

UNIOESTE – UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA

LIXIVIAÇÃO, FORMAÇÃO DE RESÍDUOS LIGADOS E BIORREMEDIAÇÃO DE
ATRAZINA EM SOLO SUBTROPICAL SUBMETIDO À APLICAÇÃO DE ÁGUA
RESIDUÁRIA DA SUINOCULTURA

MORGANA SUSZEK GONÇALVES

CASCADEL – Paraná - Brasil

Março - 2010

MORGANA SUSZEK GONÇALVES

**LIXIVIAÇÃO, FORMAÇÃO DE RESÍDUOS LIGADOS E BIORREMEDIAÇÃO DE
ATRAZINA EM SOLO SUBTROPICAL SUBMETIDO À APLICAÇÃO DE ÁGUA
RESIDUÁRIA DA SUINOCULTURA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia Agrícola, área de concentração em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Silvio C. Sampaio

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Luciane Sene

**CASCATEL – Paraná - Brasil
Março – 2010**

MORGANA SUSZEK GONÇALVES

**LIXIVIAÇÃO, FORMAÇÃO DE RESÍDUOS LIGADOS E BIORREMEDIAÇÃO DE
ATRAZINA EM SOLO SUBTROPICAL SUBMETIDO À APLICAÇÃO DE ÁGUA
RESIDUÁRIA DA SUINOCULTURA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia Agrícola, área de concentração em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, **aprovada** pela seguinte banca examinadora:

Orientador: Prof. Dr. Silvio César Sampaio
Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, UNIOESTE - Cascavel

Prof^a. Dr^a. Simone Damasceno Gomes
Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, UNIOESTE - Cascavel

Prof^a. Dr^a. Mônica Sarolli Silva de Mendonça Costa
Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, UNIOESTE - Cascavel

Prof. Dr. Marcus Metri Correa
Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE - Recife

Prof^a. Dr^a. Claudia Eugênia Castro Bravo
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, UTFPR – Francisco Beltrão

Cascavel, 11 de março de 2010.

BIOGRAFIA

Morgana Suszek Gonçalves nasceu em 1980 na cidade de Cascavel, Paraná. Possui graduação em Engenharia Química pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE – *Campus Toledo*), com conclusão do curso em 2003, e mestrado em Engenharia Agrícola, área de concentração em Engenharia de Recursos Hídricos e Meio Ambiente, pela mesma Universidade, com conclusão no ano de 2005.

Ministrou aulas como professora temporária na disciplina de Hidráulica nos cursos de Engenharia Agrícola e Engenharia Civil, na UNIOESTE - *Campus Cascavel* – no ano de 2007. Ainda no mesmo ano foi professora substituta na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR – *Campus Campo Mourão*), no curso de Tecnologia em Gerenciamento Ambiental, ministrando as disciplinas de Gerenciamento e Tratamento de Resíduos Sólidos, Gerenciamento e Tratamento de Águas de Abastecimento, Gerenciamento e Tratamento de Emissões Atmosféricas e Tratamento de Resíduos Líquidos.

Atualmente é Professora de Ensino Básico, Técnico e Tecnológico da UTFPR – *Campus Francisco Beltrão* – lotada na Coordenação de Engenharia Ambiental, onde ministra aulas na área de Saneamento Ambiental e participa como pesquisadora no Grupo de Pesquisa Meio Ambiente e Tecnologia (GMATEC). Atua também como colaboradora em projetos de pesquisa vinculados ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da UNIOESTE.

*“Cada um de nós compõe a sua história
E cada ser em si carrega o dom de ser capaz
De ser feliz ...”*

Almir Sater e Renato Teixeira

Ao meu esposo Marcos e meu filho
Tiago, por estarem ao meu lado em
todos os momentos dessa jornada...

DEDICO E OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus, primeiramente, pela vida, saúde e força nos momentos difíceis;

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *Campus* de Cascavel, e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, pela oportunidade de realização do curso;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsas de estudos de doutorado e iniciação científica, respectivamente;

À Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Paraná e ao CNPq pelo financiamento dos projetos, e à Fundação Osvaldo Cruz pela identificação dos fungos;

Ao professor Silvio César Sampaio pela orientação, oportunidade, confiança e amizade todos esses anos desde o mestrado;

À professora Luciane Sene pela co-orientação desse trabalho, amizade, auxílio e disponibilização do Laboratório de Tecnologia das Fermentações para a realização dos testes microbiológicos;

Às professoras Sílvia Renata Machado Coelho e Simone Damasceno Gomes, pelo apoio, amizade e colaboração nas análises cromatográficas;

Às alunas do curso de Farmácia da UNIOESTE: Adriana Damásio, Juliana Contini e Bruna Tavares, e a Isamara Godoi, pela ajuda nas análises microbiológicas e cromatográficas;

Ao grupo RHESA (Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental), principalmente às amigas Larissa S. Mallmann e Dilcemara Zenatti, pelo companherismo e ajuda;

Às amigas Adriana Smanhotto, Tatiane Cristina Dal Bosco, Maritane Prior e Grazieli Suszek pela amizade, ajuda e força nos momentos que precisei, e pelos momentos de distração;

Aos amigos e colegas de trabalho da UTFPR, *Campus* Francisco Beltrão, pelo apoio e incentivo;

Aos meus pais Floriano Suszek e Neli de Fátima G. Suszek e irmão Marcelo Suszek por todo o amor e estímulo para continuar em frente. Em especial ao meu irmão Floriano Luiz Suszek, pela disposição, contribuição e colaboração em todo o experimento;

Ao Marcos Leandro Gonçalves e ao meu filho Tiago Suszek Gonçalves pelo amor, compreensão, participação e incentivo durante esse período da minha vida;

Aos que, embora não citados, contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

LIXIVIAÇÃO, FORMAÇÃO DE RESÍDUOS LIGADOS E BIORREMEDIAÇÃO DE ATRAZINA EM SOLO SUBTROPICAL SUBMETIDO À APLICAÇÃO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DA SUINOCULTURA

