente é governado por processos de retenção nas partículas do solo (sorção, absorção), de transformação (degradação química e biológica) e de transporte (deriva, volatilização, lixiviação e carreamento superficial), e ainda por interações desses processos (SPADOTTO et al., 2004).

A persistência de um agrotóxico no solo depende dos processos de dissipação, evaporação, lixiviação, escoamento superficial, absorção pelas plantas e da taxa de degradação física, química e biológica da molécula (SILVA et al., 2007). Entre esses processos, maior importância tem sido atribuída à degradação biológica, relacionada à atividade dos micro-organismos presentes no solo (GRAHAM-BRYCE, 1981). Durante o processo parte do agrotóxico aplicado pode permanecer no solo na forma de resíduos, conservando-se na forma extraível ou ligada ao solo (NAKAGAWA; ANDRÉA, 2000). A formação do resíduo ligado pode levar à diminuição da degradação do agrotóxico e à perda de sua identidade química (CALDERBANK, 1989), à perda da sua atividade biológica (GEVAO et al., 2000), à alteração da sua absorção pelas plantas, à alteração do escoamento superficial, além da lixiviação desses compostos (NAKAGAWA; ANDRÉA, 2000).

De acordo com Spadotto (2006), os agrotóxicos, além de cumprirem o papel de proteger as culturas agrícolas das pragas, doenças e plantas daninhas, podem oferecer riscos à saúde humana e ao ambiente. O uso frequente, e muitas vezes incorreto, de agrotóxicos pode causar a contaminação dos solos, da atmosfera, das águas superficiais e subterrâneas e dos alimentos, apresentando conseqüentemente, efeitos negativos em organismos terrestres e aquáticos e intoxicação humana pelo consumo de água e alimentos contaminados, assim como o risco de intoxicação ocupacional de trabalhadores e

produtores rurais. Nas últimas décadas, verificou-se um aumento da preocupação mundial a respeito do impacto que determinadas práticas causam no meio ambiente, dentre elas o uso abusivo de agrotóxicos, por isso práticas e formas de manejo que visam a preservação do meio ambiente estão sendo estudadas (STEFFEN et al., 2011)

Técnicas que utilizam radioisótopos como traçadores são de extrema utilidade para o estudo de dinâmica de agroquímicos, pois as técnicas radiométricas quando combinadas a outras técnicas convencionais, oferecem a possibilidade de determinações precisas de quantidades muito pequenas em tempo relativamente curto (RÜEGG, 1975). Além disso, a propriedade física do radiotraçador permite discerni-lo do material em que está presente, possibilitando seu rastreamento no ambiente e a avaliação da importância relativa dos processos de volatilização, lixiviação, adsorção e degradação dos agroquímicos (ANDRÉA, 1986). Entretanto, conforme L'Annunziata (1979), embora o emprego de radiotraçadores, como o [^{14}C], permita a quantificação do ^{14}C -composto presente, o método não possibilita sua identificação química, isto é, não permite identificar se o ^{14}C -composto está em sua forma originalmente aplicada ou se ocorreu degradação. Desta forma, análises químicas complementares são executadas paralelamente para identificação química do ^{14}C -composto detectado. A metodologia efetuada dá-se geralmente na seguinte sequência: 1- extração com solventes dos compostos extraíveis na amostra; 2- quantificação dos compostos por radiometria e técnicas analíticas convencionais; e 3- separação cromatográfica e identificação.

Além de quantificação e identificação de compostos presentes no solo, pode-se efetuar testes para avaliar-se quanto é perdido daquele ambiente, o que é grandemente auxiliado pelo uso de moléculas radiomarcadas com carbono-14. Os testes que envolvem a mineralização de agrotóxicos radiomarcados, isto é, degradação total da molécula com a produção de gás carbônico e água, fornecem dados sobre a cinética de degradação dos compostos e medem o potencial de degradação total dos agrotóxicos mais estáveis (KLEIN & SCHEUNERT, 1985; NAKAGAWA et al., 1995; PAREKH et al., 1995).

2.0 OBJETIVO GERAL

Avaliar o comportamento do fungicida fluopicolide nos solos Latossolo e Neossolo em áreas preservadas (áreas “off crop”) e solos em que houve manejo de práticas agrícolas (áreas “in crop”).

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Avaliar a mineralização do fungicida fluopicolide em solos Neossolo e Latossolo, coletados na camada de 0 – 5 cm de áreas preservadas (áreas “off crop”) e solos em que houve manejo de práticas agrícolas (áreas “in crop”)
- 2- Verificar a influência de repetidas aplicações do fungicida fluopicolide na respiração do solo, por meio da mineralização de glicose radiomarcada aplicada nos solos.
- 3- Determinar o coeficiente de adsorção e dessorção deste fungicida nos solos.

3.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Definição de Agrotóxicos

A Lei nº 7.802 de 11.07.89 define: “Agrotóxicos são os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora e da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos” (BRASIL, 1989). Estão excluídas desta definição – fertilizantes ou nutrientes, drogas veterinárias, amadurecedores, aditivos alimentares e antibióticos.

Os agrotóxicos são moléculas sintetizadas para afetar determinadas reações bioquímicas de insetos, micro-organismos, animais e plantas que se quer controlar ou eliminar, mas determinados processos bioquímicos são comuns a todos os seres vivos e, assim, o efeito pode então atingir não só o organismo alvo, como também outros seres do ambiente. Os efeitos dos agrotóxicos nem sempre são isolados, pois as comunidades têm interações recíprocas de dependência ou cooperação, e a ação sobre uma determinada população pode afetar todo o funcionamento de um ecossistema (SPADOTTO et al., 2004)

A classificação dos agrotóxicos obedece a dois critérios principais: classe química e organismo alvo. Em relação à estrutura química, eles podem pertencer à classe dos organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretróides, organonitrogenados, triazinas, benzimidazóis, etc. de acordo com a molécula. Em relação aos organismos alvo, os agrotóxicos são classificados em fungicidas, inseticidas, herbicidas, acaricidas, entre outros.

3.2 Dinâmica dos agrotóxicos

Os agrotóxicos têm sido amplamente utilizados nos cultivos agrícolas; no entanto, seus destinos no ambiente continuam praticamente desconhecidos, sendo necessária melhor compreensão sobre seus efeitos nos ecossistemas (BAUMART et al.; 2007).

De maneira geral, no ambiente edáfico os agrotóxicos estão sujeitos à ação de três tipos de processos principais: retenção, transformação e transporte. Esses processos não ocorrem isoladamente, mas ao mesmo tempo e, em algumas situações, com predomínio de algum deles. A retenção se refere à capacidade das partículas minerais e/ou orgânicas do solo de reterem um determinado composto ou molécula orgânica; a transformação ocorre normalmente por meios bióticos (biodegradação) e abióticos (transformação química e fotólise); por fim o transporte de agrotóxicos no solo ocorre basicamente por meio da lixiviação, escoamento superficial e volatilização (SCORZA; 2006)

Cada vez mais, se observa maior preocupação quanto à contaminação do ambiente e a utilização racional dos solos e recursos híbridos. As práticas agrícolas, entretanto, são responsáveis por grande parte da degradação desses recursos. Outro fator relevante é que cerca de 60 a 70% do total dos agrotóxicos aplicados nos campos agrícolas não atingem a superfície alvo de interesse e acabam alcançando direta ou indiretamente o solo, o qual atua como o principal receptor e acumulador desses compostos (SILVA et al., 2007) . Isso ocorre porque compostos químicos utilizados para o controle de espécies indesejáveis em plantações dificilmente podem ser aplicados apenas e diretamente no organismo alvo. Desta forma, atingem também a planta e a superfície do solo (KEARNEY & HELLING, 1969; HARTLEY & GRAHAM-BRYCE, 1980). Os agrotóxicos também podem atingir o solo através da pulverização direta ou das partes verdes, e da queda de folhas e frutos que receberam a aplicação (MUSUMECI, 1992).

De acordo com Andréa (1986), os resíduos de agrotóxicos ou seus metabólitos quando presentes no solo podem: 1- em pequenas concentrações, ser absorvidos pelas plantas e incorporados à cadeia alimentar abaixo do nível de tolerância estabelecido; 2- estar presentes em concentrações fitotóxicas que comprometeriam o desenvolvimento de futuras plantações; ou ainda 3- interagir com outros agrotóxicos ou resíduos que podem ocasionar um efeito fitotóxico sinérgico e/ou aumentar ou diminuir sua persistência no ambiente.

Essas modificações que podem ocorrer com a molécula de um agrotóxico no solo podem ser uma quebra total da molécula (chamada de mineralização) dando origem a CO₂, H₂O e íons minerais; ou podem ser parciais, dando origem a subprodutos (os metabólitos), chamada de metabolização. Tais modificações ocorrem por meios bióticos ou abióticos (COX et al., 1997) e por isso, estudos do comportamento de agrotóxicos no ambiente têm como principais objetivos: descobrir os fatores que influenciam direta ou indiretamente a eficácia de ação do produto sobre a praga e descobrir as possíveis interações dos agrotóxicos com o meio, de forma a se minimizar os efeitos adversos causados pelos agrotóxicos quando presentes no solo (LAVORENTI, 1996). A própria prática agrícola também influencia na dissipação dos compostos químicos aplicados no ambiente. Os mecanismos de transferência podem ser puramente físicos (quando não há alteração da estrutura molecular do agrotóxico) ou de degradação (quando há alteração na estrutura molecular do agrotóxico). Os principais processos de transferência são: deriva física, volatilização, adsorção/dessorção, absorção e lixiviação (LUCHINI, 1995). Em relação aos mecanismos de degradação são citados: degradação fotoquímica, microbiana, química e metabolismo vegetal e/ou animal (MESSIAS, 1998), que influenciam na dissipação e toxicidade do composto no ambiente.

Portanto, o comportamento e a persistência dos agrotóxicos no solo resultam de numerosas interações entre eles com os componentes vivos e as partículas minerais e orgânicas do solo, assim como também dependem de fatores ambientais (GREEN, 1974). Dentre os fatores ambientais que regulam o comportamento dos agrotóxicos pode-se citar ainda quantidade de argila e matéria orgânica, pH e temperatura (LUCHINI, 1987; WALTON & ANDERSON, 1988; WALKER, 1989; LYDY et al., 1990) e dentre as propriedades dos compostos cita-se sua: natureza química, capacidade de ionização, solubilidade em água, pressão de vapor, coeficiente octanol-água, retenção e sua meia-vida no solo (PRAMER & BARTHA, 1980; ROBERTS, 1984; WALTON & ANDERSON, 1988; COATS, 1993; WEBER, 1994).

3.3 Fatores que influenciam na dissipação de agrotóxicos

3.3.1 Propriedades físico-químicas dos agrotóxicos

Segundo Primel et al. (2005), as propriedades físico-químicas dos agrotóxicos são importantes parâmetros que podem ser avaliados para estabelecer um conhecimento prévio sobre o seu potencial de risco como contaminante no meio ambiente.

As principais propriedades físico-químicas dos agrotóxicos relacionadas com o seu comportamento são: solubilidade em água (S), coeficiente de adsorção (K_D , K_F e K_{OC}), coeficiente de partição octanol-água (K_{OW}), constante de equilíbrio de ionização ácida (pKa), constante de lei de Henry (KH), reatividade ou meia-vida ($T_{1/2}$) no solo e na água (CABRERA et al., 2008). As propriedades físico-químicas dos agrotóxicos, bem como a quantidade e a frequência de uso, métodos de aplicação, características bióticas e abióticas do ambiente e as condições meteorológicas, determinarão qual será o destino dos agrotóxicos no meio (KLINGMAN et al., 1982).

Segundo Luchini & Andréa (2002), “num sistema solo-agrotóxico a adsorção dos agrotóxicos no solo é normalmente um processo chave no comportamento desses compostos, pois está diretamente relacionado com translocação, persistência, mobilidade e bioatividade dos compostos nos solos e plantas ali presentes. A adsorção de agrotóxicos no solo tem importância principalmente por relacionar-se diretamente com os processos de disponibilidade para atividade do composto, disponibilidade para o ataque microbiano e biodegradação, e inversamente com a possibilidade de lixiviação no perfil do solo e potencial de poluição de águas superficiais e subterrâneas. Além disso, sua ocorrência pode variar enormemente em função das diferentes propriedades físicas e químicas dos solos, tais como conteúdo orgânico, pH, quantidade e tipos de argilas etc. O processo de adsorção de um agrotóxico no solo determina a fração do composto disponível para sua ação biológica, já que o processo de adsorção resulta da partição do agrotóxico entre a fase sólida e a fase líquida do solo. A adsorção de agrotóxicos é geralmente representada pela equação de Freundlich para o equilíbrio agrotóxico-superfície do solo-solução do solo.

