



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS – RIO CLARO



---

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
MICROBIOLOGIA APLICADA**

---

**“EFEITO DA VINHAÇA E HERBICIDA  
CONTENDO TEBUTIUROM SOBRE BACTÉRIAS EM  
SOLO E TOXICIDADE EM ALFACE”**

**MÍRIAN ALVES DE FARIA**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Microbiologia Aplicada).

Abril - 2018

**“EFEITO DA VINHAÇA E HERBICIDA CONTENDO  
TEBUTIUROM SOBRE BACTÉRIAS EM SOLO E  
TOXICIDADE EM ALFACE”**

**MÍRIAN ALVES DE FARIA**

Orientador: Prof. Dr. Ederio Dino Bidoia

Co-Orientador: Prof. Dr. Paulo Renato Matos Lopes

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Microbiologia Aplicada).

Rio Claro – SP  
Abril/2018

604.6 Faria, Mírian Alves de  
F224e Efeito da vinhaça e herbicida contendo tebutiuram sobre  
bactérias em solo e toxicidade em alface / Mírian Alves de  
Faria. - Rio Claro, 2018  
71 f. : il., figs., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,  
Instituto de Biociências de Rio Claro  
Orientador: Ederio Dino Bidoia  
Coorientador: Paulo Renato Matos Lopes

1. Resíduos. 2. Combine 500sc. 3. Lactuca sativa. 4. Cana  
de açúcar. 5. Manejo. 6. Biodegradação. I. Título.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

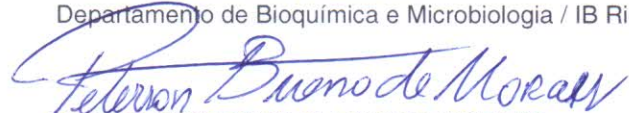
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: INFLUÊNCIA DA ASSOCIAÇÃO DE VINHAÇA E HERBICIDA FORMULADO COM TEBUTIURON NA MICROBIOLOGIA E ECOTOXICIDADE DE SOLO CULTIVADO COM CANA-DE-AÇÚCAR EM MANEJO CONVENCIONAL

**AUTORA: MÍRIAN ALVES DE FARIA**

**ORIENTADOR: EDERIO DINO BIDOIA**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (MICROBIOLOGIA APLICADA), área: MICROBIOLOGIA APLICADA pela Comissão Examinadora:

  
Prof. Dr. EDERIO DINO BIDOIA  
Departamento de Bioquímica e Microbiologia / IB Rio Claro

  
Prof. Dr. PETERSON BUENO DE MORAES  
Faculdade de Tecnologia / UNICAMP

  
Profa. Dra. DEJANIRA DE FRANCESCHI DE ANGELIS  
Departamento de Bioquímica e Microbiologia / IB Rio Claro

Rio Claro, 25 de abril de 2018

**Título alterado para: "Efeito da vinhaça e herbicida contendo Tebutiuron sobre bactérias em solo e toxicidade em alface"**

À mãe, professora e orientadora de minha vida

*Rachel Alves de Faria (in memoriam)*

Dedico

## AGRADECIMENTOS

---

Esta dissertação só existe devido ao apoio e incentivo de muitas pessoas queridas que, de uma forma ou de outra, auxiliaram minha caminhada até aqui.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Paulo Renato Matos Lopes, quem primeiro me incentivou e impulsionou rumo a esta conquista. Agradeço por ter me apresentado a esta linha de pesquisa, pela confiança ao me colocar em sua equipe e por ter dividido comigo seu valioso conhecimento. Fica aqui registrada a minha admiração a você como pessoa e profissional!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ederio Dino Bidoia, por sua orientação, paciência e pelo voto de confiança dado a mim e ao Paulo para o desenvolvimento deste projeto junto à FCAT. Muito obrigada, professor!

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Microbiologia Aplicada, ao Instituto de Biociências da UNESP, campus Rio Claro, e a todos os professores, técnicos de laboratório e demais profissionais envolvidos no andamento deste programa.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas da UNESP, campus de Dracena, pela concessão para o desenvolvimento das atividades junto ao IB e por acolher o desenvolvimento desta pesquisa. A todos os professores que me incentivaram e prestaram auxílio e aos companheiros de trabalho Andréia, Ariane, Edison, Heloísa, João Milton, Lucas e Wanderson, muito obrigada!

À Prof<sup>a</sup>. Dra Maria Luiza Poiatti (*in memoriam*), pelos ensinamentos durante os 5 anos em que trabalhei em seu laboratório, pelo encorajamento e pelas palavras amigas.

À Usina Caeté por ter fornecido os materiais para análise e pelas informações acerca da cultura da cana-de-açúcar nesta região.

À Central Analítica de Resíduos e Contaminantes da Embrapa Meio Ambiente, em Jaguariúna – SP, pela realização da análise cromatográfica e pela prontidão em auxiliar no presente trabalho.

Aos colegas pós-graduandos e amigos que ganhei durante este período. Embora tenhamos convivido pouco, haja vista nossa distância física, guardo com muito carinho a recordação de nossos momentos vividos, tanto dentro quanto fora da sala de aula. Obrigada especialmente à Vanessa, Jelena e, muito especialmente,

à Lúcia, que me recebeu em sua casa. Obrigada pelo presente de lhes ter conhecido!

Aos meus familiares pelo incentivo e encorajamento, pelas inúmeras vezes que me buscaram e levaram até a rodoviária, por cuidarem dos meus filhinhos de quatro patas e por me socorrerem em meus apuros! Irmãos Isa e Mateus; tios Carlos, Eunice, Cezar, Elen; primos e sobrinhos... Ah, se não fossem vocês!

Aos meus eternos amigos e colegas biólogos; Cristiano, Flávia, Patrícia e Vanessa, porque vocês me entendem!

Ao Korak, que de músico passou a fazer o papel de técnico de laboratório, estagiário, assistente de campo, motorista, revisor de dissertação, crítico de metodologia... Obrigada por seu envolvimento com esse trabalho, pelo apoio e companheirismo, pelo ombro amigo, e por estar sempre presente!

Aos amigos que me apoiaram e entenderam minha ausência durante este período, e a todos que contribuíram de diferentes formas para a concretização deste sonho, muito obrigado!

Aos meus pais Aloysio e Rachel, que já partiram deste plano, mas deixaram, além de saudades, seus valiosos ensinamentos e exemplos de vida. Obrigada pela formação que me deram, por me prepararem desde cedo para os estudos, por me ensinarem a sonhar alto e por me darem a certeza de que, qualquer que fosse o meu objetivo, eu encontraria os meios para conquistá-lo!

*À vida, à providência, às oportunidades, às dificuldades, aos acertos, aos erros,  
aos caminhos que me trouxeram até aqui...*

*Agradeço!*

*As coisas mais maravilhosas que podemos experimentar são as misteriosas.  
Elas são a origem de toda verdadeira arte e ciência. Aquele para quem essa  
sensação é um estranho, aquele que não mais consegue parar para admirar e  
extasiar-se em veneração, é como se estivesse morto: seus olhos estão fechados.*

*Albert Einstein*



## RESUMO

---

A cana-de-açúcar é uma cultura de grande importância econômica para o país, servindo de matéria prima para produção de açúcar e álcool. A vinhaça é um importante subproduto da produção alcooleira utilizada na fertirrigação por ter matéria orgânica e nutrientes em sua composição. Em contrapartida, pelo seu pH ácido e alta carga orgânica, pode apresentar um grande potencial poluente. Dentre os herbicidas mais utilizados na cultura da cana-de-açúcar, destaca-se o tebutiuram que apresenta toxicidade moderada a extrema e alta persistência, podendo ocasionar impacto ambiental. Por este motivo, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da aplicação de diferentes doses de tebutiuram associadas ou não à vinhaça em solo de manejo convencional na cultura da cana-de-açúcar em condições laboratoriais. Foram avaliadas a biodegradação mediante respirometria, a fitotoxicidade das amostras de solo utilizando sementes de alface, e a quantificação da comunidade bacteriana. As análises foram realizadas nos tempos inicial (t0) e final (t51) do experimento. Os resultados foram analisados estatisticamente utilizando teste de Tuckey a 5,0% de significância. Na biodegradação, as doses de tebutiuram não apresentaram efeito significativo na atividade microbiana dentre os tratamentos que receberam o mesmo volume de vinhaça. Entretanto, o herbicida proporcionou mudanças nas relações de significância entre outros tratamentos, sugerindo que a adição de tebutiuram ao solo causa pequena alteração no metabolismo da microbiota do solo. O aumento do volume de vinhaça aplicado gerou maior produção de CO<sub>2</sub>, sugerindo aumento do metabolismo microbiano na biodegradação. Nos bioensaios de fitotoxicidade, a presença do herbicida não causou impacto significativo nos tratamentos, entretanto alguns resultados sugerem que a adição de vinhaça beneficiou o desenvolvimento das plantas. Quanto à comunidade bacteriana do solo, a adição de doses maiores de vinhaça aumentou a concentração de bactérias no tempo inicial dos tratamentos que a receberam, mas após o período de atenuação natural, houve redução neste parâmetro. A adição de herbicida não apresentou impacto significativo nos tratamentos.

**Palavras-chave:** Combine 500sc, *Lactuca sativa*, cana de açúcar, manejo, biodegradação.

## ABSTRACT

---

Sugarcane is a crop of great economic importance for the country, serving as raw material for sugar and alcohol production. Vinasse is an important by-product of the alcoholic production, which it is used in fertirrigation by having organic matter and nutrients in its composition. On the other hand, by its pH acid and high organic load, it can present a great polluting potential. Among most commonly used herbicides in sugarcane crops, tebutiuron exhibits moderate to extreme toxicity and high persistence, and may have an environmental impact. For this reason, the objective of this study was to evaluate the effect of the application of different doses of tebutiuron associated or not to vinasse in conventional management soil in sugarcane cultivation under laboratory conditions. Biodegradation through respirometry, phytotoxicity of soil samples using lettuce seeds, and quantification of the bacterial community were evaluated. The analyzes were performed at the initial (t0) and final (t51) times of the experiment. The results were statistically analyzed using the Tuckey test at 5.0% probability. The doses of tebutiuron had no significant effect on biodegradation among the treatments that received the same volume of vinasse. However, the herbicide provided changes in the significance relationships between other treatments, suggesting that the addition of tebutiuron to the soil causes a small change in soil microbiota metabolism. The higher volume of vinasse applied resulted in higher CO<sub>2</sub> production, suggesting increased microbial metabolism in biodegradation. In the ecotoxicity bioassays, the presence of the herbicide did not have a significant impact on the treatments, however some results suggest that the addition of vinasse benefited the development of the plants. As for the bacterial community of the soil, the addition of larger doses of vinasse increased the number of CFU at the initial time of the treatments that received it, but after the period of natural attenuation, there was a reduction in this parameter. Again, herbicide addition had no significant impact on treatments.

**Keywords:** Combine 500sc, *Lactuca sativa*, sugar cane, management, biodegradation.

.

## LISTA DE FIGURAS

---

- Figura 1 – Esquema do frasco respirométrico (BARTHA; PRAMER, 1965; CETESB, 1990; ABNT, 1999). A: Tampa da cânula; B: Cânula (diâmetro 1-2 mm); C: Rolha de borracha; D: Braço lateral (diâmetro 40 mm; altura 100 mm); E: Solução alcalina de KOH; F: Amostra de solo; G: Frasco Erlenmeyer (250 mL); H: Válvula; I: Suporte (lã de vidro ou algodão); J: Filtro de cal sodada (diâmetro 15 mm; altura 40 mm)..... 36
- Figura 2 – Produção de CO<sub>2</sub> diária durante 51 dias de biodegradação por atenuação natural. Composição dos tratamentos (tebutiurom-vinhaça) - T1 (H0-V0); T2 (H1-V0); T3 (H0-V0,5); T4 (H1-V0,5); T5 (H0-V1); T6 (H1-V1); T7 (H0-V2); e T8 (H1-V2)..... 45
- Figura 3 – Produção de CO<sub>2</sub> acumulada durante 51 dias de biodegradação por atenuação natural. Composição dos tratamentos (tebutiurom-vinhaça) - T1 (H0-V0); T2 (H1-V0); T3 (H0-V0,5); T4 (H1-V0,5); T5 (H0-V1); T6 (H1-V1); T7 (H0-V2); e T8 (H1-V2)..... 46
- Figura 4 – Quantificação da comunidade bacteriana por número de UFC para os tratamentos no tempo inicial (t<sub>0</sub>) e após 51 dias de atenuação natural (tempo final – t<sub>51</sub>). Composição dos tratamentos (tebutiurom-vinhaça) - T1 (H0-V0); T2 (H1-V0); T3 (H0-V0,5); T4 (H1-V0,5); T5 (H0-V1); T6 (H1-V1); T7 (H0-V2); e T8 (H1-V2)..... 50
- Figura 5 – Alongamento do hipocótilo de plântulas de *Lactuca sativa* nos bioensaios de fitotoxicidade para os tratamentos no tempo inicial (t<sub>0</sub>) e após 51 dias de atenuação natural (t<sub>51</sub>). Composição dos tratamentos (tebutiurom-vinhaça) - T1 (H0-V0); T2 (H1-V0); T3 (H0-V0,5); T4 (H1-V0,5); T5 (H0-V1); T6 (H1-V1); T7 (H0-V2); e T8 (H1-V2)..... 52
- Figura 6 – Alongamento da raiz de plântulas de *Lactuca sativa* nos bioensaios de fitotoxicidade para os tratamentos no tempo inicial (t<sub>0</sub>) e após 51 dias de atenuação natural (t<sub>51</sub>). Composição dos tratamentos (tebutiurom-vinhaça) - T1 (H0-V0); T2 (H1-V0); T3 (H0-V0,5); T4 (H1-V0,5); T5 (H0-V1); T6 (H1-V1); T7 (H0-V2); e T8 (H1-V2)..... 53

Figura 7 – Germinação das sementes de *Lactuca sativa* nos bioensaios de fitotoxicidade para os tratamentos no tempo inicial (t0) e após 51 dias de atenuação natural (t51). Composição dos tratamentos (tebutiuró-vinhaça) - T1 (H0-V0); T2 (H1-V0); T3 (H0-V0,5); T4 (H1-V0,5); T5 (H0-V1); T6 (H1-V1); T7 (H0-V2); e T8 (H1-V2)..... 54

Figura 8 – Valores de 1-GI (Índice de germinação) para *Lactuca sativa* nos bioensaios de fitotoxicidade para os tratamentos no tempo inicial (t0) e após 51 dias de atenuação natural (t51). Composição dos tratamentos (tebutiuró-vinhaça) - T1 (H0-V0); T2 (H1-V0); T3 (H0-V0,5); T4 (H1-V0,5); T5 (H0-V1); T6 (H1-V1); T7 (H0-V2); e T8 (H1-V2)..... 54

## LISTA DE TABELAS

---

Tabela 1 – Delineamento experimental inteiramente casualizado, no esquema fatorial 2x4.....	34
Tabela 2– Análise da composição química do solo.....	42
Tabela 3 – Análise dos parâmetros físicos do solo.....	43
Tabela 4 – Análise dos parâmetros físico-químicos da vinhaça.....	44
Tabela 5 – Análise de variância na produção acumulada de CO <sub>2</sub> para os tratamentos após 51 dias de atenuação natural - teste de Tukey a 5,0% de significância. Composição dos tratamentos (tebutirom-vinhaça) - T1 (H0-V0); T2 (H1-V0); T3 (H0-V0,5); T4 (H1-V0,5); T5 (H0-V1); T6 (H1-V1); T7 (H0-V2); e T8 (H1-V2).....	47
Tabela 6 – Análise de variância da quantificação da comunidade bacteriana por número de UFC por grama de solo para os tratamentos no tempo inicial (t0) e após 51 dias de atenuação natural (tempo final – t51).Composição dos tratamentos (tebutirom-vinhaça) - T1 (H0-V0); T2 (H1-V0); T3 (H0-V0,5); T4 (H1-V0,5); T5 (H0-V1); T6 (H1-V1); T7 (H0-V2); e T8 (H1-V2).....	51
Tabela 7 – Análise de variância dos valores de 1-GI para <i>Lactuca sativa</i> nos bioensaios de ecotoxicidade para os tratamentos no tempo inicial (t0) e após 51 dias de atenuação natural (t51). Composição dos tratamentos (tebutirom-vinhaça) - T1 (H0-V0); T2 (H1-V0); T3 (H0-V0,5); T4 (H1-V0,5); T5 (H0-V1); T6 (H1-V1); T7 (H0-V2); e T8 (H1-V2).....	56
Tabela 8 – A análise por CLAE para determinação de resíduos de tebutirom nos tratamentos. Composição dos tratamentos (tebutirom-vinhaça) - T2 (H1-V0); T4 (H1-V0,5); T6 (H1-V1); e T8 (H1-V2).....	58

# SUMÁRIO

---

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>16</b>
<b>2.1. Herbicidas .....</b>	<b>16</b>
2.1.1. Comportamento de herbicidas no solo .....	17
2.1.1.1. Sorção .....	18
2.1.1.2. Transporte .....	19
2.1.2. Degradação de herbicidas no solo .....	20
<b>2.2. Tebutiurom .....</b>	<b>22</b>
<b>2.3. Vinhaça .....</b>	<b>25</b>
<b>2.4. Biodegradação e respirometria .....</b>	<b>27</b>
<b>2.5. Ecotoxicidade .....</b>	<b>28</b>
2.5.1. Bioensaios de fitotoxicidade .....	29
<b>2.6. Comunidade microbiana do solo .....</b>	<b>29</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>31</b>
<b>3.1. Geral .....</b>	<b>31</b>
<b>3.2. Específicos .....</b>	<b>31</b>
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>32</b>
<b>4.1. Solo .....</b>	<b>32</b>
<b>4.2. Vinhaça .....</b>	<b>33</b>
<b>4.3. Herbicida tebutiurom .....</b>	<b>33</b>
<b>4.4. Delineamento experimental .....</b>	<b>33</b>
<b>4.5. Preparo do solo .....</b>	<b>34</b>
<b>4.6. Período de realização .....</b>	<b>35</b>
<b>4.7. Biodegradação .....</b>	<b>35</b>
<b>4.8. Quantificação dos micro-organismos .....</b>	<b>37</b>
<b>4.9. Extrato aquoso de solo-solubilizado .....</b>	<b>38</b>
<b>4.10. Bioensaios de fitotoxicidade .....</b>	<b>38</b>
<b>4.11. Determinação de Resíduos de Contaminante no Solo .....</b>	<b>40</b>
<b>4.12. Forma de análise dos resultados .....</b>	<b>41</b>
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>42</b>

<b>5.1. Análises físico-químicas do solo .....</b>	<b>42</b>
<b>5.2. Análises físico-químicas da vinhaça.....</b>	<b>44</b>
<b>5.3. Atividade microbiana – biodegradação .....</b>	<b>44</b>
<b>5.4. Quantificação da comunidade bacteriana .....</b>	<b>48</b>
<b>5.5. Bioensaios de ecotoxicidade.....</b>	<b>51</b>
<b>5.6. Determinação de resíduos de contaminante no solo .....</b>	<b>56</b>
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>58</b>
<b>7. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>59</b>

## 1. INTRODUÇÃO

---

Na década de 1970, o governo brasileiro criou o Programa Nacional do Alcool (Proálcool), o qual foi responsável pela expansão da cultura canavieira no país. Seu principal objetivo foi a produção do etanol em larga escala, com o intuito de diminuir o uso de combustíveis fósseis no país (IBGE, 2015).