RESUMO

A atrazina é um herbicida triazínico, empregado largamente na agricultura para o controle de plantas daninhas nas culturas de milho e cana-de-açúcar. Entretanto, a atrazina é considerada um pesticida moderadamente persistente no ambiente e a aplicação de águas residuárias ao solo pode afetar seu comportamento ambiental. Neste estudo, os efeitos da aplicação de água residuária da suinocultura (ARS) na lixiviação, dissipação e formação de resíduos ligados de atrazina em solo subtropical argiloso foram avaliados. Também, neste trabalho, realizou-se o isolamento e identificação de micro-organismos presentes na ARS, resistentes a atrazina e com possibilidade de utilização em biorremediação de solos contaminados. Para os testes de lixiviação utilizou-se colunas de solo preenchidas com amostras de um Latossolo Vermelho Distroférico, que receberam a aplicação de atrazina na dose de 5 L ha^{-1} , e foram incubadas durante 7 dias de acordo com os seguintes tratamentos: T1 (Solo estéril + ARS); T2 (Solo estéril + água destilada); T3 (Solo não estéril + ARS) e T4 (Solo não estéril + água destilada). Nos tratamentos T1 e T3 a quantidade de ARS aplicada foi correspondente a cinco vezes a dose de nitrogênio recomendada para a cultura do milho. Para o estudo da dissipação e formação de resíduos ligados de atrazina, conduziu-se experimento em laboratório, sob condições controladas, onde amostras do mesmo Latossolo receberam a aplicação de $168,61 \text{ mg kg}^{-1}$ de atrazina e foram incubadas durante 60 dias de acordo com os mesmos tratamentos considerados nos ensaios de lixiviação. Os resíduos extraíveis de atrazina e resíduos ligados foram extraídos e analisados por cromatografia líquida de alta eficiência. No isolamento e identificação dos micro-organismos, cultivou-se os mesmos, em condições controladas, em meio líquido contendo $0,01$ e $0,1 \text{ g L}^{-1}$ de atrazina e repicados em meio sólido contendo 10 mg L^{-1} de atrazina, para observação do crescimento. Os resultados demonstraram que a aplicação de ARS ao solo, acima da dosagem recomendada agronomicamente, proporcionou o aumento da lixiviação de atrazina no perfil do solo e, conseqüentemente, o risco de contaminação de águas subterrâneas. Não houve efeito da aplicação de água residuária da suinocultura na dissipação de atrazina. Entretanto, a adição de ARS ao solo favoreceu o aumento da formação de resíduos ligados, o que pode aumentar a persistência da atrazina no ambiente e diminuir sua biodisponibilidade. Foram isoladas três bactérias do gênero *Corynebacterium spp* e três fungos das espécies *Cladosporium cladosporioide*, *Rhizopus stolonifer* e *Penicillium purpurogenum*, presentes na ARS e com resistência ao herbicida. O crescimento das bactérias e fungos em meio enriquecido com atrazina, indicou a possibilidade de utilização desses micro-organismos na biorremediação de solos contaminados com atrazina.

Palavras-chave: herbicida, suíno, transporte, sorção, biodegradação.

**LEACHING, BOUND RESIDUES FORMATION AND BIOREMEDIATION OF THE
ATRAZINE IN SUBTROPICAL SOIL SUBMITTED OF SWINE WASTEWATER
APPLICATION**

ABSTRACT

Atrazine is a triazine herbicide, widely used in agriculture to control weeds in corn and cane sugar farming. However, atrazine is considered a pesticide moderately persistent in the environment and the application of wastewater to the soil can affect its environmental performance. In this study, the effects of wastewater from swine (ARS) in leaching, dissipation, and bound residue formation of atrazine in a subtropical clay soil were evaluated. Also, this work was carried out to isolate and identify micro-organisms present in the ARS, resistant to atrazine and possible use in bioremediation of contaminated soils. For the leaching test soil columns filled with samples of a distroferic Red Latossol were used, which received the application of atrazine at a dose of 5 L ha⁻¹, and were incubated for 7 days according to the following treatments: T1 (Sterile soil + ARS), T2 (Sterile soil + distilled water), T3 (Non sterile soil + ARS) and T4 (Non sterile soil + distilled water). In T1 and T3 the amount of ARS was applied corresponding to five times the recommended dose of nitrogen for the corn crop. To study the formation and dissipation of atrazine bound residues, we conducted experiments in the laboratory under controlled conditions, where samples of the same Latossol received the application of 168.61 mg kg⁻¹ of atrazine and incubated for 60 days according with the same treatments considered in the leaching tests. The extractable residues of atrazine and bound residues were extracted and analyzed by high performance liquid chromatography. The isolation and identification of micro-organisms, they were cultivated under controlled conditions in liquid medium containing 0.01 and 0.1 g L⁻¹ atrazine and peaked on solid medium containing 10 mg L⁻¹ for atrazine, for observation of growth. The results showed that the application of ARS to the ground, above the agronomically recommended dosage, the higher the leaching of atrazine in the soil profile, and consequently the risk of contamination of groundwater. There was no effect of wastewater from swine in the dissipation of atrazine. However, the addition of ARS the soil favored the increased formation of bound residues, which can increase the persistence of atrazine in the environment and reduce its bioavailability. We isolated three bacteria of the genus *Corynebacterium spp* and three fungi of the species *Cladosporium cladosporioide*, *Rhizopus stolonifer* and *Penicillium purpurogenum* present in the ARS and herbicide resistance. The growth of bacteria and fungi in medium supplemented with atrazine indicated the possibility of using these micro-organisms in the bioremediation of soils contaminated with atrazine.

Key-words: herbicide, swine, transport, sorption, biodegradation.

SUMÁRIO

1	Lixiviação de atrazina em solo subtropical submetido à aplicação de água residuária da suinocultura (Engenharia Agrícola, Classificação B1 na QUALIS/CAPES nas Ciências Agrárias).....	1
2	Dissipação e formação de resíduos ligados de atrazina em solo subtropical sob aplicação de água residuária da suinocultura (Engenharia Agrícola, Classificação B1 na QUALIS/CAPES nas Ciências Agrárias).....	13
3	Isolamento e identificação de micro-organismos de água residuária da suinocultura visando biorremediação de solos contaminados com atrazina (Soil Biology & Biochemistry, Classificação A1 na QUALIS/CAPES nas Ciências Agrárias).....	26

LIXIVIAÇÃO DE ATRAZINA EM SOLO SUBTROPICAL SUBMETIDO À APLICAÇÃO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DA SUINOCULTURA

RESUMO: A atrazina é um herbicida extensivamente utilizado nas culturas do milho e cana-de-açúcar, e é considerado moderadamente persistente no ambiente. A aplicação de águas residuárias ao solo pode afetar o comportamento ambiental da atrazina. Neste estudo, os efeitos da aplicação de água residuária da suinocultura (ARS) na lixiviação de atrazina foram avaliados. Colunas de solo, preenchidas com amostras de um Latossolo Vermelho distroférico, receberam a aplicação de atrazina na dose de 5 L ha^{-1} e foram incubadas durante 7 dias de acordo com os seguintes tratamentos: T1 (Solo estéril + ARS); T2 (Solo estéril + água destilada); T3 (Solo não estéril + ARS) e T4 (Solo não estéril + água destilada). Nos tratamentos T1 e T3 a quantidade de ARS aplicada foi correspondente a cinco vezes a dose de nitrogênio recomendada para a cultura do milho. Foram conduzidos ensaios de lixiviação da atrazina para cada tratamento e os resultados demonstraram que a aplicação de ARS ao solo, acima da dosagem recomendada agronomicamente, proporcionou o aumento da lixiviação de atrazina no perfil do solo e, conseqüentemente, o risco de contaminação de águas subterrâneas.

PALAVRAS-CHAVE: herbicida, suíno, transporte, matéria orgânica.

INTRODUÇÃO

A lixiviação é o transporte de solutos para camadas subsuperficiais e é responsável pelo transporte de pesticidas e outros elementos das áreas agrícolas. Portanto, é um processo fundamental no solo, através do qual os constituintes (elementos solúveis ou partículas suspensas) são transportados no perfil pela ação da água de percolação.

A atrazina e o alaclor são os agrotóxicos frequentemente mais detectados em águas subterrâneas, principalmente nos Estados Unidos. A atrazina pode ser encontrada nos EUA em níveis tão elevados como $21,0 \mu\text{g L}^{-1}$ na água subterrânea e $42,0 \mu\text{g L}^{-1}$ em águas superficiais, sendo que o padrão de potabilidade para atrazina no país é de $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$ (HAMILTON & MILLER, 2002). No Brasil, o padrão de potabilidade para atrazina é de $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$ (BRASIL, 2004).

