



Revista Brasileira de Ciência do Solo

ISSN: 0100-0683

revista@sbcs.org.br

Sociedade Brasileira de Ciência do Solo
Brasil

COSTA, M. A.; MONTEIRO, R. T. R.; TORNISIELO, V. L.
DEGRADAÇÃO DE AMETRINA EM AREIA QUARTZOSA COM ADIÇÃO DE SOLO RIZOSFÉRICO
DE CANA-DE-AÇÚCAR
Revista Brasileira de Ciência do Solo, vol. 24, núm. 1, 2000, pp. 43-48
Sociedade Brasileira de Ciência do Solo
Viçosa, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180218272007>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica
Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

DEGRADAÇÃO DE AMETRINA EM AREIA QUARTZOSA COM ADIÇÃO DE SOLO RIZOSFÉRICO DE CANA-DE-AÇÚCAR⁽¹⁾

M. A. COSTA⁽²⁾, R. T. R. MONTEIRO⁽³⁾ & V. L. TORNISIELO⁽⁴⁾

RESUMO

Utilizando amostras de Areia Quartzosa esterilizada, não esterilizada e com adição de 10% de solo da rizosfera de cana-de-açúcar cultivada em campo, na presença e na ausência do herbicida ametrina, a biodegradação de ¹⁴C-ametrina foi avaliada juntamente com a quantidade de resíduos extraíveis, não-extraíveis e número de microrganismos presentes. A taxa de desprendimento de ¹⁴CO₂ aumentou em 3,5 vezes, com adição de solo rizosférico de culturas previamente tratadas com o herbicida, em 1,7 vez, com a adição de solo de rizosfera de culturas não tratadas. A presença de metabólitos detectada por cromatografia de camada delgada revela a maior degradação nas amostras que tiveram a adição de solo rizosférico. A microbiota presente na rizosfera ocasionou maior mineralização do herbicida ametrina.

Termos de indexação: mineralização, herbicida, fitorremediação, biorremediação

SUMMARY: EFFECT OF RHIZOSPHERE SOIL ADDITION ON AMETRIN DEGRADATION IN SANDY SOIL

The effect of rhizosphere soil addition on ametryn degradation rate was evaluated. The ¹⁴CO₂ release rate from sterile and non-sterile samples of a sandy soil was compared with the same soil amended with 10% rhizosphere soil from a sugar-cane plantation, treated or not with ametryn. Sterilized soils showed very low ¹⁴CO₂ release as compared with non-sterilized soil. When mineralization of non-amended soil was compared with rhizosphere soil amended from treated and non-treated fields, 3.5 and 1.7 fold increases of mineralization, respectively, were observed in amended soil. Extract TLC showed more degradation on

⁽¹⁾ Parte da Tese de Mestrado apresentada pelo primeiro autor ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura - CENA/USP. Recebido para publicação em maio de 1997 e aprovado em dezembro de 1999.

⁽²⁾ Bióloga - PG - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, CENA/USP. Av. Centenário 303, Caixa Postal 96, CEP 13400-970 Piracicaba (SP).

⁽³⁾ Bióloga - Pesquisador, CENA/USP. Email: monteiro@cena.usp.br.

⁽⁴⁾ Ecólogo - Pesquisador, CENA/USP. Email: vtornis@cena.usp.br.

amended samples than on non-amended samples. These results suggest that ametryn is degraded mainly through microbial action and that amendment with soil microbial population from ametryn pre-treated soil increases this herbicide's degradation rate.

Index terms: mineralization, herbicide, phytoremediation, bioremediation.

INTRODUÇÃO

O herbicida ametrina tem seu uso recomendado para culturas de cana-de-açúcar, milho, banana, café, citros e uva (Rodrigues & Almeida, 1995). Sua persistência no solo é alta (Leon et al., 1978), especialmente em solos com altos teores de argila e matéria orgânica (Lui & Cibes-Viadé, 1972). Em solos brasileiros, a persistência de ametrina varia conforme o tipo de solo e adição de substrato orgânico, sendo classificada como alta (Compte, 1997, Prata, 1998) e média (Costa, 1992, Rodrigues & Almeida, 1995, Costa et al., 1997, Prata, 1998).

A mineralização de ametrina foi aumentada de 12 a 13 vezes em Areia Quartzosa (o mesmo solo utilizado neste trabalho) quando 10% de palha de cana-de-açúcar foi adicionada, não exercendo influência no desprendimento de $^{14}\text{CO}_2$ a aplicação prévia de ametrina no campo (Costa et al., 1997). Neste caso, a maior atividade microbiana mostrou-se responsável pela degradação de ametrina.