Devido a sua importância econômica no país, manejos como época de plantio, fertilidade do solo, adubação mineral e controle de plantas daninhas são bem conhecidos entre os produtores de cana. Em razão dos impactos ambientais causados pela queimada, pré-colheita da cana-de-açúcar, esse manejo está se extinguindo e, portanto, passou a ser necessária a colheita mecanizada. Essa prática aumentou consideravelmente os problemas com plantas daninhas, responsáveis por um dos maiores prejuízos na produção, sendo necessário o aumento do uso de herbicidas para o seu controle (MARIN; NASSIF, 2013; UNICA, 2015; TONIÊTO et al., 2016).

Nesse contexto, o tebutiuram tem representativo destaque como um herbicida amplamente utilizado no cultivo da cana-de-açúcar, visando o controle das principais espécies anuais de plantas infestantes e apresentando excelentes resultados em seu controle (NEGRISOLI et al., 2005). Essa molécula é o princípio ativo do produto comercial Combine<sup>®</sup> 500SC (Dow AgroSciences Industrial Ltda.).

O tebutiuram pode causar grande impacto ambiental, sendo a sua concentração residual um fator de extrema relevância com elevado potencial de contaminação.

Prata et al. (2000) relataram que a adição de um material orgânico a um solo que previamente foi exposto à aplicação de um herbicida pode influenciar o comportamento da molécula, podendo aumentar sua sorção, ativar a microbiota do solo na degradação da molécula e, assim, acelerar o processo de mineralização de herbicidas.

A aplicação da vinhaça no solo melhora a estrutura física, proporciona maior disponibilidade de íons e capacidade de troca iônica (CTC), eleva a capacidade de retenção de água e aumenta a atividade microbiana (GLÓRIA; ORLANDO FILHO, 1983). Este subproduto tem sido utilizado na fertirrigação como alternativa para a



sua disposição e devido ao seu alto teor de matéria orgânica e sua riqueza nutricional - cálcio, magnésio, potássio e sódio (CRUZ et al., 1991; CANELLAS et al., 2003). No entanto, o mesmo pode apresentar um potencial poluente com cerca de cem vezes maior que o esgoto doméstico, devido à sua alta carga orgânica e ao pH ácido (SILVA et al., 2007).

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

---

### 2.1. Herbicidas

O uso de produtos químicos no combate a pragas e doenças que causam danos à produção agrícola remonta do final do século XIX, com emprego de compostos inorgânicos e de extratos de vegetais (MENEZES, 2006). Na década de 1950, com a Revolução Verde, a agricultura sofreu mudanças drásticas com a utilização maciça de novas tecnologias, visando a produção extensiva de “commodities” agrícolas. Estes recursos tecnológicos são representados, majoritariamente, pelo uso extensivo de agrotóxicos, com o intuito de controlar doenças e aumentar a produtividade (BRASIL, 2015).

No contexto agrícola, o Brasil posiciona-se como um dos maiores produtores de alimentos, algodão, madeira, celulose e biocombustível, mas também como o maior consumidor mundial de agrotóxicos. O primeiro lugar neste ranking mundial vem desde 2008 e o crescimento do mercado de agrotóxicos no país é uma das causas. O consumo brasileiro de produtos químicos aplicados na agricultura expandiu rapidamente na última década (190%), num ritmo de crescimento maior que o dobro do apresentado pelo mercado global (93%) (RIGOTTO et al., 2014).

Na safra agrícola de 2012 foram pulverizados cerca de 1,05 bilhões de litros de biocidas, principalmente nos cultivos de soja, milho, cana-de-açúcar, algodão, cítricos, café e hortaliças (CARNEIRO et. al., 2012; IBGE, 2015). Dentre estes compostos químicos, destaca-se uso intenso de herbicidas, responsáveis por 45% do volume consumido, seguidos pelos fungicidas (14%) e inseticidas (12%) (ANVISA, 2013). São Paulo é o estado que apresenta maior consumo de herbicidas, havendo consumido cerca de 68 mil toneladas no ano de 2012 (Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola, 2012). No ano de 2017 foi estimado um volume de vendas de 879,2 mil toneladas de defensivos agrícolas no Brasil segundo a Abiquim (2017).

Em decorrência da significativa importância, tanto em relação à sua toxicidade quanto à escala de uso no Brasil, os agrotóxicos possuem uma ampla cobertura legal no Brasil, com um grande número de normas. O referencial legal mais

importante é a Lei nº 7802/89, que rege o processo de registro de um produto agrotóxico, regulamentada pelo Decreto nº 4074/02 (BRASIL, 2015).

Esta intensiva utilização de agrotóxicos representa uma fonte em potencial de contaminação da atmosfera, de solos e de águas superficiais e subterrâneas. As águas de superfície sofrem contaminação pela lavagem do solo (escoamento superficial), já as subterrâneas contaminam-se pela lixiviação nos perfis dos solos (MENEZES, 2006).

Existem aproximadamente 43 moléculas de herbicidas registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2017) para uso junto à cultura de cana de açúcar. Essas moléculas possuem diferentes características físico-químicas, tais como solubilidade em água, constante de dissociação (pKa), pressão de vapor, meia vida ( $t_{1/2}$ ), taxa de fotólise, coeficiente de sorção (Kd), toxicidade, dentre outras (TONIÊTO, 2014). Essas diferenças permitem ao técnico adotar aquela que mais se adapta à sua necessidade.

### **2.1.1. Comportamento ambiental de herbicidas no solo**

Independente do organismo-alvo ou do modo de aplicação, o principal destino dos herbicidas aplicados é o solo. Estima-se que cerca de 60 a 70% do total dos pesticidas aplicados nos campos agrícolas não atinjam a superfície-alvo de interesse (LAW, 2001). Quando atingem o solo, podem passar por processos de retenção, transformação, transporte ou interação com outras moléculas (SPADOTTO, 2002). A dinâmica de herbicidas no solo depende de uma variedade complexa de características químicas, físicas e biológicas, além de processos como sorção, volatilização, lixiviação e degradação química ou microbiana (ARIAS-ESTEVEZ, 2008).

Entender o comportamento dos pesticidas no solo é importante para estimar seu potencial de impacto no meio ambiente, especialmente nas águas subterrâneas e de superfície, uma vez que estes recursos são utilizados para consumo animal e humano (LOURENCETTI, 2012).

Os produtos comerciais de herbicidas muitas vezes podem se comportar de maneira diferente de acordo com a marca utilizada, mesmo possuindo a mesma concentração. Possivelmente, os aditivos utilizados alteram algumas características como solubilidade e densidade em relação ao padrão analítico utilizado em

condições de laboratório. Nesse sentido, a utilização apenas de padrão analítico pode estar comprometendo a avaliação da sorção, lixiviação e, conseqüentemente, a eficácia dos herbicidas, sendo necessário avaliar esses interferentes, visando estabelecer valores mais seguros (TONIÊTO, 2014).

#### 2.1.1.1. Sorção

A retenção refere-se à habilidade do solo de reter um herbicida ou outra molécula orgânica, evitando que ela se mova tanto dentro como para fora da matriz do solo, e engloba mecanismos específicos de dissipação dos herbicidas: absorção, precipitação e adsorção. Sorção refere-se a um processo geral, sem distinção entre esses três processos específicos. O processo individual de sorção é profundamente complexo, em virtude da heterogeneidade do solo e de sua continuidade com sistemas biológicos, atmosféricos e aquáticos (MONQUERO, 2014).

O processo de sorção desempenha papel-chave na regulação do transporte, degradação, persistência e bioacumulação de um herbicida no solo, pois limita sua disponibilidade na solução do solo e restringe sua movimentação na matriz do solo (DE JONGE et al., 1999; BOIVIN et al., 2005; LOURENCETTI, 2012). A sorção depende de propriedades físico-químicas do herbicida e, principalmente, dos atributos do solo e da composição de sua matéria orgânica (BENOIT et al, 2008; TIAN et al, 2010, EL-NAHHAL et al., 2013, PEREIRA-JÚNIOR, 2015).

A avaliação da sorção normalmente é feita por meio da estimativa de coeficientes sortivos, e geralmente são conduzidas em condições laboratoriais, empregando técnicas analíticas como cromatografia líquida e gasosa. O coeficiente de sorção,  $K_d$ , pode ser estimado pela Equação 1 (MONQUERO, 2014).:

$$K_d = C_s / C_w \quad [1]$$

em que:

$C_s$  = concentração de herbicida que permanece sorvido ao solo ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ );

$C_w$  = concentração de herbicida encontrada na solução do solo ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ).

Entretanto, como o teor de carbono orgânico, aparentemente, tem representado melhor a capacidade adsorptiva dos herbicidas nos solos, principalmente para os compostos de caráter básico ou não iônicos (OLIVEIRA JR. et al., 2001; BARIZON et al., 2005), utiliza-se o coeficiente de sorção normalizado para o teor de carbono orgânico do solo,  $K_{oc}$  ( $\text{kg L}^{-1}$ ), estimado pela Equação 2:

$$K_{oc} = 100 K_d / f_{oc} \quad [2]$$

em que:

$f_{oc}$  = teor (% ou  $\text{dag kg}^{-1}$ ) de carbono orgânico do solo, o qual é obtido dividindo-se o percentual de matéria orgânica por 1,72 (MONQUERO, 2014).

#### 2.1.1.2. Transporte

O transporte de herbicidas no solo representa um dos processos envolvidos na dissipação desses compostos no ambiente, e se destaca por influenciar a capacidade de contaminação dos recursos hídricos. Dentre as principais formas de transporte de herbicida no solo, destaca-se o escoamento superficial, volatilização e lixiviação (MONQUERO, 2014).

O transporte por escoamento superficial representa o arraste do herbicida na superfície do solo para áreas que não receberam o produto, e é mais pronunciado quando ocorre chuva no local logo após a aplicação do herbicida. A porcentagem de herbicida perdida através desse processo normalmente é  $<0,001-0,25$ . (MONQUERO, 2014).

A volatilização é o processo de perdas do herbicida para a atmosfera na forma de vapor, e é influenciado por propriedades químicas da molécula, tais como pressão de vapor e solubilidade. Fatores externos, tais como aumento da temperatura e umidade do solo, elevam as taxas de volatilização de um herbicida. Uma alternativa para minimizar a perda por volatilização é a adição de adjuvantes que agem como fixadores ao produto formulado (MONQUERO, 2014).

A lixiviação é o movimento descendente dos herbicidas na matriz do solo. Para ser lixiviado, o produto deve estar na solução do solo ou adsorvido a pequenas partículas lixiviáveis. Alguns fatores que afetam a lixiviação de um herbicida são sua

sorção, solubilidade, persistência, propriedades do solo, fatores ambientais e climáticos (OLIVEIRA JR. et al., 2011).

Herbicidas de maior persistência no solo apresentam maior risco de contaminação de águas subterrâneas, pois são menos disponíveis para degradação, podendo ser lentamente carregados pela solução do solo (OLIVEIRA JR. et al., 2011).

Pequena lixiviação é desejável, pois permite o movimento do herbicida até as sementes de plantas daninhas com potencial de germinação, que geralmente estão concentradas a 5 cm da superfície do solo. Por outro lado, a lixiviação excessiva pode contribuir para o herbicida ser arrastado até o lençol freático, podendo acarretar contaminações indesejáveis (OLIVEIRA JR. et al., 2011).

O risco de contaminação de águas subterrâneas é classificado pelo índice do potencial de lixiviação (LPI) dos compostos orgânicos, frequentemente utilizado por agências governamentais e corporações privadas, uma vez que o transporte e degradação de compostos orgânicos é muito complexo, envolvendo processos físicos, químicos e biológicos (BOESTEN, 2000). Além disso, estudos de monitoramento da presença de agrotóxicos em águas apresentam elevado custo e consomem muito tempo, devido ao grande número de análises que devem ser realizadas (SPADOTTO et al., 2004).

### **2.1.2. Degradação de herbicidas no solo**

Um dos fatores importantes na determinação do potencial de lixiviação de agrotóxicos é a degradabilidade destes compostos, geralmente expressa pela meia-vida, que constitui um dos principais processos controladores de sua mobilidade no solo (GUSTAFSON, 1989). A meia-vida é muito variável, incluindo dias, meses ou anos. A maioria dos dados reportados na literatura foi determinada na Europa e nos Estados Unidos e, portanto, não são diretamente aplicáveis a países tropicais (DORES; DELAMONICA-FREIRE, 1989). A sua determinação deve ocorrer em condições normais de uso, na região em que o composto orgânico é utilizado (MENEZES, 2006).

Como um dos processos importantes, a degradação é fundamental para atenuação dos níveis de resíduos do agrotóxico no solo (GUO et al., 2000). Conhecer a degradação de herbicidas no solo é importante. Herbicida ideal é aquele

que permanece ativo no ambiente, por tempo suficientemente longo, para o controle das plantas daninhas em determinada cultura, porém, não tão longo que cause injúria às culturas susceptíveis que venham em rotação/sucessão (OLIVEIRA JR. et al., 2011).

A degradação do herbicida refere-se a mudanças na natureza química da molécula por processos físicos, químicos e biológicos, e é fundamental para atenuação dos níveis de resíduos do agrotóxico no solo (GUO et al., 2000). As transformações químicas e biológicas são os processos mais importantes na degradação dos herbicidas no solo (OLIVEIRA JR. et al., 2011).

O grande número de microrganismos presentes no solo, como bactérias e fungos, capazes de degradar os diversos compostos orgânicos, também degradam as moléculas dos herbicidas. Porém, a biodisponibilidade do composto, assim como as propriedades físico-químicas do solo e do composto influenciam fortemente a taxa de degradação (AISLABIE; LOYD-JONES, 1995).

O histórico de utilização de um herbicida em uma determinada área influencia a taxa de decomposição microbiológica dos herbicidas. Aplicações repetidas do mesmo princípio ativo em uma área podem selecionar uma microbiota específica, devido à utilização como fonte de alimento para crescimento. A diversidade microbiana pode ser marcadamente afetada, mediante o uso seguido de agrotóxicos, com ou sem alteração do metabolismo microbiano, e tais mudanças podem afetar a fertilidade do solo (JOHNSEN et al., 2001; KAARE et al., 2001).

A degradação dos herbicidas, seja microbiológica ou química, é um importante mecanismo que tende a controlar a persistência, a atividade e a movimentação do pesticida no perfil do solo. A taxa de degradação é influenciada por características do solo e do clima, que são variáveis de local para local e de ano para ano, ou mesmo ao longo de um ano. Por isto os resultados dos estudos de persistência no campo tendem a ser específicos do local e do ano. Devido estas variações, estudos de degradação são geralmente conduzidos em laboratório com condições controladas (OLIVEIRA JR. et al., 2011).

Microrganismos aptos a degradar ou metabolizar agrotóxicos, utilizam seus compostos como fonte de carbono, energia ou outro nutriente disponível. O metabolismo pode ser construtivo e sequencial, conduzindo a uma oxidação completa dos compostos para dióxido de carbono e água ou pode ser incompleto e produzir intermediários persistentes (DE SOUZA et al., 1998).

O manejo dos solos a serem utilizados em experimentos de degradação deve ser mínimo. Secagem, congelamento, e armazenamento por longos períodos de tempo devem ser evitadas, pois estes fatores alteram drasticamente a atividade bioquímica dos solos. Walker (1987) demonstrou que a massa da microbiota e a degradação microbiológica de herbicidas foram maiores em amostras frescas em relação à amostras do mesmo solo que tinham sido secas ao ar e reumedecidas. A atividade microbiológica também pode ser alterada devido à passagem das amostras em peneira de malha muito fina, pois microagregados do solo podem ser destruídos (OLIVEIRA JR. et al., 2011).

Um dos principais objetivos dos estudos de degradação dos pesticidas é prever o tempo de permanência do seu resíduo no solo. Estudos de cinética de degradação são utilizados em experimentos de degradação para calcular a meia-vida do herbicida. O conceito de meia vida é importante para comparar taxas de degradação em diferentes situações; no entanto é uma estimativa simplificada, devido à complexa natureza do solo e sua interação com os pesticidas (OLIVEIRA JR. et al., 2011).

A degradação de herbicidas no solo pode ser acelerada através do aumento da atividade microbiana no solo, pela adição de matéria orgânica e ajuste da umidade e pH do mesmo ou da utilização de microrganismos adaptados (biorremediação) (OLIVEIRA JR. et al., 2011).

Uma vez que microrganismos presentes nos solos são capazes de degradar e mineralizar agrotóxicos, pode-se desenvolver biorremediação de sítios contaminados, empregando-se microrganismos previamente selecionados (POINTING, 2001). Logo, o isolamento, a caracterização e a identificação de microrganismos, com habilidade em metabolizar compostos potencialmente tóxicos, é de suma importância para a biorremediação (MARTINEZ, 2006).