Nos últimos anos, com a atenção pública voltada para os riscos de contaminação dos recursos hídricos, trabalhos têm sido realizados visando avaliar a sorção e o transporte de atrazina no perfil do solo. Correia & Langenbach (2006) avaliaram a dinâmica da distribuição de atrazina em Argissolo Vermelho-Amarelo sob condições de clima tropical

úmido, e verificaram, em experimento de campo, que atrazina foi encontrada a 50 cm de profundidade após 90 dias de experimento, podendo ter alcançado maiores profundidades não estudadas no trabalho.

O reuso de águas residuárias tratadas na fertirrigação de culturas é uma prática muito difundida em todo o mundo. Entretanto, surgem preocupações ambientais quanto aos efeitos da aplicação de águas residuárias sobre o transporte de pesticidas no solo. Características do solo e água residuária que podem afetar o movimento de pesticidas incluem pH, composição eletrolítica e presença de matéria orgânica dissolvida (SEOL & LEE, 2001; ARIAS-ESTÉVEZ et al., 2008; WILDE et al., 2009).

Tradicionalmente, o transporte de pesticidas tem sido visto como um simples processo de duas fases, em que a fase dissolvida é transportada por lixiviação, e a fase sorvida atua como um processo de retardamento. As interações sortivas entre a matéria orgânica e a fase estacionária removem o contaminante da solução do solo, podendo até formar resíduos não-extraíveis ou ligados, retardando, assim, seu movimento. Entretanto, um alto grau de interação entre o carbono orgânico dissolvido e o contaminante orgânico pode acelerar o processo de transporte facilitado (SILVA & FAY, 2004). Nesse contexto, o potencial para formação de complexos de pesticidas com a matéria orgânica dissolvida pode aumentar a mobilidade dos pesticidas em solos irrigados com águas residuárias (PRATA & LAVORENTI, 2000; SEOL & LEE, 2001; MÜLLER et al., 2007).

Considerando que existem poucos trabalhos na literatura que estudaram a movimentação de pesticidas devido à adição de resíduos orgânicos em solos subtropicais, este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da aplicação de água residuária da suinocultura (ARS) na lixiviação de atrazina em amostras de Latossolo Vermelho distroférico.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de um Latossolo Vermelho distroférico (EMBRAPA, 2006) de textura argilosa, foram coletadas na cidade de Ubitatã, PR, em local sem histórico de aplicação de atrazina e com cobertura vegetal composta por gramíneas, sendo amostradas a uma profundidade de 0-30 cm. O solo teve restos de raízes removidas manualmente, foi seco ao ar, destorroado e passado em peneira de 2 mm de abertura de malha (TFSA). Realizou-se a caracterização físico-química do solo (Tabela 1), de acordo com metodologias descritas por EMBRAPA (1997) e TEDESCO et al (1995).

Tabela 1. Caracterização físico-química do solo utilizado no experimento.

Parâmetro	Valor
Areia (g kg ⁻¹)	150,00
Silte (g kg ⁻¹)	250,00
Argila (g kg ⁻¹)	600,00
pH	5,70
N (mg kg ⁻¹)	3,09
C (g kg ⁻¹)	13,26
CTC (cmol _c kg ⁻¹)	11,11
Matéria orgânica (g kg ⁻¹)	22,81
Densidade de partículas (kg m ³)	2554,00
Densidade aparente (kg m ³)	1056,00

A água residuária da suinocultura foi coletada em uma propriedade rural localizada na cidade de Toledo, PR, tratada em biossistema integrado constituído por biodigestor, tanque de sedimentação, duas lagoas de estabilização, tanque de algas e tanque de peixes. A amostra foi coletada na saída da segunda lagoa de estabilização e caracterizada conforme análises físico-químicas apresentadas na Tabela 2, de acordo com metodologia descrita por APHA, AWWA & WEF (1998).

Tabela 2. Caracterização da água residuária da suinocultura.

Parâmetro	Valor
DBO (mg L ⁻¹)	1.333,30
DQO (mg L ⁻¹)	2.500,00
DQO filtrada (mg L ⁻¹)	1.595,93
NTK (mg L ⁻¹)	1.052,80
Sólidos totais (mg L ⁻¹)	2.649,50
Sólidos fixos (mg L ⁻¹)	1.573,00
Sólidos voláteis (mg L ⁻¹)	1.076,50
pH	7,60

DBO: demanda bioquímica de oxigênio; DQO: demanda química de oxigênio; NTK: nitrogênio total Kjeldahl

Para a avaliação do deslocamento miscível de atrazina no solo tratado com ARS, foram realizados ensaios em colunas de solo deformado. As colunas eram constituídas em tubos de acrílico, com 5,5 cm de diâmetro e 30 cm de comprimento. O solo colocado nas colunas foi compactado visando formar uma coluna com densidade próxima à densidade de campo, dificultando a formação de caminhos preferenciais.

Foram considerados quatro tratamentos do solo acondicionado nas colunas, conforme descritos a seguir:

T1: Solo estéril + ARS

T2: Solo estéril + água destilada

T3: Solo não estéril + ARS

T4: Solo não estéril + água destilada

Nos tratamentos T1 e T3 foram adicionados 100 ml de ARS, correspondente a cinco vezes a dose de nitrogênio recomendada para a cultura do milho (80 kg ha⁻¹). Nos tratamentos T2 e T4, foram adicionados 100 ml de água destilada. Nos tratamentos T1 e T2, o solo passou por esterilização em autoclave e em todos os tratamentos foi aplicada a massa de atrazina recomendada para a cultura do milho, equivalente a 2,5 kg por hectare. As colunas foram incubadas verticalmente à temperatura de 23°C por um período de sete dias.

Após transcorrido o período de incubação, as colunas foram fixadas por braçadeiras metálicas, verticalmente, em um suporte universal. Objetivando expulsar o ar contido nos microporos do solo, realizou-se a saturação das colunas a partir da passagem de um baixo fluxo de solução 0,01 mol L⁻¹ de CaCl₂, a partir da base da coluna, com a finalidade de evitar eventual desestabilização estrutural do solo (CORRÊA et al., 1999).

Saturadas as colunas e comprovada a condição de fluxo constante de 5 mL min⁻¹, mantido com o uso de uma bomba peristáltica, foi iniciada a passagem de água em fluxo descendente. Experimentos em colunas em que, após a contaminação do solo, é aplicada uma taxa de fluxo constante de água, podem simular melhor as condições reais de campo de chuvas e irrigação (ZHAO et al., 2009).

O monitoramento do percolado das colunas se iniciou com a primeira gota lixiviada em sua extremidade inferior, sendo coletados 20 ml a cada 4 minutos de ensaio, perfazendo um total de quatro volumes de poros. As amostras foram coletadas com o auxílio de um coletor de frações em tubos de ensaio de 25 ml e acondicionadas em frascos plásticos com numeração sequenciada, sendo armazenados em congelador para posterior determinação da atrazina no lixiviado. Após os ensaios de lixiviação, o solo das colunas foi armazenado para determinação de resíduos extraíveis de atrazina.