Os agrotóxicos ou seus resíduos podem ainda passar por transformações que causam ou desaparecimento ou persistência, ou ainda, transformações parciais que irão determinar os efeitos prejudiciais ao ambiente. Os agentes de transformação ou degradação podem ser: físicos, químicos e biológicos. Os processos de degradação de agrotóxicos no solo dependem da estrutura química dos compostos; das características do próprio solo, onde a matéria orgânica representa fator de maior importância para as reações; da presença de água, pois ela age como meio de reação ou como reagente, e das condições

climáticas, que agem diretamente tanto sobre processos físico-químicos, como sobre a população e o metabolismo microbiano dos solos. O conceito de degradação pode ser definido de maneiras diferentes. Por um lado, sob o ponto de vista prático, fala-se de degradação quando, por meio de fatores bióticos e/ou abióticos, a molécula da substância ativa é de tal forma alterada que perde as suas propriedades originais. Por outro lado, e do ponto de vista ecotoxicológico e de proteção do solo e dos recursos hídricos, fala-se em degradação incompleta, quando a substância ativa é transformada parcialmente dando origem a vários metabólitos, ou ainda, degradação completa quando ela é mineralizada transformando-se em elementos simples como H₂O, CO₂, etc. A mudança na estrutura molecular de um composto orgânico pode se dar através de processos biológicos ou não-biológicos. As reações de transformação envolvendo micro-organismos são normalmente os únicos processos pelos quais um composto pode ser mineralizado, isto é, convertido a CO₂, H₂O e outros íons. A degradação microbiana tem sido apontada como o principal fator de degradação de agrotóxicos no solo e esta relacionado principalmente a fungos e bactérias, que são os organismos mais abundantes neste ambiente, mas também por outros micro-organismos que utilizam o agrotóxico como fonte de alimento e energia para seus processos metabólicos. A maior parte da degradação microbiana de agrotóxicos ocorre no solo com condições como umidade, temperatura, aeração, pH e conteúdo orgânico ideais para o metabolismo e que, portanto, são fatores que afetam a taxa de degradação.”

A própria estrutura molecular dos compostos determina potencialidades de seu comportamento no ambiente. Assim, a presença de anéis aromáticos, átomos de cloro e grupamentos fenóis ou anilinas são importantes na fitotoxicidade e características químicas como ponto de ebulição, ponto de fusão, hidrossolubilidade, polaridade, entre outras (ANDRÉA, 1992). A pressão de vapor é importante para avaliar o transporte dos agrotóxicos para a atmosfera e, portanto, é a propriedade da molécula utilizada para a determinação da volatilização potencial do composto (BARBERA, 1976; LAVORENTI, 1996). A solubilidade em água é um dos mais importantes parâmetros que influenciam no destino final e transporte do agrotóxico pela coluna de solo, pois moléculas hidrossolúveis são facilmente incorporadas no ciclo hidrológico e, por isso, apresentam maior potencial de contaminação de águas subterrâneas e/ou de superfície (LAVORENTI, 1996). Contudo, estas moléculas apresentam, em geral, baixa adsorção pelas partículas do solo e, desta forma, estão mais suscetíveis à degradação microbiana, podendo determinar as dissipações do composto no ambiente.

Porém, moléculas que possuem diversas associações possíveis entre os coloides do solo, segundo Luchini (1987), “destaca-se a adsorção, um fenômeno químico, que não gera modificações nas substâncias envolvidas, mas determina maior ou menor disponibilidade dos agrotóxicos ao ataque microbiano e pode determinar maior persistência desses compostos no solo.” Esse processo se refere à ligação do agrotóxico à superfície das partículas do solo, variando em função das propriedades do próprio composto e das propriedades físicas e químicas do solo, tais como: teor de matéria orgânica, pH e teor de argila do solo (LUCHINI & ANDRÉA, 2002).

3.3.2 Fatores ambientais

A matéria orgânica do solo é formada a partir de restos de plantas, animais, fungos e outros micro-organismos em diversos estágios de degradação (BARTHA, 1980). A matéria orgânica é importante porque é fonte de nutrientes para a proliferação dos micro-organismos do solo, e o aumento no número de micro-organismos pode resultar maior degradação dos agrotóxicos (KHAN & BEHKI, 1990).

Essa mistura de materiais presente na matéria orgânica pode ser dividida basicamente em duas partes: substâncias não húmicas e substâncias húmicas, sendo que as substâncias húmicas influenciam na retenção de calor e água no solo (MESSIAS, 1998) o que, por sua vez, pode influenciar a dissipação dos agrotóxicos, tanto por processos químicos quanto por processos biológicos. O aumento da temperatura favorece a dissipação dos agrotóxicos do solo por volatilização e o conteúdo de água favorece a disponibilidade de agrotóxicos hidrossolúveis aos micro-organismos edáficos. Portanto, tanto a temperatura como o conteúdo de água têm influências químicas e biológicas no solo.

Segundo Benoit et al. (1999), o destino de muitos agrotóxicos está relacionado com o teor de matéria orgânica presente no solo porque ela influencia os processos de adsorção, biodegradação e transporte das moléculas dos agrotóxicos, assim como a atividade biológica do solo. Em relação à adsorção de agrotóxicos, a matéria orgânica também tem influência, pois durante o processo de oxidação da própria molécula orgânica podem ser formados novos sítios de adsorção às partículas do solo por meio da quebra das ligações argila-húmus e estes sítios podem reagir com os agrotóxicos.

Além da matéria orgânica contida no solo, o seu pH influencia o destino dos agrotóxicos no solo direta ou indiretamente e química ou biologicamente, por meio da

influência sobre a taxa de adsorção, velocidade e via de degradação, além de selecionar grupos de micro-organismos (MENZIE, 1969; GRAY et al, 1978; WALKER & WELCH, 1989; REINHARDT et al., 1990; ANDRÉA et al., 1997; OLIVEIRA & BRIGHENTI, 2011).

Segundo Gray et al (1978), a temperatura do solo influencia na difusão de gases, metabolismo, adsorção e seleção de grupos de micro-organismos. Com o aumento de temperatura, aumenta-se proporcionalmente a difusão de gases, a volatilização dos agrotóxicos e o metabolismo microbiano.

3.4 Aplicação de tecnologia nuclear na agricultura

Há diversas utilizações de energia nuclear, para fins pacíficos, como ferramenta auxiliar para o entendimento da dinâmica de elementos e composto (exemplo nutrientes, água, pesticidas, etc.) em estudo de ecologia, física do solo, mineralogia, geologia, biogeoquímica ambiental, entomologia, ciência dos alimentos, melhoramento genético, nutrição animal e nutrição mineral de plantas; fertilidade do solo etc. (LAVRES, 2012)

Há uma série de aplicações de tecnologia nuclear na agricultura, sendo as principais como: fontes de radiação (^{60}Co e ^{127}Ra) e o uso de radioisótopos como traçadores (^{14}C , ^3He , ^{32}P e ^{16}O) (MALAVOLTA, 1963; ROCHA et al, 1976).

Uma variedade de técnicas tem sido utilizadas para avaliar o comportamento ambiental de agrotóxicos. Dentre estas, o uso de radioisótopos em estudos está bem estabelecida e esta técnica é uma das ferramentas mais precisas e confiáveis para estudar o comportamento dos agrotóxicos e seus produtos de degradação e é comumente usado para a análise quantitativa e qualitativa.

Essas técnicas nucleares são usadas para estudar problemas agrícolas, destacando-se as seguintes áreas: melhoramento genético de plantas de interesse econômico, fertilização e nutrição de plantas, problemas ambientais (empregados principalmente em estudos ambientais), irradiação de alimentos, produção animal e ciência do solo (LEÃO, 1997).

Como as informações sobre o comportamento ambiental de agrotóxicos devem atender aos requisitos nacionais e internacionais para o registro e uso dessas substâncias, o uso de técnicas radioisotópicas é uma ferramenta importante em quase todas as áreas de pesquisa com agrotóxicos, ajudando na avaliação e compreensão da estrutura física e

química e do destino desses contaminantes nos diferentes compartimentos ambientais. Assim, o uso de compostos radiomarcados permite estudos sobre a translocação e metabolização destes compostos no solo, plantas e animais, resultando em importantes informações sobre o destino do produto ao longo da cadeia alimentar (ANDRÉA et al., 1994). Da mesma forma, as transformações de agrotóxicos no solo podem ser avaliadas com base na quantificação de $^{14}\text{CO}_2$ produzido a partir da mineralização desses compostos no solo, o que resulta em informação sobre a sua persistência. Em adição aos estudos de laboratório, o comportamento de [^{14}C]-agrotóxicos pode ser avaliado também em experimentos conduzidos em lisímetros, sendo possível um balanço de massa do ^{14}C - agrotóxico aplicado, através da quantificação de radiocarbono presente no perfil do solo, na água da chuva lixiviado e/ou translocados para as plantas cultivadas, ao longo do tempo (ANDRÉA et al., 1990; LUCHINI et al., 1993).

Assim, o uso de radioisótopos como traçadores permite acompanhar a absorção e o transporte de substâncias em plantas, absorção de alimentos e outras substâncias em animais e, também permite estudar os mecanismos de dissipação de agrotóxicos no ambiente após sua aplicação, pois a propriedade física do radioisótopo não altera seu comportamento químico e permite o rastreamento do composto em estudo (MALAVOLTA, 1963; ANDRÉA, 1986). Além disso, segundo Führ (1991) e revisão bibliográfica de Andréa (1992), os radiotraçadores facilitam a detecção de quantidades mínimas de resíduos de agrotóxicos em tempo relativamente curto e permitem a detecção de produtos de degradação ainda desconhecidos.

Atualmente a utilização de radiotraçadores, principalmente o ^{14}C , permite estudos de longo prazo e por ser emissor de radiação beta de baixa energia, não exige equipamentos de proteção pessoal sofisticados (ANDRÉA, 1986; FÜHR, 1991). Entretanto, mesmo com o emprego de radiotraçadores, a elucidação do mecanismo de dissipação dos agrotóxicos no ambiente só é possível pela integração de diversas áreas científicas, como química, fisiologia vegetal, pedologia, agronomia e microbiologia (FÜHR, 1991), além do uso conjunto de técnicas analíticas convencionais.

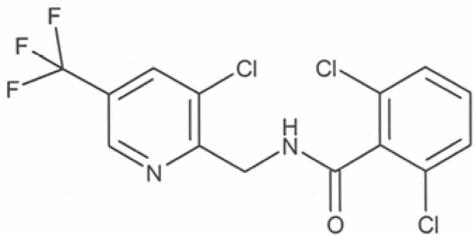
3.5 Fungicida fluopicolide

O fluopicolide é um fungicida utilizado no Brasil nas culturas de batata, fumo, melão, tomate e uva, conforme o sistema de consulta pública Agrofit, em 2013, do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Seu modo de ação é sistêmico via xilema e translaminar.

De acordo com as recomendações do fabricante do produto comercial que possui a maior dose registrada no mercado, é recomendada uma aplicação foliar ou até seis aplicações, dependendo da cultura e da infestação de pragas. Geralmente, na prática de campo se faz 4 aplicações durante o crescimento da planta e também com rotação de produtos de outras classes químicas, sendo a dose máxima de 120 g i.a ha⁻¹, com o intervalo de aplicação de 7 a 10 dias.

As propriedades e características físico-químicas do fungicida fluopicolide estão descritas na tabela a seguir.

Tabela 1: Informações sobre fluopicolide

Nome comum	Fluopicolide	
Número CAS	239110-15-7	
Nome IUPAC	2,6-dicloro- <i>N</i> -[(3-cloro-5-(trifluorometil)-2-piridinilametil]benzamida	
Nome CAS	2,6-dicloro- <i>N</i> -[[3-cloro-5-(trifluorometil)-2-piridinila]metil] - benzamida	
Formula Estrutural		
Massa Molecular	Classe	Grupo Químico
383,58 g/mol	Fungicida	Benzamida
Fórmula Molecular	pKa	Hidrólises (meia-vida)
C ₁₄ H ₈ Cl ₃ F ₃ N ₂ O	Sem dissociação sob condições relevantes	pH 4, pH 7 e pH 9 estável
Coeficiente Partição Octanol/água	3,26 a pH 7,8 e 22 ° ± 1 °C	DT_{50 lab 20°C (t 1/2)}
Log (K_{ow})	2,9 a pH 4,0, 7,3 e 9,1 e 40° ± 1 °C	194 d – 411 d

Pressão de Vapor (à 25 °C)	Solubilidade em água (a 9° e 20°C)	Solubilidade em solventes orgânicos (a 20°C)
8,03 x 10 ⁻⁷ Pa	2,86 mg/L em pH 4 2,80 mg/L em pH 7 e pH 9	Hexano 0,20 g/L Diclorometano 126 g/L; Tolueno 20,5 g/L Acetona 74,7 g/L Acetato de etila 37,7 g/L Dimetilsulfoxido 183 g/L Etanol 19,2 g/L

Fonte: EPA e EFSA

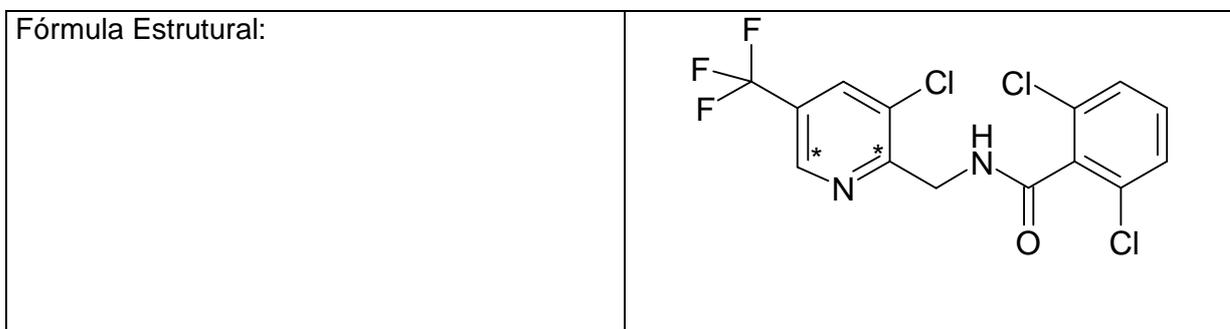
4.0 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Fungicida fluopicolide

Foi utilizado o fluopicolide Padrão Analítico (lote MOY4627, pureza 99,2%) e fluopicolide radiomarcado [Pyridyl-2,6-¹⁴C] fluopicolide (ID: KML 9513, atividade específica 5.73 MBq) ambos fornecidos pela Bayer CropScience.