Verifica-se que somente conhecendo e entendendo os processos que afetam o comportamento e o destino dos herbicidas no ambiente, pode-se obter maior eficiência de utilização dos produtos, com menor risco de contaminação ambiental.

## **2.2. Tebutiurom**

Dentre os herbicidas comercializados para cana de açúcar no Brasil, o tebutiurom é um herbicida seletivo e registrado com o nome comercial de Combine®



500SC. Deve ser aplicado em pré-emergência das plantas daninhas anuais. O produto possui amplo espectro de controle, sendo eficiente no controle de cerca de 25 plantas infestantes (mono e dicotiledôneas) de grande importância para a cultura da cana de açúcar. As doses variam de 1,6 a 2,4 L ha<sup>-1</sup>, em função das características físicas do solo e uma única aplicação pode manter a cultura no limpo até o fechamento (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011).

O tebutiuram (N{5-(1,1-dimetiletil)-1,3,4-tiadiazol-2-il}-n,n'- dimetiluréia) é um herbicida pertencente ao grupo das uréias substituídas (grupo C2), agindo pela inibição do fotossistema II. As principais características deste composto são a solubilidade em água de 2,57 g L<sup>-1</sup> a 20°C, densidade de 1,25 g mL<sup>-1</sup>, pressão de vapor 2,7 x 10<sup>-4</sup> Pa, pKa Zero (não ionizável) e coeficiente de sorção para o teor de carbono (Koc) 80 mg L<sup>-1</sup>(RODRIGUES; ALMEIDA, 2011).

Apresenta absorção radicular, e, uma vez dentro do tecido vegetal é translocado até as membranas dos cloroplastos, onde se ligam a sítios específicos, causando prejuízo na rota metabólica de fixação de CO<sub>2</sub> e produção de energia, inibindo assim a fotossíntese. A morte das plantas, entretanto, ocorre por causa de processos relacionados à peroxidação de lipídios e proteínas, causando rompimento de membranas e desintegração das células (TOFOLI, 2004).

O tebutiuram é fortemente adsorvido à argila dos solos com alta capacidade de troca catiônica, e possui limitada mobilidade na superfície do solo (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011). Entretanto, em estudos acerca do seu comportamento no solo, o herbicida tebutiuram apresentou baixa sorção em diversos tipos de solo. Pereira-Júnior (2015) relataram valores de sorção (Kd) baixos para o tebutiuram em diferentes tipos de solo, variando de 0,6 a 2,4mg<sup>1-N</sup> L<sup>N</sup> kg<sup>-1</sup>, sendo valores mais elevados em solos argilosos, e menores em solos arenosos. Resultados similares foram obtidos por Lourencetti et al. (2012) e Toniêto et al. (2016). O herbicida ioniza-se apenas em condições de pH muito baixo, mantendo-se neutro em condições naturais, o que contribui com sua baixa sorção (BOHN, 2001; KOSKINEN, 1996).

A sorção de herbicidas em geral pode ser alterada por diversos fatores, tais como, adição de matéria orgânica ao solo na forma de palha (sistema de cana crua), ácido húmico ou vinhaça; formulação do produto (ingrediente ativo X fórmula comercial); tempo de residência do herbicida no solo. Entretanto, os atributos físico-químicos do solo são o fator que exerce maior influência no potencial de sorção do tebutiuram, de forma que a sorção aumenta em solos com maior quantidade de

argila (TONIÊTO et al., 2016; PEREIRA-JÚNIOR 2015; LOURENCETTI et al., 2012; MATOS, 2015).

Foi reportado que a matéria orgânica do solo exerce efeito positivo na sorção de pesticidas orgânicos (BAILEY, 1964; DUNCAN, 1983; WEBER, 2004). Em áreas de cultivo de cana crua, o solo apresentou maior conteúdo de carbono orgânico, o que elevou levemente a sorção de tebutirom no solo estudado (PEREIRA-JÚNIOR, 2015; LOURENCETTI, 2012). Matos et al. (2015), ao estudar o efeito da vinhaça no comportamento de tebutirom em diferentes solos, observou que a adição deste resíduo promoveu a redução da capacidade de sorção, aumentando sua concentração na solução do solo. Estes dados podem estar relacionados ao aumento de íons incorporados ao solo através da adição da vinhaça, que competem com as moléculas de herbicida pelos sítios de adsorção (FERRERAS et al., 2006; FERNANDEZ-BAYO et al., 2009; MATOS, 2015). Lourencetti et al. (2012) também verificaram que a adição de vinhaça alterou significativamente a sorção de tebutirom, promovendo diminuição de  $K_d$  em solo argiloso e aumento deste parâmetro em solo arenoso. Semelhantemente, ao adicionar ácido húmico ao solo, Toniêto (2016) observou uma pequena diminuição na sorção deste herbicida.

A baixa sorção do tebutirom, aliada à sua alta solubilidade em água e alta persistência, sugere elevado potencial de lixiviação deste herbicida, causando preocupação acerca da contaminação de águas subterrâneas e superficiais (OLIVEIRA et al., 2001; PEREIRA-JÚNIOR, 2015).

O potencial de lixiviação deste herbicida é fortemente influenciado pelas características do solo, adição de adubos orgânicos, regime de chuvas e presença de cobertura de palha (STONE, 1993; TONIÊTO, 2016). Chang e Stritzke (1977) reportaram que o tebutirom apresenta alta disponibilidade e mobilidade em solos com baixas quantidades de argila e matéria orgânica. Pereira-Júnior (2015), utilizando o modelo matemático GUS (*groundwater ubiquity score*), apontou alto potencial de lixiviação para o tebutirom.

A cobertura de palha no solo influencia a lixiviação do herbicida. Toniêto (2016) observou em condições laboratoriais que a palha reteve 33% do tebutirom aplicado em colunas de lixiviação. Pereira-Júnior (2015) apontou que presença de cobertura de palha no solo diminui levemente a sua lixiviação, mas não o suficiente para o mesmo ser considerado não-lixivante. Semelhantemente, Lourencetti (2006) verificou que a adição de vinhaça ao solo estudado diminuiu o potencial de lixiviação

do herbicida.

Toniêto (2014) ressalta que os problemas de contaminação de águas subterrâneas dependem da região, pois o herbicida foi encontrado em concentrações acima do nível crítico para o padrão de potabilidade, estabelecido pela Organização Mundial da Saúde (GOMES et al., 2001), encontrado em baixas concentrações (FERRACINI et al., 2006) ou não encontrado (CERDEIRA et al., 2005). Souza et al. (2008), avaliando em condições de campo a sua movimentação vertical através de lisímetro de drenagem modificado, concluíram que o tebutiuram apresenta baixa mobilidade vertical em solo de textura característica para cultivo de cana de açúcar, no estado de São Paulo e, por conseguinte, pequeno potencial de contaminação de águas subterrâneas neste tipo de solo. Neste mesmo trabalho, observou-se que mais de 70% do produto aplicado ficou retido a menos de 30 cm de profundidade ou foi degradado.

Quanto à persistência, a meia-vida deste herbicida é de 12 a 15 meses, podendo ser mais elevado em áreas de baixa queda pluviométrica ou solos com maior quantidade de matéria orgânica (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011). Lourencetti (2006), em condições laboratoriais, encontrou valores de meia-vida mais altos em solos argilosos (128 dias), em comparação com solos arenosos (68 dias). Estes valores decresceram para 73 e 55 dias, com o acréscimo de vinhaça ao solo. Helbert (1990) relatou que em solos com maior conteúdo orgânico, a meia-vida do tebutiuram pode ser superior a 486 dias. Whitson (1984) relatou que moléculas do herbicida foram encontradas intactas em solo, por mais de dois anos após a aplicação. Johnsen (1989) relatou a presença de tebutiuram em solos semiáridos após nove anos de sua aplicação. Em regiões temperadas, foram encontrados valores de meia-vida, variando de 8 a 260 dias, de acordo com o tipo de solo e sua quantidade de matéria orgânica (PANG, 2005; SARMAH, 2009), demonstrando que propriedades e textura do solo afetam este parâmetro (LOURENCETTI, 200). Em climas tropicais, a meia-vida do tebutiuram parece ser menor, sendo que Cerdeira et al. (2007) encontraram valores de 20 dias em solos arenosos.

### **2.3. Vinhaça**

A vinhaça é um resíduo líquido resultante do processamento do álcool, e devido a sua grande quantidade é o principal subproduto da indústria sucroalcooleira

(LYRA et al., 2003). Sua composição é representada por água, matéria orgânica e elementos minerais (HIDALGO, 2009). Um fator importante em relação a este resíduo é a elevada geração, representando dez a dezoito litros de vinhaça para cada litro de álcool produzido (SILVA et al., 2007).

Até a década de 1970, o principal destino do subproduto gerado da fabricação do etanol eram os mananciais de superfície. Com o aumento da produção desse resíduo, a ascensão do Proálcool e a proibição legal de vinhaça descartada em cursos d'água, houve necessidade de desenvolver possibilidades para o destino do mesmo. Desde a década de 1960, a vinhaça tem sido utilizada como fertilizante líquido nas plantações de cana de açúcar do Brasil, como solução aos problemas causados com seu descarte ao meio ambiente (PENATTI et al., 1988), e em meados da década de 1980, o problema foi resolvido com a difusão maciça da fertirrigação (CORAZZA, 2006).

Deste modo, a utilização da vinhaça na fertirrigação diminui gastos com adubos químicos e traz retornos na qualidade da cana e acréscimos nas safras (MORO et al., 2011). Entretanto, além dos efeitos benéficos ao solo, Centurión et al. (1989) constataram que, quando aplicada em altas taxas, podem ocorrer efeitos prejudiciais, comprometendo a qualidade da cana de açúcar, poluição de lençóis freáticos, e até a salinização do solo. O seu poder poluente, cerca de cem vezes maior que o do esgoto doméstico, decorre da sua riqueza em matéria orgânica, baixo pH, elevada corrosividade e altos índices de demanda bioquímica de oxigênio (DBO), além de elevada temperatura na saída dos destiladores.

Entre os minerais presentes na vinhaça, destaca-se o potássio, além de cálcio, magnésio, enxofre e outros em menores quantidades (SILVA et al., 2007). A vinhaça produzida na destilação do álcool é composta por 93% de água, possui alta quantidade de potássio, matéria orgânica além de outros elementos como cálcio, nitrogênio, magnésio e sulfato, que são essenciais à nutrição de plantas (GLÓRIA 1983). O ferro aparece em maior concentração entre os micronutrientes e em quantidades muito pequenas, foram observados também, manganês, cobre e zinco. Com alta quantidade de matéria orgânica e baixo pH, os índices de DBO (demanda bioquímica de oxigênio), chegam entre 20.000 e 35.000 mgL<sup>-1</sup>, o que torna o resíduo nocivo à fauna dos rios e lagos dos quais possa atingir (SILVA et al., 2007).

A adição deste resíduo no solo no estado de São Paulo é regulada pela CETESB, requer análise do solo e da própria vinhaça, a fim de ajustar a dose de

aplicação. Dentre seus benefícios, a vinhaça melhora a umidade e resistência do solo à erosão, eleva a quantidade de matéria orgânica e oferece nutrientes ao solo, resultando no acréscimo da produtividade agrícola (CAMBUIM, 1983; LOURENCETTI, 2012). Devido ao alto teor de matéria orgânica, capacidade de troca catiônica e doação de prótons, a aplicação de vinhaça aumenta a disponibilidade de carbono orgânico no solo e altera a saturação de cátions na solução de solo, o que pode afetar direta ou indiretamente os mecanismos de sorção (MATOS, 2015). A adição de vinhaça por um período considerável de tempo pode gerar alterações nas propriedades do solo e o comportamento de herbicidas (LOURENCETTI, 2012).

Lourencetti (2012) observou que a adição de vinhaça em solos argilosos diminuiu a persistência, sorção e potencial de lixiviação do herbicida tebutiurum nos solos estudados, aumentando a disponibilidade do herbicida na solução do solo, além de aumentar a atividade microbiana do solo, que acelerou a degradação deste herbicida.

#### **2.4. Biodegradação e respirometria**

A respiração da comunidade microbiana é utilizada como indicador de atividade biológica, constituindo-se numa ferramenta importante para avaliar o potencial de biodegradação de compostos orgânicos. Neste sentido, ensaios de respirometria permitem avaliar este potencial, pois consiste na determinação da quantidade de CO<sub>2</sub>, gerado pela degradação da matéria orgânica, a partir do metabolismo microbiano (SIVIERO, 1999).

O método respirométrico provê dados adequados para testar diferentes opções no tratamento biológico, como o efeito de diferentes fatores sobre a biodegradação. O teste pode ser usado também, para confirmar a degradação de compostos, antes de ser utilizado em um processo de biorremediação em escala real para grandes áreas (BALBA et al., 1998).

Não foram encontrados na literatura registros sobre a eficácia da utilização deste método para avaliação da biodegradação de herbicidas em solo.

## 2.5. Ecotoxicidade

A ecotoxicologia é o ramo da toxicologia que trata do estudo dos efeitos tóxicos causados por poluentes naturais ou sintéticos nos ecossistemas, causando impacto nas comunidades animais, vegetais e microbianas (FORBES; FORBES, 1994).

Apesar da caracterização da poluição e da concentração dos poluentes serem realizadas por métodos físico-químicos, a qualidade global do solo contaminado não pode ser inferida apenas por meio destas análises. No que diz respeito à ecotoxicidade dos poluentes, as metodologias mais adequadas na determinação dos seus riscos sobre a ecologia do solo e o meio ambiente são as técnicas biológicas (TANG et al., 2011).

Segundo Smaka-Kincl et al. (1997), testes ecotoxicológicos são indispensáveis para avaliar as reações dos organismos vivos à poluição ambiental e indicar os possíveis efeitos sinérgicos dos diversos poluentes, enquanto análises físico-químicas geram informações isoladas da presença e concentração de diferentes compostos. Logo, estas análises não são suficientes para avaliar os efeitos biológicos, pois não é possível avaliar todos os compostos e efeitos sinérgicos, que contribuem para a toxicidade do poluente (BANKS; SCHULTZ, 2005; PLAZA et al., 2005). Os seres vivos estão expostos a numerosos agentes potencialmente tóxicos e a ação destes compostos nos organismos pode provocar efeitos deletérios (ARNAIZ, 1995).

A diminuição nas concentrações dos contaminantes por biorremediação ou outros tratamentos nem sempre indica que a toxicidade no ambiente diminuiu (LOEHR; WEBSTER, 1997; TAMADA et al., 2012). A degradação incompleta e, conseqüente, formação de compostos (metabólitos) intermediários tóxicos podem resultar numa maior toxicidade durante o processo de remediação (LOEHR; WEBSTER, 1997; LOIBNER et al., 2003; TAMADA et al., 2012).

Logo, o propósito dos testes ecotoxicológicos é estabelecer o potencial de impacto de um composto químico na biota presente no meio ambiente. Em posse desta informação, é possível controlar o uso de determinadas substâncias e avaliar meios de tratamento deste resíduo, após a contaminação ambiental (HAGNER et al., 2010).

### **2.5.1. Bioensaios de fitotoxicidade**

Ensaios de ecotoxicidade realizados com sementes já foram utilizados por diversos estudos, na avaliação de contaminantes em solo como, por exemplo, explosivos (GUNDERSON et al., 1997), herbicidas (BOUTIN et al., 2004), resíduos industriais (ARAÚJO, 2005), petróleo (BANKS; SCHULTZ, 2005) e derivados (DORN; SALANITRO, 2000; AL-MUTAIRI et al., 2008), incluindo óleos lubrificantes (LOPES et al., 2010; TAMADA et al., 2012).

Análises fitotóxicológicas são consideradas de curto prazo e avaliam os efeitos de toxicidade aguda. Nestes estudos, as sementes são plantadas em uma pequena quantidade do solo contaminado e, após o período de incubação, são contabilizadas aquelas que germinaram e avaliados o desenvolvimento do hipocótilo e da raiz (KAPANEN; ITAVAARA, 2001). Assim, os resultados são expressos em comparação com os percentuais de germinação e desenvolvimentos obtidos no controle negativo (BANKS; SCHULTZ, 2005).

Conseqüentemente, a avaliação da fitotoxicidade de compostos é um dos critérios mais importantes a ser utilizado para evitar danos ambientais, antes de compostos poluentes serem descartados no meio ambiente, sem o devido tratamento (TIQUIA et al., 1996).

Portanto, a utilização de sementes na análise toxicológica de ambientes contaminados, destaca-se como uma técnica simples e de baixo custo. Ademais, revela-se como uma potencial ferramenta no monitoramento ambiental durante um processo de remediação, que permite avaliar a resposta das ações de mitigação adotadas (AL-MUTAIRI et al., 2008).

### **2.6. Comunidade microbiana do solo**

Ecologia microbiana denomina a ciência que estuda as interações dos microorganismos entre si, entre outros organismos e com o ecossistema. Estas interações podem ocasionar alterações químicas benéficas ou prejudiciais ao meio. Por consequência, os ecossistemas microbianos e os microambientes são responsáveis pelo crescimento e propagação da microbiota (ANDREOTE et al., 2009).

Neste sentido, os processos bioquímicos preponderantes em ambiente terrestre são definidos em função da organização das comunidades microbianas. Contudo, as

relações entre estruturas destas comunidades e as atividades bioquímicas que ocorrem nos solos são pouco conhecidas, dificultando a compreensão dos mecanismos que regulam seu funcionamento (LAMBALIS et al., 2005).

Ainda segundo Lambais et al. (2005), a diversidade microbiana pode ter um importante papel na manutenção da qualidade dos solos. Organizando-se de forma previsível, em diferentes condições edáficas ou em resposta a diferentes tipos de distúrbios, as comunidades microbianas poderiam ser utilizadas como indicadores de qualidade dos solos.

De acordo com Tótola e Chaer (2002), diversidade biológica é a variedade de espécies presentes em um ecossistema, assim como a variedade de genótipos dentro da mesma espécie. A diversidade biológica dos solos pode ser explicada pela riqueza de espécies e suas ligações com os processos bioquímicos no ambiente terrestre (KENNEDY; SMITH, 1995).