A concentração de atrazina nas amostras de lixiviado foi determinada a partir de técnicas de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Primeiramente as amostras foram filtradas em unidade filtrante com membrana de 0,45 µm de poro e então injetadas no cromatógrafo nas seguintes condições: coluna C-18 (150 x 4,6 mm), fase móvel metanol:água (50:50, v/v), detector UV – 230 nm, fluxo contínuo de 1 ml min⁻¹, temperatura do forno de 35°C, corrida de 15 minutos e volume de injeção de 20 µL.

De posse dos valores de concentração de atrazina nos lixiviados, foram construídas as curvas de eluição do pesticida.

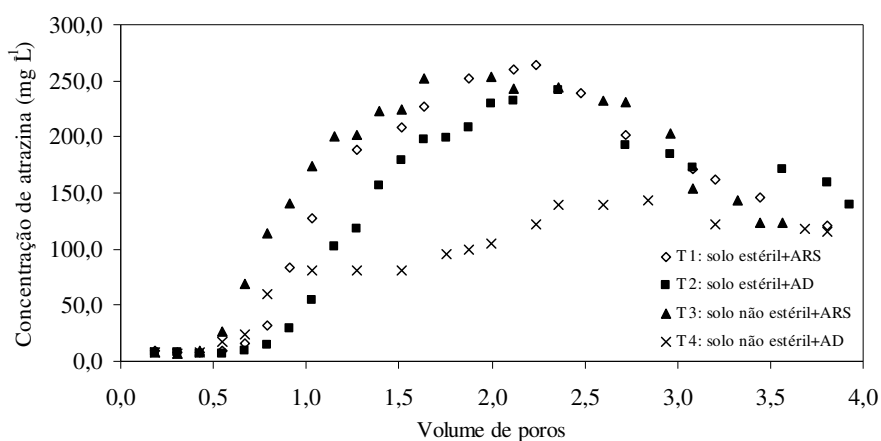
Para a extração dos resíduos extraíveis de atrazina do solo após os ensaios de lixiviação, utilizou-se métodos adaptados de PEIXOTO et al (2000) e LUDOVICE (2003). Amostras de 25 g de solo, em triplicata, foram secas ao ar, peneiradas em malha de 2 mm de abertura e colocadas em erlenmeyers de 250 mL juntamente com 25 mL de metanol. Após passarem 5 minutos em banho ultrassom, as amostras foram agitadas por 1 hora a 220 rpm e centrifugadas por 30 minutos a 2000 rpm. O sobrenadante foi reservado e o

procedimento repetido por mais duas vezes. Agrupou-se os sobrenadantes e foram evaporados 10 mL a 40°C em evaporador rotativo até volume final de 1 mL, para a determinação de atrazina por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Realizou-se o mesmo procedimento de extração, em triplicata, para uma amostra de solo fortificada com 50 mg L⁻¹ de atrazina, para determinação da porcentagem de recuperação do método. A porcentagem de recuperação foi de 97,26%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 são apresentadas as curvas de eluição da atrazina (breakthrough curve e acumulativa) para os tratamentos considerados, utilizando-se água como solução percoladora.

A



B

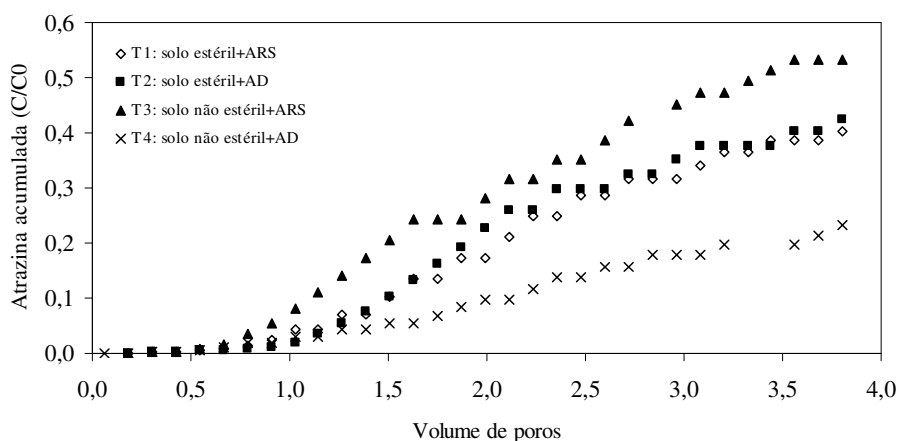


Figura 1. Curvas de eluição para a atrazina. *Breakthrough curve* (A) e acumulativa (B). C_0 é a concentração inicial de atrazina aplicada; C é a concentração de atrazina no lixiviado; AD é água destilada.

A atrazina foi liberada constantemente desde o início da lixiviação e o *breakpoint* ocorreu ao mesmo tempo em todos os tratamentos. Entretanto, as curvas *breakthrough curve* para os tratamentos T1, T3 e T2 possuem um pico de concentração de atrazina mais elevado quando comparadas a curva do tratamento T4 (Figura 1A). A concentração total de atrazina (C/C_0) aumentou de 0,231 no tratamento T4 para 0,404, 0,423 e 0,531 nos tratamentos T1, T2 e T3, respectivamente (Figura 1B), indicando aumento da lixiviação de atrazina nestes tratamentos.

Nos tratamentos sem adição de ARS (T2 e T4), o solo não estéril (T4) apresentou maior retenção de atrazina, onde possivelmente houve interação do herbicida com a matéria orgânica do solo e as partículas de argila, diminuindo, assim, sua lixiviação (Figura 2B). Segundo Fay & Silva (2004), o processo de adsorção inclui tanto a sorção na interface sólido-líquido (superfície do mineral de argila), quanto a sorção no interior de uma matriz sorbente (dentro da matéria orgânica), reduzindo a mobilidade de moléculas orgânicas no solo.

No tratamento T2, com o solo estéril e adição de água destilada, o deslocamento da atrazina foi mais elevado em relação ao tratamento T4 (sem esterilização), aproximando-se ao comportamento observado nos solos que receberam ARS. Este fato possivelmente ocorreu devido ao processo de esterilização em autoclave, pelo qual passou o solo do tratamento T2. Nakagawa & Andréa (1997) citam que uma das formas de promover a liberação de resíduos ligados de herbicidas no solo é pelo calor úmido, devido ao efeito da temperatura sobre a estrutura da matéria orgânica. Os autores citam Schnitzer & Khan (1972), que verificaram que o material húmico que compõe o solo forma uma estrutura polimérica com pontes de hidrogênio de diferentes dimensões moleculares, dando origem a uma peneira molecular capaz de aprisionar moléculas orgânicas, como é o caso dos herbicidas. Assim, a temperatura elevada pode enfraquecer a estrutura da matéria orgânica presente no solo, permitindo uma maior lixiviação da atrazina.

