

BR 4331391  
INIS - BR - - 3172

FORMAÇÃO E BIO-LIBERAÇÃO DE RESÍDUOS-LIGADOS DE

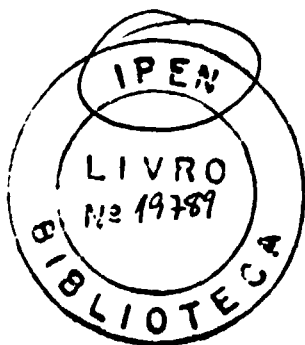
[<sup>14</sup>C]-LINDANO E [<sup>14</sup>C]-PARATION EM

DOIS SOLOS BRASILEIROS

MARA MERCEDES DE ANDRÉA

Bióloga

Orientador: Prof. Dr. FREDERICO MAXIMILIANO WIENDL



Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de Concentração : Tecnologia Nuclear Básica.

SÃO PAULO

1992

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP - IPEN

Ao meu marido  
LUIZ CARLOS LUCHINI  
pelo amor, convívio privado,  
apoio e incentivo durante  
todas as fases deste trabalho.

A meus pais  
HELENA e AYRTON DE ANDRÉA  
pelo carinho e apoio irrestrito.

"Só quem não sabe pensa que não há o que aprender"  
Janio de Freitas

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador  
Prof. Dr. Frederico Maximiliano Wiendl  
pela amizade e respeito profissional.

Às colegas e amigas  
Maria Helena Silva Homem de Mello,  
Rúbia Yuri Tomita e  
Terezinha Bonanho Peres  
pelo carinho e ajuda efetiva.

À Dra. Elza Flores Rüegg  
pelo carinho e ensinamentos de vida.

À Silvana D'Agostini  
da Seção de Desenho do Instituto Biológico  
pela confecção das figuras.

À Seção de Fungicidas do Instituto Biológico  
pelo uso da casa de vegetação.

Ao Dr. Richard Bartha  
pelas sugestões.

Ao Centro de Radioisótopos do Instituto Biológico  
pelas facilidades fornecidas para execução do trabalho.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares  
e aos professores do Curso de Pós-Graduação  
pela acolhida e ensinamentos.

## ÍNDICE

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE TABELAS.....	vi
RESUMO.....	vii
SUMMARY.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	6
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	46
3.1. Material.....	46
3.1.1. Inseticidas.....	46
3.1.2. Solos.....	47
3.1.3. Planta.....	48
3.1.4. Solução Nutriente.....	48
3.2. Métodos.....	48
3.2. 1. Cálculo para umedecimento do solo....	48
3.2. 2. Tratamento do solo.....	50
3.2. 3. Determinação do conteúdo de umidade..	51
3.2. 4. Determinação da quantidade aplicada..	51
3.2. 5. Extração do solo.....	51
3.2. 6. Determinação do resíduo-ligado.....	52
3.2. 7. Extração da planta.....	52
3.2. 8. Combustão.....	53
3.2. 9. Coleta de material mineralizado e volatilizado.....	53
3.2.10. Cromatografia em camada delgada (ccd) é análise linear.....	55
3.2.11. Contagem de cintilação em líquido....	56
3.2.12. Montagem dos experimentos.....	56
3.2.12.1. Distribuição dos resíduos imediatamente após o tratamento.....	56
3.2.12.2. Distribuição dos resíduos formados 3 meses após o tratamento.....	59
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62

	Página
4.1. Comportamento do lindano nos solos de Fucada (F) e de Praia Grande (PG).....	62
4.2. Comportamento do paration nos solos de Fucada (F) e de Praia Grande (PG).....	78
4.3. Comparação do comportamento de $^{14}\text{C}$ -lindano e $^{14}\text{C}$ -paration nos dois solos.....	89
4.4. Degradação do $^{14}\text{C}$ -lindano e do $^{14}\text{C}$ -paration..	92
5. CONCLUSÕES.....	108
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	110

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA	Página
1- Fraşco biométrico utilizado no bioteste com planta.....	54
2- Fluxograma seguido para determinação da distribuição de resíduos imediatamente após o tratamento.....	57
3- Fluxograma seguido para determinação da distribuição dos resíduos formados após 3 meses de incubação.....	60
4- Degradação dos $^{14}\text{C}$ -pesticidas no solo a compostos hidrossolúveis.....	99
5- Resíduos-ainda-ligados após os biotestes (resíduos inativados nos solos).....	105

## LISTA DE TABELAS

TABELA	Página
1- Características granulométricas e químicas dos solos de Fucada (F) e de Praia Grande (PG).....	49
2- Recuperação do radiocarbono do solo de Fucada imediatamente após o tratamento com $^{14}\text{C}$ -lindano..	63
3- Recuperação do radiocarbono do solo de Fucada 3 meses após o tratamento com $^{14}\text{C}$ -lindano.....	66
4- Recuperação do radiocarbono do solo de Praia Grande imediatamente após o tratamento com $^{14}\text{C}$ -lindano.....	68
5- Recuperação do radiocarbono do solo de Praia Grande 3 meses após o tratamento com $^{14}\text{C}$ -lindano.	70
6- Recuperação do radiocarbono do solo de Fucada imediatamente após o tratamento com $^{14}\text{C}$ -paration.	79
7- Recuperação do radiocarbono do solo de Fucada 3 meses após o tratamento com $^{14}\text{C}$ -paration.....	81
8- Recuperação do radiocarbono do solo de Praia Grande imediatamente após o tratamento com $^{14}\text{C}$ -paration.....	84
9- Recuperação do radiocarbono do solo de Praia Grande 3 meses após o tratamento com $^{14}\text{C}$ -paration	86
10- Perfil cromatográfico do $^{14}\text{C}$ -lindano no solo de Fucada.....	94
11- Perfil cromatográfico do $^{14}\text{C}$ -lindano no solo de Praia Grande.....	95
12- Perfil cromatográfico do $^{14}\text{C}$ -paration no solo de Fucada.....	96
13- Perfil cromatográfico do $^{14}\text{C}$ -paration no solo de Praia Grande.....	97

FORMAÇÃO E BIO-LIBERAÇÃO DE RESÍDUOS-LIGADOS DE  
[<sup>14</sup>C]-LINDANO E [<sup>14</sup>C]-PARATION EM  
DOIS SOLOS BRASILEIROS

Autor: MARA MERCEDES DE ANDRÉA

Orientador: Prof. Dr. FREDERICO MAXIMILIANO WIENDL

RESUMO

A contaminação de solos com resíduos indesejáveis de pesticidas ocorre, pois após sua ação, restam diversos tipos de resíduos que incluem o próprio composto originalmente aplicado ou seus produtos de degradação. Através da utilização de moléculas de pesticidas marcadas com radiocarbono mostrou-se que nem todo pesticida aplicado ao solo é recuperado após extração exaustiva com solventes, e que uma parte permanece firmemente ligada a esta matriz. A magnitude de formação de resíduos-ligados varia conforme o composto e, em muitos casos, eles constituem a maior parte dos resíduos que permanecem no solo.

Neste trabalho estudou-se a formação de resíduos extraíveis e ligados de <sup>14</sup>C-lindano e <sup>14</sup>C-paration imediatamente após a aplicação e após 3 meses de interação dos pesticidas com os solos. Metabolismo, bio-liberação e possível bio-disponibilidade dos resíduos-ligados foram estudados através da utilização de frascos biométricos que permitiram uma comparação relativa do comportamento dos dois diferentes <sup>14</sup>C-pesticidas, através de um balanço do radiocarbono aplicado ou presente nos solos após os biotestes.

Observou-se que a formação e a bio-liberação dos resíduos-ligados dos dois pesticidas variaram conforme o tipo de solo, tipo de pesticida, e, principalmente, com o tempo de interação do composto com o solo.

Demonstrou-se que existe uma graduação de ligação, isto é, os resíduos-ligados formados logo após a aplicação são reliberados com mais facilidade do que os



resíduos-realmente-ligados que são aqueles formados após um tempo de interação dos pesticidas com os solos. Porém, mesmo após ação da microflora e da rizosfera, uma parte dos resíduos-ligados permanece como resíduos-ainda-ligados sendo, portanto, inativada. Esta foi maior no caso do  $^{14}\text{C}$ -paration do que no caso do  $^{14}\text{C}$ -lindano, principalmente quando os resíduos-ligados foram formados imediatamente após a aplicação, e muito maior após o tempo de envelhecimento dos pesticidas nos solos. Mas, conforme o tipo de solo, até mesmo o  $^{14}\text{C}$ -lindano formou porcentagens consideráveis de resíduos que permaneceram ainda-ligados e, portanto, inativados.

As quantidades de resíduos-ligados dos dois pesticidas que foram bio-liberadas e absorvidas pelas plantas foram sempre muito pequenas, não representando problema de toxicidade futura. Porém, como a bio-liberação ocorreu principalmente por ação da microflora dos solos, a quantidade de resíduos-ligados bio-liberados deve ser levada em conta para o conceito de persistência dos pesticidas.

FORMATION AND BIORELEASE OF BOUND RESIDUES OF  
[<sup>14</sup>C]-LINDANE AND [<sup>14</sup>C]-PARATHION IN TWO  
BRAZILIAN SOILS

Author: MARA MERCEDES DE ANDRÉA

Adviser: Prof. Dr. FREDERICO MAXIMILIANO WIENDL

SUMMARY

Soil contamination with undesirable pesticide residues occurs, because after its action, several types of residues remain, including the parental compound or its degradation products. The employ of labelled pesticide molecules with radiocarbon showed that not all soil applied pesticide is recovered by exhaustive extraction with solvents, and some residues remain firmly bound to the soil matrix. The extent of bound residues formation varies according to the compound and, in several cases, they constitute the largest part of residues remaining in the soil.

This work studied the extractable and bound residues formation of <sup>14</sup>C-lindane and <sup>14</sup>C-parathion immediately after application and after 3 months of interaction of the pesticides with the soils. Metabolism, biorelease, and the possible bioavailability of bound residues were studied by employing biometer flasks which allowed a relative comparison of the behaviour of the two different <sup>14</sup>C-pesticides, by a balance of the applied or present radiocarbon in the soils after the biotests.

It was observed that the formation and biorelease of bound residues of the two pesticides varied according to the type of soil, type of pesticide, and, mainly, with the aging time of the compound with the soil.

It was observed that there is a gradual bounding, that is, the bound residues formed immediately after the application were released easier than the really

bound residues which are formed after a time of interaction of the pesticides with the soils. However, even after the microflora and rhizosphere actions, some bound residues remain as still-bound-residues in the soils being, thus, inactivated. This part was higher with  $^{14}\text{C}$ -parathion than with  $^{14}\text{C}$ -lindane, mainly when the bound residues were formed immediately after the application, and much higher after the aging time of the pesticides in the soils. But, according to the soil type, even the  $^{14}\text{C}$ -lindane formed considerable percentages of residues that remained still bound and, thus, inactivated.

The amounts of bound residues that were bio-released and absorbed by the plants were always very small and did not represent problems of future toxicity. However, as the biorelease occurred, mainly by the action of the soil microflora, the amount of bioreleased bound residues must be accounted for the pesticide persistence assessment.

## 1. INTRODUÇÃO

O uso de pesticidas na agricultura tem fornecido enorme benefício através do controle de pestes que afetam a saúde animal e humana, destroem suas fontes de alimento e competem com suas culturas (SNELSON, 1982). De acordo com os dados da Organização de Alimentação e Agricultura ("Food and Agriculture Organization" - FAO) da Organização das Nações Unidas, as perdas anuais na agricultura devidas a doenças de plantas, danos causados por insetos e competição com ervas daninhas, são da ordem de 25% a 50% do rendimento potencial das culturas (FUHR, 1984). Porém, os pesticidas são compostos químicos tóxicos que precisam ser tratados com cuidado. Trabalhos científicos têm fornecido informações sobre os efeitos indesejáveis dos pesticidas sobre o ambiente, ao mesmo tempo que têm conduzido à formulação de recomendações para seus usos apropriados (SNELSON, 1982).

A maioria dos pesticidas atinge o solo por deposição após vaporizações na parte aérea das culturas, ou aplicações diretas de inseticidas ou herbicidas de pré-emergência, por fumigação do solo, por precipitação e por queda da folhagem tratada (FUHR et alii, 1985, FUHR, 1987 e KHAN, 1991). Segundo EBING (1987) dependendo do fenótipo e da densidade da cultura de plantas, entre 35% a 50% dos pesticidas aplicados por vaporizações são depositados sobre o solo.

Procedimentos analíticos cada vez mais precisos asseguram um mínimo de problemas e um máximo de benefícios do uso de pesticidas, pois permitem a detecção de quantidades mínimas de resíduos destes pesticidas ou de seus produtos de degradação, permitindo julgamento preciso

a respeito do comportamento destas substâncias no ambiente (SNELSON, 1982 e KHAN, 1991).

Entre os procedimentos analíticos usados, a técnica de marcação dos pesticidas com Carbono-14 é indispensável e se tornou a técnica experimental predominante (HELLING & KRIVONAK, 1978a; KHAN, 1982b; FUHR, 1984; KLEIN & SCHEUNERT, 1985 e KHAN & DUPONT, 1987). Porém, embora os pesticidas radiomarcados tenham sido sintetizados na década de 50, o uso de radio-ensaios em estudos de metabolismo de pesticidas em plantas, solo e animais se tornou difundido somente depois dos anos 70 (SOMASUNDARAM & COATS, 1991).

Estudos do metabolismo de pesticidas radiomarcados têm preenchido pelo menos 4 propostas: (1) fornecem estimativa dos resíduos totais na cultura; (2) identificam os principais componentes do resíduo terminal, indicando os componentes a serem pesquisados nos estudos de quantificação de resíduos; (3) indicam a distribuição dos resíduos nas plantas ou animais e no perfil do solo, e (4) mostram a eficiência dos procedimentos de extração para vários componentes dos resíduos (KOVACS, 1986).

Assim, dependendo do objetivo da investigação, o  $^{14}\text{C}$ -composto é aplicado na planta ou no solo, simulando-se a técnica de aplicação usada na agricultura (FUHR 1984). Os estudos com pesticidas radiomarcados possibilitam a obtenção de um balanço e dão conta do destino do radiocarbono aplicado (KATAN et alii, 1976 e KHAN, 1991).

No solo, a determinação de substâncias químicas orgânicas apenas por medidas do declínio da concentração do composto original não permite conclusões a respeito da carga total da substância (SCHEUNERT et alii, 1987). No passado acreditava-se que as mudanças metabólicas significavam desintoxicação e a incapacidade de se isolar um composto era interpretada como eliminação dele (KATAN & LICHTENSTEIN, 1977). Porém, o uso de marcação com radiocarbono e tecnologia analítica mais avançada levaram a conclusão que a incapacidade de se isolar uma substância

não significa metabolismo ou degradação completa, com geração de produtos inócuos, mas que isto constitui problema de pesquisa complexo do ponto de vista do ambiente. Em alguns casos a molécula original do pesticida pode ser convertida a substâncias mais tóxicas. Outros pesticidas ou seus produtos de degradação entram em reações sintéticas que resultam frequentemente na formação de moléculas muito mais complexas do que a molécula original (KAUFMAN, 1976; KATAN & LICHTENSTEIN, 1977 e LICHTENSTEIN, 1980). Além disso, muitos dos pesticidas classificados como prontamente degradados e "perdidos" ou "desaparecidos" do solo, foram detectados como formadores de resíduos-ligados, tornando evidente que o conceito de pesticidas persistentes e não-persistentes precisava de reconsideração (CALDERBANK, 1989).

Segundo FUHR (1984), o pesticida ideal deveria ser degradado totalmente até seus elementos estruturais, após a ação para a qual foi intencionalmente aplicado. Porém, na prática, verifica-se que formam-se resíduos dos próprios pesticidas ou de seus produtos de degradação e estes podem ser tóxicos. No solo, os produtos de conversão, ou metabólitos, podem contribuir afetando a qualidade do ambiente edáfico. Somente a determinação dos produtos finais de degradação total - os produtos de mineralização:  $\text{CO}_2$ ,  $\text{Cl}^-$  ou outros fragmentos de baixo peso molecular - dão informação correta sobre o grau de eliminação final do pesticida. Novamente, a técnica com radiotraçador permite a distinção entre o dióxido de carbono evoluído por degradação do pesticida, do formado por respiração normal dos microrganismos do solo (FUHR, 1984 e SCHEUNERT et alii, 1987).

Porém, antes da mineralização total do composto, metabólitos podem ser formados. Estes podem ser divididos arbitrariamente, conforme KAUFMAN (1976) e KOVACS (1986), em: (1) metabólitos volatilizados ou eliminados, que incluem os materiais respirados, isto é, produtos originais ou intermediários,  $\text{CO}_2$  e materiais perdidos por processos físicos de volatilização; (2) metabólitos livres: produtos derivados da molécula original após dehalogenação,

de sulfuração, epoxidação, hidrooxilação, hidrólise, oxidação e redução. São os resíduos normalmente extraídos com solventes orgânicos e que permanecem nesta fase após extração com água. (3) Metabólitos conjugados: são produtos de metabolismo secundário, envolvendo reações com substratos endógenos como açúcares, sulfato e aminoácidos, gerando substâncias que não são componentes naturais das células. São extraídos por solventes polares, mas geralmente não particionam em solventes apolares. São os chamados metabólitos hidrossolúveis e são considerados como parte do resíduo total tóxico. (4) Constituintes naturais: são os resíduos que são componentes normais da célula, mas são derivados de um pesticida ou de seus metabólitos. Podem ser: amido, glicose, proteína, celulose, etc., e (5) resíduos não extraíveis ou resíduos-ligados: são os resultantes da ligação do pesticida ou de seus metabólitos com componentes do solo, planta ou animais, que não podem ser removidos da amostra matriz por extração exaustiva com solventes polares ou apolares.

Desta forma, antes do uso de radiotraçadores, o destino da maioria dos pesticidas no ambiente não era entendido adequadamente e o conceito de resíduo-ligado não existia (HELLING & KRIVONAK, 1978a; FUHR, 1984 e SOMASUNDARAM & COATS, 1991). Vários autores (KHAN, 1982ab; FUHR, 1984; KHAN & DUPONT, 1987 e SCHEUNERT et alii, 1987) dizem que esta fração de resíduos aumenta com o tempo e elevações na temperatura do solo, por exemplo. CALDERBANK (1989) entre outros, diz que os resíduos-ligados também ocorrem em plantas ou outros materiais biológicos.

O significado dos resíduos-ligados para o ambiente está relacionado com sua bio-liberação e consequente disponibilidade, podendo representar toxicidade ao ambiente ou à cadeia alimentar. Neste trabalho, pretendemos comparar a formação e bio-liberação dos  $^{14}\text{C}$ -resíduos-ligados de dois  $^{14}\text{C}$ -pesticidas, um considerado persistente no ambiente - o  $^{14}\text{C}$ -lindano - e o outro considerado não persistente no ambiente - o  $^{14}\text{C}$ -paration. Ambos são inseticí-

das, porém o lindano é recomendado para aplicação aérea de várias culturas e é também usado em aplicação direta no solo. O paration tem também ação como acaricida e é recomendado para aplicação aérea de várias culturas, como por exemplo: frutas, hortaliças e leguminosas (GELMINI et alii, 1986).

Além disso, pretendemos verificar se a ação da microflora apenas ou da rizosfera (que, segundo ALEXANDER (1977), compreende o sistema radicular de plantas, o ambiente inanimado composto por substâncias orgânicas e inorgânicas do solo, e a vasta comunidade de microrganismos metabolicamente ativos também presente no solo) conseguem liberar os resíduos-ligados dos dois pesticidas.

Apesar dos inúmeros trabalhos a respeito da formação e da liberação de resíduos-ligados de pesticidas ao solo, nenhum deles utilizou metodologia capaz de investigar a formação e a liberação destes resíduos em um sistema completo do ponto de vista biológico, permitindo avaliação relativa do comportamento total de vários compostos.



## 2. REVISÃO DE LITERATURA

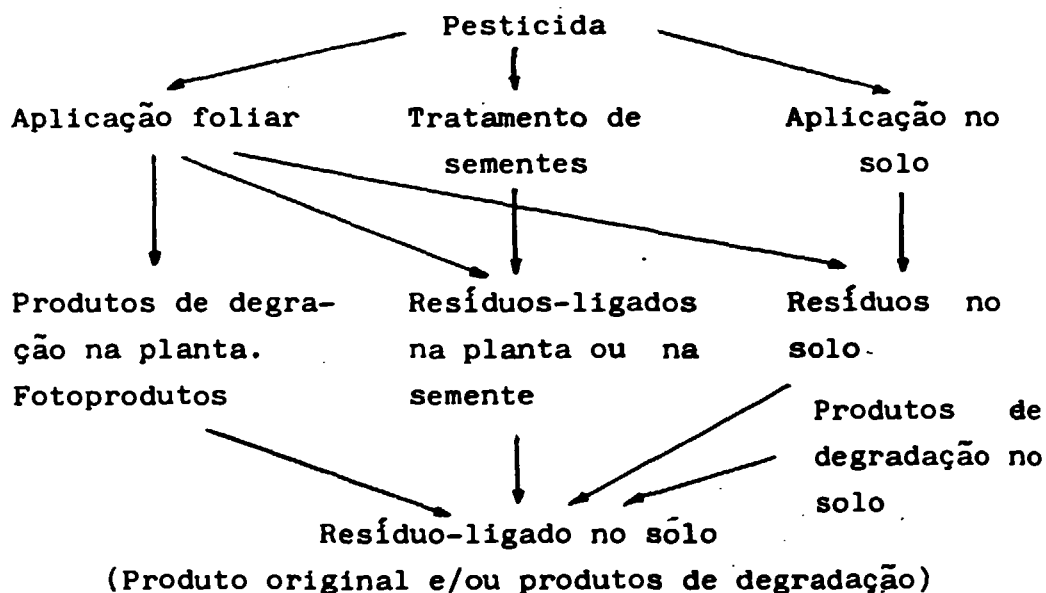
Muitos pesquisadores se interessaram pelo problema da formação de resíduos-ligados de pesticidas, pois uma proporção significativa de muitos pesticidas ou de seus produtos de degradação permanece no solo sob esta forma (LICHTENSTEIN, 1980; KLEIN & SCHEUNERT, 1982; KHAN, 1982ab; ROBERTS, 1984; FUHR, 1984 e 1987; CALDERBANK, 1989; KHAN & BEHKI, 1990 e KHAN, 1991).

Após várias tentativas de se definir os resíduos não extraíveis ou resíduos-ligados (WEBER, 1976; KEARNEY, 1976; KAUFMAN, 1976; HASSAN, 1982 e KHAN, 1982a), a Comissão de Pesticidas da União Internacional de Química Pura e Aplicada-IUPAC deu, em 1975, a seguinte definição, que talvez seja a mais abrangente: "Resíduos não extraíveis (algumas vezes referidos como resíduos "ligados" ou "não extraídos") em plantas e solos são definidos como espécies químicas originadas de pesticidas, usados de acordo com a boa prática agrícola, que não são extraídos por métodos que não alterem significativamente a natureza química desses resíduos. Estes resíduos não extraíveis excluem os fragmentos de pesticidas que são reciclados através de vias metabólicas, resultando em produtos naturais. A denominação espécie química se refere ou ao material original, ou derivados, ou fragmentos deles. Métodos, se refere a qualquer procedimento, tais como extração com solvente e destilação, usados exhaustivamente para remover a espécie química da matriz de solo ou planta. A cada referência a resíduos não extraível, o procedimento de extração precisa ser dado" (KEARNEY, 1982; KLEIN & SCHEUNERT, 1982; HUBER & OTTO, 1983 e ROBERTS, 1984). Além disso, o termo "resíduo-ligado

de pesticidas" denota a soma de diferentes espécies químicas ligadas a diferentes sítios por diferentes mecanismos (SCHEUNERT et alii, 1986). Portanto, representa um problema de investigação muitas vezes complexo (FUHR, 1984).

Segundo ROBERTS (1984), a maioria dos trabalhos foi feita sobre os resíduos-ligados em solos porque, na maioria dos casos, tal material constitui o reservatório de uma grande porção dos pesticidas residuais.

As vias diretas e indiretas de formação de resíduos-ligados no solo foram resumidamente ilustradas por KHAN (1991), conforme apresenta-se a seguir:



KHAN (1991) também afirma que, embora a formação de resíduos-ligados de pesticidas nos solos e plantas seja conhecida há aproximadamente duas décadas, seu significado tem sido avaliado criticamente há pouco tempo, desde que se tornou óbvio que estes resíduos não estão excluídos de interação com o ambiente.

A determinação da quantidade de resíduos-ligados formados é feita normalmente através de combustão do solo extraído, produzindo  $^{14}\text{CO}_2$  que é então quantificado por contagem de cintilação líquida. Segundo KHAN & DUPONT (1987) as quantidades de resíduos-ligados, expressas como porcentagem do  $^{14}\text{C}$ -pesticida aplicado, variam de 7% a 90%.

Desta forma, os resíduos-ligados de pesticidas podem constituir problema potencial para o meio ambiente pelas seguintes razões: (1) a natureza e/ou identidade dos resíduos-ligados de um pesticida não é conhecida; (2) pouco se sabe a respeito de sua bio-disponibilidade, toxicidade e natureza cumulativa; (3) os métodos analíticos convencionais podem não detectar este tipo de resíduo, subestimando assim, a carga total de resíduos presentes no solo e nas plantas, e (4) o destino dos resíduos-ligados no meio ambiente é pouco conhecido (KAUFMAN, 1976 e KHAN, 1982ab).

Portanto, o significado dos resíduos-ligados é dirigido principalmente em termos de sua bio-disponibilidade a plantas e organismos do solo, tanto em termos de quantidade, como de formas de absorção, sua persistência e mobilidade no solo (HELLING & KRIVONAK, 1978b; KLEIN & SCHEUNERT, 1982; KHAN, 1982a; ROBERTS, 1984 e EBING, 1987).

KLEIN & SCHEUNERT (1982) ainda indicam que, quando concentrações significativas de resíduos-ligados ocorrem no solo ou nas plantas, as propriedades destes resíduos em relação a bio-disponibilidade, devem ser investigadas. Entende-se como quantidades significantes, qualquer quantidade de resíduo-ligado maior que 10% da quantidade de composto originalmente aplicado, que permanece um ano após um único tratamento (HELLING & KRIVONAK, 1978a; KHAN, 1982a; IAEA, 1986 e KHAN & DUPONT, 1987). Além disso, há evidências consideráveis que demonstram a bio-disponibilidade de resíduos-ligados de pesticidas e/ou de seus produtos de degradação às plantas e à fauna do solo (KHAN, 1991).

Artigos de revisão sobre o assunto (STEVENSON, 1976; KATAN et alii, 1976; KHAN, 1982ab; KHAN & DUPONT, 1987; CALDERBANK, 1989; GOLOVLEVA et alii, 1990; KHAN, 1991 e BOLLAG, 1991) relatam que muitos pesquisadores relacionam a formação de resíduos-ligados com a ligação química na matéria orgânica do solo; porém, da mesma forma relatam trabalhos que comprovam a ocorrência de ligação física também. Mas, de modo geral, os resíduos-ligados estão relacionados

principalmente com o conteúdo de matéria orgânica do solo (KLEIN & SCHEUNERT, 1982; BARTHA et alii, 1983 e SCHEUNERT et alii, 1986).

Para melhor entendimento da dinâmica de ligação dos pesticidas nos solos, torna-se necessário explicar resumidamente o que é este ambiente. Segundo CALDERBANK (1989), o solo é formado pela ação do intemperismo e de organismos sobre as rochas e materiais orgânicos, dando origem a solos com diferentes conteúdos de argila, areia, silte e matéria orgânica. A variação na proporção destes elementos determina as características físicas e químicas do solo, isto é, sua textura, compactação, capacidade de retenção de água e nutrientes. Ele também comporta grande variedade de organismos vivos, de microrganismos a insetos, minhocas e pequenos mamíferos. A matéria orgânica, também chamada de húmus, é muito complexa e existe em muitas formas diferentes no solo. Ela inclui restos de tecidos vegetais e animais não modificados, ou parcialmente modificados, incluindo detritos de plantas, raízes, bactérias e fungos, e produtos de decomposição microbiana destes. Subdivide-se a matéria orgânica em substâncias não húmicas, como por exemplo carboidratos, proteínas, gorduras, ceras, etc., e as substâncias húmicas (STEVENSON, 1976 e CALDERBANK, 1989).

As substâncias húmicas são alomelaninas resultantes da decomposição da matéria orgânica e constituem-se principalmente de ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e húmina. Ácido húmico é o material extraído dos solos com álcali e precipitado da solução após acidificação. Ácido fúlvico é o material com peso molecular mais baixo, que permanece em solução. Estes são de interesse especial porque estão presentes em águas de superfície (KHAN, 1991), podendo agir como agentes de transporte de pesticidas do solo para águas naturais (STEVENSON, 1976 e KHAN, 1982a). A fração húmica, formada de colóides orgânicos, é insolúvel em álcali, ácidos ou solventes orgânicos, tem o maior peso molecular e é bastante complexa. Estes três componentes compreendem a fração orgânica estável do solo que, em realidade, está em estado contínuo de degradação e síntese (FUHR, 1987 e

CALDERBANK, 1989). O processo de formação das substâncias húmicas é um processo dinâmico, envolvendo a ação de microrganismos sobre o material vegetal e outros resíduos orgânicos (KAUFMAN, 1976).

A argila é composta de minerais cristalinos de quartzo, sílica amorfa, e óxidos e hidróxidos de ferro e alumínio. O silte ou limo também são minerais e tem tamanho intermediário entre a areia e a argila.

Embora argila e matéria orgânica sejam as frações do solo mais frequentemente implicadas na adsorção e ligação de pesticidas, devido a grande área de superfície ativa, as contribuições individuais de cada fração são muito difíceis de se medir. Isto ocorre porque, na maioria das vezes, a própria matéria orgânica está intimamente ligada com a argila, formando complexos ou micro-agregados nos quais a argila é coberta com substâncias orgânicas. Assim, quando o conteúdo de matéria orgânica excede determinados valores de porcentagem da composição do solo, todas as superfícies minerais do solo são efetivamente bloqueadas e não mais funcionam como adsorventes. Então, as chances do pesticida contactar primeiro com a superfície orgânica são muito grandes (FELSOT & DAHM, 1979; RYAN et alii, 1988 e CALDERBANK, 1989). Notou-se que com 6% de matéria orgânica, tanto as superfícies minerais, quanto as orgânicas estão envolvidas na adsorção de pesticidas; acima disto, a adsorção ocorre principalmente nas superfícies orgânicas (STEVENSON, 1976).

Além disso, os diferentes componentes da matéria orgânica têm grupos reativos contendo oxigênio,  $-COOH$ , estruturas  $OH$ -fenólicas,  $-alifáticas$  e  $-enólicas$ , e estruturas  $C=O$  de vários tipos, que podem formar ligações químicas estáveis com os princípios ativos dos pesticidas ou de seus metabólitos (STEVENSON, 1976 e FUHR, 1984).

SCHNITZER & KHAN (1972) sugeriram que os materiais húmicos compõem uma estrutura molecular polimérica tipo peneira-molecular. Uma das características desta estrutura proposta é que ela contém lacunas ou buracos, de diferentes dimensões moleculares, que poderiam servir como

armadilha à molécula de pesticida e/ou de seus produtos de degradação (KHAN, 1982ab; SCHEUNERT et alii, 1986 e KHAN, 1991).

A adsorção pode ser por meios puramente físicos, como através de forças de Van der Waals, ou pode ser química, por ligações eletrostáticas e pontes de hidrogênio, ou ambos (BARTHA et alii, 1983 e CALDERBANK, 1989).

Segundo STEVENSON (1976) existem evidências que indicam que os resíduos de pesticidas formam ligações químicas estáveis com as substâncias orgânicas e que estas ligações aumentam substancialmente a persistência, afetando também a volatilização, a bio-atividade, a lixiviação e a bio-degradabilidade dos compostos. FUHR(1987) afirma que já foi provado que o radiocarbono de moléculas de pesticidas é integrado predominantemente nas frações estáveis da matéria orgânica do solo.

A adsorção física de pesticidas ou resíduos deles sobre a argila e matéria orgânica do solo é vista como imobilização temporária, pois os resíduos fisicamente adsorvidos podem ser prontamente extraídos por métodos convencionais. Já as forças de ligação envolvidas na adsorção química são de intensidade intermediária e, embora restrinjam drasticamente a mobilidade dos pesticidas, estes resíduos podem ser extraídos por processos exaustivos. Porém, ocorrerem ligações químicas fortes e frequentemente irreversíveis, gerando os resíduos-ligados. Tais ligações tornam-nos não extraíveis (BARTHA et alii, 1983 ; FUHR, 1987 e CALDERBANK, 1989).