A degradação de ametrina em meio de cultura líquido foi observada em culturas mistas de bactérias por Kontchou & Gschwind (1999) e Gebendinger & Radosevich (1999), que isolaram culturas de bactérias degradadoras de atrazina. Observou-se que o tratamento prévio do meio com herbicidas do grupo das triazinas não resultou em isolamento de culturas degradadoras de atrazina, mas o tratamento prévio com atrazina ou simazina resultou em culturas degradadoras de atrazina.

A rizosfera é uma região de atividade e crescimento microbiano aumentado em comparação com regiões do solo sem interferências de raízes. A excreção de exudados de raízes das plantas contribui para este aumento, e o aumento no número e composição dos microrganismos da rizosfera depende da espécie, idade da planta e tipo de solo (Campbell, 1985), bem como de outros fatores, como a exposição da planta a xenobióticos (Cunnigham et al., 1996). Influência direta na qualidade de exudados, bem como na microbiota rizosférica, após aplicação de pesticidas, foi anteriormente observada por Balasubramanian & Rangaswani (1973), Abdel-Nasser et al. (1979) e Sandmann & Loos (1984). Anderson et al. (1993) observaram um aumento na degradação dos herbicidas metolacolor, atrazina e trifluralina, quando compararam solos rizosféricos

de *Kochia sp* com solos não-rizosféricos. A degradação acelerada de alaclor também foi observada por Zablotowicz et al. (1995), utilizando *Pseudomonas* spp. fluorescentes recuperadas de rizosfera.

O objetivo deste estudo foi investigar o processo de degradação de ametrina sob a influência da microbiota rizosférica de cana-de-açúcar cultivada na presença e na ausência do herbicida ametrina, para isto foi utilizada o ^{14}C ametrina como traçador.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de Areia Quartzosa (AQ) foram coletadas na profundidade de 0-20 cm, no município de Charqueada, SP. Solos de rizosfera (SR) de cana-de-açúcar cultivada na ausência de herbicida (SR) e com aplicação prévia do herbicida ametrina (SRH) foram coletados em plantação de cana-de-açúcar, no ano de 1991, três meses após a última aplicação, em uma área onde a ametrina (Gesapax 800 PM) havia sido aplicada por dois anos consecutivos, na taxa de 4 kg ha⁻¹ ano⁻¹. Os solos rizosféricos foram provenientes da fazenda da Usina Santa Bárbara, no município de Santa Bárbara D'Oeste (SP).

As análises químicas dos solos AQ, SRH e SR encontram-se no quadro 1.

Amostras de 10 g de solo, com quatro tratamentos e cinco repetições, foram distribuídas em frascos de vidro, seguindo um delineamento experimental inteiramente casualizado:

Tratamento	1: 10 g solo AQ,
Tratamento	2: 9 g solo AQ + 1 g SR,
Tratamento	3: 9 g solo AQ + 1g SRH,
Tratamento	4: 10 g solo AQ Esterilizada

O teor de umidade das amostras de solo foi ajustado para 70% da capacidade de campo e foi corrigido, semanalmente, por gravimetria. Os frascos foram fechados, pesados e deixados em ambiente escuro a 23°C, por um período de sete dias. Cinco frascos foram esterilizados em autoclave a 120°C, durante uma hora, por três dias consecutivos. Após reativação do solo, aplicou-se 1 mL de solução de ametrina (2-metiltio-4-etilamino-6-isopropilamino), na concentração de 8,3 µg mL⁻¹ e atividade de 800 Bq mL⁻¹, em todos os tratamentos (IBAMA, 1990).

Quadro 1. Análise química de Areia Quartzosa (AQ), solo rizosférico não tratado (SR) e solo rizosférico tratado com ametrina (SRH)

Solo	P ⁽¹⁾	pH	M.O.	K	Ca	Mg	H + Al	S	T	V%
		CaCl ₂	%				Meq/100 mL			
AQ	11,3	5,3	1,75	0,24	1,76	0,18	1,64	2,2	3,8	57,1
SR	18,1	4,5	3,33	0,11	1,61	0,72	5,8	2,4	8,2	29,6
SRH	17,8	4,6	3,20	0,24	1,81	0,84	4,23	2,9	7,1	40,6

⁽¹⁾ Analisado por resina de troca iônica, análise realizada pelo Departamento de Solos ESALQ/USP – Piracicaba (SP).