Os tratamentos T1 e T3, com adição de ARS, apresentaram valores mais elevados de concentração de atrazina nos lixiviados. Estudos revelaram que a adição de matéria orgânica dissolvida aos solos pode facilitar a lixiviação de pesticidas (SEOL & LEE, 2001; SONG et al., 2008; THEVENOT et al., 2008). De fato, a ARS aplicada às colunas de solo neste trabalho, possuía matéria orgânica dissolvida (representada pela DQO filtrada, na Tabela 2), o que pode ter influenciado na maior movimentação de atrazina. A competição entre o pesticida e a matéria orgânica dissolvida por sítios sortivos do solo pode contribuir para o acréscimo da lixiviação (LI et al., 2005; COX et al., 2007). Portanto, com o aumento na concentração de matéria orgânica dissolvida, a taxa de dessorção também aumenta, resultando em elevada lixiviação (SONG et al., 2008). Drori et al. (2005) avaliaram a influência da matéria orgânica dissolvida no comportamento da atrazina no solo e observaram menor sorção do herbicida e maior dessorção em solos irrigados com águas

residuárias. Os autores concluíram que a matéria orgânica dissolvida adicionada ao solo via água residuária modificou os sítios de sorção disponíveis para a atrazina.

A ordem de apresentação dos resíduos extraíveis de atrazina remanescentes no solo após o ensaio de lixiviação foi a seguinte: T1>T2>T4>T3 (Figura 2), indicando que a presença de matéria orgânica dissolvida na ARS aumentou a mobilidade de atrazina no solo natural em estudo (T3).

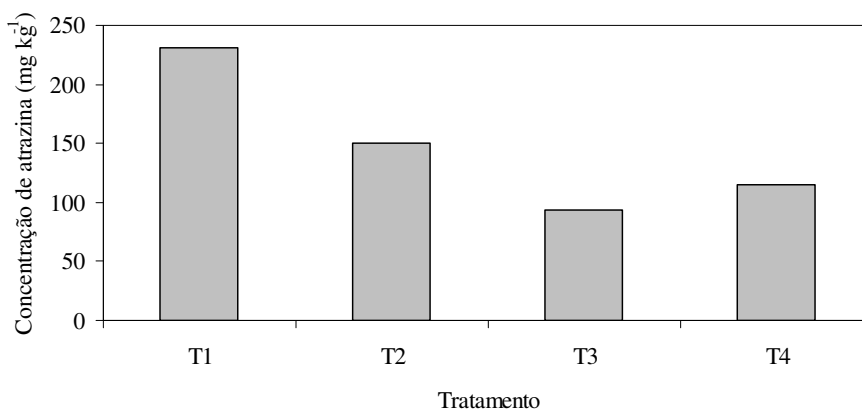


Figura 2. Concentração de atrazina nos resíduos extraíveis após o experimento de lixiviação (médias de três repetições).

No tratamento T4, apesar de ter ocorrido menor mobilidade de atrazina, foi encontrada uma baixa quantidade de resíduos extraíveis de atrazina no solo após o ensaio de lixiviação, sugerindo que houve uma possível degradação durante o período de incubação e/ou a formação de resíduos ligados com a matéria orgânica do solo, corroborando com resultados encontrados por outros autores (NAKAGAWA & ANDRÉA, 2000; QUEIROZ & MONTEIRO, 2000; PRZYBULEWSKA & SIENICKA, 2008).

CONCLUSÕES

A aplicação de água residuária da suinocultura em Latossolo Vermelho distroférico, acima da dosagem recomendada agronomicamente, proporcionou o aumento da lixiviação de atrazina no perfil do solo e, conseqüentemente, o risco de contaminação de águas subterrâneas.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do projeto e concessão de bolsa de estudos, e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos.

REFERÊNCIAS

APHA/AWWA/WEF. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20th ed. Washington, 1998. 1.193 p.

ARIAS-ESTÉVEZ, M.; LÓPEZ-PERIAGO, E.; MARTÍNEZ-CARBALLO, E.; SIMAL-GÁNDARA, J.; MEJUTO, J.C.; GARCÍA-RÍO, L. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v.123, n.4, p.247-260, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº. 518**. Brasília, 2004. 15 p.

CORRÊA, M.M.; LIMA, L.A.; MARTINEZ, M.A.; RIGINATO, R.L.O.; SAMPAIO, S.C. Deslocamento miscível de sulfona de aldicarbe em colunas de solo. **Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.3, n.2, p.217-221, 1999.

CORREIA, F. V.; LANGENBACH, T. Dinâmica da distribuição e degradação de atrazina em Argissolo Vermelho-amarelo sob condições de clima tropical úmido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, n.3, p. 183-192, 2006.

COX, L.; VELARDE, P.; CABRERA, A.; HERMOSÍN, M.C.; CORNEJO, J. Dissolved organic carbon interactions with sorption and leaching of diuron in organic-amended soils. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v.58, n.3, p.714-721, 2007.

DRORI, Y.; AIZENSHTAT, Z.; CHEFETZ, B. Sorption-desorption behavior of atrazine in soils irrigated with reclaimed wastewater. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.69, p.1703-1710, 2005.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro, 1997. 221 p.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2.ed. Rio de Janeiro, 2006. 306 p.

HAMILTON, P.A.; MILLER, T.L. Lessons from the national waterquality assessment: a decade of intensive water-quality studies indicates that reducing diffuse nonpoint water contamination requires new tools and a holistic management approach. **Journal of Soil and Water Conservation**, Ankeny, v.57, 16-22, 2002.

LI, K.; XING, B.S.; WILLIAM, A.T. Effect of organic fertilizers derived dissolved organic matter on pesticide sorption and leaching. **Environmental Pollution**, Madison, v.134, n.2, p.187-194, 2005.

LUDOVICE, M.T.F. **Influência de faixa filtro de Brachiaria decumbens na retenção de atrazina, nutrientes e sedimentos em escoamento superficial**. 2003. 163 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola, Campinas, 2003.

MÜLLER, K.; MAGESAN, G.; BOLAN, N. A critical review of the influence of effluent irrigation on the fate of pesticides in soil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v.120, n.2-4, p.93-116, 2007.

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

NAKAGAWA, L.; ANDRÉA, M. Liberação de resíduos ligados de atrazina de solos por meio de esterilização por autoclavagem e radiação gama. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.21, p.707-710, 1997.

PEIXOTO, M., LAVORENTI, A., REGITANO, J., TORNISIELO, V. Degradação e formação de resíduos ligados de ¹⁴C-atrazina em Latossolo Vermelho Escuro e Glei Húmico. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.57, n.1, p.147-151, 2000.

PRATA, F.; LAVORENTI, A. Comportamento de herbicidas no solo: influência da matéria orgânica. **Biociências**, Taubaté, v.6, n.2, p.17-22, 2000.

PRZYBULEWSKA, K.; SIENICKA, K. Decomposition of atrazine by microorganisms isolated from long-term herbicide experiment soil. **Ecological Chemistry and Engineering S**, Opole, v.15, n.4, p.491-499, 2008.

QUEIROZ, B.P.V.; MONTEIRO, R.T.R. Degradação de ¹⁴C-atrazina em solo sob condições semicontroladas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.4, p.849-856, 2000.

SEOL, Y.; LEE, L.S. Coupled effects of treated effluent irrigation and wetting-drying cycles on transport of triazines through unsaturated soil columns. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.30, p.1644-1652, 2001.

SILVA, C.M.M.S.; FAY, E.F. **Agrotóxicos e ambiente**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 2004. 400p.

SONG, N.H.; CHEN, L.; YANG, H. Effect of dissolved organic matter on mobility and activation of chlorotoluron in soil and wheat. **Geoderma**, Amsterdam, v.146, p.344-352, 2008.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. 2 ed. Porto Alegre: Departamento de Solos, UFRGS, 1995. 174 p.