Portanto, o pesticida após atingir o solo, pode passar por diferentes processos como volatilização, lixiviação para camadas mais profundas e acumulação na biota, resultando em perda do pesticida do solo. Porém, uma parte de muitas destas substâncias está sujeita a degradação biológica, química e fotoquímica do produto original, gerando metabólitos. Além disso, parte do pesticida e/ou de seus produtos de degradação pode se ligar firmemente aos componentes do solo.

Os resíduos-ligados de vários pesticidas têm sido associados à argila, e principalmente, à todas as frações da matéria orgânica. Assim, conclui-se que os constituintes orgânicos e inorgânicos do solo podem ser considerados na pesquisa de ligação de pesticidas (KLEIN & SCHEUNERT, 1982). As implicações envolvidas na ligação de pesticidas aos constituintes do solo não são fáceis de se estimar. É claro, porém, que uma vez ligado estavelmente ao solo, os resíduos de pesticidas podem persistir por longos períodos (BOLLAG, 1991). Há trabalhos relatando presença de resíduos-ligados de pesticidas no solo, após intervalo de um a oito anos após a aplicação (CAPRIEL & HAISCH, 1984 e CALDERBANK, 1989).

Teoricamente, a ligação de pesticidas e/ou de seus derivados aos materiais húmicos reduziria os efeitos tóxicos destas substâncias. A ligação diminuiria a quantidade de composto disponível para interagir com a biota e, como a quantidade de xenobióticos é reduzida, a toxicidade também declinará (BOLLAG, 1991). Além disso, o solo tem natureza dinâmica e há síntese e degradação contínuas dos materiais orgânicos pela atividade da biomassa do solo, dos processos naturais de intemperismo tais como umidificação e ressecamento, e práticas agrícolas. Todos estes processos criam novos sítios de adsorção por decompor os agregados do solo, criando material adsorptivo ativo (FUHR, 1987 e CALDERBANK, 1989).

Porém, os resíduos-ligados de pesticidas à matéria orgânica se comportam como componentes desta, se tornando parte das moléculas precursoras do húmus, sendo novamente liberados durante a degradação do esqueleto de carbono (STEVENSON, 1976; FUHR, 1984; SCHEUNERT et alii, 1986; FUHR, 1987; FUHR & MITTELSTAEDT, 1980 e CALDERBANK, 1989). Além disso, vários trabalhos mostraram que os resíduos-ligados não são totalmente excluídos de interação com o ambiente; desta forma, qualquer perda de toxicidade não deve ser vista como permanente (KATAN et alii, 1976; FUHRMANN & LICHTENSTEIN, 1978; LICHTENSTEIN, 1980; KHAN & DUPONT, 1987 e KHAN, 1991).

Os resíduos-ligados de pesticidas e os problemas associados com seu monitoramento são preocupações relativamente recentes e importantes para o estudo de resíduos de pesticidas (HSU & BARTHA, 1976), mesmo porque SCHEUNERT et alii (1985) mostraram que muitas vezes, a porção de resíduos-ligados excede a porção de resíduos extraíveis.

KAUFMAN (1976) coloca algumas questões críticas a respeito dos resíduos-ligados: qual sua natureza e identidade; qual seu significado em termos de toxicidade, bio-disponibilidade, natureza cumulativa, etc., e, qual sua fonte? O mesmo autor ainda enfatiza que se a identidade não é determinada, mas sua disponibilidade biológica e/ou toxicidade são determinadas como de nenhum significado, então sua identidade se torna puramente acadêmica. Desta forma, torna-se claro que o importante não é apenas quanto de resíduo é definido, mas sim a questão de sua bio-disponibilidade (KLOSKOWSKI et alii, 1986; ROBERTS, 1984 e CALDERBANK, 1989) e possível efeito tóxico (KHAN, 1982a; KLEIN & SCHEUNERT, 1982; LICHTENSTEIN et alii, 1977; FUHREMANN & LICHTENSTEIN, 1978 e STRATTON & WHEELER, 1986).

Os problemas que podem surgir com relação aos resíduos em geral são: transporte dos resíduos em plantações, originando resíduos nas culturas sucessivas ou problemas de fitotoxicidade; atingir organismos do solo; transferência e/ou acúmulo em sistemas aquáticos; lixiviação para águas subterrâneas usadas para consumo animal e humano, e efeitos a longo prazo sobre a qualidade e fertilidade do solo (KEARNEY & HELLING, 1982 e CALDERBANK, 1989). Além disso, o processo de degradação do composto pode convertê-lo a produtos ainda mais perigosos para espécies não suscetíveis ao composto original, ou ainda, mais tóxicos do ponto de vista agudo ou crônico (LEVIN & KIMBALL, 1984). De qualquer forma, a bio-disponibilidade teórica de resíduos de pesticidas e/ou seus produtos de degradação no solo às plantas é baseada na distribuição do composto entre a porção adsorvida e/ou ligada e a porção diluída na solução do solo (EBING, 1987).



Assim, como afirma CALDERBANK (1989), cada situação precisam ser avaliados individualmente em detalhes antes que qualquer conclusão seja tirada.

A persistência dos resíduos ligados, isto é, sua suscetibilidade a mecanismos de degradação, até a mineralização, é o ponto central de interesse na avaliação de seu significado (ROBERTS, 1984).

Estudos de bio-degradação com resíduos-ligados de pesticidas mostram grandes variações dependendo das características físico-químicas do pesticida (KLEIN & SCHEUNERT, 1982; BARTHA et alii, 1983; SCHEUNERT et alii, 1985; RYAN et alii, 1988 e CALDERBANK, 1989). Entre as características mais importantes cita-se hidrossolubilidade, pressão de vapor e estrutura molecular (KLEIN et alii, 1984). SCHEUNERT et alii (1985) afirmam que as observações sobre tendência de formação de resíduos-ligados apontam uma relação direta entre a suscetibilidade da molécula à degradação biológica e a sua reatividade química. Assim, a natureza química do pesticida determina a suscetibilidade aos processos de degradação, sua afinidade aos solos, sua volatilidade e sua hidrossolubilidade. Os compostos mais hidrossolúveis são mais móveis no solo e mais absorvidos pelas plantas, além de serem mais passíveis à degradação (LICHTENSTEIN, 1980; FUHREMANN & LICHTENSTEIN, 1980 e KLEIN et alii, 1984). Além disso, em solos com baixo conteúdo de matéria orgânica os resíduos de pesticidas também são mais móveis, estão mais disponíveis à volatilização, ocorre maior absorção pelas plantas e maior degradação do que nos solos mais adsorventes, onde estão menos disponíveis na solução do solo. Entretanto, parece que nenhum fator isolado pode ser apontado para se prever o destino de pesticidas no ambiente, e, somente o conhecimento da interação de múltiplos parâmetros fornece dados para previsão do comportamento de uma substância no solo (LICHTENSTEIN, 1980).

KLEIN & SCHEUNERT (1982) dizem que embora os resíduos-ligados tenham sido detectados para todas as classes de substâncias químicas investigadas, seus níveis quantitativos têm diferenças grandes dependendo da estrutura

química. LICHTENSTEIN (1980), KLEIN & SCHEUNERT (1982), ROBERTS (1984), KHAN & DUPONT (1987) e CALDERBANK (1989) em artigos de revisão, relacionam a capacidade de ligação de diferentes grupos de pesticidas. Assim, pesticidas hidrocarbonetos clorados formam somente pequenas quantidades (de 1% a 9%) de resíduos-ligados ao solo. Maiores proporções são formadas por compostos que contêm grupos fenóis e nitrogênio na molécula. Os organofosforados, carbamatos e triazinas formam quantias consideráveis - entre 18% e 80%. KHAN & DUPONT (1987) afirmam que fenóis, anilinas, e seus derivados também têm alta tendência de ligação. KLEIN & SCHEUNERT (1982) e ROBERTS (1984) notaram que quanto maior o número de átomos de cloro na molécula, menor quantidade de resíduos-ligados é detectada. Deve-se ainda mencionar que alguns pesticidas organofosforados, como o paration, contêm grupos amino na molécula, ou os formam por reações de degradação, e estes podem contribuir para suas altas taxas de ligação no solo. SCHEUNERT et alii (1985) ainda afirmam que o lindano forma metabólitos fenólicos e notou-se que a quantidade de resíduos não extraíveis decresce também com o aumento do número de átomos de cloro nos metabólitos fenólicos, portanto, com o aumento na estabilidade da molécula (MANSOUR et alii, 1985).

Segundo KAUFMAN (1976) e FUHR (1987), se um dado composto irá ou não formar resíduos-ligados que serão incorporados ao húmus, vai depender dele possuir os grupos químicos ou sítios reativos. Caso ele não os possua, ele precisa primeiramente adquirí-los por processos metabólicos. Um dos exemplos mais simples deste tipo de reação é o da hidroxilação do benzeno a fenol (como ocorre com o lindano), que é subsequentemente conjugado através do grupo hidroxila.

Deve-se considerar também a concentração do composto aplicado ao solo. Esta decresce com o tempo, desde que nenhuma nova aplicação ocorra. Os processos que contribuem para o decréscimo são degradações químicas e/ou

biológicas, que são dependentes de fatores do solo e também do ambiente. Entre estes cita-se: temperatura, conteúdo de água e carbono orgânico (RYAN et alii, 1988). Quanto aos fatores do solo, WHEELER et alii (1979) observaram que quanto maior o conteúdo de carbono orgânico, maior a quantidade de resíduo-ligado formado, provavelmente como consequência de diversidade e densidade da população microbiana.

Observou-se então que a formação de resí - duos-ligados está relacionada com a dificuldade de mineralização. Esta, por sua vez, é efetuada principalmente por ataque microbiano (SETHUNATHAN, 1973; KATAN et alii, 1976; KATAN & LICHTENSTEIN, 1977; LÉVIN & KIMBALL, 1984; ROBERTS, 1984 e SCHEUNERT & KORTE, 1988), principalmente porque condições que afetam o crescimento microbiano, como temperatura e umidade, afetam a formação e degradação dos resí - duos-ligados (KATAN et alii, 1976; MARINUCCI & BARTHA, 1979; HSU & BARTHA, 1979; LASKOWSKI et alii, 1983; FUHR, 1984; OU, 1985; FUHR, 1987; SCHEUNERT et alii, 1987 e GOLOVLEVA et alii, 1990).

Vários autores, entre eles KATAN et alii (1976), KATAN & LICHTENSTEIN (1977) e HSU & BARTHA (1979), relatam que com as restrições ao uso de pesticidas organo clorados, o uso de organofosforados considerados menos persistentes, começou a ser feito intensamente. A partir daí, observou-se que o principal mecanismo de degradação do paration, por exemplo, foi por metabolismo microbiano no solo, gerando compostos não detectáveis pelas técnicas convencionais. Porém, estudos de laboratório efetuados por HSU & BARTHA (1979) mostraram que o paration não pôde ser usado como única fonte de carbono e energia para crescimento de uma única linhagem de bactéria. Mas quando se investigou o efeito de duas linhagens da bactéria Pseudomonas, observou-se utilização sinérgica do paration. Os autores concluíram que pelo menos o ataque inicial, é de natureza cometabólica, pois o cometabolismo requer a presença de um substrato de crescimento diferente do composto a ser

metabolizado.

KAUFMAN (1976), SCHEUNERT & KORTE (1988) e GOLOVLELA et alii (1990) em artigos de revisão sobre o assunto, afirmam que somente um número limitado de pesticidas ou xenobióticos pôde ser metabolizado e utilizado como fonte de carbono e energia para organismos vivos. Muito mais frequentemente, as transformações de xenobióticos são devidas ao cometabolismo por enzimas de origem animal ou microbiana. A estrutura aromática policondensada e as ligações C-halógeno (átomos de cloro, por exemplo) estão entre os grupos moleculares mais resistentes ao metabolismo. Porém, demonstrou-se que até mesmo estas ligações puderam ser quebradas por microrganismos. Os autores citam ainda, reações enzimáticas primárias de alguns compostos, como por exemplo o paration, que pode sofrer oxidação no grupo fosforotionato e hidrólise no grupo fosfato da molécula, e o lindano que pode sofrer desidrogenação do carbono.

KATAN et alii (1976), KATAN & LICHTENSTEIN (1977) e LICHTENSTEIN et alii (1977) foram os primeiros pesquisadores a mostrar que o processo de ligação do paration no solo é efetuado principalmente por microrganismos. Detectaram que no processo de degradação do  $^{14}\text{C}$ -paration, os microrganismos degradaram-no a compostos que se tornaram ligados; porém, observaram também, que mesmo em solos esterilizados a ligação ocorreu, mas quando o composto ligável foi formado antes da esterilização. Além disso, a produção de resíduos-ligados aumentou com o tempo e foi relacionado com o crescimento microbiano.

Assim, conforme observaram KHAN (1982a), MANSOUR et alii (1985), KLEIN & SCHEUNERT (1985) e GERSTL & HELLING (1985), os pesticidas ao entrarem no solo podem formar resíduos-ligados diretamente do composto original e/ou ficar disponíveis para ataque enzimático microbiano. Consequentemente, as seguintes situações de degradação podem ocorrer: a substância é degradada facilmente e metabolizada sem formação de compostos intermediários persistentes ou biologicamente ativos; ou ela é degradada a frag

mentos de baixo peso molecular que ficam circulando no reservatório de carbono; ou a substância é quimicamente alterada por metabolismo, sem quebra significativa da molécula, formando-se produtos que se juntam ao reservatório natural de carbono. A última situação é importante porque o efeito dos produtos de conversão tem que ser considerado (KHAN & DUPONT, 1987).

Para substâncias orgânicas, as mudanças primárias, principalmente oxidativas, hidrolíticas ou redutivas, podem ser acompanhadas de aumento na toxicidade ("ativação") ou de decréscimo ("desintoxicação"). Estas mudanças são seguidas por mudanças secundárias dos produtos de degradação primária, por exemplo por: alquilação, acetilação, conjugação ou ligação com moléculas biológicas (MANSOUR et alii, 1985 e GOLOVLEVA et alii, 1990).

Com os microrganismos do solo, os três tipos de reações primárias são frequentes. Os processos oxidativos são as mudanças enzimáticas mais comuns dos xenobióticos. Enzimas oxidativas de função mista são as enzimas geralmente envolvidas. Porém, hidroxilação de substâncias alifáticas e aromáticas, epoxidação e quebra oxidativa de duplas ligações, oxidação de tioeter a sulfóxido e sulfona, e desidrogenação também são bastante frequentes. Muitos desses processos resultam em ativação biológica. As conversões hidrolíticas, como por exemplo as mediadas por esterases e amidases, que são amplamente distribuídas na natureza, também são frequentes. As conversões redutivas são conhecidas para xenobióticos que contém grupos nitro na moléculas (por exemplo, o paration), que são reduzidos a amino. Ainda no solo, reações mais complexas podem ocorrer: o pesticida ou xenobiótico pode ser envolvido na formação do húmus, substituindo constituintes naturais na macromolécula do ácido húmico e neste se ligar. Porém, sempre existe a possibilidade de sua bio-liberação porque os ácidos húmicos estão constantemente sofrendo bio-síntese e degradação (MANSOUR et alii, 1985 e GOLOVLEVA et alii, 1990). Além disso, as substâncias húmicas também contém grande concen-

tração de radicais livres estáveis que podem ser importantes sítios de ligação (STEVENSON, 1976 e FUHR, 1987).

KLEIN & SCHEUNERT (1985) observaram que os resultados disponíveis forneceram boa base para previsão dos processos de bio-transformações de pesticidas que possuem certas características. Por exemplo: a estrutura  $-C=C-$  pode ser transformada em  $-COOH/COOH$  e resíduos-ligados; anéis aromáticos podem ser biotransformados em fenóis, entre outros. Além disso, a substituição do átomo de cloro resulta, frequentemente, em reatividade bioquímica mais baixa dos átomos de carbono aos quais eles estavam ligados.

Os solos contêm grande número de microrganismos com capacidade de degradar pesticidas, porém, notou-se também que existe uma concentração mínima requerida para que a população microbiana se estabeleça e proceda a biodegradação do composto. O estado de nutrientes de um solo também exerce influência considerável sobre os processos de conversão. Solos com alto suprimento de nutrientes e de compostos energéticos têm maior diversidade e número de microrganismos. Desta forma, embora a taxa de mineralização aumente, também observa-se uma incorporação mais intensa de resíduos-ligados no húmus (BARTHA et alii, 1983 e FUHR, 1987).

Demonstrou-se também que a ligação dos pesticidas aos minerais de argila influenciou na menor disponibilidade do composto para o ataque pelos microrganismos do solo, influenciando assim a taxa de degradação e, portanto, a meia-vida e persistência do composto no solo (BARTHA et alii, 1983 e CALDERBANK, 1989).

Detectou-se, de modo geral, um aumento dos resíduos-ligados com o tempo. Porém, os resíduos-ligados também são suscetíveis de degradação microbiológica. Assim, se o tempo de exposição é grande, a formação de resíduos-ligados a partir do composto original ou de seus produtos de degradação pode parecer constante. Isto se dá porque a quantidade de resíduos totais decresce com o tempo enquanto alguns metabólitos se movem para o reservatório de resíduos-ligados, que permanece praticamente constante (ROBERTS,

1984). De fato, ANDRÉA et alii (1982) e CALDERBANK (1989) observaram que experimentos com aplicações repetidas de pesticidas, simulando a prática agrícola, deixaram claro que os resíduos-ligados não se acumulam indefinidamente.

Mas, segundo KHAN (1991) uma proporção significativa de certos pesticidas e/ou seus produtos de degradação permanece nos solos como resíduos-ligados, como pode-se observar nos exemplos a seguir.

KATAN et alii (1976) detectaram, após 28 dias do tratamento de 2 tipos de solo com  $^{14}\text{C}$ -paration, aproximadamente 17% e 45% como resíduos-ligados em solo arenoso e barrento, respectivamente. Portanto, houve diferença de ligação de acordo com o tipo de solo. Além disso, a quantidade de resíduos-ligados foi menor em ambos os solos quando estes passaram por esterilização prévia. Isto prova a participação de microrganismos no processo de ligação. Os autores sugeriram que os microrganismos reduziram o inseticida a compostos que foram mais fácil e rapidamente ligados aos solos. HSU & BARTHA (1976) também propuseram mecanismo de ligação de propanil por 2 passos, isto é, a atividade microbiana levou à liberação de metabólitos e estes foram, subsequentemente, ligados à matéria orgânica do solo.

LICHTENSTEIN et alii (1977) observaram que os inseticidas organoclorados  $^{14}\text{C}$ -DDT e  $^{14}\text{C}$ -dieldrin formaram respectivamente, somente 7,9% e 6,5% de resíduos-ligados ao solo após 28 dias do tratamento e os resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -paration somaram 45%. As quantidades de  $^{14}\text{C}$ -DDT e  $^{14}\text{C}$ -fonofos ligados ao solo não foram afetadas por esterilização do solo. Isto mostrou que a natureza e o mecanismo de formação dos resíduos-ligados de diferentes pesticidas se dá de maneira diferente. Além disso, o trabalho provou que os resíduos-ligados não foram tóxicos a moscas das frutas, tendo sido, portanto, menos ativos biologicamente. Seguindo estas investigações KATAN & LICHTENSTEIN (1977) estudaram também a ligação do principal produto de degradação microbiana do paration - o aminoparation - e determinaram que a ligação

deste foi de 14 a 26 vezes maior do que a ligação do paration, mesmo em solo esterilizado. Os autores relacionaram o aumento da formação de resíduos-ligados com o aumento da população microbiana. Além disso, observaram que, uma vez formado o produto ligável, a partir do metabolismo microbiano, a ligação foi alta independentemente da presença ou ausência de microrganismos.

Como muitos herbicidas são aplicados diretamente no solo, HELLING & KRIVONAK (1978a) estudaram as características de resíduos-ligados de herbicidas dinitroanilinas na matéria orgânica dos solos. Os resultados médios observados foram: 52% no ácido fúlvico, 18% no ácido húmico e 30% na humina. Enfatizaram, porém, que as interpretações da distribuição dos resíduos-ligados nas frações da matéria orgânica precisam ser cuidadosas, porque o próprio processo de fracionamento pode ser executado com muitas variações em termos de reagentes e técnicas, resultando em diferentes porcentagens de cada fração. STILL et alii (1980) e STILL et alii (1981) observaram que uma parte dos resíduos-ligados de cloroanilinas e dicloroanilinas se torna totalmente ligada e outra é passível de liberação posterior, por ação de fungos, e pode ser absorvida por raízes de plantas.

FUHREMANN & LICHTENSTEIN (1980) ainda detectaram 4,6% e 29,1% como  $^{14}\text{C}$ -resíduos-ligados, respectivamente, a partir de  $^{14}\text{C}$ -lindano e  $^{14}\text{C}$ -paration em solo barro, e 1,3% e 6% em solo arenoso. Portanto, a formação de resíduos-ligados foi menor em solo arenoso, independentemente do inseticida; porém, sempre menor quantidade foi formada a partir do  $^{14}\text{C}$ -lindano. LICHTENSTEIN (1980) escreveu o primeiro artigo de revisão sobre este assunto e relacionou o problema de formação de resíduos não extraíveis com o problema de persistência de pesticidas no ambiente, em particular, no solo.

No Brasil, ANDRÉA et alii (1980) mostraram que após 234 dias da aplicação de  $^{14}\text{C}$ -paration em 2 solos, um mais rico e outro mais pobre em matéria orgânica (4,3% e



0,4%, respectivamente), as quantidades de  $^{14}\text{C}$ -resíduos-ligados foram 42% e 52%, respectivamente.

Também em plantas observou-se a formação de resíduos não extraíveis. KHAN (1980) demonstrou que parte da radioatividade absorvida por plantas em solo contendo  $^{14}\text{C}$ -resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -prometrina, se tornou ligada aos tecidos vegetais das plantas de aveia.

Assim, não só organoclorados e organofosforados formam resíduos não extraíveis. Pesticidas do grupo dos piretróides também os formaram, conforme observaram ROBERTS & STANDEN (1981), que detectaram de 23% a 27% de resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -cipermetrina em solos, tanto em condições de laboratório como de campo, 6 meses após a aplicação.

Outro artigo de revisão (KLEIN & SCHEUNERT, 1982) diz que os microrganismos e a matéria orgânica são os fatores mais importantes para formação de resíduos-ligados. Porém, os autores enfatizam que o aparecimento deste tipo de resíduo ocorre mesmo em solos esterilizados, sendo formados então, por reações abióticas. Afirmam ainda que, embora os resíduos-ligados aumentem com o tempo, eles são também suscetíveis à degradação microbiológica, resultando em níveis razoavelmente constantes de resíduos-ligados no solo, a despeito de um decréscimo considerável no nível de resíduos totais.

KHAN (1982c) diz ainda que, embora 70% dos  $^{14}\text{C}$ -resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -prometrina no solo tenham permanecido como não extraíveis, mesmo após prolongado tempo de exposição à luz ultra-violeta, houve uma liberação de 30% da quantidade inicialmente ligada. Este fato deve ser levado em conta na determinação da estabilidade dos resíduos-ligados no ambiente.

Também a adição de diferentes fontes de carbono aos solos, como esterco e lama de esgoto, aumentou a formação de resíduos-ligados a partir de  $^{14}\text{C}$ -paration e  $^{14}\text{C}$ -fonofós. Porém, adição de inibidores de crescimento de microrganismos inibiram esta formação (LICHTENSTEIN et alii,

1982 e RACKE & LICHTENSTEIN, 1985).

Estudos para comparar o comportamento de  $^{14}\text{C}$ -fonofós e  $^{14}\text{C}$ -paration feitos por LICHTENSTEIN et alii (1983) mostraram que o  $^{14}\text{C}$ -paration formou mais resíduos que se tornaram ligados do que o  $^{14}\text{C}$ -fonofós. Além disso, ambos inseticidas formaram mais resíduos-ligados sob condições de anaerobiose (aproximadamente 36% e 72%, respectivamente) e quando foram incorporados ao solo (aproximadamente 31% e 48%, respectivamente), do que quando foram apenas aplicados sobre a superfície do solo (aproximadamente 29% e 44%, respectivamente). Este trabalho também demonstrou que diferentes pesticidas se comportam diferentemente num mesmo solo e sob diferentes condições de tratamento. KHAN & BÉLANGER (1987) também observaram quantidades próximas de ligação de resíduos de fonofós em solo, isto é, 22% sob condições de campo.

SAXENA & BARTHA (1983) afirmam que devido a natureza química dos ácidos húmicos, a ligação do herbicida dicloroanilina, e possivelmente de outros pesticidas, pode ocorrer por diferentes mecanismos e por vários grupos funcionais dos polímeros húmicos.

O malation, outro inseticida do grupo dos organofosforados, também formou 38% de resíduos-ligados, após apenas 12 dias da aplicação, tendo sido distribuído na matéria orgânica do solo da seguinte forma: 7,8% nos ácidos húmicos, 16,8% nos ácidos fúlvicos e 19,4% na humina (HOSSAIN et alii, 1984).

A formação de resíduos não extraíveis de  $^{14}\text{C}$ -lindano foi estudada por RAGHU & FERREIRA (1984) sob condições de aerobiose e anaerobiose. Maiores níveis de formação inicial foram detectados sob condições de anaerobiose (27,7%) do que sob aerobiose (19,5%). Porém, após 120 dias

da aplicação, os níveis foram muito próximos, isto é, 24% e 29%, respectivamente.

O inseticida piretróide deltametrina também se ligou à matéria orgânica do solo, tendo se distribuído principalmente na humina, ácidos húmicos e, por último nos ácidos fúlvicos (ZHANG et alii, 1984).

ROBERTS (1984) diz que as contribuições das reações bióticas para a taxa de formação total de resíduos-ligados ao solo, demonstradas para alguns pesticidas, é grande, mas a ligação não foi totalmente suprimida por esterilização do solo. Quanto a rapidez de formação, resultados de GERSTL & HELLING (1985) demonstraram que 1% de  $^{14}\text{C}$ -resíduos-ligados de paration metílico foram formados imediatamente após a aplicação, e 50% após 14 dias em solo mantido úmido. Porém, as reações abióticas são muito importantes, mesmo que seja indiretamente, como demonstrou OU (1985) também com paration metílico e variação no conteúdo de umidade dos solos. Em solos secos a atividade microbiana é mais baixa, como consequência a redução de paration a p-nitrofenol e deste a p-aminofenol são mais lentas. Portanto, um dos principais produtos do paration associado com ligação, que é o p-aminofenol, é pouco produzido e os níveis de resíduos-ligados formados foram aproximadamente 10% menores do que em solos úmidos.

Conforme HUSSAIN et alii (1986), inseticidas carbamatos também formam resíduos-ligados ao solo em níveis de 15% a 57%. Após 20 dias da aplicação, 59% do  $^{14}\text{C}$ -carbofuran adicionado ao solo eram  $^{14}\text{C}$ -resíduos-ligados cuja distribuição se deu na seguinte ordem: 26% no ácido fúlvico, 22,4% no ácido húmico e 17,6% na humina. Os autores afirmam a importância da alta recuperação no ácido fúlvico em relação a bio-disponibilidade, porque esta é a fração solúvel predominante da matéria orgânica do solo. DEC et alii (1986) detectaram 2,4% de resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -carbofuran, imediatamente após a aplicação, e 65,7% após 16 semanas. Porém, esta ligação foi reduzida em 73% após pro-

cesso de esterilização do solo.

Também fungicidas, como a anilazina, formaram resíduos não extraíveis imediatamente após a aplicação (KLOSKOWSKI et alii, 1986 e MITTELSTAEDT et alii, 1987). KLOSKOWSKI et alii (1987) determinaram formação de resíduos-ligados de 4 herbicidas variando de 12% a 83%.

Ainda outro inseticida organofosforado, o clorfenvinfós, formou resíduos-ligados, sendo pouco mais (14%) em solo rico em matéria orgânica e menos em solo com menor conteúdo orgânico (11%), após 16 semanas de incubação (DEC et alii, 1986).

Como já citado, os pesticidas organoclorados formam menores quantias de resíduos-ligados, como também foi observado por SAMUEL et alii (1988): apenas 13% da quantidade aplicada como  $^{14}\text{C}$ -lindano eram resíduos-ligados após um ano da aplicação. WANDINGA & MGHENYI (1988) detectaram 5,7% como resíduos-ligados do mesmo inseticida, após 40 dias. Finalmente, MORENO et alii (1988) detectaram entre 11% e 13% de resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -lindano, após 300 dias da aplicação, independentemente da região geográfica e do conteúdo orgânico do solo.

Entre os principais componentes da matéria orgânica, a humina foi a mais relacionada com o processo de ligação de diferentes compostos, enquanto os ácidos húmicos foram os que menos ligaram (KHAN, 1982c; KLOSKOWSKI & FUHR, 1984; CAPRIEL & HAISCH, 1984; FUHR, 1987; KLOSKOWSKI & FUHR, 1987a e KLOSKOWSKI & FUHR, 1988).

Segundo EBING (1987), a formação de resíduos não extraíveis ou ligados é frequentemente alta, aproximadamente 50%, e é promovida por baixa hidrossolubilidade do composto, capacidade de ligação dos constituintes inorgânicos do solo, isto é, principalmente adsorção pela argila, e capacidade de ligação dos constituintes orgânicos, tais como ácido húmico, ácido fúlvico e humina. Por outro lado, a formação de resíduos-ligados é limitada por: metabolismo microbiano; metabolismo de organismos superiores e plantas; degradação por fotólise; outros processos abióticos, como

hidrólise e oxidação, e características de volatilização.

Conforme FUHR (1987) e GOLOVLEVA (1990), os resíduos-ligados uma vez incorporados na matéria orgânica, são geralmente estáveis porque a reciclagem da própria matéria orgânica é bastante lenta e a liberação de resíduos a ela associados, é provavelmente gradual. Porém, vários pesquisadores têm obtido evidências de que os resíduos-ligados de pesticidas ou de seus metabólitos são liberados mais rapidamente por ação de algumas espécies de microrganismos. Portanto, tanto a formação quanto a bio-liberação de resíduos-ligados de diferentes pesticidas estão intimamente relacionadas com a atividade microbiológica (FUHR, 1984; RACKE & LICHTENSTEIN, 1985; KLEIN & SCHEUNERT, 1985; KLOSKOWSKI & FUHR, 1987b; FUHR, 1987; EBING, 1987; KHAN & DUPONT, 1987 e GOLOVLEVA et alii, 1990).

Conforme revisão de KHAN & IVARSON (1982) e GERSTL & HELLING (1985), a questão da liberação e disponibilidade biológica potenciais dos resíduos-ligados ao solo foi estudada em vários trabalhos. FUHREMANN & LICHTENSTEIN (1978) por exemplo, conduziram experimentos para estudar a liberação do solo de 32,5% de  $^{14}\text{C}$ -resíduos-ligados de paration metílico e absorção destes por minhocas e plantas de aveia. As minhocas liberaram e absorveram quantidades crescentes de  $^{14}\text{C}$ -resíduos-ligados até 6 semanas, atingindo total de 2,7%. A maior parte do radiocarbono se tornou novamente ligada, seguida de  $^{14}\text{C}$ -compostos hidrossolúveis e uma pequena parte foi solúvel em solvente orgânico. As plantas também liberaram e absorveram parte dos  $^{14}\text{C}$ -resíduos-ligados ao solo e o radiocarbono detectado (5,1%) distribuiu-se quase igualmente entre solúveis em solvente orgânico, hidrossolúveis e ligados.

HELLING & KRIVONAK (1978b) e KHAN (1980) também detectaram liberação por plantas de resíduos-ligados de herbicida dinitroanilinas e prometrina respectivamente. Entretanto, os níveis achados nas plantas foram tão baixos que HELLING & KRIVONAK (1978b) concluíram que mesmo que fos

sem os compostos originais, qualquer efeito fitotóxico às plantas seria improvável.

Em solos com 41% de resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -terbunil foram plantadas plântulas de milho e ao final de 29 dias, 0,7% do radiocarbono foi detectado nas plantas (FUHR & MITTELSTAEDT, 1980). Os autores observaram que a disponibilidade às plantas do  $^{14}\text{C}$  não extraível comparada com a disponibilidade após a aplicação direta decresceu em 1/6.

FUHREMAN & LICHTENSTEIN (1980) detectaram absorção de radioatividade por plantas de aveia a partir de solos barro e arenoso com  $^{14}\text{C}$ -resíduos ligados de  $^{14}\text{C}$ -lindano e  $^{14}\text{C}$ -paration. O solo barro continha mais resíduos-ligados de ambos pesticidas do que o solo arenoso, conforme citado anteriormente. Mas, por outro lado, as plantas liberaram e absorveram maiores quantidades do radiocarbono-ligado do solo arenoso. Portanto, a própria ligação foi mais fraca nos solos arenosos.