O herbicida ¹⁴C-ametrina radiomarcado uniformemente em todos os carbonos do anel foi fornecido pela Ciba-Geigy Corporation, Depto de Síntese Química e Dow Chemical Company, Midland, USA, com atividade específica de 26, 71 $\mu\text{Ci mg}^{-1}$ e pureza radioquímica de 98,4%.

Para capturar o ¹⁴CO₂, desprendido no processo de mineralização da ametrina, frascos de cintilação com 1 mL de solução de monoetanolamina foram colocados dentro dos recipientes com solo. Semanalmente, durante nove semanas, foram realizadas as trocas dos frascos coletores de CO₂. Após as trocas, foram adicionados aos frascos coletores 15 mL de solução cintiladora: 4 g de 2,5-diphenyl-oxazole (PPO); 0,2 g de 1,4 bis [5-Phenyl 2-2-oxazolyl]- benzene, 2,2'- p-Phenylene-bis [phenyloxazole] (POPOP); 340 mL Renex 95%; e 660 mL de tolueno (Mesquita & Ruegg, 1984), e a radioatividade de cada amostra foi avaliada, durante 15 min, em espectrômetro de cintilação líquida (ELC) (Beckman-modelo 5801).

Após nove semanas de incubação, foi realizada a extração dos resíduos e de seus metabólitos. Aos frascos com 10 g de amostra de solo de cada tratamento foram adicionados 10 g de sulfato de sódio anidro e 20 mL de metanol. Após duas horas de agitação (120 rpm) e 30 min de repouso, para decantação, o sobrenadante foi filtrado e o processo repetido por mais duas vezes, combinando os sobrenadantes. O volume final foi medido e 5 mL foram transferidos para frasco de cintilação. O solvente foi evaporado e então 15 mL de solução cintiladora foram adicionados e a radioatividade foi determinada. Aliquotas de 200 μL do mesmo filtrado e 10 μL da solução-padrão do herbicida radiomarcado foram aplicadas em placas de sílica gel 60 F₂₅₄ (Merck). A eluição das placas foi efetuada com o sistema de solvente acetonitrila-água-ácido fórmico (94:5:1, v/v), de acordo com Burkard & Guth (1976). O produto e os possíveis metabólitos foram visualizados com auxílio de luz ultravioleta (345-366 nm), e as manchas foram confirmadas por autoradiografia.

Após a extração, o ¹⁴C remanescente como resíduo não-extraível das amostras de solo foi determinado em oxidador biológico (Biological Material Oxidizer-Beckman), utilizando-se 1 g de amostra e catalisador metálico (CuO). O ¹⁴CO₂ resultante da combustão foi coletado em 15 mL de solução cintiladora (3,3 g PPO; 600 mL tolueno; 300 mL éteretilenoglicol monometílico; 100 mL monoetanolamina), conforme Andrea et al. (1982), e quantificado em ELC.

O número de microrganismos (bactérias, fungos e actinomicetos) foi avaliado no início e no final do experimento pelo método de diluição e plaqueamento em meios de cultura seletivos. Na contagem das bactérias, fungos e actinomicetos, foram utilizados nutriente ágar, meio de Martin (Martin, 1950) e meio amido caseína (Kuster & Williams, 1964), respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O desprendimento de ¹⁴CO₂ da ametrina (Figura 1) indica que os tratamentos sem adição de solo rizosférico, (AQ e AQ/Est) apresentaram, após nove semanas de incubação, menor percentagem de ¹⁴CO₂ desprendido (0,70 e 0,58%, respectivamente), ou seja, uma mineralização da ametrina. A maior quantidade de ¹⁴CO₂ desprendido foi do tratamento AQ/SRH (2,56%), seguido por AQ/SR (1,25%). Este aumento na taxa de degradação é conhecido como degradação acelerada (Felsot & Dzantor, 1990) decorrente de aplicações sucessivas de um mesmo pesticida, ocorrendo adaptação da microbiota do solo na degradação de diversos produtos (Monteiro, 1997).