Nestes ambientes, as diferentes populações microbianas, que estão em diversas associações com outros seres vivos e com o meio externo, são capazes de realizar a biodegradação de compostos por meio de ciclos biogeoquímicos, decorrentes de processos biológicos e químicos de substâncias (MUYZER et al., 1993; KENNEDY; SMITH, 1995; ØVREÅS, 1997). Portanto, durante o processo de biorremediação de áreas contaminadas, a dinâmica populacional dos microorganismos está em constante mudança e apresenta variações, de acordo com as condições ambientais.



## 3. OBJETIVOS

---

### 3.1. Geral

- Avaliar a aplicação do herbicida tebutiuram em consórcio com vinhaça em solo cultivado com cana de açúcar em manejo convencional quanto ao metabolismo microbiano, à fitotoxicidade do meio e à diversidade microbiana.

### 3.2. Específicos

- Analisar a produção de CO<sub>2</sub> em tratamentos com diferentes doses de tebutiuram em consórcio com volumes de vinhaça pelo método respirométrico;
- Monitorar o efeito fitotóxico do solo em análises temporais (antes e após a atenuação natural) para os tratamentos tebutiuram-vinhaça, utilizando bioensaios de fitotoxicidade com organismos-teste não alvo;
- Verificar alterações na comunidade microbiana do solo dos tratamentos através da quantificação de bactérias.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

---

O experimento foi realizado na Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Universidade Estadual Paulista - FCAT/UNESP, *campus* de Dracena.

### 4.1. Solo

O solo de cultivo convencional de cana de açúcar foi coletado em uma propriedade no município de Santa Mercedes-SP, cujas coordenadas geográficas são 21°21'50.2"S e 51°42'33.2"W.

Quanto à sua textura, o solo da região foi classificado como argissolo vermelho amarelo distrófico pela Embrapa (2016). A análise física revelou que a amostra coletada à profundidade de 15 cm consiste em 86,7% de areia, 10% de argila e 3,3% de silte, indicando que o solo é arenoso.

O canavial estava no estágio de terceiro corte, sendo que, no momento, a cana estava com dois meses de crescimento após o último corte. Os tratos culturais não envolviam aplicação de vinhaça, e a última aplicação de Combine® 500SC foi em 2015. A coleta do solo foi realizada de acordo com o descrito na NBR 14283 (ABNT, 1999), a partir de 5 pontos aleatórios, em uma extensão de aproximadamente 100m<sup>2</sup>.

Antes da coleta foram removidos restos de palha de cana e outros detritos, sendo posteriormente, coletadas amostras até 15 cm de profundidade, com auxílio de uma pá. Foram realizadas também três coletas de solo em anel volumétrico de 50cm<sup>2</sup>. Em seguida, o solo foi transportado para a FCAT/UNESP para secagem em bandejas abertas de 12 L, sobre bancadas em temperatura ambiente (25 +/- 2°C) durante 24 h, em ambiente fechado. A secagem completa foi evitada, a fim de não causar prejuízos à microbiota presente. Por fim, as amostras de solo coletadas foram peneiradas em malha de 2,0 mm e acondicionadas em caixa plástica de 20 L com tampa.

Uma parcela da amostra de solo foi enviada para o Departamento de Ciências do Solo da ESALQ, para realização de análise físico-química. Também foram determinados os seguintes parâmetros: umidade residual, capacidade de campo,

densidade global e densidade aparente; sendo estes dois últimos, a partir de coleta em campo com anel volumétrico de 50 cm<sup>2</sup>, também conforme a NBR 14283 (ABNT, 1999).

#### **4.2. Vinhaça**

A vinhaça foi fornecida por uma usina sucroalcooleira da região de Dracena-SP. Foram coletados 4,0 L de vinhaça em frascos de vidro estéril, acondicionado a 4 °C até seu uso nos ensaios. Uma amostra da vinhaça foi enviada ao Departamento de Ciências do Solo da ESALQ, para caracterização físico-química.

#### **4.3. Herbicida tebutiurom**

O herbicida tebutiurom foi adquirido em estabelecimento comercial no município de Dracena-SP, pelo produto comercial Combine<sup>®</sup> 500SC - Dow AgroSciences Industrial Ltda.

#### **4.4. Delineamento experimental**

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, no esquema fatorial 2x4, ligado à dose recomendada de tebutiurom, pelo produto comercial Combine<sup>®</sup> 500SC, e ao volume de vinhaça geralmente utilizado para aplicação na lavoura canavieira na região, de acordo com informações fornecidas pela usina.

A dose utilizada do produto formulado Combine<sup>®</sup> 500SC foi de 2 L ha<sup>-1</sup> (200µldm<sup>-3</sup>), que corresponde a 1 kg ha<sup>-1</sup> do ingrediente ativo tebutiurom. Esta dose está na faixa de valores indicado para aplicação em solos arenosos e areno-argilosos, de acordo com a bula do herbicida.

A dose utilizada da vinhaça foi de 150 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> (150 ml dm<sup>-3</sup>), que é o valor geralmente utilizado pela usina fornecedora, de acordo com a Norma Técnica P4.231/2005 da CETESB (2005), que trata dos critérios e procedimentos da aplicação do resíduo em solo agrícola.

Assim, foram utilizadas doses zero (H0) e 1,0x (H1) para o herbicida tebutirom e quatro volumes de vinhaça: zero (V0), 0,5x (V0,5), 1,0x (V1) e 2,0x (V2). A composição dos tratamentos está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 – Delineamento experimental inteiramente casualizado, no esquema fatorial 2x4

Tratamentos	Herbicida	Vinhaça
T1	H0,0	V0,0
T2	H1,0	V0,0
T3	H0,0	V0,5
T4	H1,0	V0,5
T5	H0,0	V1,0
T6	H1,0	V1,0
T7	H0,0	V2,0
T8	H1,0	V2,0

#### 4.5. Preparo do solo

Para cada tratamento, foram preparados 2.500 cm<sup>3</sup> de solo adicionado de seus respectivos volumes de tebutirom e vinhaça, conforme a Tabela 1. O procedimento foi adaptado a partir da NBR 14.283 (ABNT, 1999). Nota-se que a quantidade de água necessária para que o solo apresentasse de 60 a 70% da sua capacidade de campo foi calculada e, assim, adicionada aos volumes de herbicida e vinhaça.

As amostras de solo dos tratamentos foram preparadas em caixas plásticas retangulares de 3,0 L com tampa não hermética. Primeiramente, preparou-se a mistura de cada tratamento em Erlenmeyers com água deionizada, vinhaça e tebutirom, adicionados nessa ordem, a fim de promover melhor homogeneização. Em seguida, a solução homogeneizada manualmente em movimentos circulares por um minuto foi transferida para a caixa plástica e, sobre a mistura, 2,0dm<sup>-3</sup> de solo (2.800 g) foi depositado, criando uma camada de cerca de 6 cm dentro da caixa. Esse processo promoveu distribuição da solução de vinhaça, água e herbicida por capilaridade. Após 48 h de repouso em temperatura ambiente, o solo foi revolvido

manualmente, a fim de assegurar a total homogeneidade da amostra para cada tratamento. É importante salientar que o volume necessário para completar o total da capacidade de campo do solo foi corrigido com água deionizada. (diagrama)

Por fim, as caixas plásticas foram mantidas fechadas em câmara de germinação tipo BOD a  $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ , durante todo o período do experimento, sendo abertas periodicamente a cada leitura da respirometria (biodegradação) para renovação do ar no interior do recipiente.

#### **4.6. Período de realização**

O período de incubação na avaliação do metabolismo microbiano dos experimentos foi de aproximadamente 51 dias. Durante este tempo, foram realizadas análises temporais, a fim de acompanhar os resultados de cada tratamento para a comunidade microbiana e o potencial ecotoxicológico. Deste modo, foi avaliado o efeito da atenuação natural nos tratamentos para essas análises nos tempos inicial (zero) e final (51 dias).

#### **4.7. Biodegradação**

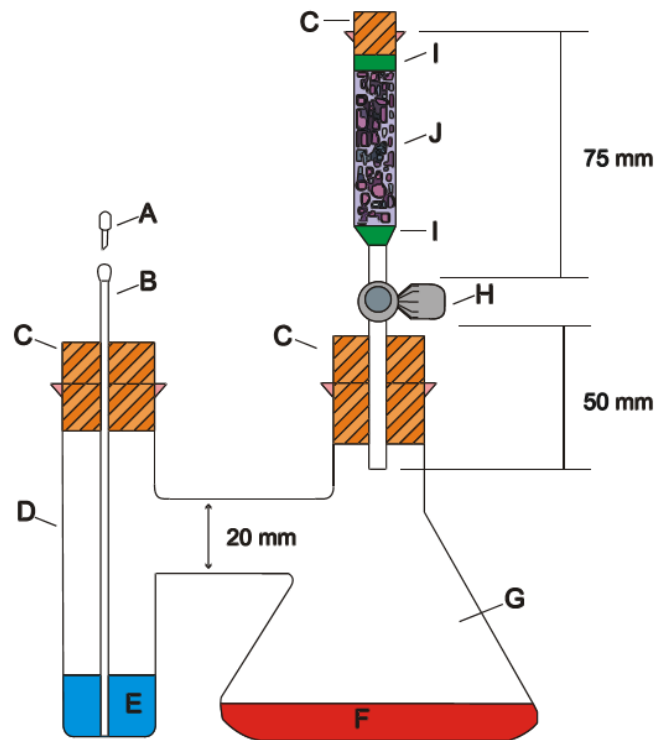
O monitoramento da respiração microbiana e consequente taxa de biodegradação no solo dos diferentes tratamentos foram realizados por método respirométrico de Bartha e Pramer (1965), conforme a NBR 14283 (ABNT, 1999) e norma técnica da CETESB (CETESB, 1990). A partir do mesmo, foi possível inferir o comportamento de degradação, nos diferentes tratamentos pela produção de  $\text{CO}_2$  no seu interior.

A determinação dos parâmetros do solo, conforme a NBR 14283 (ABNT, 1999), mostrou que o solo apresenta as seguintes características: umidade residual de 0,6 g de água em 100 g de solo, capacidade de campo de 18,0 g de água em 100 g de solo, densidade global de  $1,7 \text{ g cm}^{-3}$  e densidade aparente  $1,4 \text{ g cm}^{-3}$ .

O respirômetro de Bartha e Pramer (1965) consiste em um sistema fechado, apresentando duas câmaras conectadas (Figura 1). No frasco Erlenmeyer do sistema, ocorre a biodegradação do composto em análise, e o  $\text{CO}_2$  produzido durante a respiração microbiana é capturado pela solução de hidróxido de potássio (KOH) 0,20 M, localizada no braço lateral. Sua quantificação pode ser determinada

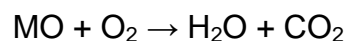
por titulação do KOH residual, com solução padrão de ácido clorídrico (HCl) 0,10 M ou por condutividade (FARIA et al., 2013), após a adição do cloreto de bário ( $\text{BaCl}_2$ ) 1,0 M. Logo, os níveis de dióxido de carbono evoluídos podem ser calculados e representados em função do tempo de incubação (BALBA et al., 1998).

Figura 1 - Esquema do frasco respirométrico (BARTHA; PRAMER, 1965; CETESB, 1990; ABNT, 1999). A: Tampa da cânula; B: Cânula (diâmetro 1-2 mm); C: Rolha de borracha; D: Braço lateral (diâmetro 40 mm; altura 100 mm); E: Solução alcalina de KOH; F: Amostra de solo; G: Frasco Erlenmeyer (250 mL); H: Válvula; I: Suporte (lã de vidro ou algodão); J: Filtro de cal sodada (diâmetro 15 mm; altura 40 mm).

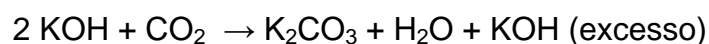


Todo o processo pode ser esquematizado pelas reações por titrimetria, conforme as equações a seguir (BARTHA; PRAMER, 1965; CETESB, 1990; ABNT, 1999):

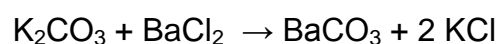
[I] Biodegradação da matéria orgânica (MO):



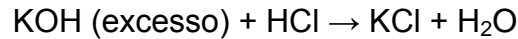
[II] Absorção do  $\text{CO}_2$  gerado:



[III] Reação do  $\text{BaCl}_2$  com o carbonato de potássio:



[IV] Titulação do excesso de KOH com HCl:



[V] Substâncias resultantes:



O acompanhamento da atividade microbiana dentro dos respirômetros foi realizado por meio da técnica estabelecida por Faria et al. (2013). Assim, foi possível mensurar a saturação de  $\text{CO}_2$  na solução 0,20 M de KOH através de medidas de condutividade. Logo, garante-se eficiência e menor risco de interferência dos resultados por variações nos protocolos experimentais.

Igualmente ao procedimento analítico da titulação com HCl, retira-se o KOH do braço lateral (CETESB, 1990; ABNT, 1999). Porém, ao invés de realizar a titulação, um sensor de condutividade, previamente calibrado e seco, é inserido na solução. Com base na Equação 3, da curva padrão proposta ( $R^2 = 0,9997$ ) por Faria et al. (2013), foi possível transformar os valores de condutividade em  $\text{mScm}^{-1}$  para mg de  $\text{CO}_2$ .

$$\text{GCO}_2 = 151,7 - 9,599 \times \text{Cond} \quad [3]$$

em que,

$\text{GCO}_2$  = geração de gás carbônico em mg;

Cond = condutividade em  $\text{mS cm}^{-1}$ .

Eu tinha que fazer a minha reta

A determinação da condutividade e conseqüente quantificação do  $\text{CO}_2$  em cada sistema respirométrico foram realizadas uma vez por semana. Após cada análise, os respirômetros foram mantidos a temperatura de  $28 \pm 2$  °C.

#### 4.8. Quantificação da comunidade bacteriana

Foi realizada a quantificação das bactérias presentes nas amostras de solo, mediante formação de unidades formadoras de colônias (UFC). A contagem de UFC

foi realizada nos tempos inicial (zero) e final (51 dias), diretamente em placa de Petri, de acordo com a microbiologia clássica, ou seja, visualmente.

Foi preparada uma diluição seriada decimal das amostras de solo em solução salina a 0,9% NaCl até a fração de  $10^{-5}$ , sendo que 1,0 mL das diluições  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$  foi inoculado nas placas pelo método *Pour Plate*.

Para o cultivo de bactérias, foi utilizado meio PCA (*Plate Count Agar*), com incubação a  $35 \pm 2$  °C por 48 h. Transcorrido o período, foram contabilizadas as UFC nas placas para o grupo microbiano avaliado.

#### **4.9. Extrato aquoso de solo-solubilizado**

O processo para a obtenção dos extratos aquosos das amostras de solo para os tratamentos, antes e após biodegradação, foi realizado acordo a NBR 10.006 (ABNT, 2004).

Para determinar a porcentagem de umidade do solo de cada tratamento, uma amostra de cada foi seca à temperatura de 40°C, utilizando uma estufa com circulação forçada de ar e exaustão, sendo que as amostras foram pesadas antes e depois da secagem.

O preparo deste extrato aquoso de solo ou solubilizado foi realizado a partir de 250 g de base seca de solo para cada tratamento. Posteriormente, adicionou-se água deionizada até completar 1.000 mL em frascos Erlenmeyer de 1.500 mL. Em seguida, foi realizada agitação constante dos frascos, com agitador orbital marca LUCADERMA, em baixa velocidade por 5 minutos.

Os frascos foram então cobertos com filme de PVC (marca Wyda) e permaneceram em repouso a  $22 \pm 2$  °C durante sete dias. Transcorrido o período e a decantação do material, o líquido resultante denominado como solubilizado, foi utilizado nos bioensaios de fitotoxicidade com sementes de alface.

#### **4.10. Bioensaios de fitotoxicidade**

Foram preparados bioensaios de fitotoxicidade a fim de monitorar o potencial ecotoxicológico de cada tratamento no decorrer do período. Assim, a fitotoxicidade das amostras nos tratamentos foi determinada nos tempos inicial (zero) e final (51 dias), utilizando como organismos-teste sementes de alface (*Lactuca sativa*)



adquiridas em estabelecimento comercial, sob a marca Feltrin, por metodologias propostas por Wang (1987), Dutka (1989), Tiquia et al. (1996) e Morales et al. (2004). A determinação do efeito fitotóxico de cada tratamento foi realizada em quadruplicata a partir do extrato aquoso (solubilizado) das amostras de solo.

Os testes de ecotoxicidade foram preparados em placas de Petri com papel filtro, ambos previamente esterilizados em autoclave, contendo 2,0 mL do solubilizado de cada tratamento e 10 sementes do organismo-teste em análise, ou seja, a alface. Em seguida, as placas foram envolvidas com filme de PVC para evitar perda de umidade e incubadas a  $20 \pm 2$  °C por 120 h ao abrigo da luz.

Ensaio de controle positivo (CP) e controle negativo (CN) foram preparados utilizando sulfato de zinco 0,05 M e água deionizada, respectivamente, para testar a sensibilidade das sementes.

Na análise do desenvolvimento da plântula, o método consiste inicialmente no congelamento das plântulas após 120 h de incubação. Este procedimento, além de interromper seu crescimento de modo uniforme, facilita as medições pela diminuição da rigidez dos tecidos vegetais, evitando possíveis quebras das plântulas durante a realização das medições. Para cada plântula foram tomadas medidas da raiz e do hipocótilo.

Assim, foram determinados: a germinação das sementes, o alongamento da raiz e do hipocótilo ( $\geq 0,1$  mm) e o índice de germinação (GI - *Germination Index*, fator de germinação de sementes e alongamento da raiz, relativos ao ensaio controle negativo - CN). Pela contagem de sementes germinadas, foi calculada a porcentagem de germinação relativa ao CN (%G), dada pela Equação 4 (LABOURIAU; AGUDO, 1987):

$$\%G = \left( \frac{SGa}{SGc} \right) \times 100 \quad [4]$$

em que,

SGa = número total de sementes germinadas na amostra;

SGc = número total de sementes germinadas no CN.