ROBERTS & STANDEN (1981) tiveram evidências de que  $^{14}\text{C}$ -resíduos-ligados de cipermetrina foram mineralizados a  $^{14}\text{CO}_2$  em quantidades totais que variaram de 23% a 27% da quantidade aplicada. Além disso, plantas de trigo liberaram e absorveram de 0,14% a 0,58% dos resíduos-ligados aos diferentes solos. KHAN & IVARSON (1981) observaram que se ocorre liberação e assimilação pelas plantas, os resíduos-ligados representariam uma fonte desconhecida de contaminação para culturas, mesmo a níveis tão baixos.

KHAN & IVARSON (1982), KHAN (1982a) e KHAN (1984) mostraram que a liberação de parte dos  $^{14}\text{C}$ -resíduos não extraíveis de prometrina e/ou seus metabólitos na forma de  $^{14}\text{CO}_2$ , foi devida unicamente à atividade metabólica de microrganismos de diferentes grupos fisiológicos, como celulolíticos, proteolíticos e lignolíticos. Nenhum grupo fisiológico foi considerado mais ativo que o outro, mostrando que o

processo envolvido foi cometabolismo. Porém, a maior parte do radiocarbono permaneceu ligada ao final dos testes. Além disso, KHAN (1982b) mostrou que parte dos  $^{14}\text{C}$ -resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -prometrina no solo foram absorvidos por plantas e uma parte destes se tornou ligado a elas, principalmente na lignina.

Segundo KLEIN & SCHEUNERT (1982) e SCHEUNERT et alii (1987) a porção dos resíduos-ligados em solo e plantas aumenta com o tempo e varia com as condições ambientais (condições climáticas, tipo de solo e plantas, etc.). Porém, também ocorrem diferentes taxas de mineralização destes resíduos, dependendo da estrutura química dos pesticidas. Os autores enfatizam que a principal questão de discussão a respeito dos resíduos-ligados é o significado em relação à persistência no ambiente, mesmo quando a magnitude formada é conhecida. Pois, como diferentes microrganismos foram capazes de quebrar até mesmo ligações heterocíclicas, que resistem a hidrólises ácida ou alcalina, em princípio todo resíduo-ligado é bio-disponível às plantas. Porém, na grande maioria dos casos, a absorção pelas plantas foi abaixo de 1% da quantidade aplicada ao solo. CAPRIEL & HAISCH (1984) também detectaram absorção por milho de apenas 0,08% dos resíduos-ligados de atrazina.

Então, os microrganismos se mostraram eficientes no processo de ligação e também na liberação dos resíduos-ligados de pesticidas no solo. Mas, KHAN & IVARSON (1981) detectaram efeito inibitório dos resíduos-ligados de prometrina sobre a atividade respiratória de microrganismos. Por outro lado, a possibilidade de efeito tóxico dos resíduos-ligados sobre os microrganismos de solo foi descartada por BARTHA et alii (1983) com resíduos-ligados de dicloroanilinas.

RACKE & LICHTENSTEIN (1985) provaram que o

papel dos microrganismos na liberação de resíduos-ligados é realmente importante, pois 12,5% dos  $^{14}\text{C}$ -resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -paration foram bio-mineralizados a  $^{14}\text{CO}_2$  por atividade microbiana. Além disso, o aumento na liberação dos resíduos-ligados foi concomitante ao aumento da população de microrganismos. Também GERSTL & HELLING (1985) e HELLING et alii (1986) notaram que adição apenas de água foi suficiente para aumentar significativamente a quantidade de  $^{14}\text{CO}_2$  mineralizado a partir de resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -paration metílico. Porém, a quantidade de resíduos re-extraíveis não aumentou.

KHAN & IVARSON (1981) detectaram liberação de resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -prometrina por microrganismos de solo que atuaram, provavelmente, através da quebra da ligação entre a molécula do herbicida e a matriz de solo. A bio-mineralização de  $^{14}\text{C}$ -resíduos-ligados de inseticidas piretróides a  $^{14}\text{CO}_2$  também foi detectada pioneiramente no Brasil por MUSUMECI et alii (1990).

SCHEUNERT et alii (1985) observaram que a cinética de bio-degradação dos resíduos-ligados de alguns  $^{14}\text{C}$ -metabólitos do lindano excedeu muito a cinética de formação. Mas, a porção dos resíduos-ligados, quando comparada ao total de resíduos, aumentou com o tempo, indicando que os resíduos-ligados foram mais persistentes que os compostos originalmente aplicados.

Conforme KLOŠKOWSKI et alii (1986) o fungicida anilazina formou resíduos-ligados muito rapidamente, mas a bio-mineralização deles foi muito baixa, assim como a absorção por plantas. RAGHU & DREGO (1986) detectaram  $^{14}\text{C}$ -resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -lindano em solo, tanto em condições anaeróbicas quanto aeróbicas, porém a liberação e a absorção por plantas foram maiores em condições aeróbicas. O processo de liberação também foi diferente conforme as condições, isto é, a liberação em condições aeróbicas foi sob a forma de resíduos re-extraíveis, e em condições anaeróbicas foi por evolução de  $^{14}\text{CO}_2$ . Porém, de modo geral, a quantidade de resíduos-ainda-ligados excedeu as quantidades bio-liberadas.



KHAN & BÉLANGER (1987) detectaram <sup>14</sup>C-resíduos-ligados em cebola plantada em solo com resíduos-ligados em proporção pouco maior do que os <sup>14</sup>C-resíduos extraíveis. Portanto, além da planta ter liberado o resíduo-ligado, ela os transformou e parte dos resíduos se tornaram novamente ligados às plantas. KLOSKOWSKI et alii (1987) observaram absorção de resíduos-ligados de diferentes pesticidas por plantas, em quantidades que variaram de 0,03% a 2,6% , conforme a substância ativa e o solo usados. Também detectaram liberação de <sup>14</sup>C-resíduos-ligados no próprio solo sob forma de compostos hidrossolúveis. Porém, KHAN & DUPONT (1987) afirmam que apesar de ter ocorrido liberação de resíduos-ligados sob forma de resíduos re-extraíveis, após adição de inóculo de solo fresco, a maior parte permaneceu ainda-ligada. Os autores sugeriram que os microrganismos, a princípio, liberaram os resíduos-ligados que foram então degradados no solo a produtos hidrolizados e dealquilados.

Portanto, em princípio, todas as substâncias químicas podem ser atacadas e mineralizadas por microrganismos; porém, a taxa de mineralização varia muito conforme a substância (SCHEUNERT et alii, 1987). Segundo FUHR (1987) e CALDERBANK (1989), durante as mudanças que ocorrem continuamente nas frações de carbono estável do solo, os constituintes moleculares dos resíduos-ligados de pesticidas são proporcionalmente liberados. Isto leva à disponibilidade dos resíduos que são, então, posteriormente degradados a compostos extraíveis ou também ligados, ou translocados para zonas mais profundas, ou absorvidos por culturas ou animais. Desta forma, ao mesmo tempo que são formados os resíduos-ligados eles também são degradados, por isso tendem a formar um platô, conforme observado por ANDRÉA et alii (1982). Além disso, CALDERBANK (1989) ainda afirma que além dos processos microbiológicos, mudanças químicas no solo devidas a mudanças ambientais, ou mudanças nas práticas agrícolas poderiam liberar os resíduos-ligados para a solução do solo. Porém, a despeito da liberação ocorrer, as quantidades detectadas nas plantas foram sempre muito pequenas. Mais ain-

da, não há evidências que qualquer radioatividade absorvida pelas plantas a partir de  $^{14}\text{C}$ -resíduos-ligados de pesticidas possua qualquer atividade biológica.

KHAN & BEHKI (1990) observaram pequenas quantidades de  $^{14}\text{C}$ -resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -atrazina liberadas de solo sem microrganismos, porém, quantidades muito maiores foram liberadas por ação de bactérias. Os autores sugeriram que a matéria orgânica contendo os resíduos-ligados serviu como substrato alternativo de fonte de carbono às bactérias, que então bio-liberaram os resíduos presentes nela.

Não só bactérias foram capazes de liberar resíduos não extraíveis, pois STILL et alii (1980) demonstraram que fungos que degradam matéria orgânica foram capazes de liberar resíduos-ligados de dicloroanilinas do solo. NELSON & KHAN (1990) demonstraram que hifas do fungo endomicorriza Glomus liberaram  $^{14}\text{C}$ -resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -fonofos e os transferiram para plantas de cebola. Apesar da quantidade detectada ter sido no máximo 1%, os dados sugeriram que sob condições de campo, a infecção com endomicorizas poderia aumentar a bio-disponibilidade de resíduos-ligados de pesticidas para plantas.

Novamente FUHREMANN & LICHTENSTEIN (1980) mostraram que plantas absorveram tanto resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -lindano como de  $^{14}\text{C}$ -paration e os transformaram em  $^{14}\text{C}$ -produtos hidrossolúveis e  $^{14}\text{C}$ -ligados. KHAN et alii (1984b) detectaram resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -deltametrina em feijão e também  $^{14}\text{C}$ -compostos hidrossolúveis. Já HELLING & KRIVONAK (1978b) observaram que plantas não conseguiram extrair os resíduos-ligados de herbicidas (nitroanilinas) do solo. KLOSKOWSKI et alii (1987) observaram que a absorção de resíduos-ligados por plantas foi geralmente menor que 1%, embora as quantias presentes no solo tenham variado de 12% a 83%. Finalmente, BERTIN et alii (1990) detectaram absorção de 1,24% a 1,77% de resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -atrazina por plantas de milho provenientes de solo contendo apenas os resíduos-ligados.

Desta forma, conforme GOLOVLEVA et alii (1990),

os microrganismos têm papel essencial na bio-conversão e degradação total de pesticidas no ambiente. Em certos solos, a eficácia dos pesticidas é reduzida devido a taxa de degradação aumentada. Em outros, a acumulação de resíduos no ambiente tem se tornado um problema. Alguns resíduos se tornam ligados ao solo, mas sob condições específicas podem ser liberados e então absorvidos por plantas. Citam, entre outros exemplos, que linhagens de Pseudomonas atuaram na hidrólise do paration e outra linhagem atuou na de-halogenação oxidativa do lindano.

BOLLAG (1991) observou que a maioria dos dados disponíveis indica que a liberação dos resíduos-ligados é mínima. Porém, KHAN (1991) diz que os estudos sobre liberação potencial e condições para que a liberação se dê devem continuar a ser feitos, pois não há muita informação a respeito da natureza e atividade biológica potencial dos resíduos-ligados e muitos pesticidas e/ou seus produtos de degradação podem se ligar em quantias apreciáveis.

De qualquer forma, os resíduos-ligados investigados até o momento parecem ser suscetíveis ao ataque microbiano e se tornar disponíveis para plantas, animais ou sofrerem lixiviação para águas subterrâneas (HELLING & KRIVONAK, 1978b; LICHTENSTEIN, 1980; KHAN, 1982ab; BARTHA et alii, 1983; ROBERTS, 1984 e KHAN, 1991). Além disso, como enfatizaram FUHREMANN & LICHTENSTEIN (1978), KHAN (1982ab), GERSTL & HELLING (1985) e KHAN (1991), a incapacidade de se extrair os resíduos-ligados tem pouco significado, a menos que seja relacionada com sua bio-liberação e bio-disponibilidade. Assim, a perda da toxicidade dos resíduos-ligados pode ser, de fato, temporária (KAUFMAN, 1976; LICHTENSTEIN, 1980; GERSTL & HELLING, 1985 e GOLOVLEVA et alii, 1990).

Conforme STRATTON & WHEELER (1986), experimentos com variedade de classes de pesticidas indicaram que o nível de resíduos-ligados formados varia com a espécie da planta, com o pesticida e com o tempo de exposição da planta ao pesticida. Exemplificaram com a ligação de carbôfuran em rabanete que foi de 30% um dia após a aplicação,

e a ligação do dieldrin foi menor, isto é, 25% somente após 21 dias da aplicação. Estes autores concluíram que parte dos resíduos-ligados é potencialmente disponível a animais e ao homem que consomem plantas, existindo a possibilidade dos resíduos-ligados serem solubilizados pelos processos digestivos.

Outro fator a contribuir para mudança de comportamento dos resíduos-ligados de pesticidas é a presença da rizosfera. KHAN (1991) afirma que os exsudatos das raízes podem contribuir para a incorporação de pesticidas no solo. Conforme observado por HSU & BARTHA (1979), os exsudatos determinam a existência de uma população microbiana enriquecida na rizosfera, que favorece também as transformações metabólicas de pesticidas. De acordo com isto, HSU & BARTHA (1979) afirmam que a rizosfera é um ambiente especialmente favorável para transformações cometabólicas de pesticidas.

HANCE & BYAST (1984) sugerem a ocorrência de mudanças qualitativas e quantitativas na degradação de pesticidas em solos com e sem plantas. Afirmam que, intuitivamente, isto pode ser esperado porque a população microbiana da rizosfera é mais ativa e ali ocorrem diferenças na composição de espécies, em relação ao solo livre de raízes. ALEXANDER (1977), FUHR (1987) e GOLOVLEVA et alii (1990) afirmam que o solo é mais ativo na zona da rizosfera por envolver quatro compartimentos profundamente relacionados com a intensa transformação do carbono: tecido de raízes, biomassa do solo, matéria orgânica do solo e os microrganismos ativos.

HSU & BARTHA (1979) detectaram que apenas raízes de plantas, sem os microrganismos da rizosfera, falharam na bio-mineralização de paration, o que não ocorreu com a rizosfera. Sugeriram que as raízes promoveram uma seleção dos microrganismos na zona da rizosfera que, por sua vez, foram mais ativos na degradação do paration. Isto é, ocorreu mudança qualitativa da comunidade microbiana deste ambiente.

Assim, as raízes podem absorver os compostos orgânicos presentes na solução do solo próxima a elas (FUHR & MITTELSTAEDT, 1980). Além disso, KEARNEY & HELLING (1982) citam variáveis relacionadas às plantas que podem também afetar o processo de absorção de pesticidas, como : padrões de crescimento (por exemplo, culturas de tubérculos e culturas aéreas); conteúdo de óleo, e estágio de crescimento, além das características dos próprios pesticidas, já citadas anteriormente.

Portanto, é agora óbvio que o reservatório de resíduos-ligados ao húmus é capaz de produzir contaminação de culturas de plantas, mesmo nos casos em que o pesticida não tenha sido aplicado diretamente na cultura (BARTHA et alii, 1983).

Nas plantas também se formam resíduos-ligados, conforme já citado, e estes foram associados principalmente com a lignina (KHAN, 1982a e KHAN & DUPONT, 1987).

É natural então imaginar-se que animais alimentados com plantas contendo resíduos-ligados poderiam ser contaminados. A este respeito KHAN & DUPONT (1987) observam que é sabido que a excreção urinária e/ou biliar de um composto significa que o material é bio-disponível. Porém, apenas eliminação fecal sem excreção biliar, indica que o material não é bio-disponível. Estudos a este respeito indicaram que os resíduos-ligados de plantas foram pouco disponíveis a animais e sem efeito tóxico (DOROUGH, 1976; SUTHERLAND, 1976; KHAN et alii, 1985 e KHAN & DUPONT, 1987).

Resta ainda citar outro fator que influencia o comportamento de pesticidas no solo, com suas possíveis consequências para culturas de plantas e o ambiente como um todo, que é o tempo de interação do pesticida com o solo, ou envelhecimento dos resíduos de pesticidas aplicados. FUHR & MITTELSTAEDT (1980) e KLOSKOWSKI & FUHR (1987b) estudaram a bio-disponibilidade de resíduos-ligados e de resíduos do herbicida terbunil que ficaram interagindo com o solo e observaram valores de 1/6 e 1/3, respectivamente, em relação à bio-disponibilidade do pesticida recém aplicado. Portanto, conforme obser-

vado por FUHR(1987) e KLOSKOWSKI & FUHR (1988), não só os resíduos-ligados foram menos disponíveis, mas o processo de envelhecimento dos resíduos também tornou-os menos disponíveis em relação ao pesticida recém aplicado. KLOSKOWSKI & FUHR(1987b) sugerem que a ligação dos resíduos envelhecidos, isto é, que interagiram com o solo, é mais fraca do que a ligação que forma os resíduos realmente ligados, isto é, que interagiram e se tornaram ligados. Os mesmos autores também detectaram bio-mineralização dos resíduos envelhecidos seis vezes maior do que a dos resíduos-realmente-ligados.

SMITH et alii (1988) e CALDERBANK (1989) dizem que os efeitos do tempo de residência do pesticida no solo ainda não são bem entendidos, embora considere-se que envolvam mecanismos de aumento na adsorção do composto nos colóides do solo, e difusão das moléculas dos pesticidas nos colóides da argila e do húmus. Estes processos podem fornecer proteção à quebra microbiana, decomposição química e perdas por volatilização, por reduzirem a concentração de pesticida disponível na solução do solo. Desta forma, os resíduos envelhecidos podem ser também mais resistentes à extração.

Apesar de já estar bem estabelecido que vários pesticidas e/ou seus metabólitos formam quantidades apreciáveis de resíduos-ligados, sua natureza é ainda pouco conhecida (KHAN, 1991). A determinação desta natureza requer técnicas mais avançadas que, até o momento, estão no início do desenvolvimento, e são aplicáveis somente para poucas classes químicas (KLEIN & SCHEUNERT, 1982).

Os métodos usados para elucidar a identidade química dos resíduos-ligados devem quebrar as ligações que fixam o xenobiótico à macromolécula natural, sem causar mudanças químicas na molécula (KHAN, 1982ab; KLEIN & SCHEUNERT, 1982 e ROBERTS, 1984). Métodos hidrolíticos, pirolíticos e digestão com ácidos ou álcalis fortes têm sido propostos. Os dois primeiros são aplicáveis para, por exemplo, anolinas; mas, para substâncias químicas sensíveis ao ataque hidrolítico ou térmico, ou que são decompostas por ácidos e álcalis, o problema de identificação

não está resolvido (KHAN, 1982ab; KLEIN & SCHEUNERT, 1982; ROBERTS, 1984 e CALDERBANK, 1989).

KHAN & HAMILTON (1980) descreveram a técnica de destilação por alta temperatura (HTD) para liberação e identificação de resíduos-ligados. Esta técnica envolve decomposição térmica da matéria orgânica que parece enfraquecer a estrutura, eliminando os grupos funcionais e, eventualmente, decompondo o núcleo. Isto permite a liberação dos resíduos-ligados presos em armadilhas da estrutura (KHAN, 1982c). KHAN et alii (1984a) usaram HTD para liberação de resíduos-ligados em rabanete e observaram as seguintes recuperações: 95,3% para dieldrin, 67,4% para permetrina e 57,2% para carbofuran.

Porém, HELLING et alii (1986) também usaram HTD para identificar os resíduos-ligados de paration ao solo e observaram que a técnica falhou, mesmo quando se diminuiu a temperatura dos 800°C convencionais para 400°C. Mas, puderam identificar parte dos resíduos-ligados como o próprio composto original, através de extração super-crítica. Os autores afirmam que as altas temperaturas usadas pela HTD quebram a estrutura não só de pesticidas, como das porções aromáticas mais estáveis da matéria orgânica do solo.

O método de extração com metanol super-crítico foi descrito por CAPRIEL et alii (1986) que mostraram melhores recuperações para a maioria dos casos. Porém, mesmo utilizando-se extração com metanol super-crítico, a extração de  $^{14}\text{C}$ -resíduos-ligados de paration metílico foi somente de 38%. Também observaram que mesmo por este método é possível que ocorram algumas alterações químicas de pesticidas e/ou seus metabólitos.

Desta forma, novas técnicas estão sendo estudadas na tentativa de liberar e identificar os resíduos-ligados, embora todas elas ainda apresentem algum problema. Porém, como já citado anteriormente, mais importante que a identificação, é a possibilidade de contaminação de culturas de plantas, animais e águas subterrâneas por libera-

ção dos resíduos-ligados (KHAN, 1991).

LEVIN & KIMBALL (1984) propõem uma série de testes para estudos dos efeitos ecotoxicológicos de pesticidas, e KLEIN & SCHEUNERT (1985) afirmam que testes que avaliem a bio-transformação total, podem ser necessários para classificação do perigo potencial ao ambiente representado por xenobióticos.

KLEIN & SCHEUNERT (1985) ainda enfatizam que experimentos para estudar a bio-liberação através da produção de dióxido de carbono por metabolismo, somente são possíveis em laboratório e através do uso de  $^{14}\text{C}$ -substâncias. Torna-se evidente que experimentos de balanço de massa não são possíveis sob condições de campo, porque não só o  $^{14}\text{CO}_2$ , mas também os produtos voláteis de conversão são perdidos para a atmosfera. Além disso, a estimativa das taxas totais de conversão no solo e plantas é difícil, por causa das perdas imensuráveis devidas à lixiviação dos compostos para camadas mais profundas do solo, ou para águas subterrâneas. Esses autores e também FUHR (1987) enfatizam que até hoje, nenhum método foi reconhecido por autoridades oficiais como teste padrão, embora os estudos de laboratório sobre bio-transformação total forneçam indicações qualitativas que permitem previsão do comportamento da substância no ambiente.

Entretanto, HSU & BARTHA (1979) notaram que em experimentos sobre estudos de meia-vida de pesticidas conduzidos em laboratório, a persistência de pesticidas pareceu maior do que a partir de experimentos de campo. As causas para isto podem ser complexas, pois envolvem fatores do ambiente, como: evaporação, lixiviação e foto-degradação.

Além disso, FUHR (1984) afirma que as investigações sobre destino de pesticidas no solo são extremamente complexas, pois mesmo para experimentos de campo, a qualificação dos resultados é válida somente para o lugar e tempo de experimentação. Assim, os dados de testes de laboratório com condições padronizadas são válidos para obtenção de dados de degradação relativa de vários pesticidas. As diferenças observadas entre os resultados de testes de



degradação sob condições de laboratório e experimentos de campo se devem às mudanças drásticas de temperatura e umidade que ocorrem na natureza, além disso, no campo há os exsudatos de raízes que, assim como os resíduos de plantas em decomposição, contribuem como suprimento adicional de energia para os microrganismos. Ainda deve-se levar em conta que no solo do campo ocorrem microsítios anaeróbicos, que também têm efeito na degradação de pesticidas.

De qualquer forma, conforme LASKOWSKI et alii (1983), a informação sobre taxa de degradação é a chave para o entendimento do comportamento de pesticidas no ambiente. Como os estudos de campo ainda podem ser condicionados por variáveis que não podem ser controladas, como clima, taxa e forma de aplicação e amostragem, os estudos de laboratório, se projetados apropriadamente, podem responder às principais questões. Estas são: tempo de desaparecimento do composto no solo, e quanto da taxa de degradação seria modificada por mudanças no clima e na localidade.

Experimentos de laboratório com sistemas fechados, como os de BARTHA & PRAMER (1965) e KEARNEY & KONTSON (1976), e também a utilização de microecossistemas como os de FUHREMANN & LICHTENSTEIN (1978), fornecem informações sobre a cinética de degradação de pesticidas em vários solos, sob as mesmas condições padronizadas e sobre a média de tempo para 50% de degradação.

Segundo EBING (1987), os testes de laboratório são usados para avaliação de fatores selecionados sob condições padronizadas. Em geral, os resultados de tais testes básicos são interpretados quanto ao comportamento da substância e fornecem base importante para decisões de regulamentação.

A persistência foi um dos principais e primeiros efeitos detectados no ambiente, de pesticidas usados há mais tempo. Como consequência, os pesticidas organoclorados, de modo geral, foram classificados como mais persistentes e os organofosforados, como menos persistentes no ambiente; mesmo que posteriormente esta classifica-

ção tenha sido revista de acordo com a formação de resíduos-ligados (KATAN & LICHTENSTEIN, 1977 e SOMASUNDARAM & COATS, 1991).

O lindano, que é um dos inseticidas organoclorados, é uma substância relativamente persistente, pois seus resíduos permanecem no ambiente por longos períodos de tempo (VISWANATHAN et alii, 1988). Entretanto, conforme RAMAMOORTHY (1985) e MANSOUR et alii (1985), o lindano é um dos poucos inseticidas organoclorados ainda muito usados na agricultura, além de já ter sido usado intensamente durante muito tempo.

Já o inseticida e acaricida organofosforado paration é um dos inseticidas mais importantes, pois é usado com muita frequência na agricultura como inseticida de contacto (MANSOUR et alii, 1983).

O comportamento destes dois pesticidas no solo foi estudado em vários aspectos, porém resíduos deles ocorrem no ambiente, através da produção contínua e disseminação inevitável de produtos de aplicação e descarte. Estes, influenciados por vários fatores ambientais, de acordo com a região em que são aplicados, se espalham no ambiente (VISWANATHAN et alii, 1988 e KATAN & LICHTENSTEIN, 1977).

Entre as características físico-químicas dos pesticidas que influenciam seu comportamento, cita-se a pressão de vapor, que atua sobre a volatilização ao ambiente (KILZER et alii, 1979). RYAN et alii (1988) forneceram a pressão de vapor do lindano e do paration como  $9,4 \times 10^{-6}$  e  $3,8 \times 10^{-5}$  mm de Hg a 20°C, respectivamente.

Portanto, teoricamente, por estes dados, o lindano é menos volátil que o paration.

Outro fator que indica o comportamento do pesticida na solução do solo e, portanto, sua

disponibilidade para absorção pelas plantas, adsorção às partículas de solo, e bio-disponibilidade para microrganismos, é o coeficiente de partição octanol/água ( $K_{ow}$ ). BROMILOW et alii (1986) classificam os organoclorados, e também o paration, como pesticidas lipofílicos não sistêmicos com  $\log K_{ow}$  de 3 a 6, portanto pouco disponíveis nas soluções aquosas.

Em relação ao comportamento do lindano, MANSOUR et alii (1985) propõem vias de conversão no sistema solo - planta por dehalogenação e desidrogenação, ou ainda, desidrohalogenação, que resultam em produtos contendo de 2 a 6 átomos de cloro, ou também, fenóis. Como já citado anteriormente, quanto maior o número de átomos de cloro na molécula, menor a formação de resíduos-ligados, enquanto os fenóis também têm alta tendência à ligação (KLEIN & SCHEUNERT, 1982 e ROBERTS, 1984).

CHESSLES et alii (1988) detectaram maior persistência do lindano em solos arenosos e com alto conteúdo orgânico. SETHUNATHAN (1973) relatou diversos trabalhos nos quais o lindano foi degradado por microrganismos. Os fatores do ambiente que mais influenciaram na degradação do lindano foram os correlacionados com as condições que favorecem o crescimento de microrganismos, isto é, maiores temperaturas e maior conteúdo de matéria orgânica. Resultados de TU (1976) estabeleceram claramente que o lindano pôde ser usado como única fonte de carbono por alguns microrganismos isolados de solo. Há relatos de perda do lindano do solo por volatilização, e maior perda sob condições anaeróbicas (GUENZI & BEARD, 1970; FARMER et alii, 1972; SETHUNATHAN, 1973; SCHEUNERT et alii, 1987 e PANDA et alii, 1988). SCHEUNERT et alii (1987) relacionam a maior degradação sob condições anaeróbicas, com degradação primária do lindano envolvendo dehalogenação redutiva. MACHOLZ & KUJAWA (1985)

relacionaram mais de 80 metabólitos do lindano e afirmaram que seu metabolismo é influenciado por efeitos sinérgicos ou antagônicos de outros contaminantes.

LUCHINI et alii ( 1984 ) estudaram a adsorção de vários organoclorados e fosforados em vários solos brasileiros e detectaram para o lindano , os níveis mais baixos de adsorção . Além disso , a correlação da adsorção com o conteúdo de matéria orgânica dos solos não foi das mais altas ; porém , observaram grande correlação com o conteúdo de silte . Com a areia a correlação foi negativa , isto é , quanto maior o conteúdo de areia , menor a adsorção . O lindano foi também um dos pesticidas mais móveis em camadas delgadas de solo . Também no Brasil , HIRATA et alii ( 1985 ) observaram que a principal via de dissipação do  $^{14}\text{C}$ -lindano em solo com baixo conteúdo orgânico foi por volatilização , e em solo mais rico em matéria orgânica , foi por formação de resíduos-ligados . RUEGG et alii ( 1987 ) também em condições brasileiras , observaram que a partir de 120 dias da aplicação , a quantidade de resíduos-ligados ( 52% ) excedeu a quantidade de resíduos extraíveis ( 12% ) , em solo com 4,3% de matéria orgânica . Porém , após 300 dias , estes valores se aproximaram , isto é , foram 11% e 19% , respectivamente . Em outro solo com apenas 0,36% de matéria orgânica , a quantidade extraível foi geralmente maior do que a ligada , tendo sido , 21% e 14% , respectivamente após 120 dias , e 7% e 11% , respectivamente após 300 dias .

Outros trabalhos sobre formação de resíduos-ligados de lindano em vários países dão conta de valores da ordem de 5,7% a 14% ( SAMUEL et alii , 1988 ; WANDINGA & MGHENYI , 1988 e MORENO et alii , 1988 ) . RAGHU & DREGO ( 1986 ) detecta -

taram maior liberação de resíduos-ligados a partir da aplicação do  $^{14}\text{C}$ -lindano em solos, sob condições aeróbicas.

Além disso, LEE & KIM (1981) detectaram contaminação de plantas de arroz provenientes de solo contendo  $^{14}\text{C}$ -lindano. A análise dos resíduos indicou a presença não só do composto original, como de metabólitos hidrossolúveis e solúveis em solvente orgânico. KATHPAL et alii (1988) detectaram de 50% a 63% de dissipação do lindano após 3 meses e de 98% após 9 meses, sob condições subtropicais. As plantas de arroz cultivadas no solo tratado também absorveram os resíduos, porém o nível de contaminação dos grãos foi menor do que os índices permitidos. No Brasil, FERREIRA et alii (1988) detectaram contaminação de 83,5% das amostras de solos de 56 municípios do Estado de São Paulo; principalmente solos sob cultivo de algodão, amendoim, arroz, batata, café, cana-de-açúcar, soja, etc..

Em relação ao comportamento do paration, GOMAA & FAUST (1972) propõem mecanismos de degradação envolvendo hidrólises e oxidações que liberam metabólitos como o paraoxon, que é ainda mais tóxico do que o composto original, e p-nitrofenol (MANSOUR et alii, 1983). Há também liberação de p-aminofenol e aminoparation por mecanismos de redução, e estes juntamente com compostos fenólicos, são compostos com grande potencial de ligação (KATAN et alii, 1976; KATAN & LICHTENSTEIN, 1977 e GERSTL & HELLING, 1985). Ainda pode ocorrer formação de paraoxon por fotólise (SCHEUNERT et alii, 1987). GERSTL & HELLING (1985) acrescentam, afirmando que os compostos fenólicos podem ser degradados a substâncias orgânicas mais simples e, finalmente a  $\text{CO}_2$ .

LICHTENSTEIN et alii (1982) verificaram que a adição de substâncias que promovem o crescimento de microrganismos ao solo tratado com paration, aumentou a formação de resíduos-ligados. Por outro lado, adição de substâncias que inibem a microbiota inibiram a formação de resíduos-ligados.

Quanto a adsorção de paration em diferentes

solos, LUCHINI et alii (1984) determinaram valores médios e altamente correlacionados principalmente com o conteúdo de matéria orgânica e argila dos solos. A mobilidade do paration nas camadas delgadas de solo foi média.

A degradação do paration tem sido intimamente relacionada com atividade microbiológica, tanto em sistemas aeróbicos como anaeróbicos, sendo que a redução do grupo nitro da molécula tem sido apontada como o principal mecanismo (SETHUNATHAN, 1973). Hidrólise do paration também ocorre em solo sob ação microbiana, e tanto o paration quanto o p-nitrofenol formados puderam ser utilizados por microrganismos isolados de solo, como única fonte de carbono (NELSON, 1982; NELSON et alii, 1982; ANDRÉA et alii, 1982; ANDRÉA & RUEGG, 1982 e GOLOVLEVA et alii, 1990). A bio-mineralização do  $^{14}\text{C}$ -paration a  $^{14}\text{CO}_2$  foi influenciada pelo conteúdo de umidade somente em solos com conteúdo de matéria orgânica mais alto, onde também foram detectadas maiores quantidades de  $^{14}\text{CO}_2$  (ANDRÉA et alii, 1980 e OU et alii, 1983). OU (1985) observou, após 35 dias de tratamento de solo com  $^{14}\text{C}$ -paration, que quanto maior a umidade do solo, mais  $^{14}\text{CO}_2$  foi produzido, maior a quantidade de produtos hidrossolúveis e p-nitrofenol, menores quantidades de p-aminofenol e valores de resíduos-ligados pouco maiores que nos solos mais secos. O autor concluiu que o conteúdo de água do solo influencia sobre a degradação do paration em 3 estágios: quando o solo está seco, a atividade microbiana é baixa e o solo está completamente aeróbico. Como resultado, a mineralização é lenta e a redução do p-nitrofenol a p-aminofenol também é lenta. Quando o solo está úmido, a mineralização é rápida por causa da alta atividade microbiana e o paration desaparece rapidamente. Quando o solo está próximo da saturação, a mineralização é muito lenta, porém, o paration é rapidamente degradado.