THEVENOT, M.; DOUSSET, S.; ROUSSEAU, S.; ANDREUX, F. Influence of organic amendments on diuron leaching through an acidic and a calcareous vineyard soil using undisturbed lysimeters. **Environmental Pollution**, Madison, v.153, p.148-156, 2008.

WILDE, T.; MERTENS, J.; SIMUNEK, J.; SNIEGOWSKI, K.; RYCKEBOER, J.; JAEKEN, P.; SPRINGAEL, P.; SPANOGHE, P. Characterizing pesticide sorption and degradation in microscale biopurification systems using column displacement experiments. **Environmental Pollution**, Madison, v.157, p.463-473, 2009.

ZHAO, B.; ZHANG, J.; GONG, J.; ZHANG, H.; ZHANG, C. Glyphosate mobility in soils by phosphate application: laboratory column experiments. **Geoderma**, Amsterdam, v.149, p.290-297, 2009.

DISSIPAÇÃO E FORMAÇÃO DE RESÍDUOS LIGADOS DE ATRAZINA EM SOLO SUBTROPICAL SOB APLICAÇÃO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DA SUINOCULTURA

RESUMO: Os efeitos da aplicação de água residuária da suinocultura (ARS) na dissipação de atrazina e formação de resíduos ligados em solo subtropical argiloso foram investigados neste trabalho. O experimento foi conduzido em laboratório, sob condições controladas, onde amostras de um Latossolo Vermelho distroférico receberam a aplicação de 168,61 mg kg⁻¹ de atrazina e foram incubadas durante 60 dias de acordo com os seguintes tratamentos: T1 (Solo estéril + ARS); T2 (Solo estéril + água destilada); T3 (Solo não estéril + ARS) e T4 (Solo não estéril + água destilada). Os resíduos extraíveis de atrazina e resíduos ligados foram extraídos e analisados por cromatografia líquida de alta eficiência. Os resultados mostraram que não houve efeito da aplicação de água residuária da suinocultura na dissipação de atrazina. Entretanto, a adição de ARS ao solo favoreceu o aumento da formação de resíduos ligados, o que pode aumentar a persistência da atrazina no ambiente e diminuir sua biodisponibilidade.

PALAVRAS-CHAVE: herbicida, suíno, degradação, sorção, matéria orgânica.

INTRODUÇÃO

A atrazina é um herbicida triazínico utilizado para o controle de plantas daninhas de folhas largas na cultura do milho. Sua estrutura química é representada por um anel triazínico substituído com cloro, etilamina e isopropilamina, que a torna recalcitrante para degradação biológica no ambiente (SCHOTTLER et al., 1994; COLLA et al., 2008; LIMA et al., 2009). É o herbicida mais frequentemente detectado em águas superficiais e subterrâneas como resultado da lixiviação, escoamento superficial e drenagem de áreas agrícolas (KLADIVKO et al., 1999; KIM, 2004; FAVA et al., 2007).

Em uma granja de suínos, a quantidade diária de água residuária produzida depende, dentre outros fatores, do número e da idade dos animais, da quantidade de água desperdiçada na higienização das baias e bebedouros, dejetos, resíduos de ração, pêlos, poeira e outros materiais decorrentes do processo criatório (OLIVEIRA et al., 2000; MATOS, 2005). Esses fatores associados determinam a concentração de sólidos, carga orgânica, metais pesados, nutrientes e micro-organismos na água residuária, que definem, portanto, o tipo de tratamento e armazenamento necessário para que a água residuária da suinocultura (ARS) não cause poluição ambiental.

O uso de águas residuárias no solo é uma prática comum na agricultura e proporciona melhorias nas propriedades físico-químicas e biológicas do solo, quando aplicadas adequadamente. Na região sul do Brasil é significativo o uso da ARS, após tratamento biológico, para a fertirrigação de culturas agrícolas como o milho, aproveitando-se a água para irrigação e os nutrientes nela contidos. Entretanto, a aplicação de resíduos orgânicos no solo pode modificar o destino de pesticidas no ambiente devido ao teor e à qualidade da matéria orgânica presente e à diversidade de micro-organismos (HUANG & LEE, 2001; MÜLLER et al., 2007; KADIAN et al., 2008; WANG et al., 2009; AGUILERA et al., 2009; OSMAN et al., 2009).

Estudos sobre os efeitos da aplicação de materiais orgânicos ao solo, na degradação de atrazina, têm sido relatados por alguns pesquisadores (TOPP et al., 1996; HOUOT et al., 1998; BIGWANEZA et al., 2003; TSUI & ROY, 2007; KADIAN et al., 2008; AGUILERA et al., 2009). De forma geral, a degradação da atrazina é favorecida pela adição de micro-organismos e nutrientes. Entretanto, quando qualquer tipo de material orgânico é adicionado a um solo em que posteriormente é aplicado um herbicida, este material pode influenciar no aumento da sorção devido à formação de resíduos ligados com a matéria orgânica adicional, diminuindo a biodisponibilidade e retardando a degradação biológica (ALVEY & CROWLEY, 1995; MASAPHY & MANDELBAUM, 1997; PRATA & LAVORENTI, 2000; WANG et al., 2009). Além disso, a aplicação de águas residuárias ao solo pode reprimir a ação de micro-organismos degradadores de atrazina, seja pela incorporação adicional de nitrogênio inorgânico ou pela competição entre as espécies de bactérias e fungos (ALVEY & CROWLEY, 1995; SHAPIR et al., 2000; GHOSH & PHILIP, 2006).

Em ecossistemas subtropicais brasileiros, as pesquisas sobre os efeitos da adição de resíduos orgânicos no destino dos pesticidas no solo ainda são escassas. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a dissipação de atrazina e formação de resíduos não-extraíveis (resíduos ligados), em solo subtropical argiloso ao qual foi adicionada água residuária da suinocultura.

MATERIAL E MÉTODOS

O solo utilizado no experimento, de textura argilosa e classificado como Latossolo Vermelho distroférrico (EMBRAPA, 2006), foi coletado na cidade de Ubiratã, PR, em área sem histórico de aplicação de atrazina e com cobertura vegetal composta por gramíneas, sendo amostrado a uma profundidade de 0-20 cm. O solo teve restos de raízes removidas manualmente, foi seco ao ar, destorroado e passado em peneira de 2 mm de abertura de malha. Realizou-se a determinação das características físico-químicas do solo (Tabela 1), de acordo com metodologia descrita por EMBRAPA (1997) e Tedesco et al. (1995).

Tabela 1. Caracterização do solo utilizado no experimento.

pH (CaCl ₂)	Areia	Silte (g kg ⁻¹)	Argila	CTC (cmol _c kg ⁻¹)	C (g kg ⁻¹)	M.O.
5,20	150,00	250,00	600,00	11,77	17,81	30,63

A água residuária da suinocultura (ARS) foi coletada em uma propriedade rural localizada na cidade de Toledo, PR, tratada em biossistema integrado constituído por biodigestor, tanque de sedimentação, duas lagoas de estabilização, tanque de algas e tanque de peixes. A amostra foi coletada em frasco estéril na saída da segunda lagoa de estabilização e caracterizada conforme análises físico-químicas apresentadas na Tabela 2, de acordo com metodologia descrita por APHA, AWWA & WEF (1998).