Comparando os parâmetros analisados dos tratamentos que o solo recebeu com a taxa de degradação, verifica-se que o tratamento AQ/SRH apresentou 3,5 vezes mais ¹⁴CO₂ que os tratamentos AQ, evidenciando a adaptação dos microrganismos da rizosfera de cultura de cana-de-açúcar previamente tratada. Portanto, nestes campos, a degradação da ametrina deve ocorrer mais

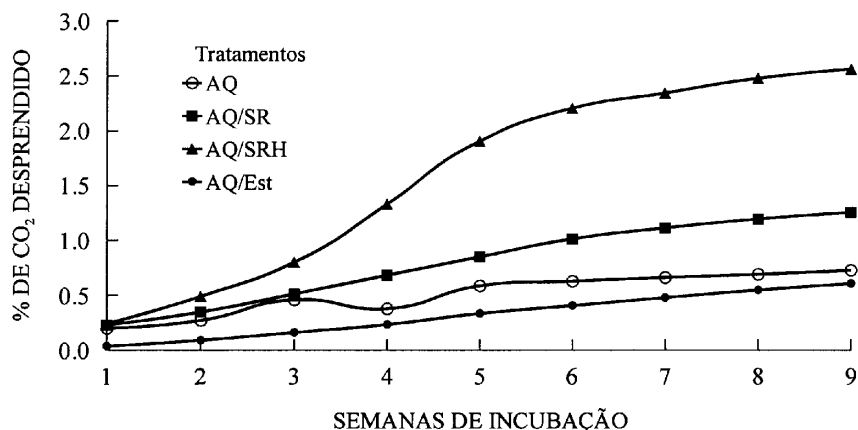


Figura 1. Percentagem relativa ao total aplicado de $^{14}\text{CO}_2$ desprendido em Areia Quartzosa (AQ), com adição de solo rizosférico não tratado (AQ/SR), com adição de solo rizosférico tratado (AQ/SRH) e Areia Quartzosa esterilizada (AQ/Est), durante nove semanas de incubação com ^{14}C -ametrina.

rapidamente do que em campos sem aplicação. Costa et al. (1997) observaram que a adição ao solo de 10% de palhas de cana-de-açúcar tratadas previamente com ametrina e não tratadas aumentou em 13 e 12 vezes, respectivamente, a biodegradação da ametrina e concluíram que a degradação ocorreu por cometabolismo.

A quantidade do radiocarbono extraível (Figura 2) foi em média 55% do radiocarbono aplicado inicialmente para todos tratamentos AQ, AQ/SRH, AQ/SR e AQ/Est (57,35; 62,93; 46,70 e 52,41%, respectivamente), enquanto o não-extraível ficou ao redor de 29% em média dos tratamentos

AQ, AQ/SRH, AQ/SR e AQ/Est (34,0; 29,06; 28,60 e 23,23%, respectivamente). De acordo com Führ & Mittelstaedt (1980), o processo de formação de resíduos não-extraíveis de pesticidas nos solos está relacionado principalmente com a matéria orgânica dos solos, uma vez que a fração orgânica do solo tem potencial para formar ligações químicas estáveis com pesticidas e, ou, seus produtos de degradação. A fração de resíduos extraíveis é a fração que está mais biodisponível no solo, enquanto a fração não-extraível se encontra mais estável, entretanto, a liberação desses resíduos depende, principalmente, da ação dos microrganismos (Scheunert et al., 1986).

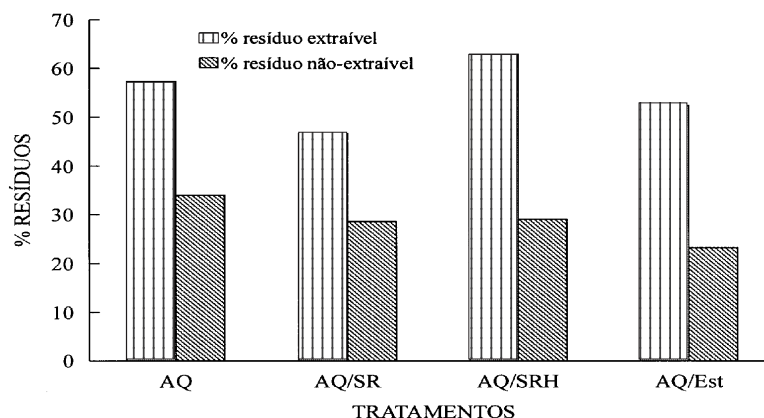


Figura 2. Percentagem relativa ao total aplicado de resíduo extraível e resíduo não-extraível em Areia Quartzosa (AQ), com adição de solo rizosférico não tratado (AQ/SR), com solo rizosférico tratado (AQ/SRH,) e Areia Quartzosa esterilizada (AQ/Est), durante nove semanas de incubação com ^{14}C -ametrina.