LICHTENSTEIN (1980) e FUHREMANI & LICHTENSTEIN (1980) observaram ligação mais alta do paration em solo barro do que em solo arenoso; além disso,

processos de esterilização do solo por autoclavagem ou irradiação gama reduziram a ligação de 58% a 84%.

ANDRÉA et alii (1980) detectaram de 42% a 52% como resíduos-ligados de paration, após mais de 200 dias da aplicação do inseticida em solos com maior e menor conteúdo orgânico, respectivamente. ANDRÉA et alii (1982) e ANDRÉA et alii (1983) também observaram que, independentemente do número de aplicações e do solo em questão com ou sem plantas, a ligação de resíduos do paration atingiu valores estáveis em torno de 22% e 30%, após o que, mudou pouco. LICHTENSTEIN et alii (1983) detectaram níveis de 32% a 48% de resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -paration em solo, respectivamente após 2 e 4 semanas do tratamento.

Além disso, HSU & BARTHA (1979) mostraram que a presença da rizosfera foi estimulatória da mineralização do  $^{14}\text{C}$ -paration a  $^{14}\text{CO}_2$ , sugerindo interações co-metabólicas e/ou sinérgicas entre as raízes das plantas e microrganismos do solo da zona de rizosfera, facilitando a bio-degradação do paration.

LICHTENSTEIN et alii (1983) detectaram apenas 0,5% de radiocarbono proveniente de  $^{14}\text{C}$ -paration em plantas de aveia crescidas por 2 semanas em solos contendo o pesticida. Além disso, os resíduos eram principalmente compostos hidrossolúveis. ANDRÉA et alii (1983) detectaram menos de 2% em plantas de arroz, 5 semanas após o plantio em solo contendo  $^{14}\text{C}$ -paration.

A liberação de resíduos-ligados de paration por plantas e minhocas foi provada por FUHREMANN & LICHTENSTEIN (1978) e FUHREMANN & LICHTENSTEIN (1980), e por mineralização a  $^{14}\text{CO}_2$  por GERSTL & HELLING (1985). Estes últimos concluíram que os resíduos-ligados de paration não são facilmente liberados por conversão a substâncias extraíveis, mas são lentamente mineralizados a  $\text{CO}_2$ .

Finalizando, as pesquisas sobre pesticidas sintéticos têm sido conduzidas há mais ou menos 50 anos, porém, a maioria dos esforços foi centrada no próprio composto original. Sabe-se agora que os pesticidas formam me-

tabólitos, muitas vezes mais tóxicos que o composto original, e além disso, formam os resíduos-ligados que podem ser reliberados para o ambiente. Mas, conforme SOMASUNDARAM & COATS (1991), o lento progresso no campo do estudo dos produtos de transformação dos pesticidas pode ser atribuído a 3 fatores: baixas concentrações nas quais tais produtos são formados ; suposição que os pesticidas são geralmente mineralizados a produtos sem significado para o ambiente, e falta de técnicas analíticas adequadas. Porém, também conforme KHAN (1991), estudos toxicológicos e estudos sobre o destino de pesticidas no ambiente, incluindo bio-disponibilidade e atividade toxicológica, e quando possível, a identificação dos resíduos-ligados precisam ser conduzidos.

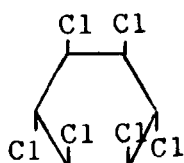


### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Material

##### 3.1.1. Inseticidas

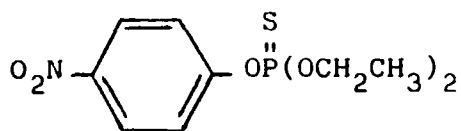
O lindano, ou gama-BHC, ou gama-HCH, por exemplo, é o isômero gama do 1,2,3,4,5,6-hexaclorociclohexano é inseticida fito e zoossanitário organoclorado, classificado como medianamente tóxico e persistente. Apresenta deslocamento no ambiente e é aplicado em partes aéreas e/ou sementes das culturas de algodão, cacau, café, cana-de-açúcar, frutas, hortaliças, leguminosas, mandioca, etc.. Também é usado como tratamento de solo durante o plantio de cereais e citros (GELMINI et alii, 1986 e VISWANATHAN et alii, 1988). O lindano tem a seguinte fórmula estrutural:



O composto grau técnico foi obtido na Seção de Química do Instituto Biológico, que certificou a pureza química de 92,4% por cromatografia gasosa. O correspondente radiomarcado ([U-<sup>14</sup>C]-hexaóxido de benzeno) foi obtido da "Amersham International", Amersham, Inglaterra, com atividade específica de 2,33 GBq/mmol (ou 63 mCi/mmol) e pureza radioquímica de 98% determinada por cromatografia em camada delgada.

O paration, ou paration etílico, ou dietil p-nitrofenil fosforotioato, é um inseticida e acaricida fitossanitário organofosforado, classificado como altamente tóxico e de curta persistência no ambiente, não apresentan-

do deslocamento. É aplicado em partes aéreas de culturas de bulbos, cereais, frutas em geral, hortaliças, leguminosas, batatas, algodão, soja, cana-de-açúcar, café, pastagens, etc. (GELMINI et alii, 1986). O paration -  $C_{10}H_{14}NO_5PS$  (dielil p-nitrofenil fosforotioato) tem a seguinte fórmula estrutural:



O composto padrão puro foi obtido da "Greyhound Chromatography and Allied Chemicals", Merseyside, Inglaterra. O correspondente radiomarcado (etil [  $1-^{14}C$  ]-paration) também foi obtido da "Amersham International", com atividade específica de 703 MBq/mmol (ou 19 mCi/mmol) e pureza radioquímica de 99%, também detectada por cromatografia em camada delgada.

Soluções estoque do princípio ativo de cada inseticida foram preparadas em hexano com concentração final de 10 mg/ml. Soluções de cada um dos inseticidas correspondentes marcados com radiocarbono foram preparadas de forma que a atividade final fosse igual a 370 kBq/ml (ou 10  $\mu$ Ci/ml) de hexano.

No momento do tratamento dos solos, preparou-se soluções de cada inseticida contendo 0,75 mg/ml do princípio ativo e 111 kBq/ml (ou 3  $\mu$ Ci/ml) do composto radiomarcado, em hexano. Desta forma, a atividade específica de cada solução resultou em 148 kBq/mg/ml de hexano (ou 4  $\mu$ Ci/mg/ml de hexano).

### 3.1.2. Solos

Amostras dos 2 solos usados nos experimentos foram coletadas à profundidade de 0 a 30 cm do perfil do solo. O solo de Fucada (F) foi coletado no distrito do mesmo nome, no Estado de Amazonas e o solo de Praia Grande (PG), no município do mesmo nome no Estado de São Paulo.

As análises granulométricas e químicas dos solos foram processadas pelo Departamento de Solo, Geologia e Fertilizantes da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP, Piracicaba, SP, e os resultados estão contidos na TABELA 1.

### 3.1.3. Planta

As sementes de feijão, Phaseolus vulgaris, cultivar carioquinha, que serviram como planta teste, foram obtidas da cultura de um sítio no município de Pedra Bela no Estado de São Paulo, onde não se aplicou pesticidas.

A germinação das sementes foi feita em algodão molhado com água e, após uma semana, as plântulas foram transferidas para Erlenmeyers também com água, onde permaneceram até o início dos testes.

As plantas para os testes continham pelo menos 2 trincas de folhas.

### 3.1.4. Solução nutriente

Para reativação dos solos extraídos, adicionou-se 1% de solo não tratado, em relação ao peso de solo extraído, e umedeceu-se a mistura a 70% da capacidade máxima de retenção de água de cada solo com a solução nutriente de HOAGLAND & ARNON (1950), conforme HSU & BARTHA (1979) ; FUHR & MITTELSTAEDT (1980) e KLOSKOWSKI & FUHR (1987a).

## 3.2. Métodos

Todos os experimentos foram realizados no Centro de Radioisótopos do Instituto Biológico da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo.

### 3.2.1. Cálculo para umidificação do solo

A retenção de umidade aproximada dos solos foi determinada através de amostras de 10g de cada um dos solos secos à temperatura ambiente. Estas amostras foram colocadas em funis analíticos, adicionou-se 10ml de água destilada e anotou-se a quantidade de água escoada. A adição

TABELA 1 - Características granulométricas e químicas dos solos de Fucada (F) e de Praia Grande (PG)<sup>a/</sup>.

Características	F	PG
Granulométricas	----- % -----	
areia	10,9	61,0
silte	36,8	14,0
argila	52,8	25,0
Químicas		
matéria orgânica	4,7	3,3
	----- meq/100 cm <sup>3</sup> de solo -----	
K <sup>+</sup>	0,100	0,200
Ca <sup>2+</sup>	1,810	2,710
Mg <sup>2+</sup>	0,411	0,850
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	0,038	10,000
acidez potencial (H+Al)	1,420	3,800
capacidade de troca catiônica	3,740	7,560
pH	4,69	4,50
Textura	argila limosa	areia barrenta

a/ Determinadas pelo Departamento de Solos, Geologia e Fertilizantes da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP, Piracicaba, SP.

de 10ml de água foi repetida até que o volume escoado fosse constante. Anotou-se então o volume de água retido pela amostra.

Paralelamente, amostras de 10g de solos secos à temperatura ambiente foram colocadas em estufa a 120°C por período de 24 horas e depois pesadas. A diferença de peso é devida à evaporação de água natural do solo.

A soma dos volumes de água retida pelo solo e de água natural do solo corresponde à capacidade máxima de retenção de água pelo solo.

### 3.2.2. Tratamento do solo

As amostras de solo coletadas no campo secaram ao ar, à temperatura ambiente e à sombra, por 5 dias. A seguir, passaram em peneiras com malha de 2,0 mm para homogeneização.

Amostras de 750 g de cada solo foram colocadas em cubas de vidro e adicionou-se água cujo volume foi equivalente a 70% da capacidade máxima de retenção de água de cada solo (KLOSKOWSKI & FUHR, 1987ab) para ativação da microflora. Os volumes de água adicionada foram 320 ml para o solo de Fucada e 300 ml para o solo de Praia Grande. Após uma semana, os solos úmidos e ativados receberam 10 ml da solução de 0,75 mg e 111 kBq (ou 3  $\mu$ Ci) do inseticida carregador e radiomarcado/ml de hexano. O frasco que continha a solução foi lavado com mais 2 ml de hexano, que em seguida foram misturados ao lote de solo, de forma a totalizar 10  $\mu$ g e 1,48 kBq (ou 0,04  $\mu$ Ci)/g de solo. Este foi então homogeneizado com auxílio de espátulas, por pelo menos, 20 minutos e transferido para sacos plásticos.

Após retirar-se a quantidade de solo necessária para o teste de distribuição de resíduos imediatamente após o tratamento (ítem 3.2.12), o peso de saco plástico e solo tratado foi anotado, os sacos foram colocados em baldes plásticos e ficaram incubando por 3 meses em casa de vegetação coberta com vidro. O conjunto foi pesado 2 vezes por semana e, sempre que necessário, água foi adicionada para cor-

rigir o conteúdo de água perdido por evaporação. As temperaturas mínimas e máximas detectadas no período total de experimento foram, respectivamente, 11°C e 29°C.

### 3.2.3. Determinação do conteúdo de umidade

Seis amostras de 5g de solo não extraído e bem misturado foram pesadas antes do início dos experimentos e então, foram secas por 24 horas a 110°C. Após esfriamento de aproximadamente 1 hora, o solo foi repesado. O cálculo do conteúdo de umidade do solo foi feito conforme IAEA (1986) usando a fórmula a seguir, e o peso do solo úmido era corrigido para peso seco.

$$\% \text{ água} = \frac{(\text{Peso do solo úmido} - \text{Peso do solo seco a } 110^{\circ}\text{C})}{\text{Peso do solo seco a } 110^{\circ}\text{C}} \times 100$$

### 3.2.4. Determinação da quantidade aplicada

Quatro amostras de 0,5 g (equivalentes ao peso seco) de solo tratado ainda não extraído foram submetidas à combustão, conforme recomendação de IAEA (1986). O aparelho usado foi o "Biological Oxidizer OX-400". A armadilha para o  $^{14}\text{CO}_2$  proveniente da queima de cada amostra consistiu de 3 ml de etanolamina em 12 ml de líquido cintilador (4 g de PPO, 200 mg de POPOP, 670 ml de tolueno e 330ml de Renex) conforme Patterson e Greene modificado por MESQUITA & RUEGG (1984), na proporção 6:4 de líquido cintilador e metanol, para cada 3 ml de etanolamina. O resultado foi corrigido para o peso total de solo tratado.

Os cálculos foram feitos de acordo com a seguinte fórmula (IAEA, 1986):

$$\text{Concentração (dpm/g)} = \frac{\text{dpm total}}{\text{peso da amostra (g)}}$$

### 3.2.5. Extração do solo

Amostras equivalentes a 50 g de peso seco foram colocadas em cartuchos extratores, e extraídas com 150 ml de metanol por Soxhlet durante 24 horas (IAEA, 1986). A mé-

dia do número total de ciclos neste período foi de  $125,65 \pm 0,12$  ciclos usando-se 6 repetições.

Após esfriamento à temperatura ambiente, o volume total do extrato em metanol foi anotado, alíquotas de 1 ml foram misturadas com 10 ml de líquido cintilador de MESQUITA & RUEGG (1984) e analisadas por contagem de cintilação líquida. A radioatividade presente foi corrigida para o volume de metanol recuperado.

### 3.2.6. Determinação do resíduo-ligado

Sub-amostras de solo extraído e seco ao ar foram submetidas à combustão, conforme descrito no item 3.2.4 e os resultados foram multiplicados pelo peso total de solo extraído.

### 3.2.7. Extração das plantas

As plantas foram extraídas conforme ANDRÉA (1986), isto é, foram cuidadosamente retiradas dos frascos com solo e as raízes lavadas com água corrente para retirar as partículas de solo que pudessem representar contaminação de superfície (BÉLANGER & HAMILTON, 1979; BRIGGS et alii, 1982 e ANDRÉA et alii, 1983). A seguir, as plantas foram pesadas e conservadas à  $-5^{\circ}\text{C}$  até o momento da extração (MENZER & DITMAN, 1968 e BRIGGS et alii, 1982).

Para a extração propriamente dita, cada planta foi cortada em pedaços pequenos que foram colocados em homogeneizador de vidro. O tecido vegetal foi macerado com 3 porções de hexano correspondendo a: de 0,40 g a 0,59 g de tecido: 4 ml de hexano e de 0,60 g a 1,60 g: 6 ml (TSAO & CLARK, 1961 e METCALF et alii, 1957). As porções de hexano foram combinadas e lavadas com igual volume de água, para separação dos compostos hidrossolúveis (ANDRÉA et alii, 1983). As 2 fases resultantes foram separadas, o volume recuperado foi medido e alíquotas de 1 ml de cada fase foram quantificadas por cintilação líquida, após adição de 10 ml do líquido cintilador de MESQUITA & RUEGG (1984).

### 3.2.8. Combustão

Amostras de 0,5 g de solo tratado, solo extraído e plantas extraídas foram submetidas à combustão seca, conforme descrito no item 3.2.4 e os resultados foram corrigidos para o peso seco total do material.

### 3.2.9. Coleta de material mineralizado e volatilizado

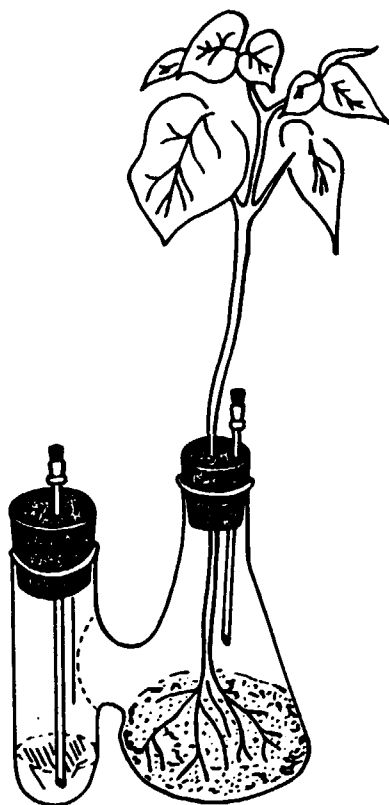
O  $^{14}\text{CO}_2$  e os  $^{14}\text{C}$ -produtos voláteis de metabolização dos pesticidas aplicados e/ou seus produtos de degradação foram coletados através da utilização dos frascos biométricos de BARTHA & PRAMER (1965) que sofreram algumas modificações conforme HSU & BARTHA (1979).

O frasco biométrico (FIGURA 1) consta de um Erlenmeyer de 250 ml conectado a um tubo lateral que contém a solução-armadilha de material bio-mineralizado. O solo contendo resíduos de pesticidas foi colocado no Erlenmeyer que, conforme o bioteste, continha ou não uma plântula de feijão.

Os frascos foram tampados com rolhas de borracha providas de seringas também vedadas com pequenas rolhas de borracha. A rolha do Erlenmeyer foi cortada e sulcada para acomodar, além da seringa, o caule da planta. A seringa servia para adição de água ao solo, de forma a manter o solo úmido. Todas as aberturas ou fendas foram fechadas com fita de teflon e silicone, de modo a vedar totalmente o sistema (HSU & BARTHA, 1979). Além disso, a separação da atmosfera da raiz e da parte aérea, permitiu a detecção da mineralização e previniu a reassimilação do  $^{14}\text{CO}_2$  pela parte aérea da planta (FUHR, 1984).

A armadilha de materiais bio-mineralizados consistiu de 10 ml de solução aquosa de KOH 0,1 N, colocada no tubo lateral do frasco biométrico. Para monitoração da produção de  $^{14}\text{CO}_2$ , este volume foi trocado semanalmente. Nos dias de troca, o KOH foi succionado por meio da seringa, o tubo foi lavado com mais 10 ml de KOH recém preparado, e novos 10 ml foram colocados para coleta (BARTHA & PRAMER, 1965).



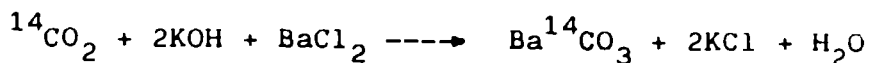


ADAPTADO DE BARTHA & PRAMER (1965)  
e HSU & BARTHA (1979)

FIGURA 1 - Frasco biométrico utilizado no bioteste com planta.

Alíquotas de 1 ml da combinação da solução de álcali coletada e de lavagem do tubo foram misturadas com 10 ml de líquido cintilador de MESQUITA & RUEGG (1984) e quantificadas por cintilação líquida, após permanecerem no escuro por, pelo menos, 2 horas.

O álcali restante foi misturado com 0,1 g de BaCl<sub>2</sub> produzindo-se a seguinte reação:



Desta forma, o CO<sub>2</sub> foi precipitado na forma de carbonato de bário. Na solução sobrenadante restaram apenas os produtos voláteis também coletados. Alíquotas de 1 ml da solução sobrenadante contendo os compostos volatilizados também foram quantificadas por cintilação líquida, o resultado foi subtraído da contagem de KOH sem tratamento com BaCl<sub>2</sub>, e o resultado correspondeu ao <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> (BARTHA\*).

### 3.2.10. Cromatografia em camada delgada (ccd) e análise linear

Alíquotas de 20 ml do extrato metanólico dos solos foram extraídas 3 vezes com 10 ml de hexano cada vez. As porções de hexano foram combinadas, os volumes de metanol e hexano recuperados foram anotados e alíquotas de 1 ml de cada fase foram quantificadas por cintilação líquida (KATAN et alii, 1976) após adição do líquido cintilador de MESQUITA & RUEGG (1984).

Alíquotas de 10 ml do hexano da extração dos solos e o volume restante de hexano da extração das plantas foram evaporadas à secura. O resíduo foi retomado em 3 por-

---

BARTHA, R. (Department of Biochemistry and Microbiology, New Jersey Agricultural Experimental Station, Rutgers, the State University of New Jersey, New Brunswick, New Jersey, U.S.A.) Comunicação Pessoal, 1989.

ções de 0,5 ml de hexano e aplicado nas cromatoplaças de alumínio revestidas com 2 mm de sílica gel-60 F<sub>254</sub>, juntamente com os padrões de <sup>14</sup>C-lindano e paration.

Para identificação dos produtos aplicados e verificação da presença de metabólitos formados no decorrer dos experimentos, os cromatogramas foram desenvolvidos unidimensionalmente no sistema de solventes Hexano : acetona (4:1) conforme ANDRÉA et alii (1982).

Todos os extratos e o padrão de <sup>14</sup>C-lindano foram examinados em analisador linear de camada delgada "TLC Scanner II LB 2723", para verificação do aparecimento de picos em outros R<sub>f</sub> que o do padrão. As seguintes condições de funcionamento foram usadas: tempo de integração, 1 segundo; sensibilidade na faixa de contagem de 1 K cpm, e velocidade de corrida da placa de 300 mm/hora.

### 3.2.11. Contagem de cintilação em líquido

Todas as amostras dos extratos e combustões foram quantificadas após contagem em contador de amostras líquidas "Beckman LS-5801" com correção de "quenching" pelo método de razão de canais com fonte externa. A contagem de amostras sem radioatividade (brancos) de cada tipo foi subtraída dos resultados experimentais.

### 3.2.12. Montagem dos experimentos

#### 3.2.12.1. Distribuição dos resíduos imediatamente após o tratamento (FIGURA 2)

Do lote de solo tratado com cada um dos <sup>14</sup>C-inseticidas e grau técnico, amostras de 0,5 g foram separadas e submetidas à combustão, para verificação da quantidade realmente aplicada. Outras 6 amostras de 50 g de solo tratado foram extraídas exaustivamente por Soxhlet, para verificação do radiocarbono extraível. Sub-amostras destas amostras extraídas também foram submetidas à combustão, para verificação do resíduo não extraído ou imediatamente ligado.

As amostras de solo extraído ficaram ao ar

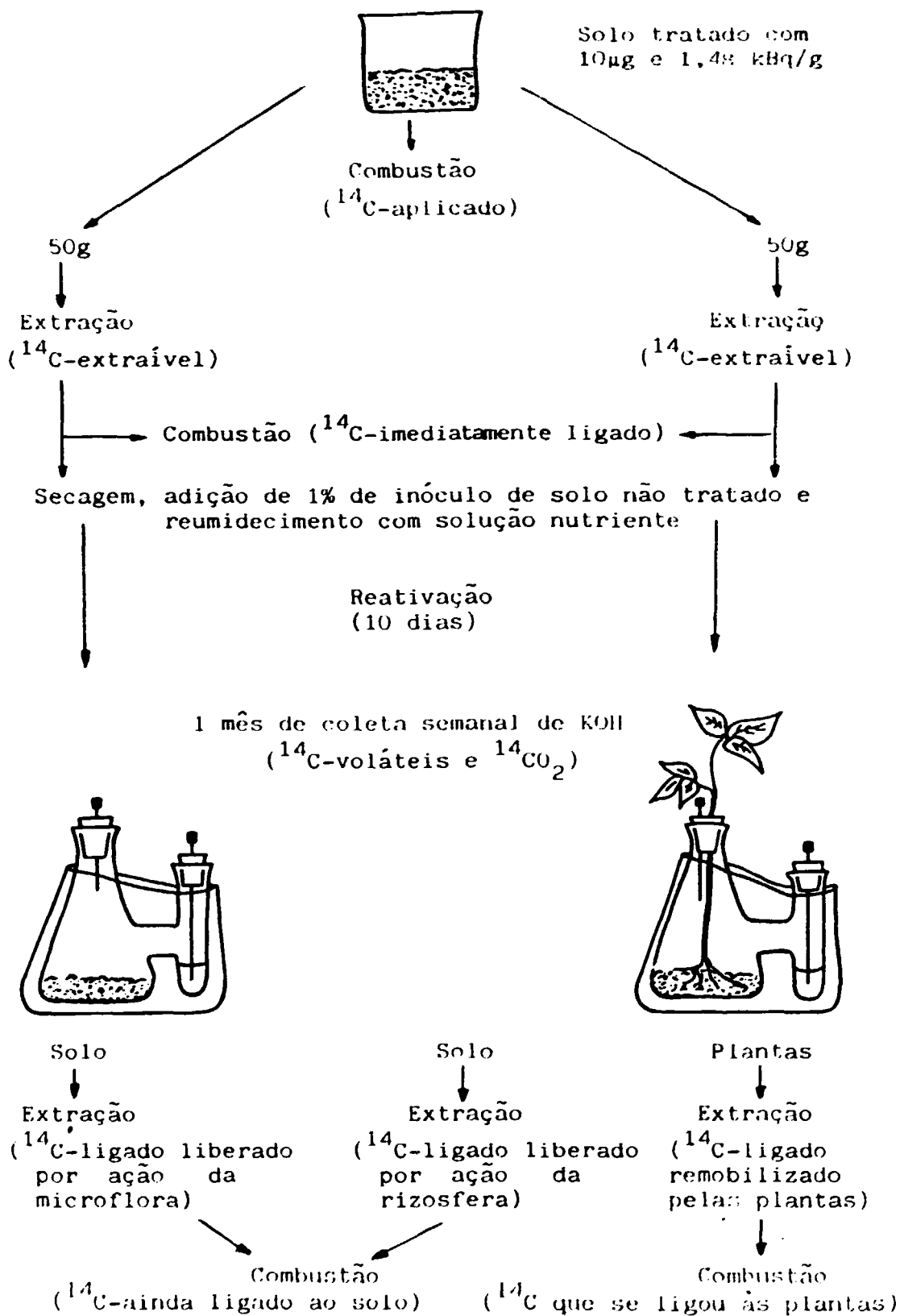


FIGURA 2 - Fluxograma seguido para determinação da distribuição de resíduos imediatamente após o tratamento.

livre por 3 a 4 dias para que o solvente de extração evaporasse (KHAN & BEHKI, 1990). Em seguida foram colocadas nos Erlenmeyers dos frascos biométricos, onde se adicionou 1% de solo não tratado, que serviu como inóculo (HSU & BARTHA, 1979; ROBERTS & STANDEN, 1981; RACKE & LICHTENSTEIN, 1985; SCHEUNERT et alii, 1986; RAGHU & DREGO, 1986 e KHAN & DUPONT, 1987), e foram reumidecidas à capacidade máxima de retenção de água com solução nutriente de HOAGLAND & ARNON (1950), para reativação (FUHREMANN & LICHTENSTEIN, 1978). Os Erlenmeyers com solo úmido permaneceram abertos e no escuro, por aproximadamente 10 dias, para que a atividade da microflora se restabelecesse. Antes de se montar os biotestes, uma amostra de solo de cada Erlenmeyer foi queimada para verificação da quantidade de radiocarbono ainda-presente.

A seguir, os biotestes foram montados de forma que em 3 Erlenmeyers contendo cada tipo de solo foi colocada uma plântula de feijão e os outros 3 Erlenmeyers contiveram apenas solo, para comparação da atividade da rizosfera e da microflora, respectivamente. Os sistemas foram fechados, vedados e os frascos biométricos foram colocados em sacos de tecido preto, para prevenir reabsorção fotossintética de  $^{14}\text{CO}_2$  durante a incubação (LICHTENSTEIN et alii, 1977; HSU & BARTHA, 1979 e KLEIN & SCHEUNERT, 1982).

A coleta de material mineralizado e volatilizado foi feita semanalmente durante um mês (ítem 3.2.9). Além disso, quando os solos aparentavam secura foi feita adição de solução nutriente através da seringa do Erlenmeyer.

Após um mês os sistemas foram abertos, as plantas foram retiradas cuidadosamente do solo e extraídas (ítem 3.2.7), para verificação da quantidade de radiocarbono liberado e absorvido pelas plantas.

O solo foi extraído exaustivamente (ítem 3.2.5), para verificação e comparação do  $^{14}\text{C}$ -ligado que se tornou extraível após liberação pela ação da rizosfera e da microflora.

Finalmente, sub-amostras de solos já extraídos foram queimadas, para verificação do  $^{14}\text{C}$ -ainda-ligado ao solo. Também o peso total de tecido vegetal extraído foi submetido à combustão, para verificação da quantidade de  $^{14}\text{C}$  que se ligou às plantas.

### 3.2.12.2. Distribuição dos resíduos formados 3 meses após o tratamento (FIGURA 3)

O restante do lote de solo inicialmente tratado ficou incubando em casa de vegetação por 3 meses, com correção constante do conteúdo de umidade. Após este período, amostras foram processadas como para determinação dos resíduos imediatamente após o tratamento (ítem anterior).

Assim, combustões foram feitas para verificação do  $^{14}\text{C}$ -ainda-presente, isto é, não metabolizado e/ou volatilizado durante o período de interação ou envelhecimento dos resíduos no solo. Outras 7 amostras de 50 g foram extraídas exaustivamente por Soxhlet, para verificação do  $^{14}\text{C}$ -ainda presente e extraível. Destas, sub-amostras foram separadas e queimadas por combustão, para verificação do  $^{14}\text{C}$ -realmente ligado.

Novamente, o restante do solo extraído foi seco ao ar livre, misturado com inóculo de solo não tratado e reumidecido, permanecendo assim por aproximadamente 10 dias, para reativação da microflora. A seguir, montou-se os biotestes nos frascos biométricos, sendo que 4 contiveram plântulas de feijão. A coleta de  $^{14}\text{C}$ -substâncias mineralizadas a  $^{14}\text{CO}_2$  e volatilizadas também foi feita semanalmente, mas por 1,5 mês.

Os frascos foram abertos após este período de ação da microflora e da rizosfera como um todo, e sub-amostras de solo foram queimadas, para verificação e comparação do  $^{14}\text{C}$ -ainda presente ao solo após reativação e sob ação da microflora e da rizosfera. Além disso, os resultados foram comparados com os das amostras descritas no ítem anterior, que passaram por todo o processo mas que não ficaram incubando por 3 meses.

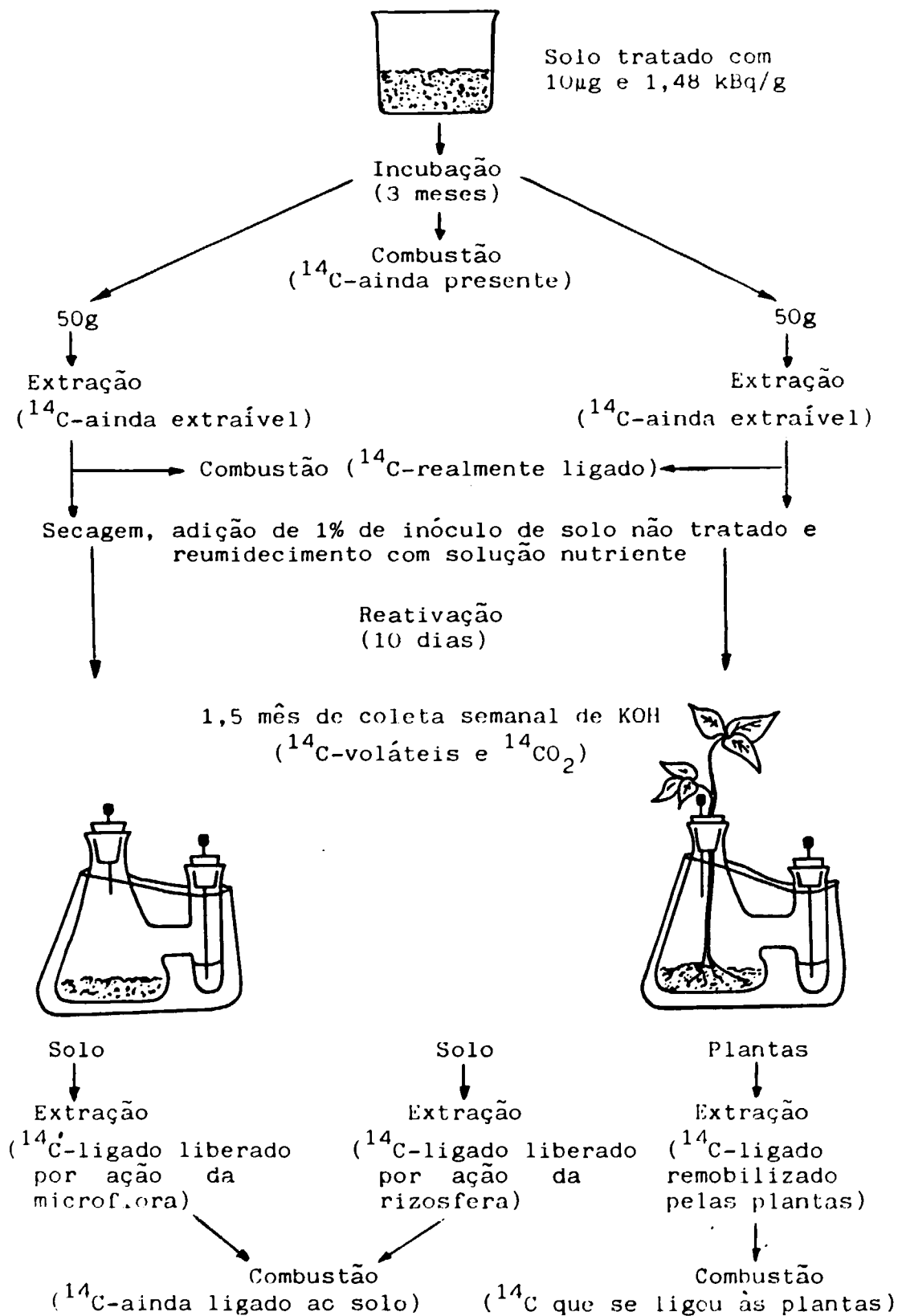


FIGURA 3 - Fluxograma seguido para determinação da distribuição de resíduos formados após 3 meses de incubação.