A fórmula estrutural e a posição de marcação da molécula do ¹⁴C-fluopicolide, estão representadas na figura abaixo.

Figura 1: Molécula do fungicida fluopicolide radiomarcado



*posição do [¹⁴C]

4.2 Amostras de solo

Para realização do estudo, foram coletadas amostras superficiais de solos (0 – 5 cm) de áreas “off crop” (áreas preservadas) e áreas “in crop” (áreas tratadas) de solos Latossolo e Neossolo. Todas as áreas estão localizadas no município de Piracicaba/SP.

Os coordenadas geográficas das áreas “off crop” e áreas “in crop” estão na Tabela 2.

Tabela 2: Coordenadas Geográficas das Regiões dos solos

	“off crop”	“in crop”
Latossolo	22° 37' 19" S 47° 36' 45" W	22° 43' 1.4" S 53° 53' 43.2" W
Neossolo	22° 43' 32" S 48° 1' 21" W	22° 43' 1.4" S 48° 1' 10.55" W

Esses solos foram escolhidos por serem solos tipicamente tropicais e foram coletados à profundidade de 0 – 5 cm onde é maior a atividade microbiana e maior o conteúdo de matéria orgânica, uma vez que esses parâmetros edáficos são de fundamental importância nos processos de degradação e de adsorção dos agrotóxicos.

As propriedades físicas e químicas dos solos (uma vez que nas áreas “in crop”, é comum a prática de fertilização) foram analisadas nos laboratórios do Departamento de Ciência de Solo (ESALQ-USP), e seus parâmetros estão apresentados nas Tabelas 3, 4 e 5.

Tabela 3: Análise química dos solos

	pH CaCl ₂	P mg dm ⁻³	K	Ca	Mg mmolc dm ⁻³	H+Al	CTC	pH H ₂ O	pH KCl	M. O.(1) g dm ⁻³	N (total) mg kg ⁻¹
Latossolo "off crop"	4,8	8,0	2,4	26,0	9,0	64,0	101,4	5,6	4,5	54,0	3.682,0
Latossolo "in crop"	4,9	4,0	2,0	14,0	9,0	42,0	66,6	5,7	4,6	34,0	1.505,0
Neossolo "off crop"	4,4	4,0	< 0,7	9,0	4,0	34,0	48,5	5,4	4,3	24,0	1.120,0
Neossolo "in crop"	5,7	42,0	2,2	14,0	11,0	13,0	39,8	6,4	6,2	16,0	602,0

Unidades: P (mg.dm-3); K, Ca, Mg, H+Al, e CTC (mmolc.dm⁻³);

Métodos:

Fósforo (P) por colorimetria extraído com resina trocadora de íons, pH CaCl₂, potássio (K) em espectrofotômetro de emissão atômica extraído com resina trocadora de íons, cálcio (Ca) e magnésio (Mg) em espectrofotômetro de absorção atômica extraído com resina trocadora de íons, acidez potencial (H+Al) extraído com tampão SMP (Manual de análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. IAC, 2001).

CTC: Capacidade de troca de cátions; .

pH em água, pH em KCl (Manual de métodos de análise de solo. EMBRAPA. 2ª edição, 1997). matéria orgânica (MO) por colorimetria (Manual de análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. IAC, 2001). Matéria orgânica (MO) por titulação (Métodos de Análise Química, Mineralógica e Física de Solos do Instituto Agronômico de Campinas. Boletim técnico 106, IAC, 2009)., nitrogênio total – digestão sulfúrica/Kjeldahl,

Tabela 4: Análise física dos solos

	Areia Total -----	Silte (g kg ⁻¹)	Argilas c/disp. -----	Classe de textura
Latossolo "off crop"	261,0	92,0	647	m-arg.
Latossolo "in crop"	378,0	53,0	569	arg.
Neossolo "off crop"	877,0	23,0	100	ar.
Neossolo "in crop"	924,0	13,0	63	ar.

Métodos: Bouyoucos (densímetro); S.S.S.A. Book Series: 5 Methods of Soil Analysis Part4; Classe de diâmetro (mm) U.S.D.A.:5 frações de areia: muito grossa (MG) = 2 a 1; grossa (G) = 1 a 0,5; média (M) = 0,5 a 0,25; fina (F) = 0,25 a 0,10; muito fina (MF) = 0,10 a 0,05; areia total (AT) = 2 a 0,05; silte = 0,05 a 0,002; argila total < 0,002; argila água < 0,002. 2 frações de areia: grossa (G) = 2 a 0,25 e fina (F) = 0,25 a 0,05; areia total (AT) = 2 a 0,05; silte = 0,05 a 0,002; argila total < 0,002. Classe de textura: Argila (c/ dispersante) até 149 g/kg = arenosa (ar); de 150 a 249 g/kg = média arenosa (md-ar); de 250 a 349 g/kg = média argilosa (md-arg); de 350 a 599 g/kg = argilosa (arg); de 600 g/kg ou superior - muito argilosa (m-arg).

Tabela 5: Carbono de biomassa microbiana dos solos*

	mg C g ⁻¹ de solo seco
Latossolo "off crop"	1,21
Latossolo "in crop"	0,82
Neossolo "off crop"	0,33
Neossolo "in crop"	0,17

• **Metodologia:**
 VANCE, E.D.; BROOKERS.; P.C JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. Soil Biology and Biochemistry, 19:703-707. (1987)

Após a coleta, as amostras de solos foram espalhadas em superfície plana e secaram ao ar ambiente durante três dias. Após seco, os solos foram peneirados com malha de 2 mm e quando apresentavam-se “empedrados”, utilizou-se pistilo e cadinho para seu destorroamento. Após esse procedimento, as amostras foram armazenadas em geladeira a temperatura de aproximadamente 4°C, com umidade natural, por um período não maior que 4 meses.

Parte dessas amostras foi armazenada por duas semanas em câmara de incubação (BOD) a aproximadamente 25°C com água suficiente para umedecê-las e reativá-las.

4.3 Capacidade máxima de retenção de água (CMRA)

Para determinação da Capacidade Máxima de Retenção de Água (CMRA), adaptou-se a metodologia da EMBRAPA (FRIGHETTO; VALARINI, 2000).

Pesaram-se três replicatas de 10,0 g de cada solo peneirado e seco que foram colocadas em três funis analíticos apoiados em provetas e cuja saída foi vedada com uma pequena quantidade de lã de vidro. Adicionou-se 10,0 mL de água em cada replicata de solo e esperou toda a água escoar. Anotou-se o volume de água obtida na proveta que foi, em seguida, descartada. Repetiu-se o procedimento de adição de água até que todo o volume de 10,0 mL fosse percolado.

Somou-se todo o volume de água retido de cada replicata e fez-se a média aritmética entre elas. O valor obtido equivale à capacidade máxima de retenção de água (100% da CMRA) para 10,0 g de solo. O valor obtido foi dividido por 10 para que se tivesse o valor por gramo de solo.

4.4 Conteúdo de água presente no solo

Pesaram-se três replicatas de 3,0 g de cada solo naturalmente úmido em um analisador de umidade (Metler, LJ16). Cada replicata ficou no aparelho durante 20 minutos a 120°C. Os valores encontrados foram utilizados para corrigir o conteúdo de água no solo no momento do ajuste para a porcentagem de CMRA a ser utilizada no estudo.

4.5 Ajuste da quantidade de água no solo a 60% CMRA

O valor da umidade por grama de solo calculado no item 4.3 equivale a 100% da quantidade de água retida no solo. Calculou-se o valor equivalente a 60% por meio da regra de três simples.

Com o novo valor obtido, descontou-se o valor obtido no item 4.4 e o resultado equivale à quantidade de água que foi adicionada por grama de solo para que se obtivesse 60% de CMRA.

4.6 Mineralização do fluopicolide

O estudo de mineralização do fluopicolide foi feito em 130 dias. Amostras de 50 g (base seca) de solo úmido foram colocados em frascos biométricos (Figura 2), sendo três replicatas para cada período de incubação (0, 30, 60 e 130 dias).

Em cada frasco, adicionou-se 500 µL de uma mistura de solução de ^{14}C -fluopicolide e padrão analítico fluopicolide em metanol/ H_2O (1:1, v/v), com atividade de 0,1185 MBq mL⁻¹ do produto radioativo e concentração total de 20 µg mL⁻¹, equivalente a dose final de 120 g i.a. ha⁻¹, que é a dose máxima recomendada por aplicação na prática agrícola. Esta solução foi aplicada diretamente sobre a superfície das amostras de solos previamente umedecidos. Após homogeneização, as amostras foram então ajustadas à umidade de 60% da CMRA.

No tubo lateral do frasco biométrico, adicionou-se 10 mL de solução KOH 0,1M, para a captura do $^{14}\text{CO}_2$ proveniente da mineralização do fluopicolide. Esta solução foi trocada

por solução de captura recém-preparada diariamente aos 1, 2, 4 e 8 dias e semanalmente no intervalo de 15, 22, 28, 36, 43, 50, 60, 64, 71, 78, 85, 92, 99, 106, 113 e 130 dias após o tratamento e início da incubação para a determinação do $^{14}\text{CO}_2$ formado. Da solução retirada, transferiu-se três alíquotas de 2,0 mL de cada replicata para frascos contendo 10 mL de solução líquida cintiladora para amostras aquosas de MESQUITA e RÜEGG (1984). As amostras foram agitadas, mantidas no escuro por no mínimo 24 horas, para leitura no CCL (Contador de Cintilação Líquida – Equipamento Packard, 1600 TR, durante 10 minutos). Essa técnica é baseada no protocolo OECD 304A (1981).

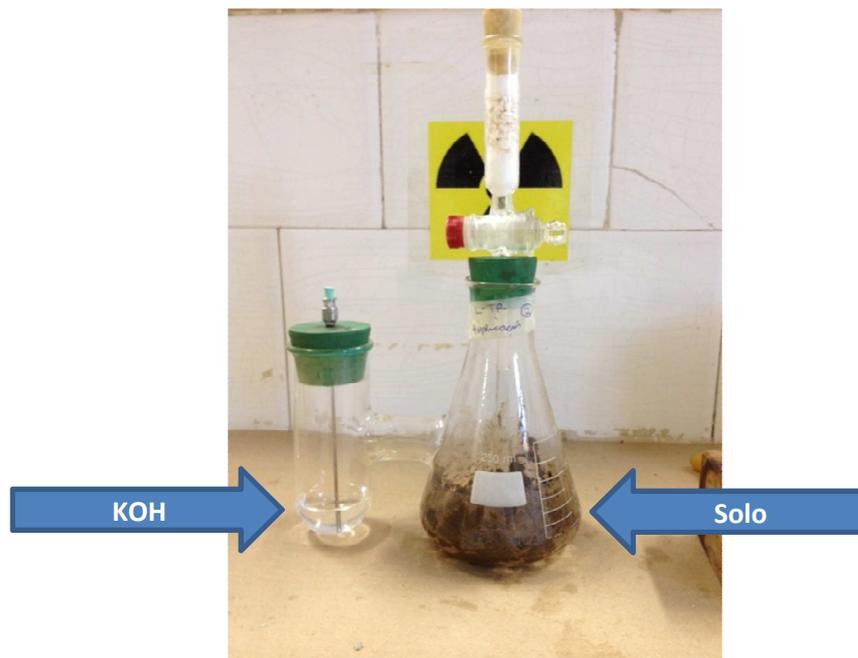


Figura 2: Frasco biométrico

4.7 Extração do ^{14}C -fluopicolide nas amostras de solo

Para a determinação dos resíduos extraíveis do fungicida ^{14}C -fluopicolide, as amostras de solo foram retiradas dos frascos biométricos após cada intervalo de incubação correspondente a 0, 28, 60 e 130 dias após aplicação do fungicida, e o solo foi extraído com 150 mL de acetonitrila por Soxhlet a 70°C durante 8 horas.