O desenvolvimento relativo da raiz em relação ao CN (%R) foi calculado conforme Equação 5.

$$\%R = \left( \frac{MRa}{MRc} \right) \times 100 \quad [5]$$

em que,

MRa = média do alongamento da raiz nas sementes germinadas na amostra;

MRc = média do alongamento da raiz nas sementes germinadas no CN.

O conjunto de medidas da raiz e do hipocótilo permitiu a observação da influência da exposição à substância testada no crescimento do tecido vegetal, após 120 h, pela medição de seu comprimento.

O índice de germinação (IG), que combina as medidas de germinação de sementes relativa ao CN (%G) e alongamento da raiz relativo ao CN (%R), foi utilizado para avaliar a toxicidade das amostras de solo em alface (Equação 6).

$$IG = \frac{(\%G) \times (\%R)}{100} \quad [6]$$

#### 4.11. Determinação de Resíduos de Contaminante no Solo

Após os 45 dias de atenuação natural do solo, uma amostra de cada um dos tratamentos T2 (H1-V0), T4 (H1-V0,5), T6 (H1-V1) e T8 (H1-V2) foi enviada para a Central Analítica de Resíduos e Contaminantes da Embrapa Meio Ambiente, em Jaguariúna – SP, onde foi realizada a determinação de resíduos de tebutiromnos tratamentos, baseado em extração com metanol seguido de análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), conforme descrito por Queiroz et al., (2004). Foi enviada também uma amostra de solo de cultivo de cana de açúcar sob manejo orgânico (livre de herbicidas sintéticos), proveniente de uma propriedade situada em Lucélia – SP, para ser utilizada como contraprova (testemunha). O valor de referência do Limite de Quantificação (LOQ) foi de  $10 \mu\text{g kg}^{-1}$  solo.

#### **4.12. Forma de análise dos resultados**

Os dados dos experimentos para cada ensaio foram analisados efetuando-se a análise de variância, teste de Tukey a 5,0% de probabilidade para a comparação de médias, utilizando o software Microcal Origin 8.0 (versão).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Análises físico-químicas do solo

Nas Tabelas 2 e 3 estão apresentados os resultados analíticos da composição química e parâmetros físicos, respectivamente, para o solo utilizado.

Tabela 2– Análise da composição química do solo.

Parâmetro	Valor	Unidade
pH	5,4	-
Matéria orgânica	11	g L <sup>-1</sup>
Fósforo	14	mg L <sup>-1</sup>
Potássio	1,4	mmolc L <sup>-1</sup>
Cálcio	15	mmolc L <sup>-1</sup>
Magnésio	10	mmolc L <sup>-1</sup>
Hidrogênio + Alumínio	11	mmolc L <sup>-1</sup>
Soma de bases	26,4	mmolc L <sup>-1</sup>
Capacidade de troca catiônica (CTC)	37,4	
Saturação da CTC por bases (V%)	71	%
Bário	0,29	mg L <sup>-1</sup>
Cobre	1	
Ferro	13	
Manganês	17,5	
Zinco	0,8	

Os valores obtidos na análise foram interpretados de acordo com os parâmetros indicados por Raij et al. (1997).

Os parâmetros relacionados à acidez dos solos e saturação por bases apresentam estreita correlação entre si. A cana de açúcar é uma cultura tolerante à acidez do solo, entretanto é recomendável que a mesma seja corrigida de forma que V% fique acima de 60% (RAIJ et al., 1997). O solo em questão apresentou acidez média e V% alta, indicando que a cultura foi conduzida em condições de boa fertilidade do solo.

Tabela 3 – Análise dos parâmetros físicos do solo.

Parâmetro	Valor	Unidade
Areia fina	695	g kg <sup>-1</sup>
Areia grossa	172	
Areia total	867	
Argila(água) (água)	25	
Argila(c/ disp)(c/ disp)	101	
Silte	32	
Floculação	75	%
Classe de textura	Arenosa	-

O teor de fósforo encontra-se na faixa média próximo ao limite crítico inferior. O teor baixo de potássio pode estar associado à sua alta demanda no cultivo da cana de açúcar (HEINRICHS et al., 2010).

Os teores de cálcio e magnésio estão dentro da faixa de alta disponibilidade. Esses resultados evidenciam que a calagem realizada por ocasião do plantio estava adequada para a cultura (RAIJ et al., 1997).

Os teores dos micronutrientes cobre, ferro e manganês apresentam-se altos, enquanto os teores de boro e zinco estão dentro da faixa média.

Quanto à sua textura, o solo da região foi classificado como argissolo vermelho amarelo distrófico pela Embrapa (2013). A análise física revelou que a amostra coletada à profundidade de 15 cm consiste em 86,7% de areia, 10% de argila e 3,3% de silte, indicando que o solo é arenoso.

Em outros estudos, o herbicida tebutirom apresentou baixa sorção, especialmente em solos arenosos, como é o caso do solo amostrado (PEREIRA-JÚNIOR, 2015; LOURENCETTI et al., 2012; TONIÊTO et al., 2016). Esta informação sugere que o herbicida apresenta alta disponibilidade quando aplicado nos solos da região (CHANG; STRITZKE, 1977), o que eleva seu potencial de lixiviação na mesma (OLIVEIRA et al., 2011; PEREIRA-JÚNIOR, 2015). Tais informações evidenciam a importância de estudos acerca do comportamento do herbicida tebutirom nos solos da região.

## 5.2. Análises físico-químicas da vinhaça

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados analíticos da composição e parâmetros físico-químicos para a amostra de vinhaça.

É possível observar que a vinhaça utilizada possui pH ácido, nutrientes e matéria orgânica em sua composição. Neste sentido, destaca-se a concentração de nitrogênio, fósforo e, principalmente, potássio. Resultados semelhantes quanto à acidez e alta quantidade de potássio, também foram reveladas nos estudos de Brito et al. (2009), Barros et al. (2010) e Freitas et al. (2017).

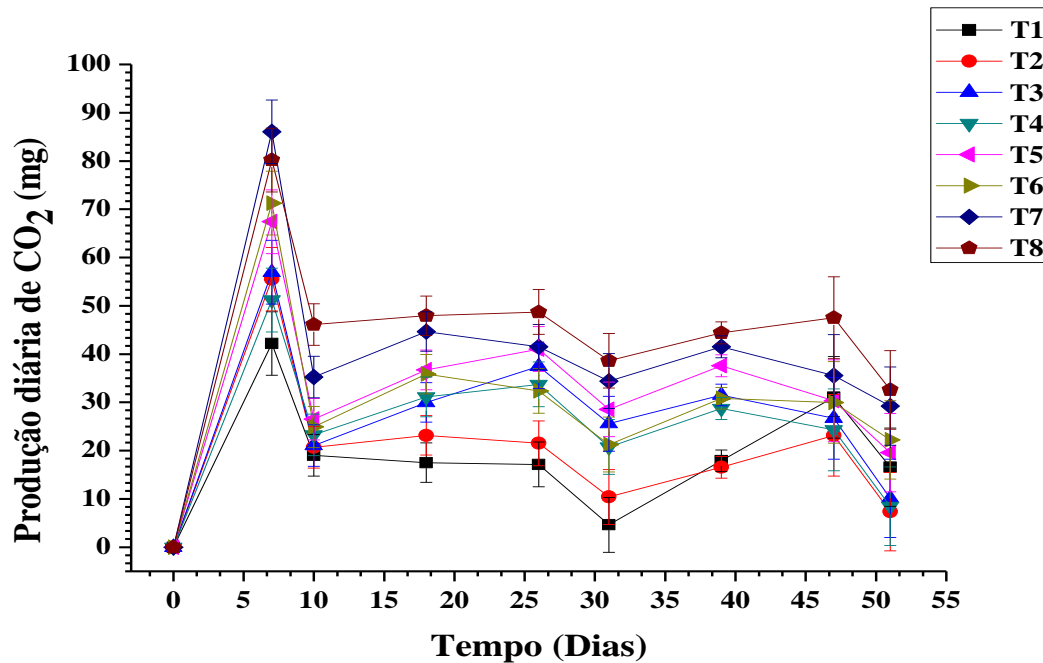
Tabela 4 – Análise dos parâmetros físico-químicos da vinhaça.

Parâmetros	Valor	Unidade	Parâmetros	Valor	Unidade
pH	4,4	-	Densidade	0,97	g mL <sup>-1</sup>
Nitrogênio total	0,56	g L <sup>-1</sup>	Matéria Orgânica	9,51	g L <sup>-1</sup>
Fósforo	0,28		Carbono Total	5,28	
Potássio	1,42		Resíduo Mineral Solúvel	3,76	
Cálcio	0,21		Resíduo Mineral Insolúvel	0,19	
Magnésio	0,15		Resíduo Mineral Total	3,95	
Enxofre	0,30		Resíduo Mineral + Orgânico	13,27	

## 5.3. Atividade microbiana – biodegradação

Os resultados da atividade microbiológica no ensaio respirométrico estão apresentados nas Figuras 2 e 3, referentes às produções de CO<sub>2</sub> diária e acumulada, respectivamente.

Figura 2 - Produção de CO<sub>2</sub> diária durante 51 dias de biodegradação por atenuação natural. Composição dos tratamentos (tebutiurom-vinhaça) - T1 (H0-V0); T2 (H1-V0); T3 (H0-V0,5); T4 (H1-V0,5); T5 (H0-V1); T6 (H1-V1); T7 (H0-V2); e T8 (H1-V2).

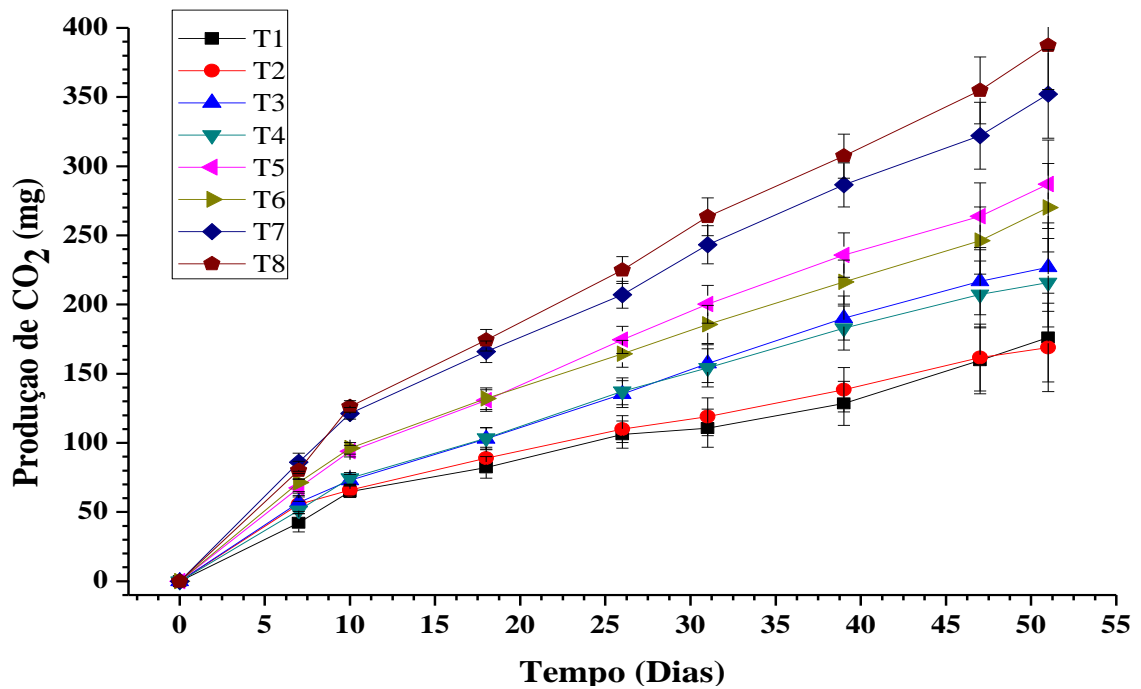


A partir da análise da Figura 2, nota-se que o pico de produção de CO<sub>2</sub> ocorreu logo no início, aos sete dias, em seguida houve uma queda aos dez dias, e então, a produção se manteve estável, observando-se uma pequena queda aos 31 e 51 dias de análise. Assim, o consumo da matéria orgânica foi maior no início do ensaio, principalmente nos tratamentos com maior concentração de vinhaça (T7 e T8).

Em relação aos volumes de vinhaça utilizados, os tratamentos com maior concentração de vinhaça (2,0x – T7 e T8) tiveram maior produção de CO<sub>2</sub>. Por outro lado, T1 e T2 (ausentes de vinhaça) apresentaram as menores produções de CO<sub>2</sub>.

Na Figura 3 é possível evidenciar a diferença de produção acumulada de CO<sub>2</sub>, baseada no volume de vinhaça, utilizado em cada tratamento. T1 e T2, que não possuíam adição de vinhaça, apresentaram a menor taxa respiratória. T3 e T4 (0,5x) ficaram na faixa intermediária, com valores próximos aos de T5 e T6, esses últimos com a concentração de vinhaça comumente utilizada na lavoura (1,0x). O aumento da produção de CO<sub>2</sub>, de acordo com a quantidade de vinhaça, sugere aumento da atividade de degradação microbiana na presença deste composto.

Figura 3 – Produção de CO<sub>2</sub> acumulada durante 51 dias de biodegradação por atenuação natural. Composição dos tratamentos (tebutiurom-vinhaça) - T1 (H0-V0); T2 (H1-V0); T3 (H0-V0,5); T4 (H1-V0,5); T5 (H0-V1); T6 (H1-V1); T7 (H0-V2); e T8 (H1-V2).



Na Tabela 5, está demonstrada a análise de variância de taxa acumulada de CO<sub>2</sub> gerada nos tratamentos após 51 dias de biodegradação.

A adição de vinhaça ao solo, em qualquer uma das doses utilizadas, aumentou significativamente a produção de CO<sub>2</sub>, em relação ao solo sem adição do composto, indicando que a vinhaça beneficiou a microbiota do solo, aumentando sua taxa metabólica, independentemente da dosagem. A emissão de CO<sub>2</sub> nos tratamentos que receberam 0,5 ou 1,0 doses de vinhaça (T3 e T5, respectivamente), não diferiu significativamente entre si, bem como nos tratamentos que receberam 1,0 ou 2,0 doses do resíduo (T5 e T7, respectivamente). Entretanto, houve diferença significativa entre os tratamentos que receberam 0,5 ou 2,0 doses de vinhaça, indicando que o desprendimento de CO<sub>2</sub> aumenta concomitantemente ao aumento da dose do composto adicionado ao solo.



Tabela 5 – Análise de variância na produção acumulada de CO<sub>2</sub> para os tratamentos após 51 dias de atenuação natural - teste de Tukey a 5,0% de significância. Composição dos tratamentos (tebutiuró-vinhaça) - T1 (H0-V0); T2 (H1-V0); T3 (H0-V0,5); T4 (H1-V0,5); T5 (H0-V1); T6 (H1-V1); T7 (H0-V2); e T8 (H1-V2).

Tratamentos	Produção de CO <sub>2</sub> acumulada em mg (51 dias)	
T1	166,00 ± 31,99	a
T2	179,79 ± 25,73	ab
T3	235,53 ± 19,05	bcd
T4	215,94 ± 9,64	abc
T5	295,31 ± 11,74	de
T6	267,01 ± 5,72	cd
T7	347,16 ± 9,29	ef
T8	377,37 ± 32,39	f

Ao comparar os tratamentos que receberam o herbicida tebutiuró, observa-se que em T4 (V0,5 – H1) a presença de 0,5 doses de vinhaça não causou impacto significativo na emissão de CO<sub>2</sub> em relação à T2 (V0 – H1), entretanto, doses maiores do composto na presença do herbicida causaram aumento significativo no metabolismo da microbiota em relação a T2. Observa-se ainda que a emissão de CO<sub>2</sub> em T4 e T6 (0,5 e 1,0 doses de vinhaça, respectivamente) não diferiu significativamente. Entretanto, a adição do dobro da dose ao solo com herbicida em T8 aumentou a produção de CO<sub>2</sub> significativamente, em relação aos demais tratamentos adicionados de herbicida.

Ao comparar os tratamentos que receberam herbicida com os ausentes deste composto, verifica-se que a presença do tebutiuró alterou significativamente a relação da produção de CO<sub>2</sub> entre tratamentos com diferentes doses de vinhaça. A adição de tebutiuró em T2 (V0 – H1) proporcionou um ligeiro aumento na produção de CO<sub>2</sub> em relação a T1 (V0 – H0), de forma que o metabolismo da microbiota na ausência de vinhaça não diferiu significativamente de T3 (V0,5 – H1). Já em T4 (V0,5 – H1), a adição do herbicida proporcionou uma ligeira queda em relação a T3 (V0,5 – H1), de forma que os resultados de T4 não diferiram significativamente do solo controle T1.

Em T8, o acréscimo de herbicida em solo com duas vezes o volume da vinhaça promoveu um aumento no metabolismo, de forma que o mesmo só não diferiu de T7, com o mesmo volume de vinhaça.

Camargo et al. (2009), ao comparar a biodegradação em solo na presença e na ausência de vinhaça, observou que a curva de biodegradação do ensaio com solo+vinhaça manteve-se ascendente durante os 34 dias de seu experimento, ocorrendo aumento no desprendimento de CO<sub>2</sub> a partir do décimo primeiro dia. Ao final do experimento, a produção acumulada de CO<sub>2</sub> foi de 1920,6μmol para o solo tratado com vinhaça e 267,25μmol para o solo sem vinhaça. Portanto, houve comportamento semelhante entre as curvas de biodegradação do presente experimento e do supracitado.

Neves (2017), ao realizar experimento semelhante ao do presente trabalho, utilizando doses semelhantes de vinhaça e tebutirom em solo de manejo orgânico de cultivo de cana de açúcar, encontrou resultados semelhantes, onde a dose de tebutirom, não influenciou significativamente a taxa de biodegradação do solo, ao contrário da adição de vinhaça, que provocou aumento na produção de CO<sub>2</sub>.