O restante do solo dos Erlenmeyers foi extraído exaustivamente, para verificação do  $^{14}\text{C}$ -extraível após ação da microflora e da rizosfera, e comparação com as amostras com resíduos não envelhecidos por 3 meses.

As plantas de feijão também foram extraídas como descrito no item 3.2.12.1, com as mesmas finalidades, e comparação com aquelas, para verificação da ação do tempo decorrido após aplicação do inseticida.

Combustões dos solos extraídos também foram feitas para verificação do  $^{14}\text{C}$ -ainda-ligado aos solos, após ação do tempo de residência dos resíduos, sob ação da microflora (frascos com solo apenas) ou sob ação da rizosfera (frascos com solo e plantas). Estes resultados também foram comparados com as mesmas medidas sem, porém, terem sofrido ação do tempo de envelhecimento dos resíduos (item anterior).

O tecido das plantas extraídas também foi submetido à combustão, para verificação da quantidade de  $^{14}\text{C}$ -ligado ao solo que foi liberado e se ligou à planta.

Todas as análises foram feitas conforme o Protocolo Modelo para Determinação de Resíduos-Ligados no Solo, da Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA, 1984 e IAEA, 1986).



#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da utilização dos frascos biométricos de BARTHA & PRAMER (1965) adaptados para conter a planta de feijão, pôde-se fazer o balanço do  $^{14}\text{C}$ -inseticida aplicado, comparou-se a ação da rizosfera e da microflora, e conseguiu-se uma avaliação relativa do comportamento dos dois inseticidas.

##### 4.1. Comportamento do lindano nos solos de Fucada (F) e de Praia Grande (PG)

Do  $^{14}\text{C}$ -lindano aplicado ao solo de Fucada e imediatamente extraído (1,29 kBq/g ou 0,035  $\mu\text{Ci/g}$  de solo, TABELA 2), aproximadamente 66% foram extraídos e 45% detectados por combustão, como resíduos-ligados (TABELA 2). MORENO et alii (1988) também detectaram ligação de  $^{14}\text{C}$ -lindano imediatamente após a aplicação, e outros autores trabalhando com diferentes pesticidas (KATAN et alii, 1976 ; LICHTENSTEIN et alii, 1977; KLOSKOWSKI et alii, 1986 e MITTELSTAEDT et alii, 1987) observaram que há pesticidas que se caracterizam pela rapidez na estabilidade da ligação.

Após evaporação do solvente, o solo extraído foi reativado com inóculo de solo não tratado e com solução nutriente. A combustão do solo reativado após aproximadamente 10 dias determinou que a quantidade de radiocarbono presente após a reativação foi de aproximadamente 32% (TABELA 2). Desta forma, verificou-se perda de 13% em relação aos 45% inicialmente ligados. Esta perda pode ter sido causada por metabolização dos resíduos-ligados pela microflora reativada, tendo havido produção de compostos voláteis. Como durante o período de incubação os frascos ficaram abertos,

TABELA 2 - Recuperação do radiocarbono do solo de Fucada imediatamente após o tratamento com  $^{14}\text{C}$ -lindano.

Quantidade aplicada	1,29 kBq/g (ou 0,035 $\mu\text{Ci/g}$ ) <sup>a/</sup>	
	----- % -----	
Extraído	66,01 $\pm$ 8,15 <sup>b/</sup>	
Ligado	45,35 $\pm$ 4,72	
Presente após reativação	32,29 $\pm$ 9,87	
	-----	
BIOTESTE	com planta <sup>c/</sup>	sem planta <sup>c/</sup>
	-----	
$^{14}\text{CO}_2$	0,43 $\pm$ 0,22	0,56 $\pm$ 0,37
Voláteis	0,22 $\pm$ 0,21	0,29 $\pm$ 0,23
Liberado e extraído	31,06 $\pm$ 5,43	29,35 $\pm$ 10,44
Absorvido pelas plantas	0,22 $\pm$ 0,11	---
Ligado às plantas	0,07 $\pm$ 0,03	---
Ainda-ligado ao solo	3,07 $\pm$ 0,94	2,47 $\pm$ 0,34

a/ Correspondentes a 8,72  $\mu\text{g/g}$  de lindano.

b/ Média  $\pm$  desvio padrão de 6 repetições.

c/ Média  $\pm$  desvio padrão de 3 repetições.

estes compostos escaparam para a atmosfera. Liberação de resíduos-ligados de pesticidas por metabolização foi também demonstrada por outros autores, como por exemplo : FUHREMANN & LICHTENSTEIN (1978); STILL et alii ( 1980 ); KHAN & IVARSON (1981); KLOSKOWSKI et alii (1986) e RAGHU & DREGO (1986), entre outros.

Além disso, a própria solução nutriente de reumidecimento, juntamente com a matéria orgânica do solo, podem ter servido de fonte de energia e crescimento para os microrganismos presentes no inóculo (HSU & BARTHA,1979; ROBERTS & STANDEN, 1981; SCHEUNERT et alii, 1986 e KHAN & DUPONT, 1987) e estes podem ter aumentado em número e/ou atividade, tendo degradado também os resíduos-ligados.

Após investigação da bio-liberação desta quantidade de resíduos-ligados através dos biotestes com e sem planta (TABELA 2), verificou-se que pouco foi metabolizado a  $^{14}\text{CO}_2$  (somente 0,43% e 0,56%, respectivamente) e volatilizado (0,22% e 0,29%, respectivamente); porém, a grande maioria do radiocarbono proveniente da aplicação do  $^{14}\text{C}$ -lindano, tornou-se novamente extraível. Observou-se que aproximadamente 31% dos  $^{14}\text{C}$ -resíduos-imediatamente-ligados foram liberados e extraídos após ação da rizosfera, e 29% após ação da microflora (TABELA 2). Além disso, muito pouco foi absorvido ou remobilizado pelas plantas (0,22%) e tornou-se ligado a elas (0,07%, TABELA 2). Baixos valores de mineralização de resíduos-ligados a  $^{14}\text{CO}_2$  e baixa absorção total de radiocarbono-ligado ao solo por plantas também ocorreram para KLOSKOWSKI et alii (1986), investigando o comportamento do herbicida  $^{14}\text{C}$ -anilazina. Os autores concluíram que os resíduos-ligados daquele herbicida ou de seus metabólitos foram acessíveis a microrganismos somente a nível de traços.

Ao final dos biotestes, aproximadamente 3% foram detectados como resíduos-ainda-ligados ao solo após ação da rizosfera e 2,5% após ação da microflora (TABELA 2).

Estes resultados mostraram, em primeiro lugar,

que ocorreu bio-liberação dos resíduos-ligados ao solo . Mas, praticamente não houve influência das raízes, pois os resultados do bioteste com planta foram muito próximos aos da ação apenas da microflora do solo (TABELA 2). Além disso, independentemente da presença ou ausência de planta, a formação de  $^{14}\text{CO}_2$  predominou em relação à formação de  $^{14}\text{C}$ -produtos voláteis, isto é, a quantidade de radiocarbono coletada como  $^{14}\text{CO}_2$  foi aproximadamente o dobro da coletada como  $^{14}\text{C}$ -produtos voláteis. Isto prova que a microflora foi capaz de liberar e mineralizar os resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -lindano e/ou seus  $^{14}\text{C}$ -metabólitos, isto é, eles não foram totalmente inativados no solo. Porém, as raízes da planta de feijão não acrescentaram qualquer contribuição à ação da microflora.

O estudo do destino do  $^{14}\text{C}$ -lindano e/ou seus  $^{14}\text{C}$ -metabólitos formados após um tempo de envelhecimento foi feito para verificar a possibilidade de contaminação de culturas através de solo previamente contaminado. Desta forma, em relação aos resíduos de  $^{14}\text{C}$ -lindano e/ou metabólitos formados no solo de Fucada após 3 meses de incubação do solo tratado, sob condições ambientais (TABELA 3), verificou-se primeiramente, que não houve desaparecimento de radiocarbono porque a quantidade ainda presente foi de 1,29 kBq/g (ou 0,035  $\mu\text{Ci/g}$ ) de solo (TABELA 3), o mesmo valor detectado 3 meses antes (TABELA 2). Isto mostrou que não houve metabolização do composto aplicado a compostos voláteis sob condições naturais.

Entretanto, após ação da microflora natural nestes 3 meses, notou-se que aproximadamente 99% do radiocarbono ainda presente foram extraídos e, apenas, aproximadamente 1,4% se tornaram resíduos-ligados (TABELA 3). Após reativação do solo extraído exaustivamente, pouco mais de 1% do radiocarbono ainda presente permaneceram ligados ao solo. RAGHU & FERREIRA (1984); SCHEUNERT et alii (1987); VISWANATHAN et alii (1988); SCHEUNERT & KORTE (1988) e GOLOVLEVA et alii (1990) concordam que os microrganismos

TABELA 3 - Recuperação do radiocarbono do solo de Fucada 3 meses após o tratamento com  $^{14}\text{C}$ -lindano.

Quantidade ainda presente		1,29 kBq/g (ou 0,035 $\mu\text{Ci/g}$ ) <sup>a/</sup>	
		%	
Extraído		98,94 $\pm$ 3,98 <sup>b/</sup>	
Ligado		1,36 $\pm$ 0,42	
Presente após reativação		1,11 $\pm$ 0,25	
BIOTESTE	com planta <sup>c/</sup>	sem planta <sup>d/</sup>	
$^{14}\text{CO}_2$	0,23 $\pm$ 0,13	0,08 $\pm$ 0,07	
Voláteis	0,02 $\pm$ 0,02	0,01 <sup>e/</sup>	
Liberado e extraído	0,06 <sup>f/</sup>	0	
Absorvido pelas plantas	0,04 $\pm$ 0,04	---	
Ligado às plantas	0	---	
Ainda-ligado ao solo	0,77 $\pm$ 0,29	0,88 $\pm$ 0,32	

a/ correspondentes a 9,26  $\mu\text{g/g}$  de lindano.

b/ média  $\pm$  desvio padrão de 7 repetições.

c/ média  $\pm$  desvio padrão de 4 repetições.

d/ média  $\pm$  desvio padrão de 3 repetições.

e/ radioatividade presente em apenas 2 repetições.

f/ radioatividade presente em apenas 1 das repetições.

conseguem atacar o lindano, mas muito lentamente, pois a ligação C-Cl é de difícil quebra por microrganismos. Por outro lado, STILL et alii (1980) observaram que um metabólito de herbicida propanil, que se ligou ao solo, só foi imobilizado temporariamente e se tornou novamente disponível, após clivagem microbiana dos complexos húmicos do solo. Isto também pode ter ocorrido aos resíduos de  $^{14}\text{C}$ -lindano imediatamente ligados e que se tornaram novamente extraíveis após 3 meses.

No estudo da bio-liberação desta pequena quantidade restante como resíduos-ligados verificou-se, através dos biotestes, que quantidades insignificantes foram detectadas como  $^{14}\text{CO}_2$ ,  $^{14}\text{C}$ -produtos voláteis,  $^{14}\text{C}$ -produtos novamente extraíveis e absorvidos pelas plantas (TABELA 3). A soma total destas detecções atingiu máximo de 0,35%. Nada foi detectado como resíduos-ligados às plantas e a quantidade de resíduos-ainda-ligados foi muito próxima do 1% detectado após a reativação. Portanto, a probabilidade de contaminação de culturas a partir de solo contaminado com resíduos-ligados de lindano existe, porém, a níveis muito baixos, como também observado por STILL et alii (1980).

Neste solo, verificou-se ainda que a própria ação do tempo de residência do resíduo presente, em solo com as características do solo de Fucada foi suficiente para que muito pouco resíduo-ligado restasse no solo. A microflora natural pode ter metabolizado o resíduo-imediate-mente-ligado, de tal forma que, em 3 meses, muito pouco permanecesse realmente-ligado. Estes resíduos-realmente-ligados permaneceram como ainda-ligados mesmo após ação da rizosfera ou da microflora apenas.

Já para o solo de Praia Grande ocorreram algumas diferenças no comportamento do  $^{14}\text{C}$ -lindano. A TABELA 4 mostra os resultados referentes à aplicação do inseticida seguida de extração imediata. Verificou-se que aproximadamente 91% da quantidade de radiocarbono aplicado (1,37 kBq/g ou 0,037  $\mu\text{Ci/g}$  de solo) foram extraídos e aproximadamente

TABELA 4 - Recuperação do radiocarbênio do solo de Praia Grande imediatamente após o tratamento com  $^{14}\text{C}$ -lindano.

Quantidade aplicada	1,37 kBq/g (ou 0,037 $\mu\text{Ci/g}$ ) <sup>a/</sup>	
	%	
Extraído	90,75 $\pm$ 4,37	<sup>b/</sup>
Ligado	10,75 $\pm$ 4,15	
Presente após reativação	8,68 $\pm$ 4,33	
BIOTESTE	com planta <sup>c/</sup>	sem planta <sup>c/</sup>
$^{14}\text{CO}_2$	0,25 $\pm$ 0,12	1,26 $\pm$ 0,06
Voláteis	0,14 $\pm$ 0,13	0,13 $\pm$ 0,03
Liberado e extraído	4,85 $\pm$ 2,68	9,44 $\pm$ 0,48
Absorvido pelas plantas	0,06 $\pm$ 0,06	---
Ligado às plantas	0,02 <sup>d/</sup>	---
Ainda-ligado ao solo	0,93 $\pm$ 0,48	1,25 $\pm$ 0,17

a/ correspondentes a 9,26  $\mu\text{g/g}$  de lindano.

b/ média  $\pm$  desvio padrão de 6 repetições.

c/ média  $\pm$  desvio padrão de 3 repetições.

d/ radioatividade presente em apenas 2 repetições.

11% foram detectados como  $^{14}\text{C}$ -resíduos-ligados ao solo.

Após reativação com inóculo e umidecimento com solução nutriente, aproximadamente 8,7% do radiocarbono aplicado ainda foram detectados como resíduos presentes no solo (TABELA 4).

Os biotestes para liberação destes resíduos mostraram que a maior parte da radioatividade presente nos solos foi liberada e novamente extraída após ação da rizosfera ou da microflora (4,8% e 9,4%, respectivamente, TABELA 4). Quantidades insignificantes foram liberadas como  $^{14}\text{CO}_2$  e  $^{14}\text{C}$ -compostos voláteis, ou absorvidas pelas plantas. Ao final dos biotestes, apenas aproximadamente 1% foi detectado como resíduo-ainda-ligado (TABELA 4).

Contudo, após 3 meses da aplicação (TABELA 5), notou-se o oposto do que ocorreu com o solo de Fucada, isto é, menor quantidade de radiocarbono foi detectada como quantidade ainda presente (0,99 kBq/g ou 0,027  $\mu\text{Ci/g}$  de solo, TABELA 5, contra 1,37 kBq/g aplicados, TABELA 4), tendo ocorrido perda durante o período de incubação ou envelhecimento dos resíduos no solo. Neste caso, a microflora natural pode ter sido ativa na metabolização do composto aplicado, tendo degradado os resíduos de  $^{14}\text{C}$ -lindano e/ou seus  $^{14}\text{C}$ -metabólitos a produtos voláteis que escaparam para a atmosfera durante os 3 meses (RACKE & LICHTENSTEIN, 1985). Isto ocorreu neste solo, provavelmente devido à diferente capacidade de metabolização dos microrganismos deste solo (SETHUNATHAN, 1973). KHAN & IVARSON (1982) observaram que vários grupos fisiológicos de microrganismos diferiram na capacidade de liberar resíduos-ligados do inseticida prometrina. Embora ainda não fossem resíduos-ligados, os microrganismos deste solo podem ter atacado os resíduos disponíveis do  $^{14}\text{C}$ -lindano diferentemente dos microrganismos do solo de Fucada. Além disso, KATAN et alii (1976) e LEVIN & KIMBALL (1984) notaram que fatores ambientais e práticas agrícolas - no nosso caso, a interação dos resíduos com o solo - além das características de cada solo, podem afetar



TABELA 5 - Recuperação do radiocarbono do solo de Praia Grande 3 meses após o tratamento com  $^{14}\text{C}$ -lindano.

Quantidade ainda presente		0,99 kBq/g (ou 0,027 $\mu\text{Ci/g}$ ) <sup>a/</sup>	
		%	
Extraído	85,03 $\pm$ 1,55 <sup>b/</sup>		
Ligado	17,95 $\pm$ 1,99		
Presente após reativação	16,22 $\pm$ 1,68		
BIOTESTE	com planta <sup>c/</sup>	sem planta <sup>d/</sup>	
$^{14}\text{CO}_2$	0,80 $\pm$ 0,30	0,74 $\pm$ 0,18	
Voláteis	0,10 $\pm$ 0,03	0,79 $\pm$ 0,07	
Liberado e extraído	1,45 $\pm$ 0,39	1,24 $\pm$ 0,35	
Absorvido pelas plantas	0,02 <sup>e/</sup>	---	
Ligado às plantas	0,03 $\pm$ 0,01	---	
Ainda-ligado ao solo.	12,38 $\pm$ 0,93	12,35 $\pm$ 0,80	

a/ correspondentes a 6,69  $\mu\text{g/g}$  de lindano.

b/ média  $\pm$  desvio padrão de 7 repetições.

c/ média  $\pm$  desvio padrão de 4 repetições.

d/ média  $\pm$  desvio padrão de 3 repetições.

e/ radioatividade presente em apenas 2 repetições.

o tempo de residência de pesticidas e o processo de ligação. KILZER et alii (1979) e GLOTFELTY et alii (1984) observaram que certos pesticidas, entre eles o lindano, volatilizaram rapidamente de solos úmidos e com menor conteúdo de matéria orgânica. Além disso, KILZER et alii (1979) não acharam cor relação entre volatilização do solo e solubilidade em água ou valores de pressão de vapor.

Assim, da quantidade ainda presente no solo, aproximadamente 85% foram extraíveis (TABELA 5). Portanto, a quantidade de resíduos extraíveis em relação à presente no solo também foi menor do que em relação ao mesmo tratamento com o solo de Fucada (TABELA 3). Entretanto, o valor de resíduos-ligados ao solo aumentou ligeiramente, pois, aproximadamente 18% do radiocarbono foram detectados como resíduos-realmente-ligados ao solo de Praia Grande que recebeu o tratamento de  $^{14}\text{C}$ -lindano 3 meses antes (TABELA 5), em relação aos 11% formados no mesmo solo, porém extraídos imediatamente após o tratamento (TABELA 4). Estes valores foram também maiores do que os do solo de Fucada que recebeu o mesmo tratamento e foi processado 3 meses após (TABELA 3).

O processo de reativação pouco alterou a liberação dos resíduos-realmente-ligados, pois aproximadamente 16% do radiocarbono foram detectados (TABELA 5). Além disso, os biotestes para liberação dos resíduos-realmente-ligados ao solo mostraram que, neste caso também, nem 1% foi metabolizado a  $^{14}\text{CO}_2$ . Ainda menor quantidade foi detectada como  $^{14}\text{C}$ -produtos voláteis, isto é, 0,1% no bioteste da ação da rizosfera e 0,8% no bioteste da ação da microflora (TABELA 5).

Porém, menos que 1,5% dos resíduos-ligados do  $^{14}\text{C}$ -lindano e/ou seus  $^{14}\text{C}$ -produtos de degradação foram liberados e novamente extraídos, independentemente do tipo de bioteste (TABELA 5). Nas plantas, quantidades insignificantes foram detectadas, quer como radiocarbono extraível (0,02%), quer como resíduos-ligados às plantas (0,03%).

Ao final dos biotestes, pouco mais de 12%

permaneceram como resíduos-ainda-ligados ao solo (TABELA 5). Portanto, conforme HELLING & KRIVONAK (1978a) e KHAN (1982a), a formação de resíduos-realmente-ligados, que permaneceram ainda-ligados neste solo após ação do tempo de incubação e ação da rizosfera como um todo, foi significativa. Além disso, os valores detectados concordam em ordem de magnitude, com os de outros autores (SAMUEL et alii, 1988 e MORENO et alii, 1988) que trabalharam com  $^{14}\text{C}$ -lindano e diferentes solos.

Desta forma, observou-se que o processo de interação do  $^{14}\text{C}$ -lindano aplicado, ajudou a não formação de resíduos-ligados, ou formação de pequenas quantidades apenas, em solos com as características do solo de Fucada (TABELA 3). Porém, ajudou na formação de pequena quantidade de resíduos-ligados que não foram suscetíveis à ação nem da rizosfera como um todo, nem da microflora (TABELA 3), pois uma vez ligado - aproximadamente 1% - a maior parte permaneceu ainda-ligada - aproximadamente 0,8%. Já os resíduos-ligados liberados e extraídos do mesmo solo, após os biotestes com solo extraído e processado imediatamente após a aplicação (aproximadamente 31% e 29%, TABELA 2), representaram entre 96% e 91% dos resíduos presentes após a reativação, nos testes com e sem planta, respectivamente. Por outro lado, após o tempo de residência dos resíduos, quase nada se tornou novamente extraível após os biotestes, isto é, 5% e zero em relação ao presente após a reativação. Isto mostrou que a ação da microflora e/ou rizosfera pouco influenciaram na liberação dos resíduos-ligados formados após o período de incubação, isto é, os resíduos-realmente-ligados. KHAN (1991) postula, no caso de resíduos-ligados de prometrina, que é possível que alguns metabólitos formados durante o período de incubação tenham se tornado parte do reservatório de resíduos-ligados.

No caso do solo de Praia Grande, os resíduos bio-liberados e extraíveis, quando o solo foi extraído e processado imediatamente após a aplicação (TABELA 4), foram

de 56% a 100% em relação à quantia presente após a reativação, e após ação da rizosfera e microflora, respectivamente. O processo de envelhecimento dos resíduos proporcionado pelo tempo de incubação no solo, também diminuiu a quantidade de resíduos-ligados suscetível à ação da microflora (TABELA 5), pois, assim como para o solo de Fucada, os valores de resíduos que se tornaram extraíveis após os biotestes foram baixos, isto é, aproximadamente 8% do resíduo presente após a reativação. Além disso, a quantidade de resíduos-ainda-ligados ao final dos biotestes (média de 12,4%, TABELA 5) foi muito próxima da quantidade de resíduos-realmente-ligados (16%, TABELA 5).

Desta forma, o processo de interação inseticida-solo ajudou na formação de quantidades significantes de resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -lindano no solo de Praia Grande (TABELAS 4 e 5). Neste solo houve metabolização do composto aplicado no período de 3 meses, de tal forma que a quantidade de ainda presente para o experimento (0,99 kBq/g ou 0,027  $\mu\text{Ci/g}$  de solo, TABELA 5) diminuiu aproximadamente 28% em relação à quantidade aplicada (1,37 kBq/g ou 0,037  $\mu\text{Ci/g}$  de solo, TABELA 4).

Por outro lado, as características físico-químicas e a microflora do solo de Fucada não promoveram metabolização do  $^{14}\text{C}$ -lindano aplicado a compostos voláteis, nem em 3 meses, e a quantidade de resíduos-realmente-ligados foi apenas 1,1% (TABELA 3), tendo decrescido aproximadamente 31% em relação aos resíduos-ligados formados logo após o tratamento (TABELA 2).

A bio-mineralização dos resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -lindano a  $^{14}\text{CO}_2$  foi muito pequena, não tendo havido predominância nítida de acordo com solo ou tratamento. Porém, foi sempre menor que a formação de  $^{14}\text{C}$ -produtos voláteis (TABELAS 2, 3, 4 e 5).

Em relação à bio-liberação dos resíduos-ligados através de resíduos que se tornaram extraíveis, notou-se que, conforme KHAN & RAUTHAN (1985) e CALDERBANK (1989)

também observaram, os resíduos-ligados formados imediatamente após a aplicação foram ligados fracamente. Houve maior liberação no solo de Fucada no bioteste com planta no processamento imediatamente após o tratamento (31%, TABELA 2) e a seguir, no mesmo solo e processamento, após o bioteste sem planta (29%, TABELA 2). KLOSKOWSKI & FUHR (1987b) notaram que, embora uma forte adsorção do herbicida terbutinil tenha sido observada, os resultados indicaram que ocorreram ligações físicas fracas, especialmente nos ácidos fúlvicos. LUCHINI et alii (1984) reportaram valores baixos de adsorção do lindano em vários solos. Assim, além da baixa adsorção, a ligação inicial foi mesmo mais fraca.

Seguindo nesta ordem decrescente de liberação sob forma de resíduos que se tornaram novamente extraíveis, os resíduos-ligados foram mais liberados e extraídos do solo de Praia Grande processado imediatamente após a aplicação do  $^{14}\text{C}$ -lindano, após o bioteste com a microflora apenas (9,4%, TABELA 4) e pelo mesmo solo e tratamento, após o bioteste com a rizosfera (4,8%, TABELA 4).

Assim, a bio-liberação dos resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -lindano sob forma de resíduos extraíveis no solo de Praia Grande processado 3 meses após o tratamento, foi bem menor do que no solo processado imediatamente após o tratamento; mas, mesmo sendo menor, ocorreu com valores muito próximos nos biotestes com rizosfera e com microflora (1,4% e 1,2%, respectivamente, TABELA 5). Já no solo de Fucada, a bio-liberação por esta forma não ocorreu (TABELA 3) e, além disso, foi nesta combinação solo-processamento que a quantidade de resíduos-ligados foi a menor de todas.

As quantidades de resíduos-ligados absorvidos pelas plantas e extraíveis predominaram em relação aos resíduos que se tornaram ligados às plantas, porém, todos estes valores foram sempre muito baixos (TABELAS 2,3,4 e 5).

Finalmente, os valores de resíduos de  $^{14}\text{C}$  - lindano ainda-ligados, que são os resíduos que ficariam no solo após plantações e ação do tempo, e que, portanto, ficam

riam inativados no solo, foram muito próximos entre si em relação a ação da rizosfera como um todo e ação da microflora apenas. Entretanto, estes valores foram maiores no solo de Praia Grande processado 3 meses após o tratamento (média de aproximadamente 12%, TABELA 5), seguidos do solo de Fucada processado imediatamente após o tratamento (média de 2,7%, TABELA 2), solo de Praia Grande extraído imediatamente (média de 1,1%, TABELA 4) e, finalmente, do solo de Fucada com resíduos envelhecidos por 3 meses (média de 0,8%, TABELA 3). De qualquer forma, estes valores estão próximos aos valores de resíduos não extraíveis de lindano detectados por outros autores em vários tipos de solos e sob diferentes temperaturas (GUENZI & BEARD, 1970 e SAMUEL et alii, 1988). Além disso, SAMUEL et alii (1988) também notaram na Índia que após um ano, a maioria dos resíduos detectados de lindano, estavam na forma de resíduos-ligados, como ocorreu nestes experimentos, para os dois solos após o tempo de incubação.

Observou-se então, que houve influência do tempo no tipo de formação dos resíduos-ligados, pois imediatamente após a aplicação, os resíduos-ligados formados foram mais suscetíveis à bio-liberação (TABELAS 2 e 4). Entretanto, após a incubação, a microflora não foi capaz de liberá-los em grandes quantidades (TABELAS 3 e 5), tendo ocorrido a formação dos resíduos-realmente-ligados. Portanto, uma vez formados os resíduos-realmente-ligados do  $^{14}\text{C}$ -lindano, eles foram pouco suscetíveis à bio-liberação pela microflora, independentemente do tipo de solo (TABELAS 3 e 5).

O processo de formação de resíduos-ligados de pesticidas nos solos está relacionado principalmente com a matéria orgânica dos solos, tendo sido revisto por vários autores (KAUFMAN, 1976; STEVENSON, 1976; KLEIN & SCHEUNERT, 1982; BARTHA et alii, 1983; CAPRIEL et alii, 1985; SCHEUNERT et alii, 1986; FUHR, 1987; KHAN & DUPONT, 1987; CALDERBANK, 1989 e KHAN, 1991). Isto ocorre porque, conforme FUHR &

MITTELSTAEDT (1980), a fração orgânica do solo tem potencial para formar ligações químicas estáveis com pesticidas e/ou seus produtos de degradação. Mas, a bio-liberação destes resíduos depende não apenas, mas principalmente, da ação de microrganismos (STEVENSON, 1976; STILL et alii, 1980; ROBERTS & STANDEN, 1981; KHAN & IVARSON, 1981; KHAN & IVARSON, 1982; BARTHA et alii, 1983; FUHR, 1984; RACKE & LICHTENSTEIN, 1985; KLEIN & SCHEUNERT, 1985; KLOSKOWSKI & FUHR, 1987a; FUHR, 1987; EBING, 1987 e KHAN & DUPONT, 1987), e também de outros fatores físico-químicos (STEVENSON, 1976; LICHTENSTEIN et alii, 1977; KATAN & LICHTENSTEIN, 1977; KLEIN & SCHEUNERT, 1982; KHAN, 1982; FUHR, 1987; EBING, 1987; KHAN & DUPONT, 1987; CALDERBANK, 1989; GOLOVLEVA et alii, 1990 e KHAN, 1991). A presença de grande e variada população microbiana também depende da maior quantidade de matéria orgânica do solo (HAIDER, 1976; ALEXANDER, 1977; KATAN & LICHTENSTEIN, 1977; STILL et alii, 1980; KHAN & IVARSON, 1982; BARTHA et alii, 1983; FUHR, 1984; RACKE & LICHTENSTEIN, 1985; FUHR, 1987 e KHAN & BEHKI, 1990).

Assim, no solo de Fucada, que tem maior conteúdo orgânico, a ligação inicial de  $^{14}\text{C}$ -lindano foi provavelmente na matéria orgânica; porém, a atividade microbiana nos 3 meses subsequentes, pode ter liberado os resíduos-ligados que poderiam ser compostos não voláteis que permaneceram no solo, de tal forma que só uma pequena parte permaneceu ligada. Esta parte pode ter sido composta de substâncias que a microflora não conseguiu atacar prontamente, como observado por STEVENSON (1976), ALEXANDER (1977), KHAN & BEHKI (1990) e KHAN (1991), ou por estarem protegidos dentro do complexo húmico (HAIDER, 1976; BARTHA & HSU, 1976; WEBER, 1976; KHAN, 1982; CAPRIEL et alii, 1985; SCHEUNERT et alii, 1986 e KHAN, 1991), ou por falta de enzimas específicas (ALEXANDER, 1977).

HSU & BARTHA (1976), KATAN et alii (1977) e LICHTENSTEIN (1980) sugerem que o processo de ligação ocorre em 2 passos: primeiramente a atividade microbiana efetua

a liberação dos resíduos fracamente ligados, e a seguir, ocorre ligação físico-química dos compostos na matéria orgânica do solo, CAPRIEL et alii (1985), KHAN & BÉLANGER (1987), KHAN & BEHKI (1990) e KHAN (1991) ainda dizem que também parte dos metabólitos formados podem se tornar ligados ao solo. Estes autores ainda enfatizam que a população de microrganismos do solo é variada e, sob diferentes condições, a taxa e os mecanismos de ligação podem ser diferentes. Contudo, KLEIN & SCHEUNERT (1982), KHAN (1982a) e BARTHA et alii (1983) salientam que mais de um mecanismo de ligação pode ocorrer no comportamento de um mesmo pesticida.