O volume recuperado do extrato foi medido e em seguida, transferiu-se 3 alíquotas de 1,0 mL cada para frascos contendo 10 mL de solução líquida cintiladora para amostras orgânicas de Mesquita e Rüegg (1984). Estes frascos foram agitados, mantidos no escuro por no mínimo 24 horas e levados para leitura em CCL.

O restante dos extratos foi armazenado em geladeira a 4°C, para análise cromatográfica.

4.7.1 Análise cromatográfica dos extratos

Para as análises cromatográficas dos extratos, as amostras provenientes da extração foram concentradas em rotavapor em volume final de 5 mL e essas amostras concentradas foram enviadas e analisadas no laboratório Bioensaios – Viamão, RS. A metodologia cromatográfica utilizada foi:

Coluna EC Nucleodur C18 (250mm x 4,6mm x 5µm).

Fase A : Acetonitrila (0,1% ácido acético glacial, v/v)

Fase B: Água (0,1% ácido acético glacial, v/v. pH 2,5)

Fluxo: 1 mL/min

Temperatura: Ambiente

Volume de injeção: 300 µL

Detector UV: 270 nm

Célula detecção radioativa: GT 200 Berthold (cintilador sólido).

Equipamento:

HPLC, Shimadzu Instruments:

Bomba	Sistema binário LC-10 AD
Injetor	Auto injetor SIL-10A com válvula Rheodine
Detectores	
UV/VIS	SPD 10A
RAM (Radioactivity monitor)	Berthold LB 508 equipado com célula GT200

As frações de radioatividades dos cromatogramas foram quantificadas usando o software de avaliação Berthold.

4.8 Determinação dos resíduos ligados de ^{14}C -fluopicolide

Após a extração, os solos foram secos ao ar livre por 7 dias e/ou até a completa secagem, mantendo-se armazenados em geladeira a 4°C até o momento da análise.

Para a análise dos ^{14}C -resíduos ligados ainda presentes no solo após a extração com solvente, triplicatas de 500 mg dos solos extraídos foram oxidadas a 900°C com fluxo de N_2 de 380 cm^3/min , o mesmo fluxo de O_2 , por 4 minutos, em oxidador biológico (Biological Oxidizer, OX600). O dióxido de carbono radiomarcado, proveniente da queima dos ^{14}C -compostos ainda presentes no solo, foi coletado em uma armadilha contendo 3,0 mL de monoetanolamina e 12 mL de solução cintiladora misturada com metanol na proporção 6:4 de ANDRÉA et al., 1997. A radioatividade presente foi quantificada por CCL, para o fechamento do balanço de radioatividade como $^{14}\text{CO}_2 + ^{14}\text{C}$ -extraível + ^{14}C -ligado.

4.9 Influência de aplicações repetidas de fluopicolide na atividade microbiana

Paralelamente ao ensaio de mineralização do fluopicolide, foram conduzidos os ensaios de avaliação da influência da aplicação do fungicida na atividade microbiana dos solos, determinado pelo método de radiorespirometria com o uso de ^{14}C -glicose. Os seguintes tratamentos foram utilizados: solos sem nenhuma aplicação de fluopicolide, com uma aplicação de fluopicolide e com quatro aplicações do composto e em intervalos de 7 dias para cada aplicação. A solução de aplicação foi equivalente a 120 g i.a ha^{-1} por meio de solução em metanol/ H_2O , v/v (1:1). A verificação da atividade microbiana foi feita por meio de medidas de $^{14}\text{CO}_2$ em 17 horas e 1, 3, 5, 8, 10 e 14 dias após aplicação da 55 μL de solução de ^{14}C -glicose.

O tratamento foi feito em amostras de solos umedecidos a 60% da CMRA dispostas em béqueres nos quais alíquotas de solução de fluopicolide grau técnico em metanol/ H_2O , v/v (1:1) equivalente a 120 g.i.a. ha^{-1} foram aplicadas na superfície e então homogeneizadas. Os béqueres foram mantidos a 25°C em câmara biológica (BOD), umedecidos e fechados com cobertura furada para permitir aeração.

Após as aplicações, pesaram-se triplicatas de 50 g de solo (base seca) que foram então acondicionados em frascos biométricos (Figura 2). A umidade dos solos foi corrigida para 60% da CMRA e aplicou-se 55 μL da solução da mistura de glicose + ^{14}C -glicose com atividade 0,104 MBq mL^{-1} e concentração 200 mg mL^{-1} . A seguir, as amostras foram homogeneizadas.

Adicionou-se 10 mL de solução KOH 0,1M, no braço lateral do frasco biométrico, conforme descrito no item 4.5, e a troca foi realizada em intervalos de horas/dias acima descritos para verificação da glicose consumida pela microbiota e produção de $^{14}\text{CO}_2$.

4.10 Ensaios de adsorção e dessorção

O método “*batch equilibrium*” foi utilizado para a realização do ensaio de adsorção do ^{14}C -fluopicolide em amostras de solos, baseado no protocolo OECD 106 (2000). Triplicatas de 1,0 g de solo (base seca), foram colocados em tubos de centrifuga de polietileno com capacidade de 15 mL e adicionou 10 mL de solução de fluopicolide nas concentrações de 0,0066; 0,01; 0,02; 0,04 e 0,08 $\mu\text{g i.a mL}^{-1}$ preparadas em solução CaCl_2 0,01M, como eletrólito-suporte, utilizando o padrão analítico e ^{14}C -fluopicolide 0,053 $\mu\text{Ci mL}^{-1}$. A concentração de 0,02 $\mu\text{g i.a mL}^{-1}$ correspondeu à dose máxima recomendada de campo de 120 g i.a ha^{-1} (conforme bula do produto comercial de maior dose registrada), levando-se em conta uma densidade do solo de 1,0 g cm^{-3} , profundidade do solo de 5 cm.

Os frascos de polietileno contendo o sistema solo/solução foram agitados por 24 horas em agitador horizontal e então foram centrifugados a 2000 rpm por 20 minutos. Três alíquotas do sobrenadante foram retiradas e colocadas cada uma em um frasco com solução líquida cintiladora para amostras aquosa de MESQUITA e RÜEGG (1984). As amostras foram agitadas, mantidas no escuro por no mínimo 24 horas, para leitura no CCL conforme já descrito.

De acordo com Luchini (1987), a quantidade de fluopicolide adsorvido aos solos (C_s) foi calculada em $\mu\text{g g}^{-1}$ pela diferença entre a quantidade de solução-padrão inicialmente adicionada ao solo (C_i em $\mu\text{g mL}^{-1}$) e a quantidade encontrada na solução de equilíbrio (C_e em $\mu\text{g mL}^{-1}$) (equação 1):

$$C_s = (C_i - C_e) \frac{v}{m} \quad \text{Eq (1)}$$

Onde:

C_s = Quantidade de fluopicolide adsorvido ($\mu\text{g g}^{-1}$);

C_i = Concentração inicial do fluopicolide ($\mu\text{g mL}^{-1}$);

C_e = Concentração do fluopicolide no equilíbrio ($\mu\text{g mL}^{-1}$);

v = Volume da solução de fluopicolide (mL);

m = massa do solo (g)

Os resultados da adsorção do fluopicolide foram ajustados à equação linearizada de Freundlich (equação 2):

$$\log C_s = \log K_f + 1/n \cdot \log C_e \quad \text{Eq (2)}$$

Sendo:

C_s = Quantidade de fluopicolide adsorvido por massa de solo ($\mu\text{g g}^{-1}$);

K_f = Constante de Freundlich;

C_e = Concentração do fluopicolide no equilíbrio ($\mu\text{g mL}^{-1}$);

$1/n$ = Grau de linearidade da isoterma de sorção

O coeficiente de adsorção (K_f) foi então normalizado para o teor de CO (carbono orgânico) do solo, obtendo-se, assim, o valor de K_{foc} através da seguinte equação (3):

$$K_{foc} = K_f / CO \times 100 \quad \text{Eq (3)}$$

Sendo o teor de CO = $MO/1,724$; MO = matéria orgânica.

Sequencialmente ao estudo de adsorção, foi realizado o ensaio de dessorção do fluopicolide dos solos, para cada concentração utilizada para adsorção. A solução sobrenadante dos respectivos tubos contendo solo/solução da adsorção foi transferida para outros tubos e armazenada em geladeira e adicionou-se alíquotas de 10 mL de CaCl_2 0,01M ao solo remanescente. Os tubos foram agitados por 24 horas e então os frascos foram centrifugados por 20 minutos a 2000 rpm e triplicatadas de 1,0 mL cada, foram analisados por CCL.

A quantidade do fluopicolide desorvida dos solos para a solução aquosa de CaCl_2 , foi calculada diretamente, pela diferença entre a concentração do fungicida no solo antes das etapas de desorção e a concentração na solução analisada após o equilíbrio de 24 horas, utilizando-se a equação (4).

$$A_D = C_{ed} \cdot V \quad \text{Eq (4)}$$

Onde:

A_D = Quantidade de fluopicolide desorvido por grama de solo ($\mu\text{g g}^{-1}$);

C_{ed} = Concentração do fluopicolide na solução em equilíbrio no processo de desorção (mg L^{-1});

V = Volume de solução de CaCl_2 0,01M, sem fluopicolide adicionada ao solo para a desorção (mL)

5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Mineralização do fluopicolide

A figura 3 apresenta a média geral da somatória de $^{14}\text{CO}_2$ das replicatas produzido a partir do ^{14}C -fluopicolide durante o período até 130 dias de incubação após a aplicação do fungicida ao solo.

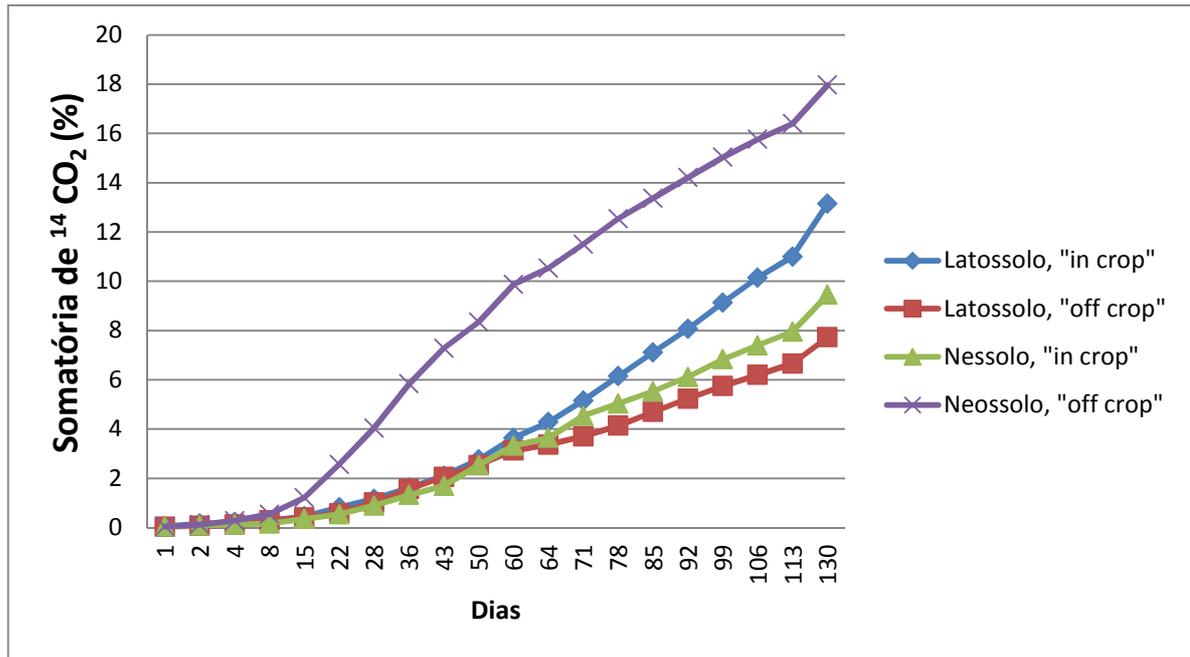


Figura 3: Mineralização do ¹⁴C-fluopicolide

("in-crop" = área cultivada; "off-crop" = área preservada)

A tabela 6 apresenta as médias das somatórias de ¹⁴CO₂ das três alíquotas em cada replicata da qual geraram-se a média geral da somatória de ¹⁴CO₂ produzido a partir do ¹⁴C-fluopicolide durante o período até 130 dias de incubação após a aplicação do fungicida ao solo demonstrado no gráfico da figura 3.