Tais resultados sugerem que a vinhaça influencia positivamente a taxa de biodegradação do solo quando adicionada ao mesmo. Além disso, a adição de herbicida alterou significativamente a relação da produção de CO<sub>2</sub>, entre tratamentos com diferentes doses de vinhaça. A adição de tebutirom em T2 (V0,0 – H1) proporcionou um ligeiro aumento na produção de CO<sub>2</sub> em relação a T1 (V0,0 – H0), de forma que o metabolismo da microbiota na ausência de vinhaça não diferiu significativamente de T3 (0,5V – 1,0H). Já em T4 (V0,5 – H1), a adição do herbicida proporcionou uma ligeira queda em relação a T3 (V0,5 – H1), de forma que os resultados de T4 não diferiram significativamente do solo controle T1.

#### **5.4. Quantificação da comunidade bacteriana**

Na Figura 4 estão apresentadas as quantidades de bactérias a partir do número de unidades formadoras de colônias (UFC) no tempo inicial (t<sub>0</sub>) e após 51 dias de atenuação natural (t<sub>51</sub>).

Pela Figura 4 é possível notar no tempo inicial que, em relação ao solo controle (T1), ocorreu um impacto positivo na comunidade bacteriana de modo geral, nos tratamentos adicionados de vinhaça (T3, T4, T5, T6, T7 e T8), sendo que os

tratamentos que receberam a maior dose de vinhaça (V2 - T7 e T8) apresentaram maior incremento na população bacteriana.

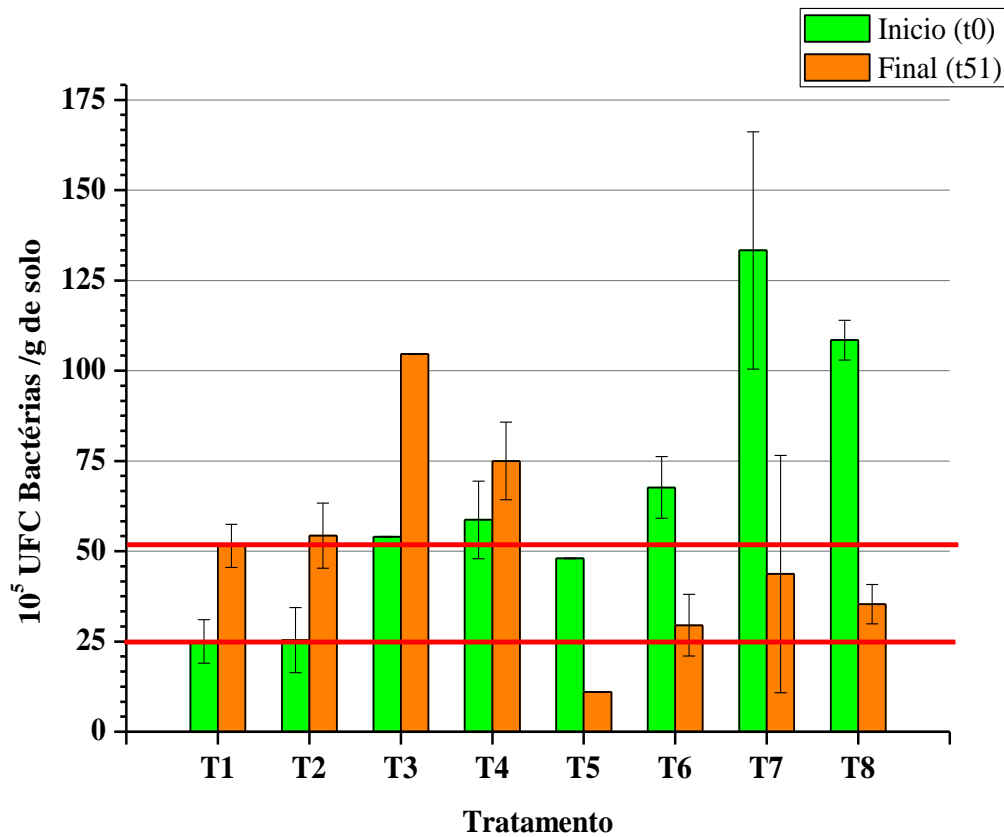
Em contrapartida, não houve impacto evidente na população bacteriana entre os tratamentos com relação à dose do herbicida tebutiurum, o que sugere que a adição deste herbicida não afetou significativamente a microbiota do solo no tempo inicial (t0).

Após o período de biodegradação (t51), observa-se um aumento de colônias para os tratamentos T1, T2, T3 e T4. Ainda, os tratamentos T3 e T4, que receberam meio volume de vinhaça (V0,5), apresentaram incremento ligeiramente maior na concentração bacteriana em relação aos tratamentos que não receberam vinhaça (V0 - T1 e T2). Os demais tratamentos (T5, T6, T7 e T8) apresentaram redução pronunciada no número de UFC bacterianas. No entanto, quando comparados ao tratamento ausente de tebutiurum e vinhaça (T1), apenas o tratamento T5 apresentou menos colônias bacterianas no tempo final (t51).

Vale destacar que o solo controle T1 (H0-V0) também apresentou pequeno aumento no número de UFC, após os 51 dias de atenuação natural, mesmo sem adição de tebutiurum e/ou vinhaça.

A Tabela 6 mostra análise de variância pelo teste de Tukey a 5,0% de significância. A análise confirmou que houve impacto significativo na comunidade bacteriana dos tratamentos que receberam duas vezes a vinhaça (V2 - T7 e T8), em relação aos demais tratamentos no tempo inicial (t0). Entretanto, no tempo final (t51) só houve diferença significativa entre os tratamentos T3 e T5.

Figura 4 – Quantificação da comunidade bacteriana por número de UFC para os tratamentos no tempo inicial (t0) e após 51 dias de atenuação natural (tempo final – t51). Composição dos tratamentos (tebutiuró-vinhaça) - T1 (H0-V0); T2 (H1-V0); T3 (H0-V0,5); T4 (H1-V0,5); T5 (H0-V1); T6 (H1-V1); T7 (H0-V2); e T8 (H1-V2).



Além disso, somente T7 e T8 tiveram resultados estatisticamente diferentes entre t0 e t51, demonstrando que houve impacto negativo na comunidade bacteriana dos referidos tratamentos. Entretanto, embora a quantidade de UFC bacterianas tenha caído significativamente durante os 51 dias de atenuação natural, para estes tratamentos, esse número foi superior em comparação ao tratamento sem adição de vinhaça ou tebutiuró (T1) no tempo inicial (t0). Tal resultado sugere que o incremento inicial nos tratamentos que receberam vinhaça deu-se em função da quantidade de matéria orgânica adicionada ao solo através deste resíduo. Após o tempo de atenuação, o excesso de matéria orgânica foi consumido pelos microrganismos, o que fez com que o número de UFC reduzisse novamente.

Tabela 6 - Análise de variância da quantificação da comunidade bacteriana por número de UFC por grama de solo para os tratamentos no tempo inicial (t0) e após 51 dias de atenuação natural (tempo final – t51). Composição dos tratamentos (tebutiuró-m-vinhaça) - T1 (H0-V0); T2 (H1-V0); T3 (H0-V0,5); T4 (H1-V0,5); T5 (H0-V1); T6 (H1-V1); T7 (H0-V2); e T8 (H1-V2).

Tratamentos	10 <sup>5</sup> UFC bactérias / g solo			
	Tempo inicial (t0)		Tempo final (t51)	
<b>T1</b>	25,00 ± 6,00	Aa	51,50 ± 34,65	Aab
<b>T2</b>	25,33 ± 9,02	Aa	54,33 ± 7,09	Aab
<b>T3</b>	54,00 ± 0,00	Aab	104,67 ± 64,45	Ab
<b>T4</b>	58,67 ± 10,79	Aab	75,00 ± 19,80	Aab
<b>T5</b>	48,00 ± 0,00	Aab	11,00 ± 5,29	Aa
<b>T6</b>	67,67 ± 8,50	Ab	29,50 ± 0,71	Aab
<b>T7</b>	133,33 ± 32,88	Ac	43,67 ± 12,42	Bab
<b>T8</b>	108,50 ± 5,50	Ac	35,33 ± 24,58	Bab

*\*letras minúsculas representam diferença significativa das médias entre os tratamentos na coluna, \*\*letras maiúsculas representam diferença significativa das médias entre os tratamentos na linha. (teste de Tukey a 5,0% de significância)*

### 5.5. Bioensaios de fitotoxicidade

Os resultados dos bioensaios de fitotoxicidade do extrato aquoso das amostras no tempo inicial (t0) estão representados abaixo de acordo com a germinação de sementes e o desenvolvimento da alface (*Lactuca sativa*).

Nas Figuras 5 e 6, estão demonstrados o desenvolvimento das plântulas em relação ao hipocótilo e a raiz, respectivamente. A taxa de sementes germinadas é apresentada na Figura 7 e o índice de germinação de cada tratamento pode ser observado pela Figura 8.

Figura 5 – Alongamento do hipocótilo de plântulas de *Lactuca sativa* nos bioensaios de fitotoxicidade para os tratamentos no tempo inicial (t0) e após 51 dias de atenuação natural (t51). Composição dos tratamentos (tebutiuró-vinhaça) - T1 (H0-V0); T2 (H1-V0); T3 (H0-V0,5); T4 (H1-V0,5); T5 (H0-V1); T6 (H1-V1); T7 (H0-V2); e T8 (H1-V2).

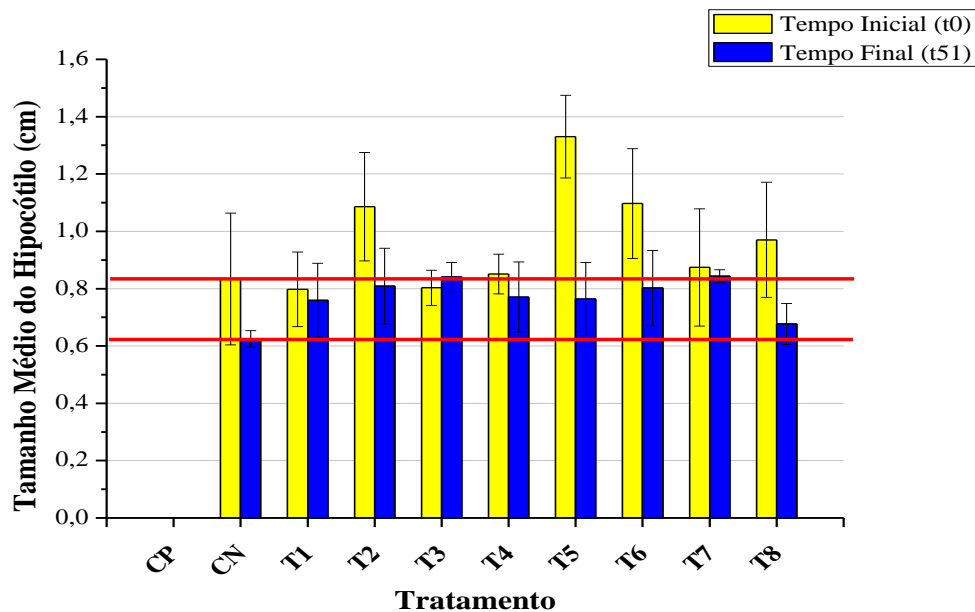


Figura 6 – Alongamento da raiz de plântulas de *Lactuca sativa* nos bioensaios de fitotoxicidade para os tratamentos no tempo inicial (t0) e após 51 dias de atenuação natural (t51). Composição dos tratamentos (tebutiuró-vinhaça) - T1 (H0-V0); T2 (H1-V0); T3 (H0-V0,5); T4 (H1-V0,5); T5 (H0-V1); T6 (H1-V1); T7 (H0-V2); e T8 (H1-V2).

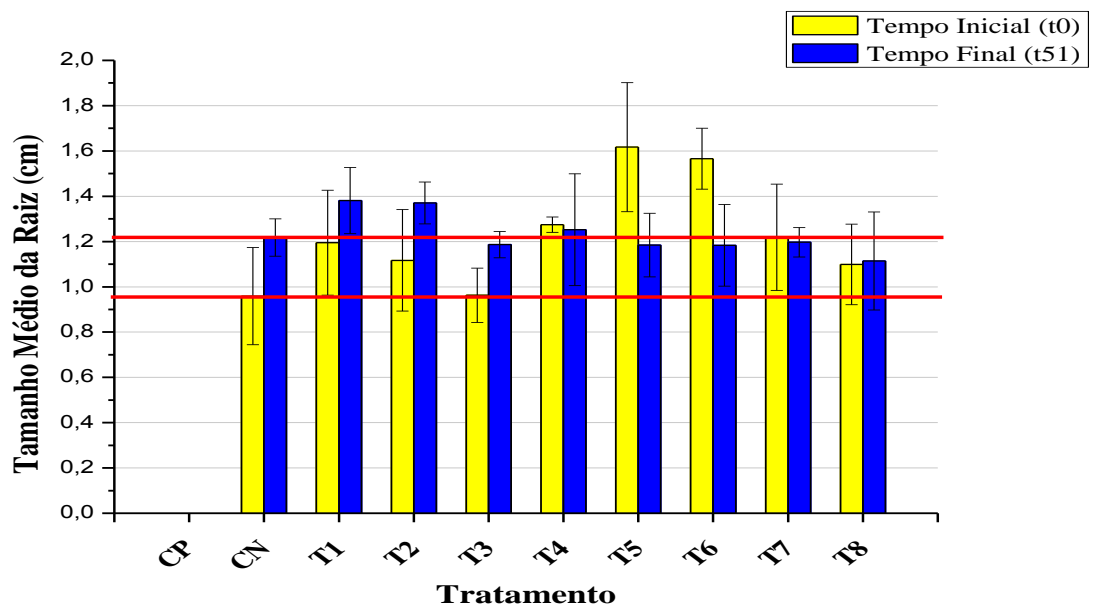


Figura 7 – Germinação das sementes de *Lactuca sativa* nos bioensaios de fitotoxicidade para os tratamentos no tempo inicial (t0) e após 51 dias de atenuação natural (t51). Composição dos tratamentos (tebutiuró-vinhaça) - T1 (H0-V0); T2 (H1-V0); T3 (H0-V0,5); T4 (H1-V0,5); T5 (H0-V1); T6 (H1-V1); T7 (H0-V2); e T8 (H1-V2).

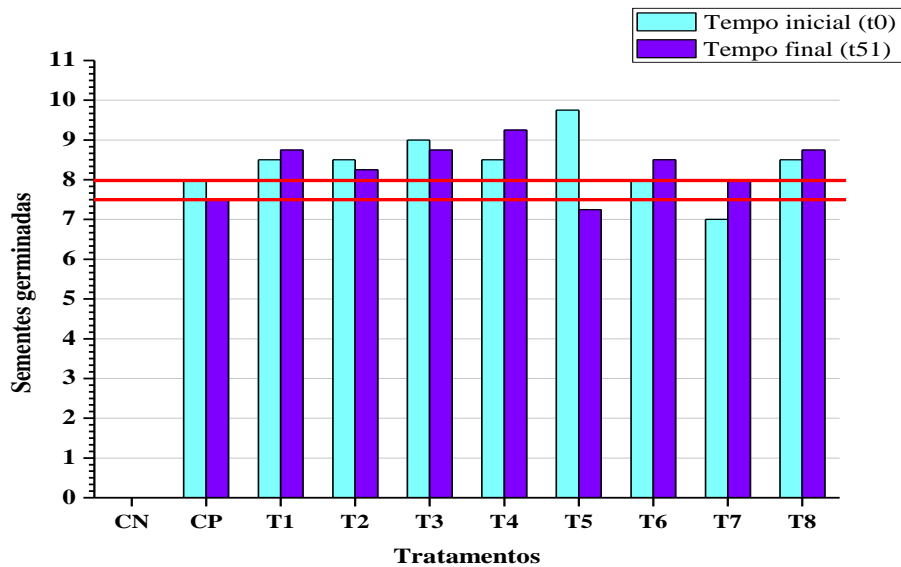
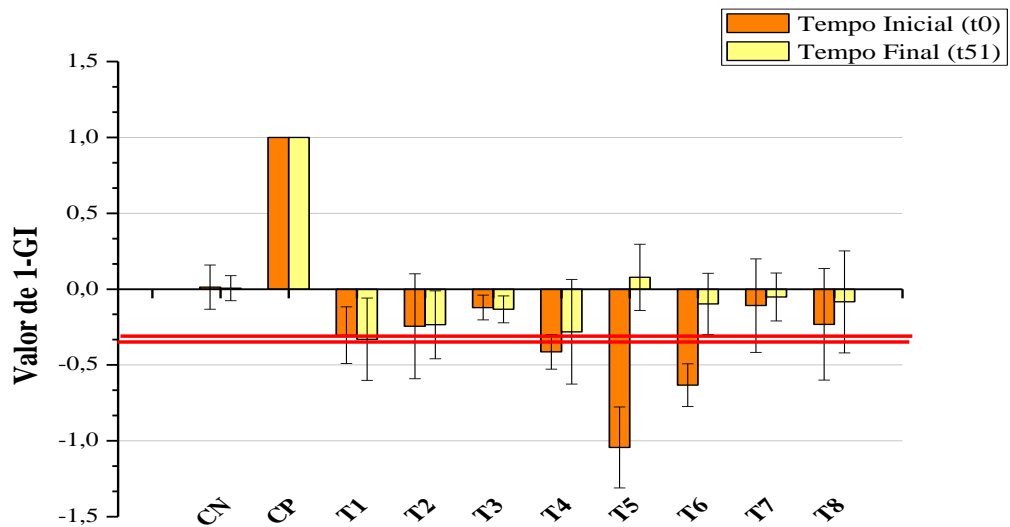


Figura 8 – Valores de 1-GI (Índice de germinação) para *Lactuca sativa* nos bioensaios de fitotoxicidade para os tratamentos no tempo inicial (t0) e após 51 dias de atenuação natural (t51). Composição dos tratamentos (tebutiuró-vinhaça) - T1 (H0-V0); T2 (H1-V0); T3 (H0-V0,5); T4 (H1-V0,5); T5 (H0-V1); T6 (H1-V1); T7 (H0-V2); e T8 (H1-V2).