Os tratamentos que não receberam adição de substratos (AQ e AQ/Est) apresentaram os metabólitos de Rfs 0,11 e 0,63 junto com a ametrina, Rf igual a 0,73, e o tratamento com a adição de solo rizosférico resultou no aparecimento de um metabólito a mais de Rf 0,21. Pode-se verificar, então, a formação de produtos que provavelmente se adsorveram (Figura 2) de formas diferentes do produto mãe (Hsu & Bartha, 1976; Katan & Lichtenstein, 1977; Lichtenstein, 1980).

O quadro 2 mostra que a presença da ametrina nos tratamentos com adição de solo rizosférico aumentou o número de microrganismos, principalmente bactérias. É provável que este aumento da população de microrganismos tenha sido o principal responsável pela mineralização da ametrina. Evidências de que a ametrina seria degradada por bactérias do solo foram também observadas por Cook & Hütter (1982).

Assim, pelo aumento do desprendimento de $^{14}\text{CO}_2$, aparecimento de metabólitos e número de microrganismos, a adição em areia quartzosa de solos de rizosfera, com e sem aplicação prévia de ametrina, houve aumento na mineralização de ^{14}C -ametrina, indicando que a presença de plantas facilita a degradação de xenobióticos. Tal degradação pode ocorrer particularmente quando o contaminante orgânico é degradado cometabolicamente, uma vez que a rizosfera provê um ambiente condutivo de transformações cometabólicas (Cunningham et al., 1996). Neste processo, o composto não é utilizado para gerar energia ou crescimento microbiano da população degradadora, mas a atividade microbiana é muito importante.

CONCLUSÃO

A mineralização da ametrina é de origem microbiológica e o enriquecimento do solo arenoso

com solo rizosférico aumenta a degradação desse herbicida. O aumento pode ser ainda maior quando se realizam aplicações prévias desse herbicida.

LITERATURA CITADA

- ABDEL-NASSER, M.; MAKAWI, A.A. & ABDEL-MONEIM, A.A. Occurrence of certain microorganisms in rhizosphere soils of common bean and cotton as affected by the application of Temik or orthocide pesticides. *Egyptian J. Microbiol.* 14:37-44, 1979.
- ANDERSON, T.A.; GUTHRIE, E.A. & WALTON, B.T. Bioremediation in the rhizosphere. *Environ. Sci. Technol.*, 27:2630-2636, 1993.
- ANDREA, M.M.; LORD, K.A.; BROMILOW, R.H. & RUEGG, E. Degradation of parathion by soil kept moist with and without repeated applications. *Environ. Pollut.*, 27:167-177, 1982.
- BALASUBRAMANIAN, A. & RANGASWANI, G. Influence of foliar application of chemicals on the root exudations and rhizosphere microflora of *Sorghum vulgare* and *Crotalaria juncea*. *Folha Microbiol.*, 18:492-498, 1973.
- BURKHARD, N. & GUTH, J.A. Photodegradation of atrazine, atraton and ametryne in aqueous solution with acetone as a photosensitizer. *Pest. Sci.*, 7:65-71, 1976.
- CAMPBELL, R. *Plant microbiology*, Baltimore, Edward Arnold, 1985. 191p.
- COMPTE, V.X. Avaliação de metodologias de coleta de $^{14}\text{CO}_2$ em estudos de biodegradação de agroquímicos em solos. Piracicaba, Universidade de São Paulo, 1997. 55p. (Tese de Mestrado)
- COOK, A.M. & HÜTTER, R. Ametryne and prometryne as sulfur source for bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 43:781-786, 1982.
- COSTA, M.A. Biodegradação de ^{14}C -Ametrina em areia quartzosa com adição de palha de cana e solo rizosférico. Piracicaba, Universidade de São Paulo, 1992. 107p. (Tese de Mestrado)

Quadro 2. Unidades formadoras de colônias (UFC) por grama de solo, no início e após nove semanas de incubação de Areia Quartzosa (AQ), com adição de solo rizosférico não tratado (AQ/RS) e tratado com herbicida ametrina (AQ/SRH) e solo esterilizado (AQ/Est)

Tratamento	Bactéria 1×10^5		Fungos 1×10^4		Actino 1×10^3		Média 1×10^5	
	Zero	64 dias	Zero	64 dias	Zero	64 dias	Zero	64 dias
AQ	4	5	5	3	3	300	4,53	8,83
AQ/SR	5	20000	10	20	5	Zero	6,25	18000
AQ/SRH	0,01	30	2	0,7	6	Zero	0,27	29
AQ/Est.	Zero	40	Zero	Zero	Zero	Zero	Zero	13