Com solos arenosos e com menor conteúdo orgânico, a ligação é, normalmente, menor (KATAN et alii, 1976 e FUHREMANN & LICHTENSTEIN, 1980). Assim, com o solo de Praia Grande que é mais arenoso e tem menor conteúdo de matéria orgânica, parece que a princípio predominou o efeito da areia ou do menor conteúdo orgânico, pois pouco se tornou ligado. KHAN (1991) afirma que os pesticidas e/ou seus metabólitos são quimicamente ligados à matéria orgânica do solo, mas que a ligação física nas frações inorgânicas do solo pode ter papel importante na formação dos resíduos-ligados, como provaram KLOCKOWSKI & FUIB (1987a) e SCHEUNERT et alii (1986). Porém, com o tempo, a população microbiana pode ter se tornado mais ativa por provável aumento em número e, conseqüente aumento no metabolismo (KHAN & BEHKI, 1990), de tal forma que formaram-se compostos voláteis que foram liberados para a atmosfera. GENZI & BEARD (1970), MARINUCCI & BARTHA (1979), BURKHARD & GUTH (1981) e CHESSELS et alii (1988) observaram que a perda do lindano se dá principalmente por volatilização; contudo, este tipo de difusão, juntamente com a degradação microbiana, foram os mecanismos mais prováveis de perda do lindano do solo. Além disso, a volatilização em solo com menor conteúdo de matéria orgânica é favorecida devido à menor adsorção do pesticida ao solo (KILZER et alii, 1979 e GLOTFELTY et alii, 1984) e, LUCHINI et alii (1984) relacio



naram o lindano como pesticida pouco adsorvido.

Entretanto, mesmo com o tempo de residência ou envelhecimento, os resíduos se tornaram ligados em quantidades somente ligeiramente maiores (de 11% imediatamente ligados a 18% após 3 meses, TABELAS 4 e 5, respectivamente). Além disso, após a reativação e os biotestes, maior quantidade foi reliberada e extraível quando o solo de Praia Grande foi processado imediatamente após a aplicação, assim como ocorreu com o solo de Fucada. Isto provou que a ligação imediata foi mesmo mais fraca do que após o envelhecimento dos resíduos, quando os resíduos-ligados permaneceram praticamente na mesma proporção ao final dos biotestes (TABELAS 3 e 5).

#### 4.2. Comportamento do paration nos solos de Fucada (F) e de Praia Grande (PG)

Com o objetivo estipulado de comparar o comportamento do  $^{14}\text{C}$ -lindano, que é considerado pesticida persistente, com o comportamento de um pesticida considerado não persistente, tratou-se e processou-se os mesmos solos com  $^{14}\text{C}$ -paration.

Notou-se que no solo de Fucada que recebeu o  $^{14}\text{C}$ -paration (1,41 kBq/g ou 0,038  $\mu\text{Ci/g}$  de solo, TABELA 6) e foi processado imediatamente após a aplicação, 84% do radiocarbono foram extraídos e, aproximadamente 15% se tornaram imediatamente ligados. Após a reativação, aproximadamente a mesma quantidade foi detectada, isto é, 16% (TABELA 6). KATAN et alii (1976) e GERSTL & HELLING (1985) também observaram formação de resíduos-ligados de paration logo após a aplicação.

Após a investigação da bio-liberação destes resíduos-ligados imediatamente após o tratamento com  $^{14}\text{C}$ -paration, verificou-se que nada foi bio-mineralizado a  $^{14}\text{CO}_2$  ou volatilizou, independentemente do tipo de bioteste (TABELA 6). Porém, houve liberação de 8,2% e 9,8% de radiocarbono, na forma de resíduos novamente extraíveis nos biotestes com planta e sem planta, respectivamente (TABELA 6)

TABELA 6 - Recuperação do radiocarbono do solo de Fucada imediatamente após o tratamento com  $^{14}\text{C}$ -paration.

Quantidade aplicada	1,41 kBq/g (ou 0,038 $\mu\text{Ci/g}$ ) <sup>a/</sup>	
	%	
Extraído	84,00 $\pm$ 2,84 <sup>b/</sup>	
Ligado	15,33 $\pm$ 2,11	
Presente após reativação	15,99 $\pm$ 2,19	
BIOTESTE	com planta <sup>c/</sup>	sem planta <sup>c/</sup>
$^{14}\text{CO}_2$	0	0
Voláteis	0	0
Liberado e extraído	8,17 $\pm$ 1,45	9,83 $\pm$ 3,00
Absorvido pelas plantas	0,13 $\pm$ 0,13	---
Ligado às plantas	0,05 $\pm$ 0,01	---
Ainda-ligado ao solo	6,90 $\pm$ 1,43	6,90 $\pm$ 0,63

a/ correspondentes a 9,52  $\mu\text{g/g}$  de paration.

b/ média  $\pm$  desvio padrão de 6 repetições.

c/ média  $\pm$  desvio padrão de 3 repetições.

indicando aqui também, ligação fraca dos resíduos inicialmente ligados. KATAN et alii (1976) e KATAN & LICHTENSTEIN (1977) afirmam que o processo de degradação do  $^{14}\text{C}$ -paration tem que ser separado do processo de ligação, isto é, a redução do paration a aminoparation e p-aminofenol foi pré-requisito para aparecimento de resíduos-ligados no solo. RACKÉ & LICHTENSTEIN (1985), que também detectaram bio-liberação de resíduos-ligados de paration, presumiram que o aminoparation tenha sido provavelmente oxidado a paration novamente, e então, se tornou novamente extraível.

Também os  $^{14}\text{C}$ -resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -paration e/ou seus  $^{14}\text{C}$ -metabólitos foram pouco absorvidos pelas plantas (0,13%) e menos ainda se tornou ligado a elas (0,05%, TABELA 6).

Entretanto, grande parte dos resíduos inicialmente ligados permaneceu como resíduos-ainda-ligados (6,9%, TABELA 6) independentemente da ação da rizosfera ou da microflora apenas. KATAN & LICHTENSTEIN (1977) afirmam que uma vez formados os produtos de degradação do paration, a ligação deles é forte.

Similarmente ao que ocorreu com o  $^{14}\text{C}$ -lindano neste solo (TABELA 2), também os resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -paration foram bio-liberados principalmente por ação de microrganismos, pois no bioteste com plantas e que, portanto, sofreu ação da rizosfera como um todo, os resultados foram muito semelhantes aos do bioteste sem plantas, isto é, que sofreu ação da microflora apenas. Conforme citado anteriormente, a liberação de resíduos-ligados por parte, principalmente, de microrganismos foi observada por vários autores.

Os resultados do solo de Fucada tratado com  $^{14}\text{C}$ -paration que ficou incubando por 3 meses antes do processamento estão na TABELA 7. A quantidade de radiocarbono ainda presente após o período de residência do inseticida no solo (1,33 kBq/g ou 0,036  $\mu\text{Ci/g}$  de solo, TABELA 7), assim como para o  $^{14}\text{C}$ -lindano neste solo e nas mesmas condi-

TABELA 7 - Recuperação do radiocarbono do solo de Fucada 3 meses após o tratamento com  $^{14}\text{C}$ -paration.

Quantidade ainda presente 1,33 kBq/g (ou 0,036 $\mu\text{Ci/g}$ ) <sup>a/</sup>		
	%	
Extraído	88,30 $\pm$ 4,17	<sup>b/</sup>
Ligado	11,48 $\pm$ 1,67	
Presente após reativação	11,20 $\pm$ 2,18	
BIOTESTE	com planta <sup>c/</sup>	sem planta <sup>d/</sup>
$^{14}\text{CO}_2$	0,20 $\pm$ 0,07	0,20 $\pm$ 0,04
Voláteis	0,17 $\pm$ 0,05	0,19 $\pm$ 0,03
Liberado e extraído	1,33 $\pm$ 0,53	1,74 $\pm$ 0,68
Absorvido pelas plantas	0,05 $\pm$ 0,02	---
Ligado às plantas	0,03 $\pm$ 0,02	---
Ainda-ligado ao solo	10,88 $\pm$ 0,99	8,50 $\pm$ 0,62

a/ correspondentes a 8,99  $\mu\text{g/g}$  de paration.

b/ média  $\pm$  desvio padrão de 7 repetições.

c/ média  $\pm$  desvio padrão de 4 repetições.

d/ média  $\pm$  desvio padrão de 3 repetições.

ções (TABELA 3), foi muito próxima da quantidade aplicada (1,41 kbq/g, TABELA 6). Portanto, o processo de envelhecimento dos resíduos de  $^{14}\text{C}$ -paration e/ou seus  $^{14}\text{C}$ -metabólitos neste solo não implicou em volatilização ou metabolização e perda da quantidade aplicada. Além disso, BURKHARD & GUTH (1981) classificaram o paration como pesticida não volátil.

A quantidade de resíduos de  $^{14}\text{C}$ -paration e/ou seus  $^{14}\text{C}$ -metabólitos extraíveis (aproximadamente 88%, TABELA 7) foi próxima ao valor de resíduos extraíveis imediatamente após o tratamento (84%, TABELA 6). Assim, ou a microflora não foi capaz de metabolizar os resíduos, ou formaram-se compostos não voláteis que se ligaram. Ainda outra possibilidade é a do processo de ligação ter sido químico, como sugerido por KATAN et alii (1976). Já a quantidade de resíduos-ligados foi menor (aproximadamente 11%, TABELA 7) do que a detectada imediatamente após a aplicação (15%, TABELA 6). O valor encontrado após a reativação do solo foi também aproximadamente 11% (TABELA 7), portanto praticamente igual ao valor realmente-ligado ao solo.

Os biotestes liberaram uma pequena parte do valor realmente-ligado sob a forma de  $^{14}\text{CO}_2$  (0,20%) e  $^{14}\text{C}$ -produtos voláteis (aproximadamente 0,18%) independentemente da presença da rizosfera ou apenas da microflora (TABELA 7).

Além disso, as quantidades de resíduos-ligados liberados e extraídos após ação da rizosfera como um todo e da microflora, isto é, 1,3% e 1,7% respectivamente (TABELA 7), foram mais baixas do que as encontradas quando o solo foi processado imediatamente após a aplicação do  $^{14}\text{C}$ -paration (TABELA 6). Portanto, após o tempo de interação, os resíduos-ligados se tornaram muito menos suscetíveis à ação da microflora e/ou da rizosfera, como ocorreu também com o  $^{14}\text{C}$ -lindano.

Novamente, pouquíssima quantidade de resíduos-ligados foi absorvida pelas plantas (0,05%) e se tornou ligada ao tecido vegetal (0,03%), como pode-se verifi-

car na TABELA 7.

A renitência à liberação dos resíduos-ligados foi ainda mais visível ao se observar que as quantidades de resíduos-ainda-ligados ao solo foram aproximadamente 11% após o bioteste com planta, e 8,6% após o bioteste sem planta (TABELA 7), pois estes valores foram muito próximos aos valores de resíduos-realmente-ligados (TABELA 7). RACKE & LICHTENSTEIN (1985) também detectaram grande quantidade de resíduos-ainda-ligados após diferentes testes de bio-liberação.

Imediatamente após a aplicação de  $^{14}\text{C}$ -paration ao solo de Praia Grande (TABELA 8), verificou-se que mais de 91% do radiocarbono puderam ser extraídos e 9,6% se tornaram ligados. A quantidade presente após a reativação foi muito semelhante à ligada, isto é, 8,7% (TABELA 8).

Após os biotestes, verificou-se que, como ocorreu para o solo de Fucada (TABELA 6), nada evoluiu a  $^{14}\text{CO}_2$  e somente 0,11% foram detectados como  $^{14}\text{C}$ -produtos voláteis, apenas no bioteste sem plantas (TABELA 8).

Grande parte dos resíduos-ligados inicialmente foi liberada e pôde ser novamente extraída, além dos valores terem sido próximos nos dois biotestes, isto é, 5,1% e 4,8% nos biotestes com e sem planta, respectivamente (TABELA 8). Assim, como no solo de Fucada, os resíduos-ligados liberados e extraídos representaram mais de 50% dos resíduos imediatamente ligados e presentes após a reativação.

Neste caso também, muito pouco do resíduo-ligado foi absorvido e se tornou ligado ao tecido vegetal (0,04% e 0,07%, respectivamente, TABELA 8). Porém, também como ocorreu no solo de Fucada, grande parte permaneceu ainda-ligada (aproximadamente 3% e 3,4%), não tendo havido diferença entre os biotestes (TABELA 8).

Ao se comparar com o comportamento do  $^{14}\text{C}$ -lindano imediatamente aplicado e processado no mesmo solo (TABELA 4), verificou-se que mais de 90% de ambos os pesti

TABELA 8 - Recuperação do radiocarbono do solo de Praia Grande imediatamente após o tratamento com  $^{14}\text{C}$ -paration.

Quantidade aplicada	1,59 kBq/g (ou 0,043 $\mu\text{Ci/g}$ ) <sup>a/</sup>	
	%	
Extraído	91,72 $\pm$ 5,02 <sup>b/</sup>	
Ligado	9,60 $\pm$ 4,99	
Presente após reativação	8,73 $\pm$ 5,90	
BIOTESTE	com planta <sup>c/</sup>	sem planta <sup>c/</sup>
$^{14}\text{CO}_2$	0	0
Voláteis	0	0,11 $\pm$ 0,03
Liberado e extraído	5,16 $\pm$ 1,78	4,82 $\pm$ 3,98
Absorvido pelas plantas	0,04 $\pm$ 0,03	---
Ligado às plantas	0,07 $\pm$ 0,04	---
Ainda-ligado ao solo	2,98 $\pm$ 1,03	3,37 $\pm$ 2,51

a/ correspondentes a 10,7  $\mu\text{g/g}$  de paration.

b/ média  $\pm$  desvio padrão de 6 repetições.

c/ média  $\pm$  desvio padrão de 3 repetições.

cidas foram imediatamente extraídos. As quantidades de resíduos-ligados presentes após reativação também foram semelhantes para os dois compostos, independentemente dos dois pesticidas serem molecularmente tão diferentes (TABELAS 4 e 8). Mas, após os biotestes notou-se que os resíduos-ligados provenientes da aplicação do  $^{14}\text{C}$ -lindano (TABELA 4) sofreram muito mais a ação da microflora do que os resíduos-ligados provenientes do  $^{14}\text{C}$ -paration no mesmo solo (TABELA 8). Assim, menor quantidade de resíduos-ligados do  $^{14}\text{C}$ -lindano permaneceu ainda-ligada ao solo ao final dos biotestes (média de 1,1%, TABELA 4) do que a proveniente do  $^{14}\text{C}$ -paration (média de 3,2%, TABELA 8).

Finalmente, a TABELA 9 mostra os resultados do solo de Praia Grande tratado com  $^{14}\text{C}$ -paration que sofreu o processo de envelhecimento dos resíduos por 3 meses. Notou-se novamente um decréscimo de aproximadamente 40% da quantidade aplicada (1,59 kBq/g ou 0,043  $\mu\text{Ci/g}$  de solo, TABELA 8), em relação à quantidade ainda presente após os 3 meses de incubação (0,96 kBq/g ou 0,026  $\mu\text{Ci/g}$  de solo, TABELA 9). Embora o decréscimo tenha sido menor, o mesmo ocorreu com o  $^{14}\text{C}$ -lindano neste solo (TABELAS 4 e 5) e para RACKE & LICHTENSTEIN (1985) com paration metílico, e, não ocorreu com o solo de Fucada com nenhum dos inseticidas (TABELAS 2, 3, 6 e 7). Novamente citamos KILZER et alii (1979), que observaram volatilização mais rápida de alguns pesticidas de solos úmidos e com menor conteúdo orgânico. Também BURKHARD & GUTH (1981) observaram maior volatilização em solos com menor conteúdo de matéria orgânica. Além disso, KATAN et alii (1976) detectaram perdas entre 12% e 21% do paration aplicado a diferentes solos, após 28 dias de incubação, e atribuíram à formação de produtos voláteis.

A maior parte do radiocarbono ainda presente foi extraída (65%, TABELA 9), mas grande parte ligou-se e continuou presente após a reativação (40% e 38%, respectivamente, TABELA 9). Estes valores concordam com alguns dos encontrados por KATAN et alii (1976). Mais uma vez, no



TABELA 9 - Recuperação do radiocarbono do solo de Praia Grande 3 meses após o tratamento com  $^{14}\text{C}$ -paration.

Quantidade ainda presente 0,96 kBq/g (ou 0,026 $\mu\text{Ci/g}$ ) <sup>a/</sup>		
	%	
Extraído	65,09 $\pm$ 2,67 <sup>b/</sup>	
Ligado	40,03 $\pm$ 3,62	
Presente após reativação	38,15 $\pm$ 3,92	
BIOTESTE	com planta <sup>c/</sup>	sem planta <sup>d/</sup>
$^{14}\text{CO}_2$	0,52 $\pm$ 0,20	0,67 $\pm$ 0,05
Voláteis	0,39 $\pm$ 0,05	0,32 $\pm$ 0,07
Liberado e extraído	4,30 $\pm$ 0,80	5,05 $\pm$ 1,14
Absorvido pelas plantas	0,15 $\pm$ 0,11	---
Ligado às plantas	0,12 $\pm$ 0,04	---
Ainda-ligado ao solo	28,44 $\pm$ 4,18	29,81 $\pm$ 1,56

a/ correspondentes a 6,49  $\mu\text{g/g}$  de paration.

b/ média  $\pm$  desvio padrão de 7 repetições.

c/ média  $\pm$  desvio padrão de 4 repetições.

d/ média  $\pm$  desvio padrão de 3 repetições.

tou-se que o processo de envelhecimento, ou do tempo de interação dos resíduos de pesticidas com o solo de Praia Grande, foi responsável pela formação de maiores quantidades de resíduos-ligados (TABELAS 8 e 9), assim como ocorreu para os resíduos de  $^{14}\text{C}$ -lindano (TABELAS 4 e 5). KHAN & DUPONT (1987) observaram que, geralmente, os valores de resíduos-ligados aumentam com o tempo. Isto, porém, não ocorreu com nenhum dos  $^{14}\text{C}$ -pesticidas no solo de Fucada (TABELAS 2, 3, 6 e 7), indicando predominância do tipo de solo sobre o comportamento dos pesticidas.

Os biotestes para liberação dos resíduos - realmente-ligados através da rizosfera e da microflora mostraram que a microflora reativada foi capaz de metabolizar os resíduos envelhecidos e ligados provenientes do  $^{14}\text{C}$ -paration neste solo. Houve evolução de 0,52% a  $^{14}\text{CO}_2$  no bioteste com planta e 0,67% no bioteste sem planta (TABELA 9). Detectou-se também formação de  $^{14}\text{C}$ -produtos voláteis, não tendo havido praticamente diferença entre os biotestes (média de aproximadamente 0,35%, TABELA 9). Isto só ocorreu com os resíduos-ligados do  $^{14}\text{C}$ -paration e/ou seus  $^{14}\text{C}$ -metabólitos após o tempo de residência, independentemente do tipo de solo (TABELAS 7 e 9). Resultados de KATAN et alii (1976) com  $^{14}\text{C}$ -paration sugeriram que a formação dos resíduos-ligados envolve dois processos: um processo microbiano leva ao "condicionamento" do paration para ligação (ou à produção de metabólitos ligáveis), seguido do processo físico-químico que conduz a uma retenção forte do produto anteriormente formado.

Os resíduos-ligados provenientes de  $^{14}\text{C}$ -paration e formados logo após o tratamento não puderam ser utilizados como fonte de energia, não tendo sido metabolizados a  $^{14}\text{CO}_2$  e  $^{14}\text{C}$ -produtos voláteis pela microflora dos dois solos (TABELAS 6 e 8). Porém, a pequena evolução de  $^{14}\text{CO}_2$  que ocorreu com os dois solos após o processo de envelhecimento, foi realmente intrigante no caso do paration, principalmente devido à marcação da molécula que foi no grupo dietil, cujo ataque microbiano é mais fácil do que a quebra do anel

benzênico (HSU & BARTHA, 1979). Pode ter ocorrido predominância do processo redutivo de degradação, levando à produção de p-aminofenol, que segundo KATAN et alii (1976), é o produto que se torna ligado.

Também o processo de interação dos resíduos de  $^{14}\text{C}$ -paration e/ou seus metabólitos com o solo de Praia Grande, a quantidade reliberada e extraída após os biotestes, foi ligeiramente menor (entre 4,3% e 5%, TABELA 9) do que a reliberada e extraída, quando o processamento se deu imediatamente após a aplicação (entre 5,2% e 4,8%, TABELA 8). Isto ocorreu também no solo de Fucada após o envelhecimento do mesmo inseticida (TABELAS 6 e 7). HSU & BARTHA (1976) propuseram um mecanismo de ligação para o herbicida propanil, que pode ser próximo do que ocorreu com o  $^{14}\text{C}$ -paration; isto é, a ligação se dá em dois passos: a atividade biológica leva à liberação dos resíduos mais fracamente ligados e, então, ocorre ligação química subsequente dos compostos à matéria orgânica do solo.

Já a absorção pelas plantas foi pouco maior no solo de Praia Grande com resíduos-realmente-ligados, isto é, os formados após o tempo de residência (0,15%, TABELA 9) do que com os resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -paration extraídos imediatamente após a aplicação (0,04%, TABELA 8). No caso do solo de Fucada, ocorreu maior absorção dos resíduos-ligados pelas plantas quando estes resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -paration eram mais recentes (TABELAS 6 e 7). Também os valores de  $^{14}\text{C}$ -resíduos-ligados ao tecido vegetal foram maiores nas plantas do solo de Praia Grande com resíduos-realmente-ligados de  $^{14}\text{C}$ -paration e/ou seus produtos de degradação (0,12%, TABELA 9), do que os das plantas do mesmo solo processado imediatamente após a aplicação (0,07%, TABELA 8). Além disso, o valor de 0,12% de ligação ao tecido vegetal (TABELA 9) foi o maior em se tratando de tratamento com  $^{14}\text{C}$ -paration, indiferentemente do tempo (TABELAS 6, 7, 8 e 9), e também em relação ao tratamento com  $^{14}\text{C}$ -lindano (TABELAS 2, 3, 4 e 5). Outros autores (FUHREMAN & LICHTENSTEIN, 1978 e RACKE & LICHTENSTEIN, 1985) também

mostraram que plantas foram capazes de liberar e absorver parte dos resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -paration metílico e  $^{14}\text{C}$ -paration.

Finalmente, a maior parte dos resíduos-ligados permaneceu como ainda-ligados ao solo de Praia Grande (TABELA 9), assim como aconteceu com os resíduos-ligados provenientes de  $^{14}\text{C}$ -paration no solo de Fucada após 3 meses de incubação (TABELA 7), e no solo de Praia Grande com resíduos-ligados provenientes de resíduos envelhecidos de  $^{14}\text{C}$ -lindano (TABELA 5), porém aqui, em quantidades muito maiores. KATAN & LICHTENSTEIN (1977) provaram que microrganismos do solo agiram na degradação do  $^{14}\text{C}$ -paration a vários produtos, mas, principalmente a amonoparation e p-aminofenol. Estes, uma vez formados, não foram liberados nem na presença nem na ausência de microrganismos. Além disso, os autores mostraram que a produção de compostos de degradação potencialmente ligáveis, através de metabolismo microbiano, aumentou com o tempo.

#### 4.3. Comparação do comportamento de $^{14}\text{C}$ -lindano e $^{14}\text{C}$ -paration nos dois solos.

Notou-se portanto que, de modo geral, o tempo de residência de  $^{14}\text{C}$ -lindano e  $^{14}\text{C}$ -paration, ambos no solo de Praia Grande, determinou metabolização de parte da quantidade aplicada, isto é, a quantidade ainda presente após o envelhecimento do inseticida aplicado, foi menor após os 3 meses de incubação. Isto também ocorreu com anilazina para KLOSKOWSKI et alii (1986), e com inseticidas organofosforados para LICHTENSTEIN et alii (1977). Porém, no solo de Fucada, as quantidades de resíduos provenientes da aplicação de  $^{14}\text{C}$ -lindano e  $^{14}\text{C}$ -paration ainda presentes 3 meses após o tratamento, foram aproximadamente as mesmas aplicadas. Pode-se supor que este solo tenha comportado população microbiana menos capaz de degradar ambos inseticidas durante os 3 meses.

Com o solo de Praia Grande, que tem menor conteúdo de matéria orgânica e por isso, provavelmente, uma

população microbiana menor, o tempo pode ter selecionado a microflora capaz de utilizar os compostos aplicados (ANDRÉA et alii, 1982 e ANDRÉA & RUEGG, 1982). Ou ainda, os microrganismos deste solo podem ter metabolizado os pesticidas durante o tempo de incubação, a compostos ligados que permaneceram no solo, e a compostos voláteis que foram perdidos para a atmosfera. Após algum tempo, os microrganismos não foram mais capazes de metabolizar os resíduos-ligados formados, pois as quantidades ainda-ligadas foram muito próximas das quantidades-ligadas (TABELAS 5 e 9). Desta forma, os microrganismos podem ter ajudado na formação de resíduos-ligados de lindano e paration e não foram capazes de liberá-los após a ligação. KHAN & IVARSON (1982) observaram que diferentes grupos fisiológicos de microrganismos de solo diferiram na capacidade de liberar resíduos-ligados de prometrina do solo.

Observando-se o ocorrido no solo de Fucada, com os resíduos envelhecidos de  $^{14}\text{C}$ -lindano e/ou seus metabólitos (TABELA 3), verificou-se que o tempo de residência não favoreceu a formação de resíduos-ligados. Comparando-se com a quantidade de resíduos-ligados formados no mesmo solo e tempo de envelhecimento, porém a partir de  $^{14}\text{C}$ -paration (TABELA 7), verificou-se que, após a formação do resíduo-realmente-ligado, nem a ação da microflora e/ou da rizosfera tiveram muita influência na liberação. Portanto, no mesmo solo dois pesticidas se comportaram diferentemente, tendo havido então, predominância do tipo de pesticida sobre as características do solo.

Além disso, notou-se que os resíduos-ligados provenientes do tratamento com  $^{14}\text{C}$ -lindano foram metabolizados a  $^{14}\text{CO}_2$  e/ou  $^{14}\text{C}$ -compostos voláteis nos biotestes dos solos processados logo ou 3 meses após o tratamento, independentemente do tipo de solo (TABELAS 2, 3, 4 e 5). Contudo, em relação ao  $^{14}\text{C}$ -paration, esta evolução de  $^{14}\text{CO}_2$  e/ou  $^{14}\text{C}$ -compostos voláteis só ocorreu com os resíduos-ligados formados 3 meses após a aplicação (TABELAS 7 e 9). Portanto, notou-se novamente predominância das características do

pesticida sobre o tipo de solo.

De toda forma, os resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -lindano e  $^{14}\text{C}$ -paration ou seus metabólitos foram muito pouco ou nada acessíveis ao metabolismo microbiano, porque as quantidades de radiocarbono bio-mineralizado a  $^{14}\text{CO}_2$  e/ou  $^{14}\text{C}$ -produtos voláteis foram sempre muito pequenas.

Verificou-se que, novamente, o tempo de interação dos inseticidas com os solos também influenciou na pequena absorção dos resíduos-ligados pelas plantas. Apesar desses valores terem sido sempre muito baixos, como os de KLOSKOWSKI et alii (1986) com anilazina, ocorreu uma pequena diferença entre o absorvido pelas plantas, que foram maiores quando o solo foi processado imediatamente após o tratamento, do que quando o resíduo sofreu o processo de envelhecimento. A utilização dos frascos biométricos foi feita com a intenção de maximizar a oportunidade de absorção dos resíduos-ligados, conforme também realizado por HELLING (1976), mas, a quantidade destes resíduos absorvidos pelas plantas foi muito baixa, isto é, máximo de 0,3%. FUHR (1987) e KLOSKOWSKI et alii (1987) afirmam que os experimentos de laboratório fornecem indicações sobre o comportamento de pesticidas, fornecendo dados sobre a disponibilidade biológica relativa dos resíduos-ligados. De qualquer forma, vários outros autores (HELLING, 1976; HELLING & KRIVONAK, 1978ab; FUHREMANN & LICHTENSTEIN, 1978; FUHR & MITTELSTAEDT, 1980; KHAN, 1980; ROBERTS & STANDEN, 1981; RACKE & LICHTENSTEIN, 1985; KLOSKOWSKI et alii, 1986; FUHR & MITTESTAEDT, 1986; KLOSKOWSKI & FUHR, 1987ab e KLOSKOWSKI & FUHR, 1983) dão conta de bio-liberação e absorção de resíduos-ligados de vários pesticidas por plantas; porém, os valores também foram baixos.

O conceito de persistência de pesticidas, conforme anteriormente discutido por KATAN et alii (1976) e LICHTENSTEIN et alii (1977), que era baseado apenas nos resultados de extração do composto original e/ou seus metabólitos da matriz do solo, precisa de fato, de reconsidera

ção. A formação de resíduos-ligados ocorre e é, não só dependente do composto, como afirmam aqueles autores e KLEIN & SCHEUNERT (1982), mas também do tipo de solo. Nestes experimentos notou-se que, de modo geral, os resíduos-ainda-ligados foram maiores nos dois solos com  $^{14}\text{C}$ -paration, mas há valores de resíduos-ainda-ligados a partir de  $^{14}\text{C}$ -lindano no muito próximos aos do paration, quando o lindano foi aplicado ao solo de Praia Grande (TABELA 5).

Portanto, além da ação do tempo de interação entre pesticida e solo, isto é, do tempo de envelhecimento sobre a formação de resíduos-ligados que permaneceram ainda-ligados, também atuaram as características do solo de Praia Grande. Mas, pode-se afirmar que houve maior tendência de formação de resíduos-ligados do  $^{14}\text{C}$ -paration do que do  $^{14}\text{C}$ -lindano. KHAN & DUPONT (1987) afirmam que há relação entre a tendência de ligação e estrutura química dos pesticidas, sendo que os compostos clorados formam somente pequena quantidade de resíduos-ligados, já os organofosforados formam quantias consideráveis.

#### 4.4. Degradação do $^{14}\text{C}$ -lindano e do $^{14}\text{C}$ -paration.

Os extratos metanólicos de solos foram particionados com hexano, conforme descrito, e a fase hexano dos extratos e das plantas foi submetida à cromatografia em camada delgada (ccd) e análise linear por varredura da radioatividade, para verificação do aparecimento de metabólitos apolares. O  $R_f$  do padrão de  $^{14}\text{C}$ -lindano foi de  $0,50 \pm 0,01$ , média de 6 repetições, visualizado pelo aparecimento do pico após varredura no analisador linear. O  $R_f$  do paration foi de  $0,34 \pm 0,01$ , média de 4 repetições, visualizado sob lâmpada ultra-violeta com comprimento de onda de 254 nm. As medidas da fase metanol restante foram usadas para verificação de formação de compostos polares.

A análise linear das ccd foi feita qualitativamente, isto é, para observação de aparecimento de radioatividade em  $R_f$  diferente do composto original. Os resultados destas observações estão representados nas TABELAS 10, 11, 12 e 13.

Baseando-se nestes dados, a degradação do  $^{14}\text{C}$ -lindano a compostos apolares no solo de Fucada (TABELA 10) quase não ocorreu, pois a maioria da radioatividade foi encontrada no  $R_f$  correspondente ao  $^{14}\text{C}$ -lindano (0,50). Somente pouca radioatividade foi detectada no ponto de aplicação ( $R_f$  de 0 a 0,13) das ccd dos extratos de solo com planta e no extrato da própria planta. Os cromatogramas da quantidade extraída do mesmo solo 3 meses após o tratamento apresentaram um pequeno pico de radioatividade no  $R_f$  correspondente ao  $^{14}\text{C}$ -lindano.

As quantidades de radioatividade absorvida pelas plantas e, liberada e extraída delas, 3 meses após o tratamento com qualquer dos inseticidas foram muito pequenas após a partição metanol/hexano, não tendo podido ser detectada por este tipo de analisador linear. Porém, pequena absorção dos resíduos envelhecidos por plantas, também foi observada por KLOSKOWSKI & FUHR (1987ab).

Também no solo de Praia Grande tratado com  $^{14}\text{C}$ -lindano (TABELA 11), ocorreu pequena degradação a compostos apolares, pois a maioria da radioatividade presente se concentrou no  $R_f$  do próprio  $^{14}\text{C}$ -lindano, tanto no processamento imediatamente após a aplicação, quanto 3 meses após o tratamento. Detecção do composto original mesmo após um tempo de envelhecimento, também foi observada por KLOSKOWSKI & FUHR (1987b). Porém, alguma radioatividade foi detectada no  $R_f$  correspondente ao ponto de aplicação e no  $R_f$  de 0,60 a 0,73, nos extratos de solo do bioteste com planta e nos extratos das plantas extraídas do solo processado imediatamente após o tratamento (TABELA 11). Nos extratos de solo com resíduos envelhecidos por 3 meses detectou-se radioatividade apenas no  $R_f$  do  $^{14}\text{C}$ -lindano, e somente nos extratos de solo referentes a quantidade liberada e extraída do solo do bioteste com planta (TABELA 11).

Com o  $^{14}\text{C}$ -paration aplicado ao solo de Fucada e imediatamente extraído (TABELA 12), notou-se metabolização a compostos apolares somente nas plantas ( $R_f$  de 0 a 0,13, e de 0,60 a 0,70). Três meses após a aplicação (TABELA



TABELA 10 - Perfil cromatográfico do <sup>14</sup>C-lindano no solo de Fucada.