Os controles negativo (CN) e positivo (CP) revelaram a viabilidade das sementes de alface utilizadas, pois foram sensíveis à germinação com água e a não germinação com o agente inibidor.

Observa-se que para o controle negativo (CN) e para os tratamentos T1, T2 e T3, ocorreu aumento no alongamento da raiz na comparação de tempo inicial e final (Figura 6). Para os tratamentos T4, T5 e T6, houve uma diminuição da raiz, e nos tratamentos T7 e T8 não houve diferença pronunciada no tamanho da raiz.

Quanto ao hipocótilo (Figura 5), houve uma redução em seu tamanho para todos os tratamentos.

Na Figura 8, nota-se que os resultados estão expressos em "1-GI", ou seja, valores acima de zero indicam prejuízos à germinação e ao desenvolvimento do organismo-teste, enquanto valores negativos representam benefícios a *Lactuca sativa* nos bioensaios, visto que CN é o ensaio referência com valor zero.

Na Tabela 7 está representada a análise estatística dos dados a partir análise de variância das médias dos valores de 1-GI dos tratamentos, além dos controles negativo (CN) e positivo (CP), pelo teste de Tukey a 5,0% de probabilidade.

De acordo com a Tabela 7, ao comparar os oito tratamentos, somente T5 apresentou diferença significativa entre o tempo inicial e final, sugerindo que uma dose de vinhaça na ausência do herbicida tebutiurom (H0-V1) inicialmente favoreceu o desenvolvimento do organismo teste, mas ao final de 51 dias de atenuação natural, causou prejuízo no desenvolvimento em relação ao controle negativo. Nos tratamentos T4, T6, T7 e T8, houve uma queda no desenvolvimento das plantas entre o tempo inicial e final, embora não significativa (Figura 7, Tabela 6). Os resultados sugerem um aumento da toxicidade do solo após o período de atenuação natural nos tratamentos supracitados.

Ao comparar os tratamentos sem vinhaça (T1 e T2), observou-se que T2 (com herbicida) não diferiu significativamente de T1 (sem herbicida), sugerindo que a dose utilizada de herbicida não prejudica o desenvolvimento do organismo-teste.

Os tratamentos com metade do volume de vinhaça (T3 e T4) não apresentaram diferença significativa entre si, assim como os tratamentos com uma dose de vinhaça (T5 e T6) e com duas doses de vinhaça (T7 e T8), sugerindo mais uma vez que a adição do herbicida tebutiurom não altera significativamente a toxicidade do meio.



Tabela 7 - Análise de variância dos valores de 1-GI para *Lactuca sativa* nos bioensaios de ecotoxicidade para os tratamentos no tempo inicial (t0) e após 51 dias de atenuação natural (t51). Composição dos tratamentos (tebutirom-vinhaça) - T1 (H0-V0); T2 (H1-V0); T3 (H0-V0,5); T4 (H1-V0,5); T5 (H0-V1); T6 (H1-V1); T7 (H0-V2); e T8 (H1-V2).

Tratamentos	1-GI			
	Tempo inicial (t0)		Tempo final (t51)	
<b>CN</b>	0,01 ± 0,17	Ac	0,01 ± 0,08	Aa
<b>CP</b>	1,00 ± 0,00	Ad	1,00 ± 0,00	Ab
<b>T1</b>	-0,30 ± 0,20	Abc	-0,33 ± 0,27	Aa
<b>T2</b>	-0,25 ± 0,36	Abc	-0,24 ± 0,22	Aa
<b>T3</b>	-0,12 ± 0,25	Abc	-0,13 ± 0,25	Aa
<b>T4</b>	-0,41 ± 0,12	Abc	-0,28 ± 0,34	Aa
<b>T5</b>	-1,04 ± 0,28	Aa	0,08 ± 0,22	Ba
<b>T6</b>	-0,63 ± 0,15	Aab	-0,10 ± 0,20	Aa
<b>T7</b>	-0,11 ± 0,46	Abc	-0,05 ± 0,16	Aa
<b>T8</b>	-0,23 ± 0,15	Abc	-0,08 ± 0,34	Aa

*\*letras minúsculas representam diferença significativa das médias entre os tratamentos na coluna, \*\*letras maiúsculas representam diferença significativa das médias entre os tratamentos na linha. (teste de Tukey a 5% de significância.*

Ao comparar os tratamentos que não receberam tebutirom (T1, T3, T5 e T7), observa-se que T5 (H0-V1) diferiu significativamente dos demais, sugerindo que a adição de 1,0x vinhaça ao solo favoreceu o desenvolvimento das sementes de alface em relação aos solos que receberam 0,5x ou 2x a dose deste produto no tempo inicial. T5 só não diferiu significativamente de T6, que recebeu 1x dose de vinhaça e 1x dose de tebutirom, o que reforça essa hipótese.

Em relação ao tempo final (t51), não houve diferença significativa nos valores de 1-GI na comparação entre os oito tratamentos.

Segundo Lourencetti (2006), o termo degradação descreve diferentes tipos de transformação, uma delas pode ocasionar a formação de produtos mais tóxicos que o composto inicial. Assim, possivelmente compostos intermediários mais tóxicos foram formados durante a biodegradação neste solo para os tratamentos T4, T5, T6, T7 e T8. Não se pode afirmar que tais compostos provêm da biodegradação do tebutirom, uma vez que sua presença na dose utilizada não alterou

significativamente os resultados dos tratamentos dentre suas respectivas doses de vinhaça.

Ao contrário do resultado obtido nesta análise, alguns estudos encontraram efeitos negativos com outras espécies frente ao herbicida tebutiurum na fitotoxicidade. Neves (2017) observou aumento da toxicidade em solo de manejo orgânico de cultivo de Cana de açúcar na presença doses mais elevadas de tebutiurum. Pires et. al. (2008) relataram que, utilizando a dose de  $1,0 \text{ kg ha}^{-1}$  de tebutiurum, houve aumento expressivo de fitotoxicidade sobre crotalária (*Crotalaria juncea*). Os autores também constataram inibição do crescimento de feijão e redução no rendimento de grãos de soja e amendoim quando semeados em um período de até dois anos após a aplicação de tebutiurum na cana-de-açúcar. Esse estudo revela-se extremamente relevante, pois a presença desse herbicida no solo pode comprometer sucessivas culturas após o plantio de cana-de-açúcar.

### 5.6. Determinação de resíduos de contaminante no solo

O resultado da análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para determinação de resíduos de tebutiurum nos tratamentos que apresentavam o herbicida (T2-T4-T6-T8), está apresentada na Tabela 8.

Tabela 8 - A análise por CLAE para determinação de resíduos de tebutiurum nos tratamentos. Composição dos tratamentos (tebutiurum-vinhaça) - T2 (H1-V0); T4 (H1-V0,5); T6 (H1-V1); e T8 (H1-V2).

Tratamentos	Tebutiurum ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )
T2	<LOQ
T4	<LOQ
T6	<LOQ
T8	15

Após 51 dias de atenuação natural, a análise cromatográfica não acusou a presença do herbicida acima do limite de quantificação nos tratamentos T2, T4 e T6. Em T8 foi encontrado o valor de  $15 \mu\text{g kg}^{-1}$  de tebutiurum, cerca de 10,7% da quantidade inicial adicionada a cada um dos tratamentos.

Embora a meia-vida deste herbicida seja de 12 a 15 meses (RODRIGUES;

ALMEIDA, 2011), já foram relatadas alterações de sua persistência de acordo com as condições ambientais. Assim, a baixa presença do tebutiurrom nas amostras de solo está de acordo com trabalhos na literatura. Utilizando também solo arenoso, Cerdeira et al. (2007) encontraram baixa concentração da molécula em 20 dias. Lourencetti (2006) demonstrou que, na presença de vinhaça, o herbicida tornou-se menos persistente no ambiente e, além disso, que em solos arenosos a meia vida do tebutiurrom é menor do que em solos argilosos.

Neste experimento, foi desconsiderada a lixiviação do herbicida, uma vez que o solo permaneceu em caixas plásticas e não houve simulação de chuvas. Os resultados sugerem que o herbicida foi degradado, no entanto não foi feita a análise da presença de compostos intermediários.

## 6. CONCLUSÕES

---

- A presença do herbicida Combine<sup>®</sup> 500SC na dose de 2,0 L ha<sup>-1</sup> não causou grande interferência na atividade microbiana do solo representada pela produção de CO<sub>2</sub>;
- A taxa metabólica dos micro-organismos aumentou na presença da vinhaça, principalmente quando utilizada em concentrações maiores;
- A adição de vinhaça ao solo inicialmente aumentou o número de bactérias, principalmente quando utilizada em concentrações maiores. Entretanto, após o período de atenuação natural de 51 dias, houve uma queda na quantidade de colônias observada nos tratamentos com maior quantidade de vinhaça;
- A adição de vinhaça nas doses de 150 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> e 300 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> inicialmente favoreceu o desenvolvimento de sementes de alface; entretanto, após o período de atenuação natural, o benefício no desenvolvimento das plântulas foi menor;
- A dose de herbicida utilizada no estudo não impactou negativamente a comunidade microbiana e o desenvolvimento das sementes de alface;
- A análise cromatográfica sugere que o herbicida degradou, sendo encontrado acima do limite de quantificação apenas em T8.

## 7. REFERÊNCIAS

---

ABIQUIM – Associação Brasileira Da Indústria Química, 2017. **O desempenho da indústria química em 2017.**

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 10006:** Procedimento para obtenção de extrato solubilizado de resíduos sólidos. Rio de Janeiro, p.7, 2004.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 14283:** Resíduos em solos - Determinação da biodegradação pelo método respirométrico. Rio de Janeiro, 1999. p.8.

AISLABIE, J.; LOYD-JONES, G.A review of bacterial degradation of pesticides. **Australian Journal of Soil Research**, v. 33, p. 925–942, 1995.

AL-MUTAIRI, N.; BUFARSAN, A.; AL-RUKAIBI, F. Ecorisk evaluation and treatability potential of soils contaminated with petroleum hydrocarbon-based fuels. **Chemosphere**, v. 74, p. 142-148, 2008.

ANDREOTE, F. D.; AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L. Assessing the diversity of bacterial communities associated with plants. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, p. 417-432, 2009.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA). **Relatório de Atividades de 2011 e 2012.** Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2013.

ARAÚJO, A. S. F.; SANTOS, V. B.; MONTEIRO, R. T. R. Effect of tannery sludge on cellulose decomposition in soil. **Ecossistema**, v.32, p.33-37, 2005.

ARIAS-ESTEVEZ, M., ASTRAY, G., CID, A., FERNÁNDEZ-GÁNDARA, D., GARCÍA-RÍO, L., MEJUTO, J.C. Influence of colloid suspensions of humic acids upon the alkaline fading of carbocations. **Journal of Physical Organic Chemistry**, 21 (7-8), pp. 555-560, 2008.

ARNAIZ, R. R. **Las Toxinas Ambientales y sus Effects Genéticos**, México, 2ª ed., 1995.

BAILEY, G. W.; WHITE, J.L. Soil-pesticide relationships, adsorption and desorption of organic pesticides by soil colloids, with Sugarcane straw accumulation on the sorption of herbicides: implications concerning pesticide bioactivity. **J. Agric. Food Chem.** 1964, 12, 324–332.

BALBA, M.T.; AL-AWADHI, N.; AL-DAHER, R. Bioremediation of oil-contaminated soil: microbiological methods for feasibility assessment and field evaluation. **Journal of Microbiological Methods**, v. 32, n. 2, p. 155-164, 1998.

BANKS, M.K.; SCHULTZ, K.E. Comparison of plants for germination toxicity tests in petroleum-contaminated soils. **Water Air and Soil Pollution**, v. 167, n. 1-4, p. 211-219, 2005.

BARIZON, R. R. M. et al. Sorção e dessorção do imazaquin em solos com diferentes características granulométricas, químicas e mineralógicas. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 29, n. 5, p. 695-703, 2005.

BARROS, R. P.; VIÉGAS, P. R. A.; SILVA, T. L.; SOUZA, R. M.; BARBOSA, L.; VIÉGAS, R. A.; BARRETO, M. C. V.; MELO, A. S. Alterações em atributos químicos de solo cultivado com cana-de-açúcar e adição de vinhaça. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 40, n. 3, p. 341-346, 2010.

BARTHA, R.; PRAMER, D. Features of a flask and method for measuring the persistence and biological effects of pesticides in soil. **Soil Science**.v.100, n.1, p.68-70, 1965.

BENOIT, P., MADRIGAL, I., PRESTON, C. M., CHENU, C., & BARRIUSO, E. Sorption and desorption of non-ionic herbicides onto particulate organic matter from surface soils under different land uses. **European journal of soil science**, 59(2), 178-189, 2008

BOESTEN, J. J. T. I. From laboratory to field: uses and limitations of pesticide behavior models for the soil/plant system. **Weed Research**. 40:123-138, 2000.

BOHN, H.L.; MCNEAL, B.L.; O'CONNOR, G.A. Anion and molecular retention. In:**Soil Chemistry**; John Wiley & Sons: New York, 237–241, 2001.

BOIVIN, A., CHERRIER, R., & SCHIAVON, M. A comparison of five pesticides adsorption and desorption processes in thirteen contrasting field soils. **Chemosphere**, 61(5), 668-676, 2005.

BOUTIN, C.; ELMGAARD, N.; KJEER, C. Toxicity testing of fifteen non-crop plant species with six herbicides in a greenhouse experiment: Implications for risk assessment. **Ecotoxicology**, v. 13, p. 349-369, 2004.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente (MMA). **Agrotóxicos**. 2015. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/seguranca-quimica/agrotoxicos>>. Acesso em: 25 mar. 2015.

BRITO, F. L.; ROLIM, M. M.; PEDROSA, E. M. R. Efeito da aplicação de vinhaça nas características químicas de solos da zona da mata de Pernambuco. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 4, n. 4, p. 456-462, 2009.

CAMARGO, J. A.; PEREIRA, N.; CABELLO, P. R.; TERAN, F. J. C. Viabilidade da aplicação do método respirométrico de bartha para a análise da atividade microbiana de solos sob aplicação de vinhaça. **Engenharia Ambiental** - Espírito Santo do Pinhal, v. 6, n. 2, p. 264-271, mai/ago 2009.

CAMBUIM, F.A. **Ação da vinhaça sobre a retenção de umidade, pH, acidez total, acumulação e lixiviação de nutrientes, em solo arenoso**. 133f. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, 1983.

CANELLAS, L. P.; VELLOSO, A. C. X.; MARCIANO, C. R.; RAMALHO, J. F. G. P.; RUMJANEK, V. M.; REZENDE, C. E.; SANTOS, G. A. Propriedades químicas de um

cambissolo cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhiço e adição de vinhaça por longo tempo. **Rev. Bras. Ciênc.Solo**, v.27, n.5, p.935-944, 2003.

CARNEIRO, F.F.; PIGNATI, W.; RIGOTTO, R.M.; AUGUSTO, L.G.S.; RIZOLLO, A.; MULLER, N.M.; ALEXANDRE, V.P.; FRIEDRICH, K.; MELLO, M.S.C. **Dossiê I: Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos nos alimentos e na saúde**. Rio de Janeiro: Abrasco, 2012.

CENTURIÓN, R.E.B.; MORAES, V.A.; PERCEBON, C.M.; RUIZ, R.T. Destinação final da vinhaça produzida por destilarias autônomas e anexas, enquadradas no programa nacional do álcool. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: ABES, 1989. p.7.

CERDEIRA, A.L.; DESOUZA, M.D.; QUEIROZ, S.C.N.; FERRACINI, V.L.; BOLONHEZI, D.; GOMES, M.A.F.; ROSA, M.A.; BALDERRAMA, O.; RAMPAZZO, P.; QUEIROZ, R.H.C. Leaching and half-life of the herbicide tebutiuron on a recharge area of Guarany aquifer in sugarcane fields in Brazil. **J. Environ. Sci. Health**, Part B. 2007, 42, 635–639.

CERDEIRA, A. L.; SANTOS, N. A. G.; PESSOA, M. C. P. Y.; GOMES, M. A. F.; LANCHOTE, V.L. Herbicide leaching on a recharge area of the Guarany Aquifer in Brazil. **J. Environ. Sci. Health**, Part B 2005, 40(1), 159–165.

CETESB, Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental. Solos – Determinação da Biodegradação de Resíduos – Método Respirométrico de Bartha. **Norma Técnica L6.350**, Cetesb: São Paulo, 15 pp., 1990.

CETESB, Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental. Vinhaça – Critérios e procedimentos para aplicação no solo agrícola. **Norma Técnica P4.231**, Cetesb: São Paulo, 15 pp., 2005.

CHANG, S. S.; STRITZKE, J.F. Sorption, movement and dissipation of tebutiuron in soils. **Weed Sci.** 25, 184–187, 1977.

CORAZZA, R.I. Impactos ambientais da vinhaça: controvérsias científicas e lock-in na fertirrigação. In: Congresso da Sober: questões agrárias, educação no campo e desenvolvimento, 44., 2006, Fortaleza. **Anais...**, [S.l.: s.n.], 2006.

CRUZ, R. L.; RIGHETTO, A. M.; NOGUEIRA, M. A. Experimental investigation of soil and groundwater impacts caused by vinasse disposal. **WaterSci. Technol**, v.24, n.11, p.77-85, 1991.

DE JONGE, H.; DE JONGE, L. W.; Influence of pH and solution composition on the sorption of glyphosate and prochloraz to a sandy loam soil. **Chemosphere**, Volume 39, Issue 5, August 1999, Pages 753-763.

DE SOUZA, M. L.; WAKETT, L. P.; SADOWSKI, M. J. The atzABC genes encoding atrazine catabolism are located on a self-transmissible plasmid in *Pseudomonas* sp. Strain ADP. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, p. 2323-2326, 1998.

DORES, E. F.; DE-LAMONICA-FREIRE, E. M. Contaminação do ambiente aquático por agrotóxicos: vias de contaminação e dinâmica dos agrotóxicos no ambiente

aquático. Pesticidas. **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 9, p.1-18, 1999.