- COSTA, M.A.; MONTEIRO, R.T.R. & TORNISIELO, V.L. Influência da adição da palha de cana-de-açúcar na degradação de ^{14}C -ametrina em solo areia quartzosa. *Sci. Agric.*, 54:117-122, 1997.
- CUNNINGHAM, S.D.; ANDERSON, T.A.; SCHWAB, A.P. & HSU, F.C. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. *Adv. Agron.*, 56:55-114, 1996.
- FELSOT, A.S. & DZANTOR, E.K. Enhancing biodegradation for detoxification of herbicide waste in soil. In: RACKE, J.K. & COATS, J.R. Enhanced biodegradation of pesticides in the environment, Washington, D.C., ACS, 1990. p.249-268 (ACS. Symposium Series, 426)
- FÜHR, F. & MITTELSTAEDT, W. Plant experiments on the bioavailability of unextracted (carbonyl- ^{14}C) methabenzthiazuron residues from soil. *J. Agric. Food Chem.*, 28:122-125, 1980.
- GEBENDINGER, N. & RADOSEVICH, M. Inhibition of atrazine degradation by cyanazine and exogenous nitrogen in bacterial isolate M91-3. *Appl. Microbiol. Biot.*, 51:375-381, 1999.
- HSU, T.S. & BARTHA, R. Hydrolizable and nonhydrolizable 3,4-dichloroaniline - humus - complexes and their respective rates of biodegradation. *J. Agric. Food Chem.*, 24:118-122, 1976.
- INSTITUTO BRASILEIRO DA AMAZONIA E DO MEIO AMBIENTE - IBAMA. Manual de testes para avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos. 2.ed. Brasília, 1990. 351p.
- KATAN, J. & LICHTENSTEIN, E.P. Mechanisms of production of soil-bound residues of ^{14}C -parathion by microorganisms. *J. Agric. Food Chem.*, 25:1404-1408, 1977.
- KONTCHOU, C.Y. & GSCHWIND, N. Biodegradation of s-triazine compounds by a stable mixed bacterial community. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 43:47-56, 1999
- KUSTER, E. & WILLIAMS, S.T. Selection of media for isolation of Streptomycetes. *Nature*, 202:928-929, 1964.
- LEON, L.; MANUEL, C. & BORNEMISZA, E. Resíduos, degradación y comportamiento de la ametrina en un vertisol de Guanacaste, Costa Rica. *Turialba*, 28:3-7, 1978.
- LICHTENSTEIN, E.P. Bound residues in soils and transfer of soil residues in crops. *Resid. Rev.*, 76:147-153, 1980.
- LUI, L.C. & CIBES-VIADÉ, H. Effect of various herbicides on the respiration of soil microorganisms. *J. Univ. Puerto Rico*, 56:17, 1972.
- MARTIN, J.P. Use of acids rose-bengall and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Sci.*, 134:1538-1539, 1950.
- MESQUITA, T.B. & RUEGG, E.F. Influência de agentes tensoativos na detecção da radiação Beta. *Cienc. Cult.*, 36:446-450, 1984.
- MONTEIRO, R.T.R. Biodegradação de pesticidas. In: MELO, I.S. & AZEVEDO, J.L., eds. *Microbiologia ambiental*. Jaguariúna, EMBRAPA, CNPMA, 1997. p.107-124.
- PRATA, F.P. Biodegradação e adsorção dos herbicidas diuron e ametrina em solos tratados com vinhaça. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1998. 73p. (Tese de Mestrado)
- RODRIGUES, B.N. & ALMEIDA, F.S. Guia de herbicidas, Londrina, IAPAR, 1995. 675p.
- SANDMANN, E. & LOOS, M.A. Enumeration of 2,4-D degrading microorganisms in soils and crop plant rhizospheres using indicator media: high populations associated with sugarcane (*Saccharum officinarum*). *Chemosphere*, 13:1073-1084, 1984.
- SCHEUNERT, I.; MEER-BEKK, C.T. & KORT, F. Distribution and biodegradability of ^{14}C -residues bound in various soil fractions after treatment of the soil with model ^{13}C -chemicals. In: International Atomic Energy Agency. Quantification, nature and bioavailability of bound ^{14}C -pesticide residues in soil, plant and food. Vienna, 1986. p.31-40.
- ZABLOTOWIEZ, R.M.; HOAGLAND, R.E.; LOCKE, M.A. & HICKEY, W.J. Glutathione-S-transferase activity and metabolism of glutathione conjugates by rhizosphere bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61:1045-1060, 1995.