R <sub>f</sub>	0 a 0,13	0,20 a 0,40	0,50 ( <sup>14</sup> C-lindano)	0,60 a 0,73
----- Imediatamente após o tratamento -----				
Extraído	-	-	xxx	-
Liberado e extraído:				
- com planta	x	-	xxx	-
- sem planta	-	-	xxx	-
Absorvido pelas plantas	x	-	xxx	-
----- Três meses após o tratamento -----				
Extraído	-	x	xx	-
Liberado e extraído:				
- com planta	-	-	-	-
- sem planta	-	-	-	-

-:radioatividade ausente; x:alguma radioatividade; xx:radioatividade evidente; xxx:radioatividade máxima.

TABELA 11 - Perfil cromatográfico do  $^{14}\text{C}$ -lindano no solo de Praia Grande.

$R_f$	0 a 0,13	0,20 a 0,40	0,50 ( $^{14}\text{C}$ -lindano)	0,60 a 0,73
————— Imediatamente após o tratamento —————				
Extraído	-	-	xxx	-
Liberado e extraído:				
- com planta	x	-	xxx	xx
- sem planta	-	-	xxx	-
Absorvido pelas plantas	x	-	xxx	xx
————— Três meses após o tratamento —————				
Extraído	-	-	xxx	-
Liberado e extraído:				
- com planta	-	-	xxx	-
- sem planta	-	-	-	-

-:radioatividade ausente; x:alguma radioatividade; xx:radioatividade evidente; xxx:radioatividade máxima.

TABELA 12 - Perfil cromatográfico do  $^{14}\text{C}$ -paration no solo de Fucada.

$R_f$	0 a 0,10	0,10 a 0,27	0,34	0,42 a 0,53	0,60 a 0,70
	( $^{14}\text{C}$ -paration)				
	————— Imediatamente após a aplicação —————				
Extraído	-	-	xxx	-	-
Liberado e extraído:					
- com planta	-	-	xxx	-	-
- sem planta	-	-	xxx	-	-
Absorvido pelas plantas	x	-	-	-	x
	————— Três meses após o tratamento —————				
Extraído	-	-	xxx	-	-
Liberado e extraído:					
- com planta	-	-	-	-	xx
- sem planta	-	-	-	-	-

-: radioatividade ausente; x: alguma radioatividade; xx: radioatividade evidente;  
xxx: radioatividade máxima.

TABELA 13 - Perfil cromatográfico do  $^{14}\text{C}$ -paration no solo de Praia Grande.

$R_f$	0 a 0,10	0,10 a 0,27	0,34	0,42 a 0,53	0,60 a 0,70
	( $^{14}\text{C}$ -paration)				
	----- Imediatamente após o tratamento -----				
Extraído	-	-	xxx	-	-
Liberado e extraído:					
- com planta	-	-	xxx	x	-
- sem planta	x	-	xx	xx	xx
Absorvido pelas plantas	-	-	-	-	-
	----- Três meses após o tratamento -----				
Extraído	-	-	xxx	xx	x
Liberado e extraído:					
- com planta	-	-	-	-	-
- sem planta	-	-	x	x	-

-:radioatividade ausente; x:alguma radioatividade; xx:radioatividade evidente; xxx:radioatividade máxima.

LA 12), toda a radioatividade da fase hexano dos extratos de solo foi identificada somente com o paration ( $R_f$  0,34). Porém, a pequena quantidade liberada e extraída, presente nos extratos de solo do bioteste com planta, apresentou - se em  $R_f$  diferente do paration, isto é,  $R_f$  de 0,60 a 0,70 (TABELA 12), tendo havido, portanto, degradação a compostos apolares.

Já no solo de Praia Grande tratado com  $^{14}\text{C}$ -paration (TABELA 13), apareceram o  $^{14}\text{C}$ -paration e  $^{14}\text{C}$ -metabólitos apolares no  $R_f$  de 0,42 a 0,53, logo após a aplicação e ação da rizosfera, além de outro metabólito, no  $R_f$  de 0,60 a 0,70, após ação da microflora. Três meses após o tratamento, observou-se picos nos  $R_f$  correspondentes ao paration e também nos outros dois citados (TABELA 13). KATAN & LICHTENSTEIN (1977) também detectaram degradação do  $^{14}\text{C}$ -paration a metabólitos apolares e polares, e a produção dos compostos de degradação foi correlacionada com o crescimento da população microbiana.

Resultados das medidas da fase metanol dando conta da formação de produtos polares em relação ao tempo zero, isto é, em relação aos extratos imediatamente após a aplicação dos  $^{14}\text{C}$ -pesticidas, estão na FIGURA 4.

Notou-se, diferentemente do que ocorreu em relação à degradação a compostos apolares, que, de modo geral, os pesticidas se degradaram mais a  $^{14}\text{C}$ -compostos polares (FIGURA 4). O tempo de residência, ou envelhecimento dos resíduos, foi o único responsável pela degradação a compostos hidrossolúveis do  $^{14}\text{C}$ -lindano originalmente aplicado no solo de Fucada (FIGURA 4). Desta forma, após o envelhecimento, 27,8% do radiocarbono foram encontrados como  $^{14}\text{C}$ -compostos hidrossolúveis e nada foi formado após ação da rizosfera e da microflora. Verificou-se pela TABELA 3, que a quantidade de radioatividade presente nos extratos foi realmente baixa e, como grande parte foi encontrada como compostos hidrossolúveis, pouco restou na fase hexano, e nesta, a maioria foi identificada com o próprio  $^{14}\text{C}$ -lindano

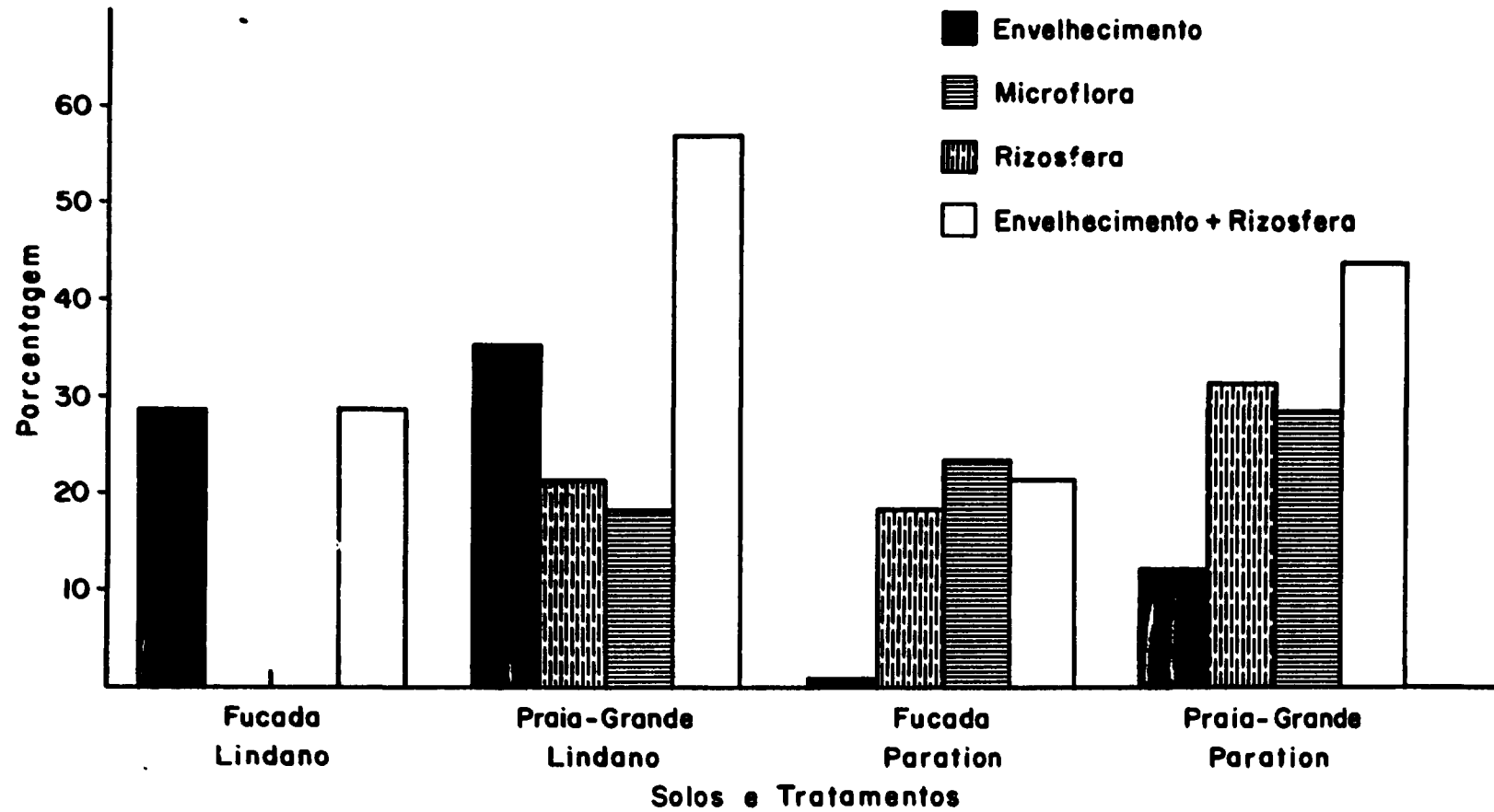


FIGURA 4 - Degradação dos  $^{14}\text{C}$ -pesticidas no solo a compostos hidrossolúveis.

(TABELA 10).

Para o solo de Praia Grande tratado com  $^{14}\text{C}$ -lindano, o tempo de envelhecimento ou interação dos resíduos com o solo, foi responsável pela formação da maioria dos compostos hidrossolúveis (35,6%, FIGURA 4); entretanto, a ação da microflora contribuiu com 20% e da rizosfera com 22%. Desta forma, ação do tempo e da rizosfera como um todo determinaram degradação de aproximadamente 58% do  $^{14}\text{C}$ -lindano a compostos hidrossolúveis, no período total de 4,5 meses de duração dos biotestes. Novamente, notou-se que a quantidade de  $^{14}\text{C}$ -liberado e extraído foi baixa 3 meses após a aplicação do  $^{14}\text{C}$ -lindano (TABELA 5) e a grande maioria do radiocarbono permaneceu no extrato metanólico (FIGURA 4), restando pouco como o próprio  $^{14}\text{C}$ -lindano na fase hexano (TABELA 11).

Já para o  $^{14}\text{C}$ -paration aplicado no solo de Fucada ocorreu o inverso do que ocorreu com o  $^{14}\text{C}$ -lindano, isto é, o processo de interação dos resíduos com o solo determinou que menos de 1% do composto aplicado fosse degradado a compostos mais polares (FIGURA 4). Por outro lado, a ação da microflora degradou o  $^{14}\text{C}$ -paration a compostos polares em aproximadamente 23%, e a rizosfera como um todo contribuiu com aproximadamente 18%. Portanto, rizosfera e microflora foram as determinantes do aparecimento de  $^{14}\text{C}$ -produtos hidrossolúveis. Embora, neste caso, a maior parte do radiocarbono tenha sido transferida para o hexano, os produtos foram identificados com o próprio paration (TABELA 12), como também acharam KATAN et alii (1976).

A mesma tendência ocorreu com o solo de Praia Grande com  $^{14}\text{C}$ -paration (FIGURA 4). Embora o processo de envelhecimento tenha determinado formação de aproximadamente 12% de  $^{14}\text{C}$ -compostos polares, a ação da microflora e da rizosfera como um todo predominou novamente, tendo contribuído com mais de 28% e 31%, respectivamente (FIGURA 4). A quantidade de  $^{14}\text{C}$ -liberado e extraído 3 meses após o tratamento deste solo com  $^{14}\text{C}$ -paration foi relativamente alta (TABELA 9), mas a metabolização a compostos polares, como também

detectaram KATAN & LICHTENSTEIN (1977), atingiu total de aproximadamente 44% (FIGURA 4). O restante presente no hexano distribuiu-se em diferentes valores de  $R_f$  (TABELA 13).

Todos os extratos de planta dos dois solos que sofreram o processo de envelhecimento dos dois pesticidas apresentaram 100% da radioatividade na fase metanol, portanto, só compostos polares.

De toda forma, para o solo de Praia Grande, tanto a rizosfera (no caso do  $^{14}\text{C}$ -lindano), como o envelhecimento (no caso do  $^{14}\text{C}$ -paration), contribuíram para a formação de metabólitos polares. Para o solo de Fucada, no caso do  $^{14}\text{C}$ -lindano, foi só o envelhecimento que determinou o aparecimento de produtos hidrossolúveis, e para o  $^{14}\text{C}$ -paration foi a microflora. Também KLOSKOWSKI & FUHR (1987a) observaram quantidades crescentes de resíduos hidrossolúveis do herbicida metamitron nos extratos de solo, e, embora estes compostos polares também tenham sido muito pouco bio-disponíveis e absorvidos pelas plantas, serviram como fonte de energia para os microrganismos do solo.

Assim, analisando-se os experimentos, notou-se que o decréscimo da quantidade de pesticida aplicado para a quantidade ainda presente após a incubação durante 3 meses, ocorreu somente com o solo de Praia Grande, independentemente do  $^{14}\text{C}$ -pesticida aplicado (TABELAS 4, 5, 8 e 9). O decréscimo de  $^{14}\text{C}$ -lindano aplicado neste solo foi de aproximadamente 28% após os 3 meses (TABELAS 4 e 5) e o decréscimo da quantidade de  $^{14}\text{C}$ -paration foi de aproximadamente 40% (TABELAS 8 e 9).

Contudo, o tempo após a aplicação dos pesticidas não implicou em metabolização e perda sob a forma de  $^{14}\text{C}$ -produtos volatilizados para a atmosfera em solo com as características do solo de Fucada (TABELAS 2, 3, 6 e 7). O solo de Fucada tem maior conteúdo de matéria orgânica e BURKHARD & GUTH (1981) afirmam que quanto maior o conteúdo de matéria orgânica dos solos, menor a volatilização dos pesticidas.



A ação do tempo após o tratamento ainda favoreceu a formação de pequena quantidade de resíduos-ligados de ambas pesticidas no solo de Fucada, e maiores quantidades no solo de Praia Grande (TABELAS 3, 5, 7 e 9). Solos com maior conteúdo orgânico (como o solo de Fucada) têm maior quantidade de microrganismos e ocorre maior degradação de pesticidas (FUHR, 1984; RACKE & LICHTENSTEIN, 1985; KLEIN & SCHEUNERT, 1985; EBING, 1987 e GOLOVLEVA et alii, 1990). Por outro lado, em solos com menos matéria orgânica, predomina a ligação nas partículas minerais (RYAN et alii, 1988 e CALDERBANK, 1989). Além disso, o decréscimo da quantidade aplicada de  $^{14}\text{C}$ -lindano para a quantidade ainda presente após 3 meses no solo de Praia Grande (TABELAS 4 e 5), não determinou aumento realmente grande da quantidade de resíduos-ligados formados. Já para o  $^{14}\text{C}$ -paration aplicado no mesmo solo, o decréscimo inicial foi maior e a quantidade-ligada foi muito aumentada (TABELAS 8 e 9).

Apesar dos valores de bio-liberação dos resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -lindano, sob forma de  $^{14}\text{CO}_2$  e  $^{14}\text{C}$ -compostos voláteis, terem sido sempre muito baixos, verificou-se que ela ocorreu, independentemente do tipo de solo (TABELAS 2, 3, 4 e 5). Estas quantidades foram da mesma ordem de magnitude das de HELLING (1976), e também com resíduos envelhecidos e ligados, isto é, resíduos-realmente-ligados de terbunil de KLOSKOWSKI & FUHR (1987b). Com os resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -paration, a bio-liberação como  $^{14}\text{CO}_2$  e voláteis só ocorreu quando o pesticida ficou incubando por 3 meses, independentemente do tipo de solo (TABELAS 7 e 9).

Por outro lado, a quantidade de resíduos-ligados liberados e extraídos foi sempre muito menor após os 3 meses de envelhecimento dos resíduos, independentemente do pesticida e do solo (TABELAS 3, 5, 7 e 9), provando que o tempo de interação pesticida-solo age na formação de resíduos-realmente-ligados.

As plantas também absorveram sempre quantidades muito pequenas de resíduos-ligados aos solos, e, de modo geral, ainda menores quantidades se tornaram ligadas

ao tecido vegetal (TABELAS 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9). Os resultados observados concordam com os de outros autores que trabalharam com diferentes pesticidas (HELLING, 1976; KHAN, 1982; ROBERTS, 1984; FUHR, 1984; RAGHU & DREGO, 1986 e KLOSKOWSKI & FUHR, 1987b). Também KLEIN & SCHEUNERT (1982) observaram que para todos os pesticidas estudados até aquele momento, pequenas quantidades de resíduos-ligados aos solos foram absorvidas por plantas. CALDERBANK (1989) observou que as quantidades de resíduos-ligados absorvidos por plantas foram, de modo geral, menores que 1% do total de resíduos-ligados ao solo, e KHAN (1991) afirma que a absorção por plantas de pesticidas dos solos logo após sua aplicação, em relação à absorção de resíduos-ligados é aproximadamente 5:1. Além disso, HUBER & OTTO (1983) e KOVACS (1986) afirmam que, do ponto de vista de regulamentação, resíduos-ligados formados em quantidades menores que 10% da quantidade aplicada ou menores que 0,1 ppm de resíduos, não necessitam de investigação subsequente, porque não são significativos toxicologicamente. Entretanto, a absorção por plantas foi ligeiramente maior quando os  $^{14}\text{C}$ -inseticidas foram processados imediatamente após a aplicação (TABELAS 2, 4, 6 e 8), concordando com os resultados de FUHR & MITTELSTAEDT (1980), KLOSKOWSKI & FUHR (1987b) e KLOSKOWSKI & FUHR (1988) que trabalharam com herbicidas. FUHR (1987) observou que a disponibilidade biológica decresce muito com o aumento do tempo de residência dos pesticidas no solo. A única exceção a esta tendência aconteceu com o solo de Praia Grande com  $^{14}\text{C}$ -paration imediatamente aplicado e com resíduos envelhecidos (TABELAS 8 e 9); porém, em relação à quantidade de resíduos presentes após a reativação, os valores detectados nas plantas foram maiores quando o processamento se deu logo após a aplicação.

De qualquer forma, o perigo potencial de contaminação de plantas por resíduos-ligados destes dois inseticidas em solos com as características dos aqui usados, é mínimo. FUHR (1987) e KLOSKOWSKI et alii (1987) relembram que em experimentos de pequena escala, a razão raiz/

soilo é muito mais limitada do que no campo; então, em experimentos com microecossistemas, por exemplo, as taxas de absorção podem ser até 50 vezes maior do que as observadas no campo.

As quantidades de resíduos-ainda-ligados após os biotestes, isto é, as quantidades de resíduos que ficaram inativados nos solos, pois não foram liberados nem pela microflora, nem pela rizosfera como um todo, estão representadas na FIGURA 5. Notou-se que as quantidades maiores de resíduos-ainda-ligados ao final dos biotestes, ocorreram no solo de Praia Grande com  $^{14}\text{C}$ -paration que sofreu ação do tempo, seguido do mesmo solo com resíduos de  $^{14}\text{C}$ -lindano envelhecidos, solo de Fucada com resíduos de  $^{14}\text{C}$ -paration também envelhecidos e do mesmo solo com  $^{14}\text{C}$ -paration processado imediatamente após a aplicação; a seguir, o solo de Praia Grande com  $^{14}\text{C}$ -paration e os dois solos com  $^{14}\text{C}$ -lindano processados imediatamente após a aplicação. A única exceção à predominância da ação do envelhecimento sobre a maior formação dos resíduos que permaneceram ainda-ligados, foi o solo de Fucada com resíduos envelhecidos de  $^{14}\text{C}$ -lindano (FIGURA 5). Desta forma, o tempo de interação pesticida-solo tornou os resíduos-ligados mais resistentes à bio-liberação, ou, mais firmemente ligados, praticamente independentemente do tipo de solo ou do inseticida. RAGHU & DREGO (1986) também observaram que os valores de resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -lindano presentes após experimento de absorção por plantas, excederam todos os valores bio-liberados. Os dados aqui reportados também concordam em tendência com os de KHAN & IVARSON (1982).

Além disso, o tempo de residência do  $^{14}\text{C}$ -lindano aplicado praticamente não determinou degradação a metabólitos apolares, independentemente do tipo de solo (TABELAS 10 e 11); porém, foi o maior agente na formação de metabólitos polares (FIGURA 4). SETHUNATHAN (1973) já há tempos apontava a formação de metabólitos mais polares como uma das vias de degradação microbiana do lindano. Com o  $^{14}\text{C}$ -paration, os metabólitos apolares foram formados logo e 3 meses após a aplicação, e em ambos os solos, tendo predominado no solo de

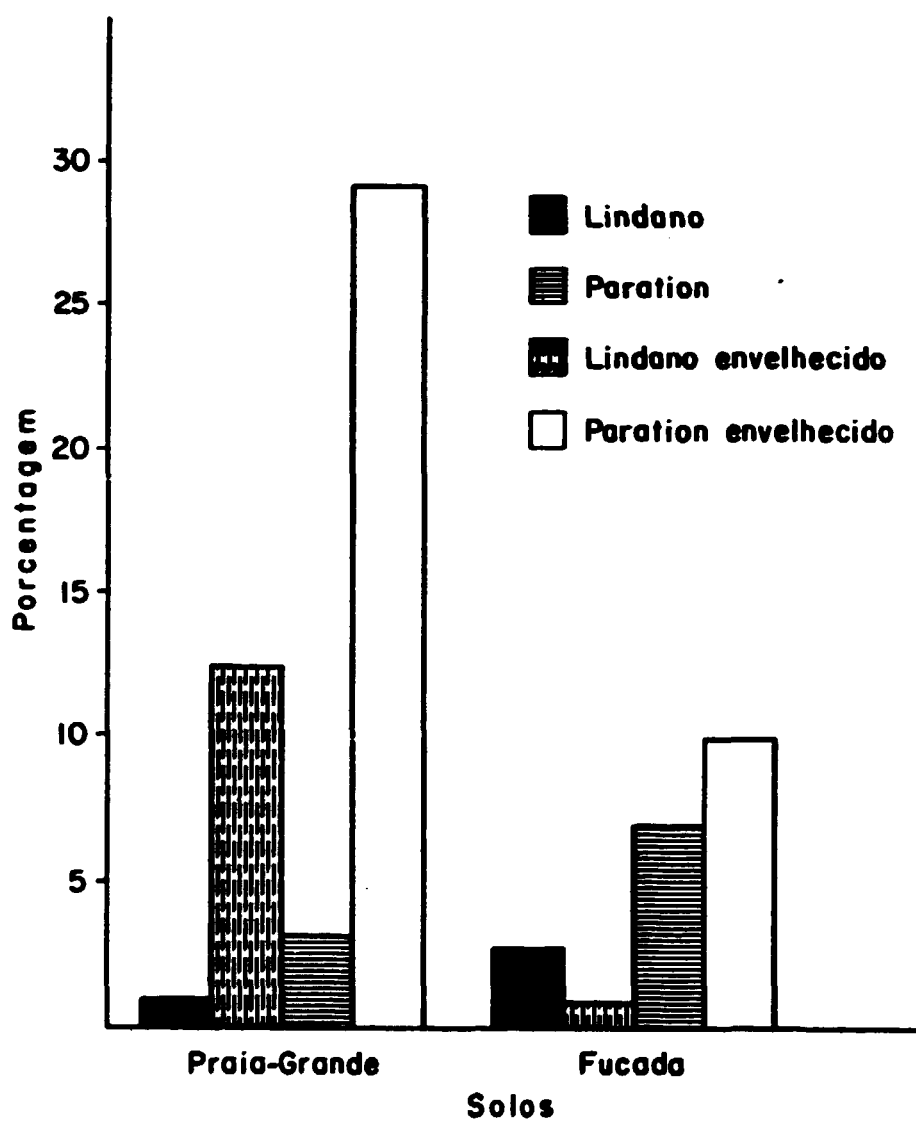


FIGURA 5 - Resíduos-ainda-ligados após os biotestes (resíduos inativados nos solos).

Praia Grande (TABELAS 12 e 13); mas, a degradação a compostos polares se deu principalmente por ação da rizosfera como um todo (FIGURA 4).

Assim, notou-se que os resíduos-ligados de pesticidas aos solos não foram totalmente inativados, principalmente quando o processamento se deu logo após a aplicação, porque ocorreu alguma bio-liberação. KLOSKOWSKI & FUHR (1987a) também presumem que há ligações mais fracas de resíduos-ligados de metamitron ao solo. A bio-liberação se deu principalmente por ação da microflora, e a ação da rizosfera não aumentou notavelmente a quantidade de resíduos-ligados liberados (TABELAS 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9). Porém, os resíduos de  $^{14}\text{C}$ -lindano e  $^{14}\text{C}$ -paration realmente ligados, isto é, os resíduos-ligados formados após um tempo de envelhecimento do composto aplicado ao solo, uma vez formados, sofreram muito pouco a ação da microflora e/ou rizosfera, independentemente do tipo de solo. Os valores de resíduos-ligados formados após os 3 meses da aplicação foram praticamente iguais aos valores de resíduos-ainda-ligados ao final dos biotestes (TABELAS 3, 5, 7 e 9).

Portanto, o processo de interação pesticida-solo predominou na determinação do comportamento de ligação dos pesticidas nos solos. Mas, houve também influência do tipo de solo, pois o envelhecimento atuou sobre o solo de Fucada na formação de menores quantidades de resíduos-realmente-ligados (TABELAS 2, 3, 6 e 7), enquanto no solo de Praia Grande houve a formação de maiores quantidades destes resíduos-realmente-ligados (TABELAS 4, 5, 8 e 9). O solo de Fucada é o que apresentou maior quantidade de matéria orgânica e, portanto, provavelmente maior quantidade de microrganismos. Estes podem ter ajudado na degradação a metabólitos extraíveis, antes da formação dos resíduos-realmente-ligados. No solo de Praia Grande, com menor conteúdo orgânico, a quantidade extraída após o tempo de residência do inseticida no solo, foi sempre menor do que a do solo de Fucada.

Finalmente, o processo de interação pesticida-solo determinou também, que maiores quantidades de resí-

duos-realmente-ligados de  $^{14}\text{C}$ -paration permanecessem ainda-ligados, independentemente do tipo de solo e ação da rizosfera e/ou só da microflora (TABELAS 7 e 9). O mesmo ocorreu também para KLOSKOWSKI & FUHR (1987ab) com herbicidas. Porém, para o  $^{14}\text{C}$ -lindano, o tempo atuou na permanência de maiores quantidades de resíduos-ainda-ligados, principalmente no solo de Praia Grande (TABELA 4). No solo de Fucada houve permanência de maior quantidade de resíduos-ainda-ligados com o solo imediatamente tratado com  $^{14}\text{C}$ -lindano (TABELA 2). HANCE (1986) e FUHR (1987) afirmam que as características do solo são realmente importantes na formação de resíduos-ligados.

De qualquer forma, o processo de envelhecimento envolvendo interação do pesticida com o solo, foi o principal determinante da recalcitrância, isto é, da inativação dos resíduos-ligados e atuou mais na formação de resíduos-ainda-ligados do  $^{14}\text{C}$ -paration do que do  $^{14}\text{C}$ -lindano.

Do ponto de vista do ambiente, observou-se que, se por um lado o processo de envelhecimento determinou maior formação de resíduos-realmente-ligados destes dois pesticidas tão diferentes molecularmente e em relação à persistência no ambiente; por outro lado, os resíduos -ainda-ligados, que ficaram inativados, persistiram em maior quantidade também após o tempo de incubação, não devendo apresentar consequências toxicológicas para o ambiente em intervalo de tempo como o aqui usado. Ainda salienta-se que, conforme afirmam FUHR & MITTELSTAEDT (1980) comparando experimentos de laboratório com experimentos de campo, verifica-se que no campo ocorrem flutuações de temperatura e umidade mais drásticas, além de maior liberação de energia pela decomposição das raízes e do carbono do solo. Então, as reações bioquímicas são mais intensas. Nos experimentos de laboratório, como os aqui apresentados, a absorção de resíduos-ligados por plantas são ainda aumentadas devido às seguintes condições: distribuição uniforme do pesticida no solo, suprimento de água constante e maior proximidade entre as raízes e o solo.

## 5. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados apresentados sobre a formação e bio-liberação de resíduos-ligados de  $^{14}\text{C}$ -lindano e  $^{14}\text{C}$ -paration em dois diferentes solos, pode-se concluir que:

- a) Os frascos biométricos adaptados mostraram-se sistemas simples e de baixo custo para fornecer dados indicadores da persistência real de pesticidas nos solos.
- b) Resíduos-ligados ao solo foram formados imediatamente após a aplicação dos inseticidas, porém, estes resíduos foram facilmente liberados e extraídos dos solos após ação, principalmente, da microflora.
- c) Resíduos-ligados que se formaram um tempo após a aplicação dos pesticidas nos solos, isto é, após uma interação de 3 meses do pesticida com o próprio solo, não foram facilmente liberados.
- d) Resíduos-ainda-ligados permaneceram em maior quantidade também quando foram formados após o tempo de interação dos resíduos dos pesticidas e/ou de seus produtos de degradação, com exceção do solo de Fucada tratado com  $^{14}\text{C}$ -lindano. Além disso, estes são os resíduos que ficaram inativados nos solos, pois não foram liberados nem pela microflora, nem pela rizosfera.
- e) Apesar dos resíduos-ligados do paration terem sido formados em grandes quantidades, eles não representam perigo potencial de contaminação, pois a maior parte permaneceu como resíduos-ainda-ligados, portanto, inativada.
- f) As quantidades de resíduos-ligados absorvidas e que se

tornaram ligadas às plantas foram muito pequenas, não indicando, neste intervalo de experimentação, perigo de toxicidade futura.

- g) Para formação dos resíduos-ligados inativados nos solos houve influência não só do tipo de pesticida, mas também do tipo de solo.
- h) O conceito de persistência de pesticidas, para traduzir realmente o que ocorre nos solos, precisa levar em conta também os resíduos-ligados que podem ser bio-liberados por plantas e, principalmente, por microrganismos.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDER, M. Introduction to soil microbiology. 2.ed. New York, Toronto, John Wiley & Sons, 1977. 467 p. (The soil environment, p. 3-15; Pesticides, p.438-456).
- ANDRÉA, M.M. Metabólitos tóxicos do dissulfoton: comportamento em feijoeiro, no solo e em solução nutriente. Piracicaba, 1986. 110 p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- ANDRÉA, M.M.; LORD, K.A.; BROMILOW, R.H.; RUEGG, E.F. Degradação do paration [  $^{14}\text{C}$  ] em dois solos do Estado de São Paulo. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 4: 75-78, 1980.
- ANDRÉA, M.M.; LORD, K.A.; BROMILOW, R.H.; RUEGG, E.F. Degradation of parathion by soil kept moist with and without repeated applications. Environmental Pollution (Series A), Great Britain, 27: 167-177, 1982.
- ANDRÉA, M.M.; LORD, K.A.; RUEGG, E.F. Distribution of  $^{14}\text{C}$  in soil and rice plants following application of  $^{14}\text{C}$ -parathion to soil. Energia Nuclear e Agricultura, Piracicaba, 5 (1): 41-57, 1983.
- ANDRÉA, M.M. & RUEGG, E.F. Degradação do  $^{14}\text{C}$ -paration in vitro por microrganismos isolados de solo Gley Húmico. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 6: 94-98, 1982.
- BARTHA, R. & HSU, T.-S. Spectroscopic characterization of soil organic matter. In: KAUFMAN, D.D.; STILL, G.G. ;

- PAULSON, G.D.; BANDAL, S.K., ed. Bound and conjugated pesticide residues. ACS Symposium Series 29. Washington, American Chemical Society, 1976. p.254-271.
- BARTHA, R. & PRAMER, D. Features of a flask and method for measuring the persistence and biological effects of pesticides in soil. Soil Science, s.l., 100 (1): 68-70, 1965.
- BARTHA, R.; YOU, I.-S.; SAXENA, A. Humus-bound residues of phenylamide herbicides: their nature, persistence and monitoring. Pesticide chemistry: human welfare and the environment. In: Proceedings of the 5<sup>th</sup> International Congress. Oxford, Pergamon Press, 1983, s.p.
- BÉLANGER, A. & HAMILTON, H.A. Determination of disulfoton and permethrin residues in an organic soil and their translocation into lettuce, onion and carrot. Journal of Environmental Science and Health, New York, B14: 213-226, 1979.
- BERTIN, G.; SCHIAVON, M.; POTTIER, C. Plant bio-availability of "natural" and "model" humic acid-bound [ <sup>14</sup>C ] atrazine residues. Toxicological and Environmental Chemistry, United Kingdom, 26: 203-210, 1990.
- BOLLAG, J.M. Enzymatic binding of pesticide degradation products to soil organic matter and their possible release. In: SOMASUNDARAM, L. & COATS, J.R., ed. Pesticide transformation products. Fate and significance in the environment. ACS Symposium Series 59. Washington, American Chemical Society, 1991. p. 122-132.
- BRIGGS, G.G.; BROMILOW, R.H.; EVANS, A.A. Relationships between lipophilicity and root uptake and translocation of non-ionised chemicals by barley. Pesticide Science, Great Britain, 13: 495-504, 1982.