Tabela 2. Caracterização da água residuária da suinocultura.

pH	DBO	DQO (mg L ⁻¹)	COT	NTK
7,22	627,70	1.965,00	377,00	710,00

DBO: demanda bioquímica de oxigênio; DQO: demanda química de oxigênio; COT: carbono orgânico total; NTK: nitrogênio total Kjeldahl

Porções de 100 g de solo foram transferidas para frascos *erlenmeyers* de 250 mL. As amostras foram umedecidas com um volume adequado de água destilada estéril ou água residuária de suinocultura, de acordo com o tratamento, até elevação da umidade a 60% da capacidade de campo. A capacidade de campo do solo foi determinada pela técnica do torrão separado pela frente de molhamento (TSFM), conforme metodologia descrita por Costa (1983). A incubação foi conduzida no escuro, à temperatura de 23°C e agitação de 100 rpm, durante 60 dias.

Os tratamentos foram estabelecidos em esquema fatorial 2 x 2 em delineamento inteiramente casualizado, com 5 repetições, totalizando 20 parcelas experimentais. Foram considerados os seguintes tratamentos:

- T1: Solo estéril + ARS
- T2: Solo estéril + água destilada
- T3: Solo não estéril + ARS
- T4: Solo não estéril + água destilada

Nos tratamentos T1 e T2 o solo passou por esterilização em autoclave, e em todos os tratamentos foram aplicados 168,61 mg kg⁻¹ de atrazina comercial. Durante o período de incubação, a umidade do solo foi preservada em 60% da capacidade de campo pela adição de água destilada estéril, conforme a pesagem dos frascos.

Transcorridos os 60 dias de incubação, realizou-se a extração dos resíduos extraíveis de atrazina do solo de acordo com métodos adaptados de Peixoto et al. (2000) e Ludovice (2003). Amostras de 25 g de solo foram secas ao ar, peneiradas em malha de 2 mm de abertura e colocadas em *erlenmeyers* de 250 mL juntamente com 25 mL de metanol. Após passarem 5 minutos em banho ultrassom, as amostras foram agitadas por 1 hora a 220 rpm e centrifugadas por 30 minutos a 2000 rpm. O sobrenadante foi reservado e o procedimento repetido por mais duas vezes. Agrupou-se os sobrenadantes e foram evaporados 10 mL a 40°C em evaporador rotativo até volume final de 1 mL, para a determinação de atrazina por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). O solo foi reservado para posterior extração dos resíduos ligados.

Realizou-se o mesmo procedimento de extração descrito, em triplicata, para uma amostra de solo fortificada com 50 mg L⁻¹ de atrazina, para determinação da porcentagem de recuperação do método. A porcentagem de recuperação foi de 97,26%.

As amostras de solo, após passarem pela extração de resíduos extraíveis, foram autoclavadas a 120°C e 9,8x10⁴ Pa de pressão, por 30 minutos, durante três dias consecutivos para liberação dos resíduos ligados (NAKAGAWA & ANDRÉA, 1997). Posteriormente, as amostras passaram pelo mesmo processo de extração com metanol, como já descrito.

A concentração de atrazina nos extratos foi determinada a partir de técnicas de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). As amostras foram filtradas em unidade filtrante com membrana de 0,45 µm de poro e então injetadas no cromatógrafo nas seguintes condições: coluna C-18 (150 x 4,6 mm), fase móvel metanol:água (50:50, v/v), detector UV – 230 nm, fluxo contínuo de 1 mL min⁻¹, temperatura do forno de 35°C, corrida de 15 minutos e volume de injeção de 20 µL.

A quantidade de atrazina dissipada foi calculada a partir da diferença entre a concentração inicial de atrazina aplicada e a soma das concentrações de resíduos extraíveis e resíduos ligados após o período de incubação.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de comparação entre médias, utilizando-se o Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve interação entre os fatores em estudo para nenhum dos parâmetros analisados, sendo que apenas a concentração média de resíduos ligados apresentou diferença significativa entre os tratamentos.

Na Tabela 3 são apresentados os valores médios para os resíduos extraíveis, resíduos ligados e atrazina dissipada após 60 dias de incubação. Os resultados para os

resíduos extraíveis corresponderam, nos tratamentos T1, T2, T3 e T4, a 43,3%, 54,3%, 45,4% e 37,1% da atrazina inicialmente aplicada ao solo, respectivamente. A quantidade de resíduos extraíveis remanescentes após o período de incubação é um indicativo de biodegradação da atrazina e formação de resíduos ligados. O tratamento T4, em que o solo não passou pelo processo de esterilização, apresentou o menor valor médio para resíduos extraíveis, indicando que houve degradação biológica de atrazina. Esse resultado corrobora com Munier-Lamy et al. (2002), que também observaram que a presença da microbiota natural do solo resultou na diminuição da quantidade de resíduos extraíveis de atrazina após 120 dias de incubação.

Tabela 3. Concentração média de resíduo extraível, resíduo ligado e atrazina dissipada no solo (em mg kg⁻¹) após 60 dias de incubação.

Tratamento	Resíduo extraível ¹	Resíduo ligado ²	Atrazina dissipada ³
T1	73,24 ^a	20,60 ^b	74,78 ^a
T2	91,51 ^a	10,77 ^a	66,33 ^a
T3	76,59 ^a	23,92 ^b	68,10 ^a
T4	62,62 ^a	13,60 ^a	92,39 ^a

As médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo Teste de Scott-Knott. ¹CV: 22,55%; ²CV: 22,67%; ³CV: 23,58%.

De acordo com a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), resíduo ligado é o nome dado às espécies químicas originadas de pesticidas, que somente são passíveis de extração por métodos que alterem significativamente a natureza da molécula e/ou da matriz, incluindo solo, plantas e animais (BARRACLOUGH et al., 2005).

A aplicação da água residuária da suinocultura ao solo influenciou a formação de resíduos ligados (Tabela 3). A matéria orgânica presente no solo, juntamente com a matéria orgânica da ARS adicionada, promoveram o aumento na formação de resíduos ligados de atrazina. De acordo com Khan (1991), a matéria orgânica é o principal sítio de formação de resíduos ligados. O herbicida e seus produtos de degradação são fortemente retidos pelas frações húmicas, provavelmente por um processo que envolve sorção as superfícies externas e penetração dos vazios internos das ligações entre as moléculas com arranjo estrutural tipo peneira.

Estudos têm demonstrado aumento na formação de resíduos ligados de herbicidas em solos que receberam materiais orgânicos. Houot et al. (1998) relataram que a adição de composto de resíduos sólidos urbanos e resíduos de palha compostada ao solo, aumentaram a formação de resíduos não-extraíveis de atrazina. Damin (2005) observou maior formação de resíduos ligados de diuron em amostras de Latossolo Vermelho distrófico de textura argilosa, adicionados com lodo de esgoto.

Não houve diferença significativa entre os tratamentos para a atrazina dissipada, observando-se que o solo com a microbiota natural e sem a adição de ARS (tratamento T4) apresentou maior valor médio de dissipação de atrazina, além do menor valor médio de resíduo extraível, evidenciando a degradação biológica durante o período de incubação. Em experimento realizado por Nakagawa & Andréa (2000), a biomineralização de atrazina foi detectada apenas em solo com a microbiota natural, quando comparada ao solo esterilizado e contaminado com cultura pura de *Pseudomonas putida*.