Tabela 6: Médias das somatórias de ¹⁴CO₂ produzido em cada replicata a partir do ¹⁴C-fluopicolide até 130 dias de incubação

Tempo de Incubação (dias)	Latossolo		Neossolo	
	"in crop" (%)	"off crop" (%)	"in crop" (%)	"off crop" (%)
30	1,15	0,80	0,95	4,07
	1,09	1,17	0,87	3,99
	1,25	1,06	0,85	4,05
60	3,86	2,99	3,60	9,73
	3,02	3,53	2,95	9,80
	4,03	2,99	3,37	10,08
130	13,31	7,78	9,30	17,92
	13,09	7,68	9,78	17,93
	13,01	7,71	9,27	18,03

("in-crop" = área cultivada; "off-crop" = área preservada)

As figuras 4, 5, 6, 7 e 8 apresentam cromatogramas representativos das análises cromatográficas das amostras concentradas dos resíduos extraíveis.

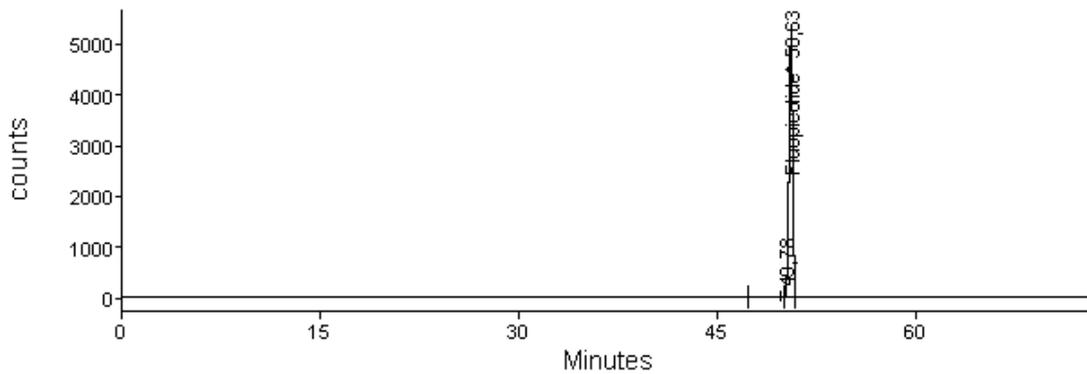
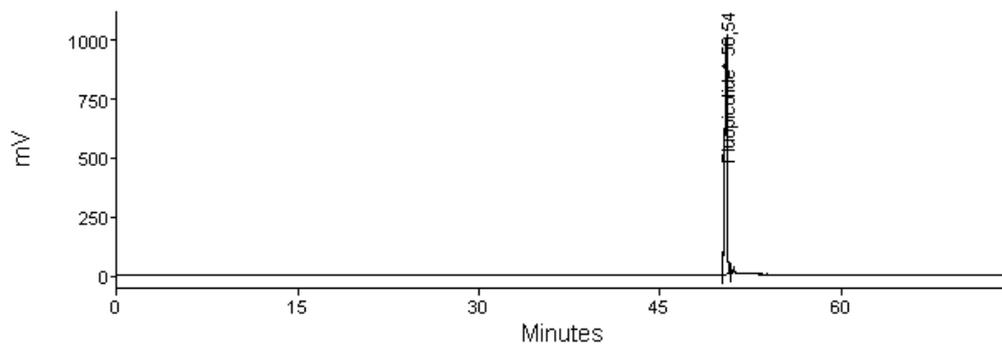
Analysis : Fluopicolide PD Frio+14C - Channel 1

Sample information

Name	Fluopicolide PD Frio+14C	Sample type	Sample
Vial #	1		
Amount	0,000000 mg	Injected volume	150,00 µl
Dilution	1		

Information :

Fluopicolide
 Column: EC Nucleodur C18 (250x4,6xmmx5µm)
 Phase A: Acetonitrila (0,1 % de Acido Acetico Glacial); B:H2O (0,1% Acido Acetico Glacial v/v) pH 2,5
 Gradient: 0,1min-95%B; 35min-95%B; 45min-5%B; 50min-5%B; 70min-95%B;75,01min-STOP.
 Flow: 1,0 mL/min
 Wave length: 270nm



Integration results

#	Peak name	Rt.	Peak start	Peak end	Gross counts	Net counts	% ROI
1		49,78	47,35	50,08	3272,00	3272,00	0,81
2	Fluopicolide	50,63	50,08	50,98	402150,00	402150,00	99,19
SUM					405422,00	405422,00	100,00

Figura 4: Cromatograma representativo do padrão analítico do fluopicolide frio e radiomarcado

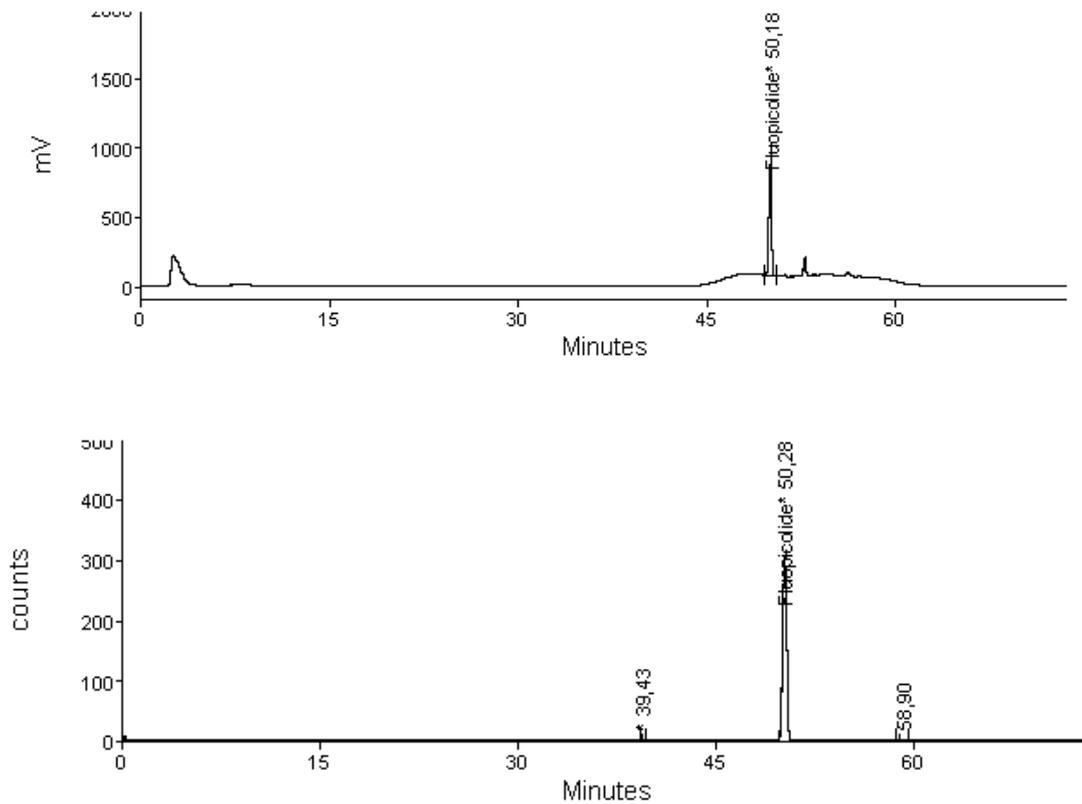
Analysis : Fluopicolide B37 130Dias 2 - Channel 1

Sample information

Name	Fluopicolide B37 130Dias	Sample type	Sample
Vial #	1		
Amount	0,000000 mg	Injected volume	300,00 µl
Dilution	1		

Information :

Fluopicolide
 Column: EC Nucleodur C18 (250x4,6xmmx5µm)
 Phase A: Acetonitrila (0,1 % de Acido Acetico Glacial); B:H2O (0,1% Acido Acetico Glacial v/v) pH 2,5
 Gradient: 0,1min-95%B; 35min-95%B; 45min-5%B; 50min-5%B; 70min-95%B;75,01min-STOP.
 Flow: 1,0 mL/min
 Wave length: 270nm

**Integration results**

#	Peak name	Rt.	Peak start	Peak end	Gross counts	Net counts	% ROI
1		39,43	39,25	39,75	174,00	174,00	0,68
2	Fluopicolide	50,28	49,82	50,65	25438,00	25438,00	99,08
3		58,90	58,70	59,67	62,00	62,00	0,24
SUM					25674,00	25674,00	100,00

Figura 5: Cromatograma representativo da amostra do extrato após 130 dias de incubação, Latossolo, área “in-crop” – replicata 1

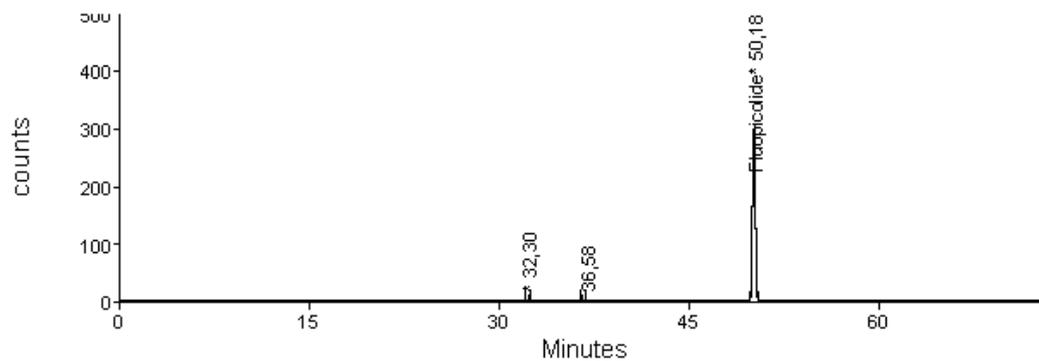
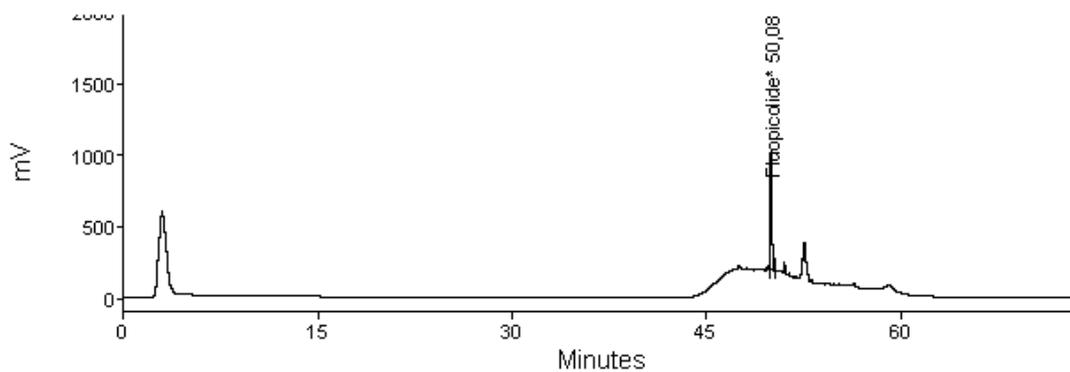
Analysis : Fluopicolide B40 130Dias 2 - Channel 1

Sample information

Name	Fluopicolide B40 130Dias	Sample type	Sample
Vial #	1		
Amount	0,000000 mg	Injected volume	300,00 µl
Dilution	1		

Information :

Fluopicolide
 Column: EC Nucleodur C18 (250x4,6xmmx5µm)
 Phase A: Acetonitrila (0,1 % de Acido Acetico Glacial); B:H2O (0,1% Acido Acetico Glacial v/v) pH 2,5
 Gradient: 0,1min-95%B; 35min-95%B; 45min-5%B; 50min-5%B; 70min-95%B;75,01min-STOP.
 Flow: 1,0 mL/min
 Wave length: 270nm



Integration results

#	Peak name	Rt.	Peak start	Peak end	Gross counts	Net counts	% ROI
1		32,30	32,12	32,48	176,00	176,00	0,86
2		36,58	36,37	36,80	220,00	220,00	1,08
3	Fluopicolide	50,18	49,77	50,50	19988,00	19988,00	98,06
SUM					20384,00	20384,00	100,00

Figura 6: Cromatograma representativo da amostra do extrato após 130 dias de incubação, Latossolo, área “off-crop” – replicata 1