- PROMILOW, R.H.; CHAMBERLAIN, K.; BRIGGS, G.G. Techniques for studying the uptake and translocation of pesticides in plants. Aspects of Applied Biology, s.l., 11: 29-44, 1986.
- BURKHARD, N. & GUTH, J.A. Rate of volatilisation of pesticides from soil surfaces; comparison of calculated results with those determined in a laboratory model system. Pesticide Science, Great Britain, 12: 37-44, 1981.
- CALDERBANK, A. The occurrence and significance of bound pesticide residue in soil. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, New York, Springer Verlag New York Inc., 108: 71-103, 1989.
- CAPRIEL, P. & HAISCH, A. Persistence of atrazine and its metabolites in soil eight years after a single herbicide application and their uptake by oat plants. In: IAEA, ed. Radiotracer studies of bound residues in soil, plants and food. IAEA-TECDOC-306. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1984. p. 123-132.
- CAPRIEL, P.; HAISCH, A.; KHAN, S.U. Distribution and nature of bound (nonextractable) residues of atrazine in a mineral soil nine years after the herbicide application. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 33 (4): 567-569, 1985.
- CAPRIEL, P.; HAISCH, A.; KHAN, S.U. Supercritical methanol: an efficacious technique for the extraction of bound pesticide residues from soil and plant samples. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 34 (1): 70-73, 1986.
- CHESSSELS, M.J.; HAWKER, D.W.; CONNELL, D.W.; PAPAJUSTIK, I.A. Factors influencing the distribution of lindane and isomers in soil of an agricultural environment. Chemosphere, Great Britain, 17 (9): 1741-1749, 1988.

- DEC, J.; CZAPLICKI, E.; GIEBEL, J. Bound residues of  $^{14}\text{C}$ -carbofuran in soil and plant. In: IAEA, ed. Quantification, nature and bioavailability of bound  $^{14}\text{C}$ -pesticide residues in soil, plants and food. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1986, p.93.
- DOROUGH, H.W. Biological activity of pesticide conjugates. In: KAUFMEN, D.D.; STILL, G.G.; PAULSON, G.D.; BANDAL, S.K., ed. Bound and conjugated pesticide residues. ACS Symposium Series 29. Washington, American Chemical Society, 1976. p. 11-34.
- EBING, W.K. Fate of pesticides in soil. In: GREENHALG, R. & ROBERTS, T.R., ed. Pesticide science and biotechnology. 6<sup>th</sup> IUPAC Congress. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1987. p. 411-416.
- FARMER, W.J.; IGUE, K.; SPENCER, W.F.; MARTIN, J.P. Volatility of organochlorine insecticides from soil. I. Effect of concentration, temperature, air-flow rate, and vapour pressure. Soil Science Society American Proceedings, Madison, 36 (3): 443-447, 1972.
- FELSOT, A. & DAHM, P.A. Sorption of organophosphorus and carbamate insecticides by soil. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 27 (3): 557-563, 1979.
- FERREIRA, M.S.; GUINDANI, C.M.A.; UNGARO, M.T.S.; BAGDONAS, M. Resíduos de inseticidas organoclorados e organofosforados em solos do Estado de São Paulo. O Biológico, São Paulo, 54 (1/6): 21-25, 1988.
- FUHR, F. Agricultural pesticide residues. In: ANNUNZIATA, M.L'. & LEGG, J.O., ed. Isotopes and radiation in agricultural science. s.l., s.e., 1984. vol. II , p.239-270.
- FUHR, F. Non-extractable pesticide residues. In: GREENHALG,

- R. & ROBERTS, T.R., ed. Pesticide science and biotechnology. 6<sup>th</sup> IUPAC Congress. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1987. p. 381-389.
- FUHR, F.; KLOSKOWSKI, R.; BURAUDEL, P.-W. Bedeutung der gebundenen Rückstände. 198. Sonderheft der Berichte über Landwirtschaft, Pflanzenschutzmittel und Boden, Berlin, Verlag Paul Parey, 1985. p. 106-116.
- FUHR, F. & MITTELSTAEDT, W. Plant experiments on the bio-availability of unextracted [ carbonyl-<sup>14</sup>C ]methabenzthiazuron residues from soil. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 28 (1): 122-125, 1980.
- FUHREMANN, T.W. & LICHTENSTEIN, E.P. Release of soil-bound methyl [ <sup>14</sup>C ]parathion residues and their uptake by earthworms and oat plants. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 26 (3): 605-610, 1978.
- FUHREMANN, T.W. & LICHTENSTEIN, E.P. A comparative study of the persistence, movement, and metabolism of six Carbon-14 insecticides in soils and plants. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 28 (2): 446-452, 1980.
- GELMINI, G.A.; NOVO, J.P.S.; ZAMARIOLLI, D.S. Coletânea de portaria e informações gerais sobre defensivos agrícolas e receituário agrônômico. Campinas, Impresso Especial CATI, 1986, 371 p. (Lindano, 201-202; Paration, 241-242).
- GERSTL, Z. & HELLING, C.S. Fate of bound methyl parathion residues in soils as affected by agronomic practices. Soil Biology and Biochemistry, Great Britain, Pergamon Press, 17 (5): 667-673, 1985.
- GLOTFELTY, D.E.; TAYLOR, A.W.; TURNER, B.C.; ZOLLER, W.H.

- Volatilization of surface-applied pesticides from fallow soils. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 32 (3): 638-643, 1984.
- GOLOVLEVA, L.A.; AHARONSON, N.; GREENHALG, R.; SETHUNATHAN, N.; VONK, J.W., ed. The role and limitations of micro-organisms in the conversion of xenobiotics. Pure and Applied Chemistry, Great Britain, 62 (2): 351-364, 1990.
- GOMAA, H.M. & FAUST, S.D. Chemical hydrolysis and oxidation of parathion and paraoxon in aquatic environments. In: FAUST, S.D., ed. Fate of organic pesticides in the aquatic environment. Advances in Chemistry Series 111. Washington, American Chemical Society, 1972. p.189-209.
- GUENZI, W.D. & BEARD, W.E. Volatilization of lindane and DDT from soil. Soil Science Society of American Proceedings, Wisconsin, 34 (3): 443-447, 1970.
- HAIDER, K. Microbial synthesis of humic materials. In: KAUFMAN, D.D.; STILL, G.G.; PAULSON, G.D.; BAUDAL, S.K., ed. Bound and conjugated pesticide residues. ACS Symposium Series 29. Washington, American Chemical Society, 1976. p. 244-257.
- HANCE, R.J. Extractability and biological effects of residues of some herbicides in the soil. In: IAEA, ed. Quantification, nature and bioavailability of bound <sup>14</sup>C-pesticide residues in soil, plants and food. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1986. p. 1-11.
- HANCE, R.J. & BYAST, T.H. Persistence of paraquat in the soil and observations with other herbicides relevant to the theme of bound residues. In: IAEA, ed. Radio-tracer studies of bound pesticide residues in soil, plants and food. IAEA-TECDOC-306. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1984. p. 57-66.

- HASSAN, A. Report on the first FAO/IAEA research co-ordination meeting on isotopic tracer-aided studies of bound pesticide residues in soil, plants and food. San José, Costa Rica, 30 November-9 December 1981. Chemosphere, Great Britain, 11 (4): N26-N28, 1982.
- HELLING, C.S. Dinitroaniline herbicide bound residues in soils. In: KAUFMAN, D.D.; STILL, G.G.; PAULSON, G.D.; BANDAL, S.K., ed. Bound and conjugated pesticide residues. ACS Symposium Series 29. Washington, American Chemical Society, 1976. p. 366-367.
- HELLING, C.S.; GERSTL, Z.; KLOSKOWSKI, R. Stability of aged bound residues of methyl parathion in soil. In: IAEA, ed. Quantification, nature and bioavailability of bound <sup>14</sup>C-pesticide residues in soil, plants and food. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1986. p. 137-153.
- HELLING, C.S. & KRIVONAK, A.E. Physicochemical characteristics of bound dinitroaniline herbicides in soil. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 26 (5): 1156-1163, 1978a.
- HELLING, C.S. & KRIVONAK, A.E. Biological characteristics of bound dinitroaniline herbicides in soil. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 26 (5): 1164-1171, 1978b.
- HIRATA, R.; MESQUITA, T.B.; RUEGG, E.F. The effect of water content on the persistence of <sup>14</sup>C-lindane in Brazilian soils. Anais da Academia Brasileira de Ciência, s.l., 57 (4): 429-436, 1985.
- HOAGLAND, D.R. & ARNON, D.I. The water-culture method for growing plants without soil. University of California Agriculture Experimental Station Circular, California, 347-379, 1950.

- HSU, T.-S. & BARTHA, R. Hydrolyzable and nonhydrolyzable 3,4-dichloroaniline-humus-complexes and their respective rates of biodegradation. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 24 (1): 118-122, 1976.
- HSU, T.-S. & BARTHA, R. Accelerated mineralization of two organophosphate insecticides in the rizosphere. Applied and Environmental Microbiology, s.l., 37 (1): 36-41, 1979
- HUBER, R. & OTTO, S. Bound pesticide residues in plants. In: MIYAMOTO, J. & KEARNEY, P.C., ed. Pesticide chemistry: human welfare and environment. Oxford, Pergamon Press, 1983. vol. 3, p. 357-362.
- HUSSAIN, A.; AZAM, F.; MALIK, K.A. Studies on bound residues of  $^{14}\text{C}$ -malathion in soil. In: IAEA, ed. Radiotracer studies of bound pesticide residues in soil, plants and food. IAEA-TECDOC-306. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1984. p. 17-25.
- HUSSAIN, A.; AZAM, F.; MALIK, K.A. Bound residues of  $^{14}\text{C}$ -carbofuran in soil. In: IAEA, ed. Quantification, nature and bioavailability of bound  $^{14}\text{C}$ -pesticide residues in soil, plants and food. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1986. p. 23-29.
- IAEA, ed. Interim report on the common experiment: model protocol for determination of bound residues in soil. IAEA-TECDOC-306. Radiotracer studies of bound pesticide residues in soil, plants and food. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1984. p.167.
- IAEA, ed. Appendix I. FAO/IAEA model protocol. Bound pesticide residue content in soil. Quantification, nature and bioavailability of bound  $^{14}\text{C}$ -pesticide residues in soil, plants and food. Vienna, Inter-



- national Atomic Energy Agency, 1986. p. 177-187.
- KATAN, J.; FUHREMANN, T.W.; LICHTENSTEIN, E.P. Binding of [  $^{14}\text{C}$  ]parathion in soil: a reassessment of pesticide persistence. Science, s.l., 193: 891-894, 1976.
- KATAN, J. & LICHTENSTEIN, E.P. Mechanisms of production of soil-bound residues of [  $^{14}\text{C}$  ]parathion by micro-organisms. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 25 (6): 1404-1408, 1977.
- KATHPAL, T.S.; YADAV, G.S.; KUSHWAHA, K.S.; SINGH, G. Persistence behaviour of HCH in rice soil and its uptake by rice plants. Ecotoxicology and Environmental Safety, s.l., Academic Press Inc., 15: 336-338, 1988.
- KAUFMAN, D.D. Bound and conjugated pesticide residues. In: KAUFMAN, D.D.; STILL, G.G.; PAULSON, G.D.; BANDAL, S.K., ed. Bound and conjugated pesticide residues. ACS Symposium Series 29. Washington, American Chemical Society, 1976. p. 1-10.
- KEARNEY, P.C. Summary of soil bound residues discussion section. In: KAUFMAN, D.D.; STILL, G.G.; PAULSON, G.D.; BANDAL, S.K., ed. Bound and conjugated pesticide residues. ACS Symposium Series 29. Washington, American Chemical Society, 1976. p. 378-382.
- KEARNEY, P.C. Technical communication. IUPAC Pesticide commission report. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, Washington, AOAC Inc. Published, 65 (4): 1030-1032, 1982.
- KEARNEY, P.C. & HELLING, C.S. Problems caused by pesticide with particular reference to the impact on the agricultural environment. In: IAEA, ed. Agrochemicals: fate in food and the environment. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1982. p. 23-39.

- KEARNEY, P.C. & KONTSON, A. A simple system to simultaneously measure volatilization and metabolism of pesticides from soils. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 24 (2): 424-426, 1976.
- KHAN, S.U. Plant uptake of unextracted (bound) residues from an organic soil treated with prometryn. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 28 (6): 1096-1098, 1980.
- KHAN, S.U. Bound pesticide residues in soil and plants. Residue Reviews, New York, 84: 1-25, 1982a.
- KHAN, S.U. Studies on bound  $^{14}\text{C}$ -prometryn residues in soil and plants. Chemosphere, Great Britain, Pergamon Press, 11 (8): 771-795, 1982b.
- KHAN, S.U. Distribution and characteristics of bound residues of prometryn in an organic soil. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 30 (1): 175-179, 1982c.
- KHAN, S.U. Further studies on the bound pesticide residues in soil and plants. In: IAEA, ed. Radiotracer studies in soil, plants and food. IAEA-TECDOC-306. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1984, p.149-165.
- KHAN, S.U. Bound (nonextractable) pesticide degradation products in soils. Bioavailability to plants. In: SOMASUNDARAM, L. & COATS, J.R., ed. Pesticide transformation products. Fate and significance in the environment. ACS Symposium Series 459. Washington, American Chemical Society, 1991. p. 108-121.
- KHAN, S.U. & BEHKI, R.M. Effects of Pseudomonas species on the release of bound  $^{14}\text{C}$  residues from soil treated with [ $^{14}\text{C}$ ]atrazine. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 38

(11): 2090-2093, 1990.

KHAN, S.U. & BÉLANGER, A. Formation of bound  $^{14}\text{C}$ -fonofos residues in an organic soil and a vegetable crop under field conditions. Chemosphere, Great Britain, Pergamon Press, 16 (1): 167-170, 1987.

KHAN, S.U. & DUPONT, S. Bound pesticide residues and their bioavailability. In: GREENHALG, R. & ROBERTS, T.R., ed. Pesticide science and biotechnology. 6<sup>th</sup> IUPAC Congress. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1987. p. 417-420.

KHAN, S.U. & HAMILTON, H.A. Extractable and bound (nonextractable) residues of prometryn and its metabolites in an organic soil. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 28 (1): 126-132, 1980.

KHAN, S.U. & IVARSON, K.C. Microbiological release of unextracted (bound) residues from an organic soil treated with prometryn. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 29 (6): 1301-1303, 1981.

KHAN, S.U. & IVARSON, K.C. Release of soil bound (nonextractable) residues by various physiological groups of microorganisms. Journal of Environmental Science and Health, New York, B17 (6): 737-749, 1982.

KHAN, S.U.; KACEW, S.; MOLNAR, S.J. Bioavailability in rats of bound  $^{14}\text{C}$  residues from corn plants treated with [ $^{14}\text{C}$ ]atrazine. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 33 (4): 712-717, 1985.

KHAN, S.U. & RAUTHAN, B.S. In vitro release of bound (nonextractable)  $^{14}\text{C}$  residues from plants by corn leaves homogenates. Chemosphere, Great Britain, Pergamon

Press, 14 (2): 209-214, 1985.

KHAN, S.U.; STRATTON Jr., G.G.; WHEELER, W.B. Characterization of bound (nonextractable) residues of dieldrin, permethrin and carbofuran. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 32 (5): 1189-1191, 1984a.

KHAN, S.U.; ZHANG, L.-Z.; AKHTAR, M.H. Bound residues of deltamethrin in bean plants. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 32 (5): 1141-1144, 1984b.

KILZER, L.; SCHEUNERT, I.; GEYER, H.; KLEIN, W.; KORTE, F. Laboratory screening of the volatilization rates of organic chemicals from water and soil. Chemosphere, Great Britain, Pergamon Press, 10: 751-761, 1979.

KLEIN, W. & SCHEUNERT, I. Bound Pesticide residues in soil, plants and food with particular emphasis on the application of nuclear techniques. In: IAEA, ed. Agrochemicals: fate in food and the environment. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1982. p. 177-205.

KLEIN, W. & SCHEUNERT, I. Biotransformation process. In: SHENAN, P.; KORTE, F.; KLEIN, W.; BOURDEAU, Ph., ed. Appraisal of tests to predict the environmental behaviour of chemicals. SCOPE. New York, Toronto, John Wiley & Sons Ltd. Publisher, 1985. p. 195-211.

KLEIN, W.; SCHEUNERT, I.; KORTE, F. Disappearance of chemicals from soils. Correlation between soil properties, test data and outdoor behaviour. In: Actes du symposium international sur l'écotoxicologie terrestre. Les Arcs (Savoie), France, Instaprint, 12-14 Décembre 1984. p. 69-87.

- KLOSKOWSKI, R. & FUHR, F. Versuche zur charakterisierung und bioverfügbarkeit von nichtextrahierbaren simazinrückständen im boden. Chemosphere, Great Britain, Pergamon Press, 12(11/12): 1557-1574, 1983.
- KLOSKOWSKI, R. & FUHR, F. Formation of bound residues of (ring-<sup>14</sup>C)simazine in a Parabraunerde (Alfisol) and their availability to maize. In: IAEA, ed. Radio-tracer studies of bound pesticide residues in soil, plants and food. IAEA-TECDOC-306. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1984. p.133-147.
- KLOSKOWSKI, R. & FUHR, F. Aged and bound herbicide residues in soil and their bioavailability. Part 1: Uptake of aged and non-extractable (bound) [ 3-<sup>14</sup>C ]metamitron residues by sugar beets. Journal of Environmental Science and Health, New York, Marcel Dekker, Inc., B22 (5): 509-535, 1987a.
- KLOSKOWSKI, R. & FUHR, F. Aged and bound herbicide residues in soil and their bioavailability. Part 2: Uptake of aged and non-extractable (bound) [ carbonyl-<sup>14</sup>C ]methabenzthiazuron residues by maize. Journal of Environmental Science and Health, New York, Marcel Dekker, Inc., B22 (6): 623-642, 1987b.
- KLOSKOWSKI, R. & FUHR, F. Characterization and bioavailability of soil bound pesticide residues. Wissenschaft und Umwelt, Aachen, 2: 112-122, 1988.
- KLOSKOWSKI, R.; FUHR, F.; MITTELSTAEDT, W. Plant availability of bound anilazine residues in a degraded loess soil. Journal of Environmental Science and Health, New York, Marcel Dekker, Inc., B21 (6): 487-505, 1986.
- KLOSKOWSKI, R.; FUHR, F.; MITTELSTAEDT, W. The uptake of non-extractable soil-bound pesticide residues by roots-standardized experiments with four pesticides. In: GREENHALG, R & ROBERTS, T.R., ed. Pesticide science

and Biotechnology. 6<sup>th</sup> IUPAC Congress. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1987. p. 405-410.

- KOVACS Jr., M.F. Regulatory aspects of bound residues (chemistry). Residue Reviews, New York, Springer Verlag Inc., 97: 1-17, 1986.
- LASKOWSKI, D.A.; SWANN, R.L.; McCALL, P.J.; BIDLACK, H.D. Soil degradation studies. Residue Reviews, New York, Springer Verlag Inc., 85: 140-147, 1983.
- LEE, S.R. & KIM, Y.H. Behaviour of  $^{14}\text{C}$ -BHC residues in rice grain. Journal Korean of Nuclear Society, Korea, 13 (4): 221-228, 1981.
- LEVIN, S.A. & KIMBALL, K.D. New perspectives in ecotoxicology. Environmental Management, s.l., Springer International, 8 (5): 375-443, 1984.
- LICHTENSTEIN, E.P. Bound residues in soils and transfer of soil residues in crops. Residue Reviews, New York, 76: 147-153, 1980.
- LICHTENSTEIN, E.P.; KATAN, J.; ANDEREGG, B.N. Binding of "persistent" and "nonpersistent"  $^{14}\text{C}$ -labeled insecticides in an agricultural soil. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 25 (1): 43-47, 1977.
- LICHTENSTEIN, E.P.; LIANG, T.T.; KOEPPE, M.K. Effects of fertilizers, captafol, and atrazine on the fate and translocation of [ $^{14}\text{C}$ ]fonofos and [ $^{14}\text{C}$ ]parathion in a soil-plant microcosm. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 30 (5): 871-878, 1982.
- LICHTENSTEIN, E.P.; LIANG, T.T.; KOEPPE, M.K. Effects of soil mixing and flooding on the fate and metabolism of  $^{14}\text{C}$ -fonofos and  $^{14}\text{C}$ -parathion in open and closed agri-

- cultural microcosm. Journal of Economic Entomology, College Park, 76 (2): 223-238, 1983.
- LUCHINI, L.C.; HIRATA, R.; RUEGG, E.F. Sorção e mobilidade de pesticidas associadas a propriedades físico-químicas de solos de cerrados do Estado de São Paulo. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, 19 (2): 157-162, 1984.
- MACHOLZ, R.M. & KUJAWA, M. Recent state of lindane metabolism Part III. Residue Reviews, New York, Springer Verlag Inc., 94: 119-149, 1985.
- MANSOUR, M.; SCHEUNERT, I.; KORTE, F. Behaviour of some organochlorine compounds in terrestrial ecosystem and abiotic degradability in the environment. Compte Rendu de Quinzième Réunion. Groupe Français des Pesticides. [ 29-30 mai, 1985 ] p. 1-30.
- MANSOUR, M.; THALLER, S.; KORTE, F. Action of sunlight on parathion. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, Springer Verlag New York Inc., 30: 358-364, 1983.
- MARINUCCI, A.C. & BARTHA, R. Apparatus for monitoring the mineralization of volatile <sup>14</sup>C-labeled compounds. Applied Environmental Microbiology, s.l., 38 (5): 1020-1022, 1979.
- MENZER, R.E. & DITMAN, L.P. Residues in spinach grown in disulfoton - and phorate - treated soil. Journal of Economic Entomology, College Park, 61 (1): 225-229, 1968.
- MESQUITA, T.B. & RUEGG, E.F. Influência de agentes tensoativos na detecção da radiação beta. Ciência e Cultura, São Paulo, 36: 446-450, 1984.
- METCALF, R.L.; FUKUTO, T.R.; MARCH, R. Plant metabolism of

- dithio-systox and thimet. Journal of Economic Entomology, College Park, 50 (3): 338-345, 1957.
- MITTELSTAEDT, W.; FUHR, F.; KLOSKOWSKI, R. Anilazine-formation of bound residues in a degraded soil. Journal of Environmental Science and Health, New York, Marcel Dekker, Inc. B22 (5): 491-507, 1987.
- MORENO, M.B.; ESPINOSA, L.; PASTOR, Y.; MOLINEROS, J. ; MERINO, R. Persistence of lindane in the Equatorian environment. In: IAEA, ed. Isotope techniques for studying the fate of persistent pesticides in the tropics. IAEA-TECDOC-476. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1988. p. 85-91.
- MUSUMECI, M.R.; TOMITA, R.Y.; SILVA, M.C.D.; SAMPAIO, M.R. F.P. Formação e biodisponibilidade de resíduos de piretróides-<sup>14</sup>C ligados ao solo. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, 57 (suplemento. 3ª Reunião Anual do Instituto Biológico): 34, 1990.
- NELSON, L.M. Biologically-induced hydrolysis of parathion in soil: isolation of hydrolysing bacteria. Soil Biology and Biochemistry, Great Britain, Pergamon Press Ltd., 14: 219-222, 1982.
- NELSON, L.M.; YARON, B.; NYE, P.H. Biologically-induced hydrolysis of parathion in soil: kinetics and modelling. Soil Biology and Biochemistry, Great Britain, Pergamon Press Ltd., 14: 223-227, 1982.
- NELSON, S.D. & KHAN, S.U. Effect of endomycorrhizae on the bioavailability of bound <sup>14</sup>C residues to onion plants from an organic soil treated with [ <sup>14</sup>C ]fonofos. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 38 (3): 894-898, 1990.
- OU, L.-T. Methyl parathion degradation and metabolism in soil: influence of high soil-water contents. Soil Bio-



- logy and Biochemistry, Great Britain, Pergamon Press Ltd., 17 (2): 241-243, 1985.
- OU, L.-T.; RAO, P.S.C.; DAVIDSON, J.M. Methyl parathion degradation in soil: influence of soil-water tension. Soil Biology and Biochemistry, Great Britain, Pergamon Press Ltd., 15 (2): 211-215, 1983.
- PANDA, S.; SHARMILA, M.; RAMANAND, K.; PANDA, D. ; SETHUNATHAN, N. Persistence of hexachlorocyclohexane isomers and carbofuran applied to surface and sub-surface layers of a flooded soil. Pesticide Science, Great Britain, 23: 109-207, 1988.
- RACKE, K.D. & LICHTENSTEIN, E.P. Effects of soil microorganisms on the release of bound  $^{14}\text{C}$  residues from soils previously treated with [ $^{14}\text{C}$ ]parathion. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 33 (5): 938-943, 1985.
- RAGHU, K. & DREGO, J. Bound residues of lindane: magnitude, microbial release, plant uptake and effect on microbial activities. in: IAEA, ed. Quantification, nature and bioavailability of bound  $^{14}\text{C}$ -pesticide residues in soil, plants and food. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1986. p.41-50.
- RAGHU, K. & FERREIRA, J. Bound residues of  $^{14}\text{C}$ -lindane in rice plants and soil. In: IAEA, ed. Radiotracer studies of bound pesticide residues in soil, plants and food. IAEA-TECDOC-306. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1984. p.107-115.
- RAMAMOORTHY, S. Competition of fate processes in the bioconcentration of lindane. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, Springer Verlag New York Inc., 34: 349-358, 1985.

- ROBERTS, T.R. Non-extractable pesticide residues in soil and plants. Pure and Applied Chemistry, IUPAC Reports on Pesticides (17), Pergamon Press, 56 (7): 945-956, 1984.
- ROBERTS, T.R. & STANDEN, M.E. Further studies of the degradation of the pyrethroid insecticide cypermethrin in soils. Pesticide Science, Great Britain, 12: 285-296, 1981.
- RUEGG, E.F.; MESQUITA, T.B.; LUCHINI, L.C.; SAMPAIO, M.R.F. P.; ABUSSAMRA, M.; OSTIZ, S.B. Retenção do lindano aplicado a dois solos do município de São Paulo. Ciência e Cultura, São Paulo, 39 (11): 1079-1083, 1987.
- RYAN, J.A.; BELL, R.M.; DAVIDSON, J.M.; O'CONNOR, G.A. Plant uptake of non-ionic organic chemicals from soils. Chemosphere, Great Britain, 17 (12): 2299-2323, 1988.
- SAMUEL, T.-; AGARWAL, H.C.; PILLAI, K.K. Persistence and binding of DDT and gamma-HCH in a sandy loam soil under field conditions in Delhi, India. Pesticide Science, Great Britain, 22: 1-15, 1988.
- SAXENA, A. & BARTHA, R. Microbial mineralization of humic acid-3,4-dichloroaniline complexes. Soil Biology and Biochemistry, Great Britain, Pergamon Press Ltd., 15(1): 59-62, 1983.
- SCHEUNERT, I & KORTE, F. Metabolically resistant chemicals. In: GORROD, J.W.; OELSCHLAGER, H.; CALDWELL, J., ed. Metabolism of xenobiotics. London, New York, Taylor & Francis, 1988. p. 29-36.
- SCHEUNERT, I.; MEER-BEKK, C.T.; KORTE, F. Distribution and biodegradability of  $^{14}\text{C}$ -residues bound in various soil fractions after treatment of the soil with model  $^{13}\text{C}$ -chemicals. In: IAEA, ed. Quantification, nature and bioavailability of bound  $^{14}\text{C}$ -pesticide residues in soil,

- plants and food. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1986. p.31-40.
- SCHEUNERT, I.; TOPP, E.; SCHMITZER, J.; KLEIN, W.; KORTE, F. Formation and fate of bound residues of [  $^{14}\text{C}$  ] benzene and [  $^{14}\text{C}$  ] chlorobenzenes in soil and plants. Ecotoxicological Environmental Safety, s.l., Academic Press Inc., 9: 159-170, 1985.
- SCHEUNERT, I.; VOCKEL, D.; SCHMITZER, J.; KORTE, F. Bio-mineralization rates of  $^{14}\text{C}$ -labelled organic chemicals in aerobic and anaerobic suspended soils. Chemosphere, Great Britain, 16 (5): 1031-1041, 1987.
- SCHNITZER, M. & KHAN, S.U. Humic substances in the environment. New York, Marcel Dekker Inc., 1972. 327 p.
- SETHUNATHAN, N. Microbial degradation of insecticides in flooded soil and in anaerobic cultures. Residue Reviews, New York, Springer Verlag Inc., 47: 143-165, 1973.
- SMITH, A.E.; AUBIN, A.J.; DERKSEN, D.A. Loss of Trifluralin from clay and loam soils containing aged and freshly applied residues. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, Springer Verlag New York Inc., 41: 569-573, 1988.
- SNELSON, J.T. Fate of persistent pesticides in the agricultural environment with particular emphasis on the application of nuclear techniques. In: IAEA, ed. Agrochemicals: fate in food and the environment. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1982. p. 63-81.
- SOMASUNDARAM, L. & COATS, J.R. Pesticide transformation products research. In: SOMASUNDARAM, L. & COATS, J.R., ed. Pesticide transformation products. Fate and significance in the environment. ACS Symposium Series 459. Washington, American Chemical Society, 1991. p.285-288.

- STEVENSON, F.J. Organic matter reactions involving pesticides in soil. In: FAUFMAN, D.D.; STILL, G.G.; PAULSON, G.D.; BANDAL, S.K., ed. Bound and conjugated pesticide residues. ACS Symposium Series 29. Washington, American Chemical Society, 1976. p. 180-207.
- STILL, C.C.; HSU, T.-S.; BARTHA, R. Soil-bound 3,4-dichloroaniline: source of contamination in rice grain. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, Springer Verlag New York Inc., 24: 550-554, 1980.
- STILL, G.G.; BALBA, H.M.; MANSAGER, E.R. Studies on the nature and identity of bound chloroaniline residues in plants. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 29 (4): 739-746, 1981.
- STRATTON Jr., G.D. & WHEELER, W.B. Characterization of bound residues in plants. In: IAEA, ed. Quantification, nature and bioavailability of bound <sup>14</sup>C-pesticide residues in soil, plants and food. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1986. p. 71-81.
- SUTHERLAND, M.L. Nature of propanil bound residues in rice plants as measured by plant fractionation and animal bioavailability experiments. In: KAUFMAN, D.D.; STILL, G.G.; PAULSON, G.D.; BANDAL, S.K., ed. Bound and conjugated pesticide residues. ACS Symposium Series 29. Washington, American Chemical Society, 1976. p.153-155.
- TSAO, C.H. & CLARK, E.W. Absorption and translocation of di-systox by cotton plants. Journal of Economic Entomology, College Park, 54 (6): 1228-1229, 1961.
- TU, C.M. Utilization and degradation of lindane by soil microorganisms. Archives of Microbiology, s.l., Springer Verlag, 108: 259-263, 1976.

- VISWANATHAN, R.; RAY, S.-; SCHEUNERT, I.; KORTE, F. Investigations on accumulation and biotransformation by earthworms of lindane occurring as soil contaminant. In: ABBOU, R., ed. Hazardous waste: detection, control, treatment. Amsterdam, Elsevier Science Publishers B.V., 1988. p. 759-765.
- WANDINGA, S.O. & MGHENYI, J.M. Persistence of gama-1, 2, 3, 4, 5, 6-hexachlorocyclohexane (gama-BHC) in tropical soils of Kenya. In: IAEA, ed. Isotope techniques for studying the fate of persistent pesticide in the tropics. IAEA-TECDOC-476. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1988. p.77-84.
- WEBER, J.B. Fixed and biologically available soil bound pesticide. In: KAUFMAN, D.D.; STILL, G.G.; PAULSON, G. D.; BANDAL, S.K., ed. Bound and conjugated pesticide Residues. ACS Symposium Series 29. Washington, American Chemical Society, 1976. p. 354-355.
- WHEELER, W.B.; STRATTON, G.D.; TWILLEY, R.R.; OU, L.-T.; CARLSON, D.A.; DAVIDSON, J.M. Trifluralin degradation and binding in soil. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 27 (4): 702-706, 1979.
- ZHANG, L.-Z.; KHAN, S.U.; AKHTAR, M.H.; IVARSON, K.C. Persistence, degradation, and distribution of deltamethrin in an organic soil under laboratory conditions. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Washington, American Chemical Society, 32 (6): 1207-1210, 1984.