DORN, P.B.; SALANITRO, J.P. Temporal ecological assessment of oil contaminated soils before and after bioremediation. **Chemosphere**, v. 40, p. 419-426, 2000.

DUNCAN, K.W.; SCIFRES, C.J. Influence of clay and organic matter of rangeland soils on tebuthiuron effectiveness. **J. Range Manage.** 1983, 36, 295–297.

DUTKA, B. Short-term root elongation toxicity bioassay: methods for toxicological analysis of waters, wastewaters and sediments. Canadá: **National Water Research Institute (NWRI)**, 1989.

EL-NAHHAL Y., AWAD Y.; SAFI J. Bioremediation of acetochlor in soil and Water Systems by Cyanobacterial Mat. **Int.J.Geosci.** 4: 880-890, 2013.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA -. Sistema brasileiro de classificação de solos. 3.ed. Brasília, 2013. 353p.

FARIA, A. U.; MARIN-MORALES, E.; ANGELIS, D.F. **Manual de protocolos de laboratório**. Rio Claro: Departamento de Bioquímica e Microbiologia - UNESP - IB, 2013.

FERNÁNDEZ-BAYO, J. D.; NOGALES, R.; ROMERO, E. Assessment of three vermicomposts as organic amendments used to enhance diuron sorption in soils with low organic carbon content. **Eur. J. Soil Sci.**, v. 60, n. 6, p. 935-944, 2009.

FERRACINI, V. L.; QUEIROZ, S. C. N.; GOMES, M. A. F.; CERDEIRA, A. L.; PEREIRA, S. A.; SOUZA, M. D.; SANTOS, G. L. Monitoramento do herbicida tebutiuron em água subterrânea na microbacia do córrego espraiado, região de Ribeirão Preto, SP. Documento 54, Jaguariúna. **Embrapa Meio Ambiente**, 2006; 9 pp.

FERRERAS, L. et al. Effect of organic amendments on some physical, chemical and biological properties in a horticultural soil. **Biores. Technol.**, v. 97, n. 4, p. 635-640, 2006.

FORBES, V. E.; FORBES T. L. **Ecotoxicology in Theory and Practice**. Chapman & Hall: London, 247 pp., 1994.

FREITAS, L.; OLIVEIRA, I. A.; SILVA, L. S.; FRARE, J. C. V.; FILLA, V. A.; GOMES, R. P. Indicadores da qualidade química e física do solo sob diferentes sistemas de manejo. **Revista Unimar Ciências**, v. 26, n. 1-2, 2017 (in press).

GLÓRIA, N. A.; ORLANDO FILHO, J. **Aplicação de vinhaça como fertilizante**. São Paulo: Coopersucar, 1983. 38 p.

GOMES, M. A. F.; SPADOTTO, C. A.; LANCHOTE, V. L. Ocorrência do herbicida tebutiuron na água subterrânea na Microbacia do Córrego Espraiado, Ribeirão Preto-SP. **Pesticidas** 2001, 11, 65–76.



GUNDERSON, C.A.; KOSTUK, J.M.; GIBSS, M.H.; NAPOLITANO, G.E.; WICKER, L. F.; RICHMOND, J.E.; STEWART, A.J. Multispecies toxicity assessment of compost produced in bioremediation of an explosives-contaminated sediment. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 16, p. 2529-2537, 1997.

GUO, L.; JURY, W. A.; WAGENET, R. J.; FLURY, M. Dependence of pesticide degradation on sorption: nonequilibrium model and application to soil reactors. **Journal of Contaminant Hydrology**, v.43, p.45–62, 2000.

GUSTAFSON, D. I. Groundwater ubiquity score: a simple method for assessing pesticide leachability. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 8, p. 339-357, 1989.

HAGNER, M.; PENTTINEN, O.P.; PASANEN, T.; TIILIKKALA, K.; SETÄLÄ, H. Acute toxicity of birch tar oil on aquatic organisms. **Agricultural and Food Science**, v. 19, p. 24-32, 2010.

HEINRICH, R.; SANTOS, E. T.; FIGUEIREDO, P. A. M.; MUSSA, S.; PASCHOALOTO, J. R.; SOARES FILHO, C. V. Soil chemical attributes, technological quality and yields of sugar cane submitted to organic and mineral fertilizers. In: World Congress of soil science, 2010, Brisbane. **World Congress of soil science**, 2010. v. 1. p. 1-4.

HELBERT, S. Behaviour of four soil-active herbicides in a boreal podzol. **Forest Ecol. Manag.** 1990, 31, 125–152.

HIDALGO, K. Vinasse in feed: Good for animal and environment. **Feed Technology**, v.13, n.5, p.18-20, 2009.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento sistemático da produção agrícola - **Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil**, 2015.v.29, n.5, p.1-76. Disponível em <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao\\_Agricola/Levantamento\\_Sistematico\\_da\\_Producao\\_Agricola\\_\[mensal\]/Fasciculo/lspa\\_201505.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo/lspa_201505.pdf)>. Acesso em: 23 mar. 2017.

JOHNSON, K.; JACOBSEN, C. S.; TORSVIK, V.; SORENSEN, J. Pesticide effects on bacterial diversity in agricultural soils – a review. **Biology and Fertility of Soils**, v. 33, p. 443-453, 2001.

JOHNSON, T.N.; MORTON, H.L. Tebuthiuron persistence and distribution in some semiarid soils. **J. Environ. Qual.** 1989, 18, 433–438.

KAARE, J.; JACOBSEN, C.; TORSVIK, V. Pesticide effects on bacterial diversity in agricultural soils – a review. **Biology and Fertility of Soils**, v. 33, p. 443-453, 2001.

KAPANEN, A.; ITAVAARA, M. Ecotoxicity tests for compost applications. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 49, p. 1-16, 2001.

KENNEDY, A.C.; SMITH, K.L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. **Plant and Soil**, v. 170, n. 1, p. 75-86, 1995.

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

LABOURIAU, L. G.; AGUDO, M. On the physiology of seed germination in *Salvia hispanica* L. I. Temperature Effects. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.59, p.37-56, 1987.

LAMBAIS, M.R.; CURY, J.C.; MALUCHE-BARETTA, C.; BÜLL, R.C. Diversidade microbiana nos solos: definindo novos paradigmas. In: VIDAL-TORRADO, P.; ALLEONI, L.R.F.; COOPER, M.; SILVA, A.P.; CARDOSO, E.J. (eds.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 4, p. 44-84, 2005.

LAW, S. E. Agricultural electrostatic spray application: a review of significant research and development during de 20th century. **J. Electrostatic**, v. 51-52, p. 25-42, 2001.

LOEHR, R.; WEBSTER, M.T. **Effect of treatment on contaminant availability, mobility, and toxicity**. In: LINZ, G.D.; NAKLES, D. (Eds.), *Environmentally Acceptable Endpoints in Soil: Risk-Based Approach to Contaminated Site Management Based on Availability of Chemicals in Soil*. American Academy of Environmental Engineers: Annapolis, p. 138-386, 1997.

LOIBNER, A.; SZOLAR, O.; BRAUN, R.; HIRMANN, D. Ecological assessment and toxicity screening in contaminated land analysis. In: THOMPSON, K.C.; NATHANAIL, C.P. (Eds.), **Chemical Analysis of Contaminated Land**. Blackwell: Oxford, p. 29-267, 2003.

LOPES, P. R. M.; MONTAGNOLLI, R. N.; DOMINGUES, R. F.; BIDOIA, E. D. Toxicity and biodegradation in sandy soil contaminated by lubricant oils. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 84, n. 4, p. 454-458, 2010.

LOURENCETTI, C. Herbicidas mais empregados no cultivo de cana-de-açúcar no município de Araraquara (SP): desenvolvimento e validação de método de quantificação e avaliação do potencial de lixiviação em solos argiloso e arenoso (área de recarga do Sistema Aquífero Guarani). 2006. 155 f. **Tese** (doutorado) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

LOURENCETTI, C.; DE MARCHI, M.R.R.; RIBEIRO, M.L.; MARCHI, M.R.R. Influence of sugar cane vinasse on the sorption and degradation of herbicides in soil under controlled conditions. **J. Environ. Sci. Health**, Part B. 2012, 47, 949–958.

LYRA, M.R.C.C; ROLIM, M.M; SILVA, J.A.A. Topossequência de solos fertigados com vinhaça: contribuição para a qualidade das águas do lençol freático. **Rev. Bras. Eng. Agríc. ambient.** v.7, n.3, p.525-532, 2003.

MARIN, F.; NASSIF, D.S.P. Mudanças climáticas e a cana-de-açúcar no Brasil: Fisiologia, conjuntura e cenário futuro. **Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient.** v.17, n.2, p.232–239, 2013.

MARTINEZ, C. O.; Biotransformação do herbicida sulfentrazone em solos brasileiros. **Dissertação** (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, SP, 2006.

MATOS, A.K.A.; CARBONARI, C. A. VELINI, E. D. ; GOMES, G. L. G. C.; TRINDADE, M. L. B.; MACEDO, G. C. Vinasse Effect on herbicides clomazone and tebutiuron availability in diferente kinds of soils. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v.33, n.4, p.771-778, 2015.

MENEZES, C.T. Método para priorização de ações de vigilância da presença de agrotóxicos em águas superficiais: um estudo em Minas Gerais. 2006. 117p. **Dissertação** (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, 2006.

MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Informações sobre agrotóxicos fitossanitários registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) – AGROFIT**. 2017. Disponível em: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 23 mar. 2017.

MONQUERO, P. A. **Aspectos da biologia e manejo das plantas daninhas**. São Carlos, SP: Rima, 2014.

MORALES, C. G. **Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de agua**: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. México: IMTA, 2004.

MORO, C.C.; RODRIGUES, J.A.; DA SILVA, M.C.; LIMA, E.P.; DE MACEDO, M.F. **Utilização da vinhaçacomofertilizante no cultivo da cana-de-açúcar-de-açúcar**. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização Tecnológica em Química Industrial) - Centro Universitário de Lins-Unilins, Lins, 2011.

MUYZER, G.; DE WAAL, E. C.; UITTERLINDEN, A. G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoreses analysis of polymerase chain reaction amplified genes encoding for 16s rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, p. 695-700, 1993.

NEGRISOLI, E.; COSTA, E. A. D.; VELINI, E. D.; CAVENAGHI, A. L.; TOFOLI, G. R. Deposition and leaching of tebutiuron on sugar cane straw applied with and without alkylpoyglycoside adjuvant. **J Environ Sci Health B. Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v.40, n.1, p.207-214, 2005.

NEVES, A. B. R. Influência da associação de vinhaça e tebutiuron na microbiologia e ecotoxicidade de solo cultivado com cana-de-açúcar em manejo orgânico – **Dissertação**. Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas do Câmpus de Dracena - UNESP, como parte das exigências para graduação em Engenharia Agrônômica. 2017.

OLIVEIRA JR, R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas**. Editora Omnipax, 2011.

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

ØVREÅS, L.; FORNEY, L.; DAAE, F.L.; TORSVIK, V. Distribution of bacterioplankton in meromictic lake saelevannet, as determined by denaturing gradient gel electrophoresis of PCR amplified gene fragments coding for 16S rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, p. 3367-3373, 1997.

PANG, L.; CLOSE, M.; FLINTOFT, M. Degradation and sorption of atrazine, hexazinone and procymidone in coastal sand aquifer media. **Pest Manag. Sci.** 2005, 61, 133–143.

PENATTI, C.P.; CAMBRIA, S.; BONI, P.S.; ARRUDA, F.C.O.; MANOEL, L.A. Efeitos da aplicação de vinhaça e nitrogênio na cana-de-açúcar. **Boletim Técnico Copersucar**, v.44, p.32-38, 1988.

PEREIRA-JUNIOR, E. V.; GIORI, F. G.; NASCIMENTO, A.L.; TORNISIELO, V.L.; REGITANO, J. B. Effects of soil attributes and straw accumulation on the sorption of hexazinone and tebuthiuron in tropical soils cultivated with sugarcane, **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, 50:4, 238-246, 2015.

PIRES, F. R., PROCÓPIO, S. O., SANTOS, J. B.4., SOUZA, C. M. R., DIAS, R. R. Avaliação da fitorremediação de tebuthiuron utilizando crotalaria juncea como planta indicadora. *Rev. Ciên. Agron., Fortaleza*, v. 39, n. 02, p. 245-250, 2008.

PLAZA, G.A.; NALECZ-JAWECKI, G.; ULFIG, K.; BRIGMON, R.L. The application of bioassays as indicators of petroleum-contaminated soil remediation. **Chemosphere**, v. 59, p. 289-296, 2005.

POINTING, S. B. Feasibility of birremediation by with-rot fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 57, p. 20-33, 2001.

PRATA, F.; LAVORENTI, A.; REGITANO, J. B.; TORNISIELO, V. L. Degradação e adsorção de diuron em solos tratados com vinhaça. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**, v.24, p.217-223, 2000.

QUEIROZ, S.C.N., FERRACINI, V. L., CERDEIRA, A. L., SOUZA, M. D., GOMES, M. A. F., FACANALI, R., PINTO, O. B., RAMPAZZO, P. E. (ID - 71) - Método para determinação de tebutiuron em solo - Embrapa Meio Ambiente, 2004.

RAIJ, B.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. 2.ed. rev. e atual. Boletim Técnico 100. Campinas: Instituto Agrônomo/Fundação IAC, 1997. 285p

RIGOTTO, R. M.; VASCONCELOS, D. P.; ROCHA, M. M. Uso de agrotóxicos no Brasil e problemas para a saúde pública. **Cadernos de Saúde Pública**, v.30, n.7, p.1-3, 2014.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 6.ed. v.1. Londrina-PR: IAPAR, 2011. p. 697.

SARMAH, A.K.; CLOSE, M.E.; MASON, N.W.H. Dissipation and sorption of six commonly used pesticides in two contrasting soils of New Zealand. **J. Environ. Sci. Health**, Part B. 2009, 44, 325–336.

SILVA, M. A. S.; GRIEBELER, N. P.; BORGES L. C. Uso de vinhaça e impactos nas propriedades do solo e lençol freático. **Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient.** v.11, n.1, p.108–114, 2007.

SIVIERO, A.R. Avaliação da biodegradação em solo de resíduos sólidos de fundição - areia fenólica - utilizando o método respirométrico. 1999. 107 pp. **Tese** (Doutorado em Ciências Biológicas - Microbiologia Aplicada) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

SMAKA-KINCL, V.; STEGNAR, P.; LOVKA, M.; TOMAN, J.M. The evaluation of waste surface and ground water quality using *Allium* test procedure. **Mutation Research**, v 38, p. 171-179, 1997.

SOUZA, E.L.C., FOLONI, L.L., MANTOVANI, E.C. E TEIXEIRA FILHO, J. Comportamento do tebuthiuron em solo de cultivo de cana-de-açúcar utilizando lisímetro de drenagem modificado. **Planta daninha**, Viçosa , v. 26, n. 1, p. 157-163, Mar. 2008 .

SPADOTTO, C. A. Comportamento e destino ambiental de herbicidas. **Sociedade Brasileira da Ciência das plantas daninhas**, Comitê de meio Ambiente, 2002.

SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F.; LUCHINI, L. C.; ANDRÉA, M. M. **Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004. 29 p.

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

TAMADA, I.S.; LOPES, P.R.M.; MONTAGNOLLI, R.N.; BIDOIA, E.D. Biodegradation and toxicological evaluation of lubricant oils. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 55, n. 6, p. 951-956, 2012.

TANG, J.; WANG, M.; WANG, F.; SUN, Q.; ZHOU, Q. Eco-toxicity of petroleum hydrocarbon contaminated soil. **Journal of Environmental Sciences**, v. 23, n. 5, p. 845-851, 2011.

TIAN; L.; DELL; E.; SHI, W. Chemical composition of dissolved organic matter in agroecosystems: Correlations with soil enzyme activity and carbon and nitrogen mineralization, **Applied Soil Ecology**, Volume 46, Issue 3, 2010, Pages 426-435,

TIQUIA, S. M.; TAM, N. F. Y.; HODGKISS, I. J. Effects of composting on phytotoxicity of spent pig-manure sawdust litter. **Environmental Pollution**, v.93, n.3, p.249-256, 1996.

TOFOLI, G.R. Deposição e lixiviação do herbicida tebuthiuron em palha de cana-de-açúcar. Botucatu, 2004. 55p. **Tese** (Doutorado). Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

TONIÊTO, T. A. P. Dinâmica dos herbicidas tebuthiuron e hexazinona no sistema de cana crua. 2014. **Dissertação** (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014. doi:10.11606/D.11.2014.tde-15092014-090432. Acesso em: 2017-10-18.

TONIÊTO, T. A. P.; DE PIERRI, L.; TORNISIELO, V. L.; REGITANO, J. B. Fate of tebuthiuron and hexazinone in green-cane harvesting system. **J. Agric. FoodChem**, in press, 2016.

TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M. Micro-organismos e processos microbiológicos como indicadores de qualidade dos solos. In: ALVAREZ, V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R.; BARROS, N.F.; MELLO, J.W.V.; COSTA, L.M. (eds.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 2, p. 195-276, 2002.

UNICA – Associação da Indústria de Cana de Açúcar. Folder Institucional da Unica. Sugarcane - One plant, many solutions. **Sugar, ethanol, bioelectricity&beyond**. 2015. Disponível em <<http://www.unica.com.br/documentos/publicacoes/>>. Acesso em: 23 mar. 2017.

WALKER, A. Enhanced degradation of iprodione and vinclozolin in soil: A simple colorimetric test for identification of rapid-degrading soils (1987) **Pesticide Science**, 21 (3), pp. 233-240.

WANG, W. Root elongation method for toxicity testing of organic and inorganic pollutants. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.6, p.409-414, 1987.

WEBER, J.B.; WILKERSON, G.G.; REINHARDT, C.F. Calculating pesticide sorption coefficients (Kd) using selected soil properties. **Chemosphere**. 2004, 55, 157–166.

WHITSON, T.D.; ALLEY, H.P. Tebuthiuron effects on *Artemisia* spp. and associated grasses. **Weed Sci**. 1984, 32, 180–184.