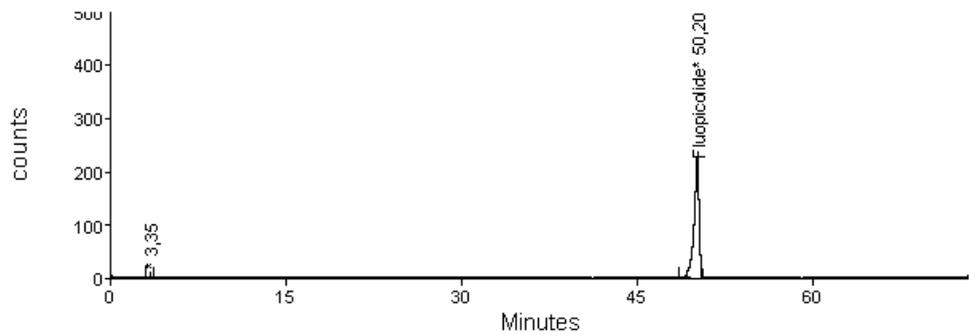
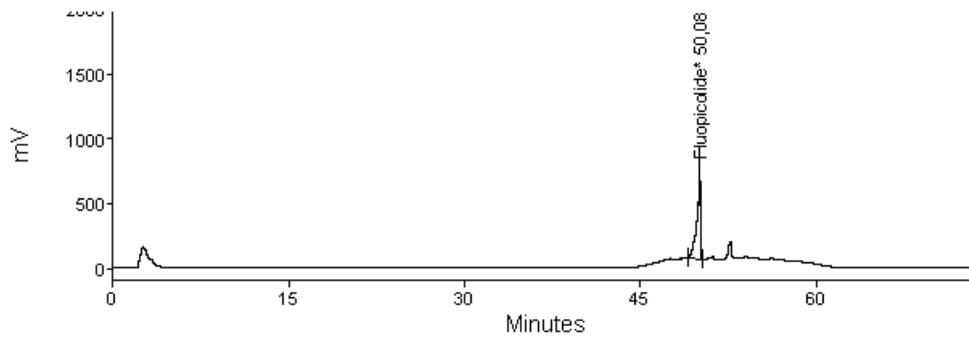
Analysis : Fluopicolide B43 130Dias 2 - Channel 1

Sample information

Name	Fluopicolide B43 130Dias	Sample type	Sample
Vial #	1		
Amount	0,000000 mg	Injected volume	300,00 µl
Dilution	1		

Information :

Fluopicolide
 Column: EC Nucleodur C18 (250x4,6xmmx5µm)
 Phase A: Acetonitrila (0,1 % de Acido Acetico Glacial); B:H2O (0,1% Acido Acetico Glacial v/v) pH 2,5
 Gradient: 0,1min-95%B; 35min-95%B; 45min-5%B; 50min-5%B; 70min-95%B;75,01min-STOP.
 Flow: 1,0 mL/min
 Wave length: 270nm



Integration results

#	Peak name	Rt.	Peak start	Peak end	Gross counts	Net counts	% ROI
1		3,35	2,90	3,60	228,00	228,00	0,89
2	Fluopicolide	50,20	48,62	50,57	25424,00	25424,00	99,11
SUM					25652,00	25652,00	100,00

Figura 7: Cromatograma representativo da amostra do extrato após 130 dias de incubação, Neossolo, área “in-crop” – replicata 1

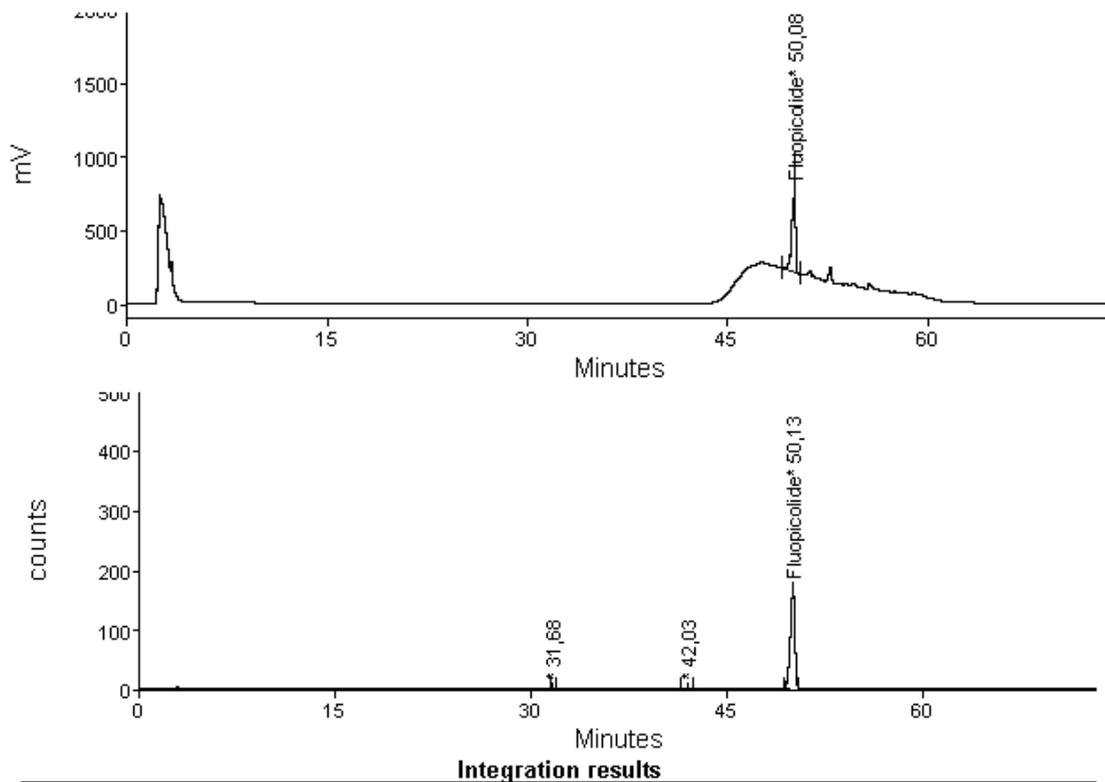
Analysis : Fluopicolide B46 130Dias 2 - Channel 1

Sample information

Name	Fluopicolide B46 130Dias	Sample type	Sample
Vial #	1		
Amount	0,000000 mg	Injected volume	300,00 µl
Dilution	1		

Information :

Fluopicolide
 Column: EC Nucleodur C18 (250x4,6xmmx5µm)
 Phase A: Acetonitrila (0,1 % de Acido Acetico Glacial); B:H2O (0,1% Acido Acetico Glacial v/v) pH 2,5
 Gradient: 0,1min-95%B; 35min-95%B; 45min-5%B; 50min-5%B; 70min-95%B;75,01min-STOP.
 Flow: 1,0 mL/min
 Wave length: 270nm



Integration results

#	Peak name	Rt.	Peak start	Peak end	Gross counts	Net counts	% ROI
1		31,68	31,43	31,93	118,00	118,00	0,69
2		42,03	41,55	42,50	56,00	56,00	0,33
3	Fluopicolide	50,13	49,35	50,53	16816,00	16816,00	98,98
SUM					16990,00	16990,00	100,00

Figura 8: Cromatograma representativo da amostra do extrato após 130 dias de incubação, Neossolo, área “off-crop” – replicata 1

As tabelas 7 e 8 apresentam a média geral dos resultados da mineralização, ^{14}C -resíduos extraídos e ^{14}C -resíduos ligados nas amostras.

Tabela 7: Recuperação de ^{14}C -fluopicolide no Latossolo em áreas "in-crop" e "off-crop"

Tempo de Incubação (dias)	Amostras	^{14}C -Extraíveis (%)	^{14}C -Ligados (%)	$^{14}\text{CO}_2$ (%)	^{14}C - Total (%)
0	"in crop"	102	2	-	104 ± 4,9
	"off crop"	99	9	-	108 ± 5,4
30	"in crop"	98	3	1,2	102 ± 1,6
	"off crop"	100	6	1,0	107 ± 8,4
60	"in crop"	91	6	3,6	101 ± 1,1
	"off crop"	95	8	3,1	106 ± 1,6
130	"in crop"	81	6	13,1	100 ± 8,6
	"off crop"	84	11	7,7	103 ± 10,4

("in-crop" = área cultivada; "off-crop" = área preservada)

Tabela 8: Recuperação de ^{14}C -fluopicolide no Neossolo em áreas "in-crop" e "off-crop"

Tempo de Incubação (dias)	Amostras	^{14}C -Extraíveis (%)	^{14}C -Ligados (%)	$^{14}\text{CO}_2$ (%)	^{14}C - Total (%)
0	"in crop"	103	1	-	104 ± 1,2
	"off crop"	105	1	-	106 ± 0,9
30	"in crop"	91	2	0,9	94 ± 7,4
	"off crop"	111	2	4,0	117 ± 11,9
60	"in crop"	87	3	3,3	93 ± 14
	"off crop"	82	4	9,9	96 ± 6,9
130	"in crop"	88	4	9,5	101 ± 4,6
	"off crop"	77	5	18,0	100 ± 4,3

("in-crop" = área cultivada; "off-crop" = área preservada)

Comparou-se as médias das replicatas dos resultados das mineralizações do fluopicolide apresentados na tabela 6 utilizando a análise de variância ANOVA pelo programa Microsoft Excel.

Para o solo Latossolo, nas áreas “in crop” e “off-crop”, observou-se que não ocorreu diferença significativa entre os resultados da mineralização até os 130 dias de experimento ($p > 0,05$, $p = 0,348$). Em relação ao Neossolo, observou-se uma diferença significativa entre os resultados entre as áreas “in-crop” e “off-crop” durante todo o período de incubação e isso foi confirmado pela análise de variância ANOVA onde $p < 0,05$ ($p = 0,022$) (Tabela 6).

Conforme Oliveira & Brighenti (2011), o pH pode ter influenciado no comportamento desses solos e a atividade microbiológica é regulada pelas condições de solo, particularmente conteúdo de água, temperatura e pH. A mudança de pH da área “in-crop” devido a fertilização em Neossolo pode ter alterado a influência da atividade microbiana e por isso a taxa de mineralização foi menor na área “in-crop” quando comparada a área “off-crop”, pois tanto as características físico-químicas dos solos, como as características da própria molécula dos agrotóxicos influenciam no comportamento da substância e na sua dissipação no solo (LUCHINI & ANDRÉA, 2002).

Os dois solos, independentemente das áreas, produziram mineralização do composto inferior a 20% no período de 130 dias. Somente pela taxa de mineralização, não há indicações de persistência do fluopicolide no solo, pois a taxa de degradação do fluopicolide pode ser mais rápida do que a taxa de mineralização, como por exemplo pela formação de metabólitos. Através dos cromatogramas, pode-se verificar que não há formação de metabólitos relevantes até 130 dias para o composto na posição radiomarcada estudada, porém se faz necessário estudos adicionais com outra posição radiomarcada.

Quando se comparam os resultados obtidos por mineralização com outros resultados disponíveis no relatório emitido pelo EFSA – *European Food Safety Authority* (2009) para o mesmo composto, pode-se verificar que nos solos tropicais utilizados neste trabalho, a mineralização foi maior e a formação de resíduos ligados foi menor, indicando uma maior degradação nos solos tropicais.

Neste mesmo relatório (EFSA, 2009), há relatos de trabalhos realizados para investigar o comportamento de dissipação do fluopicolide em condições de campo, aonde a meia vida ($t_{1/2}$) ficou estimada entre 50 a 172 dias, sendo menor que a meia vida em condições laboratoriais, indicando assim que no ambiente, o fluopicolide provavelmente terá uma dissipação mais rápida do que quando avaliada em estudos de laboratório.

5.2 Influência do fluopicolide na atividade microbiota

As figuras 9 e 10 apresentam as médias das porcentagens de formação do $^{14}\text{CO}_2$ resultante da mineralização da ^{14}C -glicose aplicada ao solo após repetidas aplicações de fluopicolide e incubação por 14 dias.

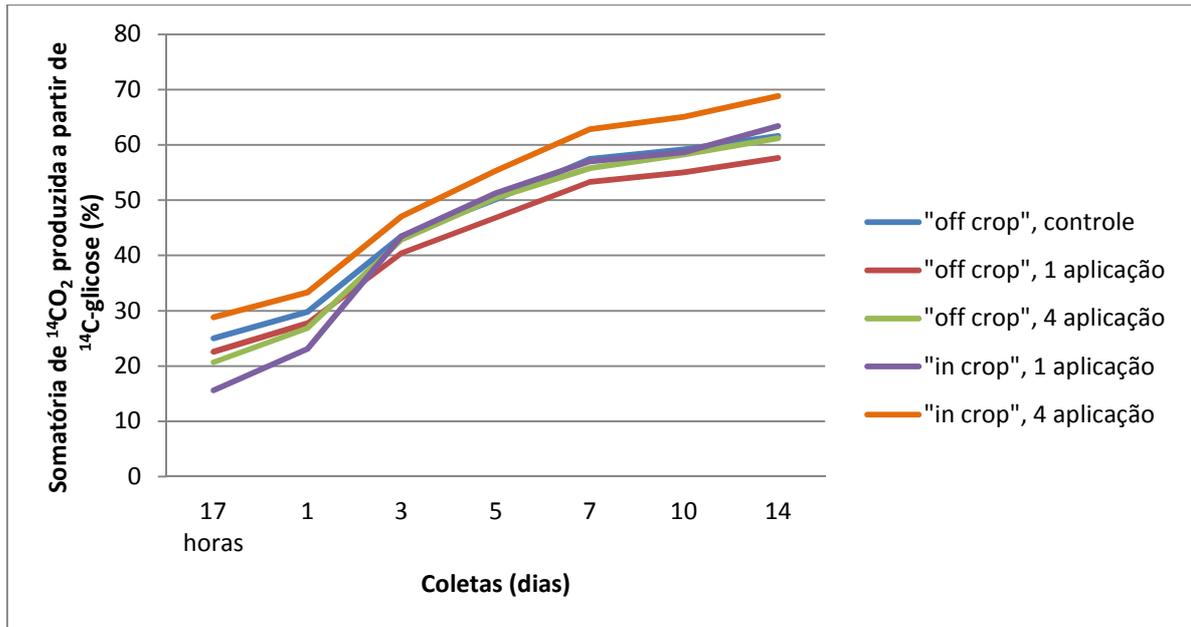


Figura 9: Influência do fluopicolide na atividade microbiana do Latossolo

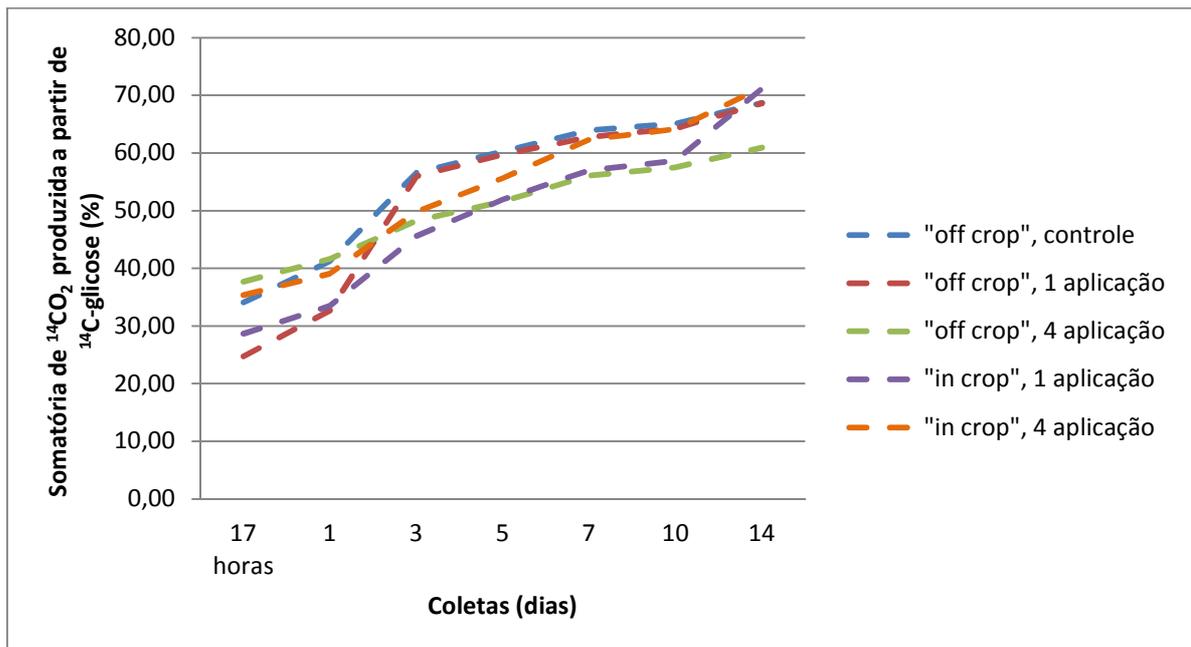


Figura 10: Influência do fluopicolide na atividade microbiana do Neossolo

As Tabelas 9 e 10 apresentam as médias das somatórias de $^{14}\text{CO}_2$ das três alíquotas em cada replicata no qual posteriormente foram utilizadas para obtenção da média geral da somatória de $^{14}\text{CO}_2$ produzido a partir do ^{14}C -glicose durante o período até 14 dias de incubação, após repetidas aplicações de fluopicolide demonstradas nos gráficos das figuras 9 e 10 respectivamente.

Tabela 9: Médias das somatórias de $^{14}\text{CO}_2$ produzido em cada replicata a partir do ^{14}C -glicose após repetidas aplicações de fluopicolide no Latossolo

Tempo de Incubação (dias)	"off crop" Controle	"off crop" 1 aplicação	"off crop" 4 aplicações	"in crop" 1 aplicação	"in crop" 4 aplicações
17 horas	21,67	26,68	26,65	17,67	46,18
	25,29	20,11	14,12	17,65	20,02
	28,20	21,17	21,53	13,60	20,40
1 dia	26,36	32,39	31,80	24,77	51,62
	30,08	25,22	19,66	26,40	23,85
	33,35	25,88	29,53	22,55	24,81
3 dias	41,65	47,53	43,31	44,75	65,58
	43,04	38,00	38,70	44,69	38,26
	46,37	36,34	47,19	45,63	37,90
5 dias	49,42	52,85	49,63	52,57	73,62
	49,24	45,68	47,83	51,85	46,71
	52,37	42,77	54,67	54,09	46,40
7 dias	57,63	60,17	54,65	57,79	81,34
	55,34	51,98	53,60	58,01	54,19
	60,35	48,62	60,19	59,94	53,78
10 dias	59,80	61,65	56,58	59,52	83,78
	56,88	54,08	56,88	59,69	56,36
	61,94	50,39	62,52	61,81	56,07
14 dias	62,48	64,38	59,35	62,96	87,79
	59,38	56,85	60,11	66,42	59,95
	64,18	53,22	65,58	66,10	59,98

("in-crop" = área cultivada; "off-crop" = área preservada)

Tabela 10: Médias das somatórias de $^{14}\text{CO}_2$ produzido em cada replicata a partir do ^{14}C -glicose após repetidas aplicações de fluopicolide no Neossolo

Tempo de Incubação (dias)	“off crop” Controle	“off crop” 1 aplicação	“off crop” 4 aplicações	“in crop” 1 aplicação	“in crop” 4 aplicações
17 horas	36,13	16,75	39,41	32,87	35,98
	26,04	30,33	33,52	30,81	34,07
	40,30	27,21	40,28	22,43	36,19
1 dia	41,99	24,08	41,90	36,51	39,07
	33,93	37,43	36,23	35,37	37,69
	48,15	36,82	47,05	28,99	40,80
3 dias	52,11	50,21	46,99	46,42	48,39
	56,76	51,87	41,44	46,18	47,76
	61,44	66,24	56,85	44,67	53,72
5 dias	55,37	54,01	50,34	51,82	53,99
	60,94	55,22	44,90	52,04	53,52
	65,23	70,53	60,20	52,60	60,10
7 dias	59,25	56,56	56,27	56,26	62,16
	64,85	58,98	49,30	56,65	59,39
	68,55	73,54	63,45	58,91	66,38
10 dias	60,52	57,70	57,88	58,02	64,09
	66,09	61,10	50,89	58,26	61,17
	69,74	75,01	64,78	60,80	68,20
14 dias	63,72	61,07	61,73	62,59	78,36
	72,37	65,74	54,61	64,11	65,06
	71,21	80,21	67,69	87,96	71,89

(“in-crop”= área cultivada; “off-crop” = área preservada)

As calcular as médias utilizadas para os gráficos das Tabelas 9 e 10, demonstrou que os desvios das análises foram menores que 0,1%.

Utilizou-se novamente a análise de variância ANOVA pelo programa Microsoft Excel para os resultados das Tabelas 9 e 10, foi possível concluir que o fluopicolide não influencia na respiração dos micro-organismos dos dois tipos de solos tanto nas áreas preservadas quanto nas áreas cultivadas, independente da quantidade de aplicações recebidas, pois não houve diferença significativa entre esses resultados em relação as suas respectivas amostras controle de Latossolo e Neossolo ($p > 0,05$, $p = 0,57$ e $p=0,61$ respectivamente). Este comportamento na atividade microbiana do solo foi similar ao estudado por STEFANI JR. (2010), com fungicida natural *Polymnia sonchifolia* e sintético clorotalonil no solo AVEC – Argissolo Vermelho Eutroférico.

5.3 Adsorção e dessorção do Fluopicolide

A Tabela 11 apresenta os resultados de adsorção e dessorção do fluopicolide nos solos Latossolo e Neossolo.

Tabela 11: Parâmetros avaliados nos ensaios de adsorção e dessorção do fluopicolide nos Latossolo e Neossolo

Solo	Coeficientes de Freundlich			K_{foc}	A_D
	K_f	$1/n$	R^2		
	$[(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})(\text{mL}\cdot\mu\text{g}^{-1})^{1/n}]$			$\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$	
Latossolo "off crop"	12,29	0,9828	0,9944	273,20	0,040
Latossolo "in crop"	10,03	0,9588	0,996	223,91	0,036
Neossolo "off crop"	4,48	0,9093	0,995	354,58	0,042
Neossolo "in crop"	3,16	0,8952	0,986	237,27	0,038

Os resultados obtidos para o coeficiente de Freundlich para a adsorção (K_f) normalizado em relação ao carbono orgânico, para ambas as áreas dos solos Neossolo e Latossolo, os valores do K_{foc} se situaram entre 223,9 a 354,6 $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$. O coeficiente de determinação (R^2) mostrou que a isoterma da adsorção é adequada para o modelo de Freundlich.

De acordo com a classificação do EFSA (2009), o fluopicolide possui média mobilidade, indicado pelo coeficiente de adsorção normalizado K_{foc} . Os solos brasileiros aqui estudados apresentaram resultados similares, isto é, o K_{foc} dos solos Latossolo e Neossolo aqui obtidos estavam no intervalo de 172 – 580 $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ do EFSA (2009). Com base no resultado da constante de adsorção obtidos, de acordo com o IBAMA (1996), a classificação do fluopicolide seria a de uma molécula com média adsorção para o solo Latossolo (ambas as áreas) e baixa adsorção para o solo Neossolo (ambas as áreas).

6.0 CONCLUSÕES

A dissipação do fluopicolide nos solos estudados foi menor que 20% até 130 dias, indicando que o fungicida não é rapidamente mineralizado pelos micro-organismos nos solos estudados. Referente a mineralização do fluopicolide no solo Latossolo em áreas “in crop” e “off crop” pode-se dizer que não houve diferenças significativas entre si enquanto que para o Neossolo, uma diferença significativa foi observada na mineralização do fungicida entre suas áreas, tendo provavelmente o pH influenciado na atividade microbiana.

Para atividades microbianas do solo, podemos concluir que o fluopicolide não teve influência, pois seu comportamento de mineralização da ^{14}C -glicose após uma ou repetidas aplicações do fluopicolide foi similar a amostra controle.

Em relação aos valores de adsorção obtidos, pode-se concluir que de acordo com o IBAMA (1996), o fungicida fluopicolide seria uma molécula com média adsorção para o solo Latossolo e baixa adsorção para o solo Neossolo.

Através dos resultados de mineralização do ^{14}C -fluopicolide, resíduos extraíveis, resíduos ligados, aplicações repetidas e a adsorção do composto obtidos, podemos verificar que não houve diferença de comportamento do fluopicolide em relação à área “in-crop” e área “off-crop” nos solos. Portanto, podemos concluir que o composto não exerce efeito adverso em áreas nas quais há constante manejo agrícola, pois o composto se comporta de maneira similar quando comparado a área preservada.

7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROFIT, Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Consulta pública em fevereiro, 2013.

ANDRÉA, M.M. **Metabólitos tóxicos do dissulfoton: comportamento em feijoeiro, no solo e em solução nutriente.** 1986. 110 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba. 1986.

ANDREA, M.M.; RÜGG, E.F.; MELLO, M.H.S.H.; TOMITA, R.Y. **Biodegradação do ¹⁴C-DDT em solo.** Arq. Inst Biol, v.57, n. 1/2, p. 21-24, 1990.

ANDRÉA, M.M. **Formação e bioliberação de resíduos ligados de [¹⁴C]-lindano e [¹⁴C]-parathion em dois solos brasileiros.** 1992. 130 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo. 1992.

ANDRÉA, M.M.; LUCHINI, L.C.; MELLO, M.H.S.H.; TOMITA, R.Y.; MESQUITA, T.B.; MUSUMECI, M.R. **Dissipation and degradation of DDT, DDE and parathion in Brazilian soils.** J. Environ. Sc. and Health, v. B29, n. 1, p. 121-132, 1994.

ANDRÉA, M.M.; TOMITA, R.Y.; LUCHINI, L.C.; MUSUMECI, M. R. **Laboratory studies on volatilization and mineralization of ¹⁴C-p-p'-DDT in soil, release of bound residues and dissipation from solid surfaces.** J. Environ. Sci. Health, v.B29, n.1, p. 133-139, 1994.

ANDRÉA, M.M.; MATALLO, M.B.; TOMITA, R.Y.; LUCHINI, L.C. **Effect of temperature on dissipation of [¹⁴C]-atrazine in a Brazilian soil.** Pesq. Agropec. Bras., v.32, n. 1, p. 95-100, 1997.

ATLAS, R.M.; BARTHA, R. **Microbial Ecology. Fundamentals and applications.** Redwood City, California: The Benjamin/Cummings, 1993.

BARBERA, C. **Agrotóxicos agrícolas.** Barcelona, Espanha: Omega, p. 399-412, 1976.

BARTHA, R. **Pesticide residues in humus.** A.S.M. News, v. 46, n. 7, p. 356-360, 1980.

BARTHA, R.; LANZILOTTA, R.P.; PRAMER, D. **Stability and effects of some pesticide in soil.** Applied Microbiology, v. 15, p. 434-444, 1976.

BAUMART, J. S.; ZIMMERMANN, B. L.; DALOSTO, M. M.; REIMCHE, G. B.; AVILA, L. A.; SANTOS, S. **Uso de macroinvertebrados bentônicos como biodindicadores de qualidade de água em cultura de arroz tratada com fungicida carbofuran.** In: Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil. Caxambu. 2007. Disponível em: < <http://www.seb-ecologia.org.br/viiiiceb/pdf/1021.pdf> >.

BEELLEN, P.; DOELMAN, P. **Significance and application of microbial toxicity tests in assessing ecotoxicological risks of contaminants in soil and sediment.** Chemosphere, v.34, n. 3, p. 455-499, 1997.

BENOIT, P.; BARRIUSO, E.; SOULAS, G. **Degradation of 2,4-D, 2,4-Dichlorophenol, and 4-Chlorophenol in soil after sorption on humified and nonhumified organic matter.** J. Environ. Quality, v. 28, p. 1127-1135, 1999.

BRASIL. **Lei nº 7.802**, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a produção, e embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Legislação federal de agrotóxicos e afins, Brasília, Ministério da Agricultura e do Abastecimento. p. 7-13, 1998.

CABRERA, L.; COSTA F.P.; PRIMEL, E.G. **Estimativa de risco de contaminação das águas por agrotóxicos na região Sul do estado do RS.** Química Nova, v.31, p. 1982 – 1986, 2008.

CALDERBANK, A. **The occurrence and significance of bound pesticide residues in soil.** Reviews of environmental contamination and toxicology, 108, 71-103, 1989.

COATS, J.R. **What happens to degradable pesticides?** Chemtech, p. 25-29, 1993.

COX, L.; HERMOSIN, M.C.; CELIS, R.; CORNEJO, J. **Sorption of two polar herbicides in soils and soil clays suspensions.** Water research, New York, v.31, p. 1309 – 1316, 1997

EFSA. **Peer review of the pesticides risk assessment of the active substance fluopicolide.** EFSA Scientific Report (2009) 299, 1-58

EPA. Pesticide Fact Sheet, **Office of Prevention Pesticide and Toxic Substance (7501 C).** Fluopicolide, Março, 2007.

FRIGHETTO, R. T. S.; VALARINI, P. J. **Indicadores Biológicos e Bioquímicos da Qualidade do Solo**, Manual Técnico Embrapa, p. 37-40, 2000.

FÜHR, F. **Radiotracers in pesticides studies - Advantages and limitation.** Ciencia e Cultura v. 43, p. 211-216, 1991.

GEVAO, B.; MORDAUNT, C.; SEMPLE, K.T.; PIARCE, T.G.; JONES, K.C. **Bioavailability of Nonextractable (Bound) Pesticide Residues to Earthworms.** Environmental Science & Technology 35(3), p. 501-507, 2000.

GRAHAM-BRYCE I.J. **The behavior of pesticides in soil.** In: The Chemistry of Soil Processes (ed. D. J. Greenland and M.H.B Hayes) John Wiley & Sons Ltd, 1981.

GRAY, T.R.G.; JONES, J.G.; WRIGHT, S.J.L. **Microbial aspects of soil, plant, aquatic, air, and environments.** In: HILL, I.R.; WRIGHT, S.J.L. Pesticide microbiology: microbial aspects of pesticide behaviour in the environment. London: Academic, 1978.

GLOVER-AMENGOR, M.; TETTEH, F.M. **Effect of pesticides application rate on yield of vegetables and soil microbial communities.** West African Journal of Applied Ecology, vol. 12, 2008.

GREEN, R.E. **Pesticide - clay - water interactions.** In: GUENZL, W.D, ed. Pesticides in Soil and Water. Madison, Wisconsin: Soil Science Society of America, p. 3-37, 1974.

HARTLEY, G.S.; GRAHAM-BRYCE, I.J. **Physical principles of pesticide behaviour:** the dynamics of applied pesticides in local environment in relation to biological response. London: Academic, v.1, 1980.

IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis). **Manual de testes para avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos.** Brasília, 1990, 351p. Part E3. Teste de avaliação da adsorção/dessorção, revisão 1996.

KHAN, S.U.; BEHKI, R.M. **Effects of *Pseudomonas* species on the release of bound ¹⁴C-residues from soil treated with [¹⁴C] atrazine.** J. Agric. Food Chem., v. 38, n. 11, p. 2090-2093, 1990.

KEARNEY, P.C.; HELLING, CS. **Reactions of pesticides in soil.** Residue Reviews, v. 25, n. 25, p. 25-42, 1969.

KLEIN, W.; SCHEUNERT, I. **Biotransformation Process. Appraisal of tests to predict the environmental behaviour of chemicals.** In: SHEEHAN, P.; KORTE, F.; KLEIN, W.; BOUDEAU, P. (Ed.). New York: John Wiley & Sons, 1985. p. 195-211

KLINGMAN, G.C.; ASHTON, F.M.; NOORDHOFF, L.J. **Weed Science: principles and practices.** 2ª Ed. New York: John Wiley, p. 449, 1982.

L'ANNUNZIATA, M.F. **Radiotracers in Agricultural Chemistry.** London: Academic, p.536, 1979.

LAVORENTI, A. **Comportamento de herbicidas no meio ambiente.** *Anais-Workshop de biodegradação.* Embrapa. Campinas, 14-16 de outubro de 1996.

LAVRES, JR. J. **Utilização da energia nuclear na agricultura.** *Centro de Energia Nuclear na Agricultura.* Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", apresentação em Diamantina - MG 26 de novembro de 2012.

LEÃO, R. M. **Trinta anos em CENA.** São Paulo: Editora da Universidade de São de Paulo, p. 46 – 47, 1997.

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

LUCHINI, L.C.; COSTA, M C ; OSTIS, S.B.; MUSUMECL M.R.; NAKAGAWA, L.E.; ANDRÉA, M.M.; MATALLO, MB. **Behaviour of diuron in a sand clay soils from São Paulo state, Brazil.** In: IX Symposium Pesticide Chemistry. Degradation and mobility of xenobiotics, october 11-13, 1993, Piacenza. Proceedings of the DC Symposium Pesticide Chemistry. Lucca: Biagini, 1993, p.127-133.

LUCHINI, L.C. **Degradação do fungicida paration etílico em diversas matrizes ambientais por meio da radiação ionizante gama (γ) do cobalto-60.** 1995. Tese (Doutoramento) - Departamento de Química e Física Nuclear, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1995.

LUCHINI, L. C; ANDRÉA, M. M. **Dinâmica de Agrotóxicos no Ambiente.** In: AMBIENTE, Ministério do Meio; AGRICULTURA, Fórum Nacional de Secretários de. (Org.). Programa de Defesa Ambiental Rural - Textos Orientadores, Brasília, 2002, p. 27-44.

LYDY, M.J.; LOHNER, T.W.; FISHER, S.W. **Influencing of pH, temperature and sediment type on the toxicity, accumulation and degradation of parathion in aquatic systems.** Aquatic Toxicology, v. 17, p. 27-44, 1990.

MALAVOLTA, E. **Introdução aos estudos com radioisótopos em agricultura.** Curso Latino Americano de Radioisótopos na Agricultura. Centro Nacional de Energia Nuclear na Agricultura. Piracicaba, ESALQ, 1963.

MENZIE, CM. **Metabolism of Pesticides.** Washington: Bureau of Sport Fisheries and Wildlife, p. 487, 1969.

MESQUITA, T.B; RÜEGG, E.F. **Influência de agentes tensoativos na detecção da radiação beta.** Ciênc. e Cult., São Paulo, v.36, p.446-450, 1984.

MESSIAS, R. A. **Estudos de adsorção/dessorção e biodegradação de simazina e 2,4-D incorporados em turfa e poliuretana.** 1998. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1998.

MUSUMECI, M.R. **Defensivos agrícolas e sua interação com a microbiota do solo.** In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. Microbiologia do solo. - Campinas; Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 341-360, 1992.

NAKAGAWA, L. E.; LUCHINI, L. C; MUSUMECI, M. R.; ANDRÉA, M. M. **Comportamento de atrazina em solos brasileiros em condições de laboratório.** Pesq. Agropec. Bras., v. 30, n. 4, p. 471-476, 1995.

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

OECD (Organization for Economic and Co-operation and Development) **Guideline for testing of chemicals.** Part 106 Adsorption/Desorption, 1981. Ed. 2000

OLIVEIRA, M.F.; BRIGHENTI, A.M, **Comportamento dos Herbicidas no Ambiente**, Cap. 11, p.263 a 304, 2011.

PAREKH, N.R.; HARTMANN, A.; CHARNAY, M.P.; FOURNIER, J.C. **Diversity of carbofuran-degrading soil bacteria and detection of plasmid-encoded sequences homologous to the mde gene**. FEMS Microbiology Ecology, p. 149-153, 1995.

PRAMER, D.; BARTHA, R. **How pesticides affect the soil**. The Ecologist, v. 10, n. 3, p. 83-86, 1980.

PRIMEL, E.G., ZANELLA, R.; KURZ, M.H.S ; **Poluição das águas por herbicidas utilizados no cultivo do arroz irrigado na região central do estado do Rio Grande do Sul, Brasil: Predição Teórica e monitoramento**. Química Nova, v.28, p. 605-609, 2005.

REINHARDT, C.F.; EHLERS, J.G.; NEL, P.C. **Persistence of atrazine as affected by selected soil properties**. S. Afr. J. Plant Soil, v. 7, n. 3, p. 182-187, 1990.

ROBERTS, T.R. **Non-extractable pesticides residues in soil and plants**. Pure & Appl. Chem., v.56, n. 7, p. 945-946, 1984.

ROCHA, A.F.G.; MACIEL, O.S.; GVION, R. **Traçadores Radioativos**. In: ROCHA, A.F.G. Medicina Nuclear. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1976. p. 111 - 133.

RÜEGG, E.F. **Técnicas de radioisótopos para estudar os efeitos residuais de agrotóxicos em plantas alimentícias**. O Biológico, Ano 41, n. 12, p. 341-345, 1975.

SCORZA JR. R. **Agrotóxicos, Agricultura e Recursos Hídricos**, Circular Técnica 12, Embrapa, p.2-6, 2006.

SILVA, A.A.; VIVIAN R.; OLIVEIRA JR.R.S. **Herbicidas: Comportamento no solo**. Tópicos em manejo de plantas daninhas, Viçosa: Ed. UFV, Cap. 5, p. 189-248, 2007.

SPADOTTO, C.A.; GOMES, M.A.F; LUCHINI, L.C.; ANDRÉA, M.M. **Monitoramento do Risco Ambiental de Agrotóxicos: princípios e recomendações**, EMBRAPA, 2004, 29 p.

SPADOTTO, A.C. **Abordagem interdisciplinar na Avaliação Ambiental de Agrotóxicos**, Revista Núcleo de Pesquisa Interdisciplinar, 2006, 29 p.

STEFANI JR., A. **Avaliação comparativa do efeito de compostos fungicidas sintético e natural por parâmetros biológicos do solo**. 2009. Dissertação (Mestrado) – Instituto Biológico, São Paulo, 2009.

STEFFEN, G.P.K; STEFFEN, R. B.; ANTONIOLLI, Z.I. **Contaminação do solo e da água pelo uso de agrotóxicos**, Revista do departamento de Química e Física, do Departamento de Engenharia, Arquitetura e Ciências Agrárias e do Mestrado em Tecnologia Ambiental, TECNOLÓGICA, Santa Cruz do Sul, v. 15, n.1, p. 15-21, 2011.

WALKER, A. **Factors influencing the variability in pesticide persistence in soils.** Aspects Appl. Biology, V. 21, p. 159-172, 1989.

WALKER, A.; WELCH, S.J. **The relative movement and persistence in soil of chlorsulfuron, metsulfuron-methyl and trisulfuron.** Weed Res., v. 29, p. 375-383, 1989.

WALTON, B.T.; ANDERSON, T.A. **Structural properties of organic chemicals as predictors of biodegradation and microbial toxicity in soils.** Chemosphere, v. 17, n. 8, p. 1501-1507, 1988.

WEBER, J.B. **Properties and behaviour pesticides in soil.** In: HONEYCUTT, R.C.; SCHABACBOER, D.J. Mechanisms of pesticide movement into ground water. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1994, p.15-17.



SECRETARIA DE
AGRICULTURA E ABASTECIMENTO