Nos solos que receberam ARS, a dissipação da atrazina foi menor quando comparada ao solo natural (tratamento T4). A adição de materiais orgânicos ao solo pode influenciar na taxa de degradação de atrazina, seja pelo provimento de nutrientes que estimulam ou que reprimem os micro-organismos degradadores, ou pela redução da biodisponibilidade da atrazina, devido ao aumento da sorção de resíduos de atrazina na matéria orgânica adicional.

Observou-se que a formação de resíduos ligados foi maior nos tratamentos que receberam ARS (T1 e T3), diminuindo a biodisponibilidade da atrazina no solo e dificultando a mineralização. Segundo Burauel & Führ (2000), a formação de resíduos ligados é de grande importância em estudos de destino dos pesticidas no ambiente, pois quando esses resíduos são formados, a biodisponibilidade é reduzida e, como consequência, reduz-se também a sua dissipação por via biológica. Autores têm reportado que a aplicação de ARS e esgoto tratado ao solo, não apresentou efeito significativo na dissipação de atrazina, em que a adsorção foi positivamente correlacionada com a quantidade de matéria orgânica nos solos fertirrigados (MASAPHY & MANDELBAUM, 1997; BIGWANEZA et al., 2003).

Considerando os solos que receberam aplicação de ARS, o solo estéril (T1) apresentou maior valor de atrazina dissipada em relação ao solo não estéril (T3), podendo ter ocorrido competição entre as espécies de micro-organismos envolvidas. A degradação de atrazina pode ser reforçada pelo sinergismo entre as espécies presentes na ARS e a microbiota do solo, mas, por outro lado, a atividade de degradação pode ser negativamente influenciada por micro-organismos antagônicos do solo. O antagonismo não está ligado a um único mecanismo de ação e sim com associações de mecanismos como antibiose, competição por nutrientes, interação direta com as espécies, predação ou indução de resistência (MENDEZ & MONDINO, 1999). Shapir et al. (2000) observaram que a adição de lodo de esgoto ao solo juntamente com a fertirrigação com esgoto tratado, visando a mineralização de atrazina, aumentaram a concorrência entre as populações nativas do solo e as bactérias adicionadas. Portanto, os micro-organismos do solo, mais adaptados ao meio podem reprimir a atividade e talvez, até mesmo, a capacidade de sobreviver dos micro-organismos adicionados via ARS.

De acordo com os resultados obtidos, observou-se que houve dissipação de atrazina também no solo estéril com apenas adição de água destilada. Atividades abióticas,

como reações químicas de oxidação, redução e hidrólise, também podem contribuir para a transformação e dissipação da atrazina no solo, além da degradação microbiológica. Segundo Prata (2002), o principal mecanismo de reação química na transformação de pesticidas no solo é a hidrólise, que é influenciada pelo valor do pH, temperatura e sorção do pesticida. Neste caso, no tratamento T2, a transformação da atrazina pode ter ocorrido por processos químicos como observado por outros autores (BLUMHROST & WEBER, 1994; ANDRÉA et al., 1997; HOUOT et al., 1998; NAKAGAWA & ANDRÉA, 2000).

CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo mostraram que não houve efeito da aplicação de água residuária da suinocultura (ARS) na dissipação de atrazina em Latossolo Vermelho distroférico argiloso. A adição de ARS ao solo favoreceu o aumento da formação de resíduos ligados, o que pode aumentar a persistência da atrazina no ambiente e diminuir sua disponibilidade às plantas e à degradação biológica.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Paraná pelo financiamento do projeto, e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional Científico e Tecnológico (CNPq) por concessão de bolsa de estudos.

REFERÊNCIAS

AGUILERA, P.; BRICEÑO, G.; CANDIA, M.; MORA, M.; DEMANET, R.; PALMA, G. Effect of dairy manure rate and the stabilization time of amended soils on atrazine degradation. **Chemosphere**, Kidlington, v.77, n.6, p.785–790, 2009.

ALVEY, S.; CROWLEY, D.E. Influence of organic amendments on biodegradation of atrazine as nitrogen source. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.24, p.1156-1162, 1995.

ANDRÉA, M.; MATALLO, M.; TOMITA, R.; LUCHINI, L. Effect of the temperature on dissipation of [¹⁴C]atrazine in a Brazilian soil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, n.1, p.95-100, 1997.

APHA/AWWA/WEF. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20th ed. Washington, 1998. 1.193 p.

BARRACLOUGH, D.; KEARNEY, T.; CROXFORD, A. Bound residues: environmental solution or future problem? **Environmental Pollution**, Madison, v.133, p.85-90, 2005.

BIGWANEZA, P.; FORTIN, J.; ANTOUN, H.; NDAYEGAMIYE, A. Effect of long-term liquid pig manure application on atrazine mineralization in a soil cultivated with maize. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 38, n.4, p.191-199, 2003.

BLUMHORST, M.; WEBER, J. Chemical versus microbial degradation of cyanazine and atrazine in soils. **Pesticide Science**, Chichester, v.42, n.2, p.79-84, 1994.

BURAUDEL, P.; FUHR, F. Formation and long-term fate of non-extractable residues in outdoor lysimeter studies. **Environmental Pollution**, Oxford, v.108, n.1, p.45-52, 2000.

COLLA, L.; PRIMAZ, A.; LIMA, M.; BERTOLIN, T.; COSTA, J. Isolamento e seleção de fungos para biorremediação a partir de solo contaminado com herbicidas triazínicos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.3, p.809-813, 2008.

COSTA, M.P. **Efeito da matéria orgânica em alguns atributos do solo**. 1983. 137 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queros", Piracicaba, 1983.

DAMIN, V. **Biodegrdação, sorção e dessorção do herbicida ¹⁴CDiuron em dois latossolos tratados com lodo de esgoto**. 2005. 83 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queros", Piracicaba, 2005.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro, 1997. 221 p.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2.ed. Rio de Janeiro, 2006. 306 p.

FAVA, L.; ORRÙ, M.; SCARDALA, S.; FUNARI, E. Leaching potential of carbamates and their metabolites and comparison with triazines. **Microchemical Journal**, New York, v.86, n.2, p.204–208, 2007.

GHOSH, P.; PHILIP, L. Environmental significance of atrazine in aqueous systems and its removal by biological processes: an overview. **Global NEST Journal**, Greece, v.8, n.2, p.159-178, 2006.

HOUOT, S.; BARRIUSO, E.; BERGHEAUD, V. Modification to atrazine degradation pathways in loamy soil after addition of organic amendments. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.30, n.4, p.2147-2157, 1998.

HUANG, X.; LEE, L. Effects of dissolved organic matter from animal waste effluent on chlorpyrifos sorption by soils. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.30, p.1258–1265, 2001.

KADIAN, N.; GUPTA, A.; SATYA, S.; MEHTA, R.; MALIK, A. Biodegradation of herbicide (atrazine) in contaminated soil using various bioprocessed materials. **Bioresource Technology**, Oxon, v.99, n.11, p.4642-4647, 2008.

KHAN, S.U. Bound (nonextractable) pesticide degradation products in soils. In: SOMASSUNDARAM, L.; COATS, J.R. **Pesticide transformation products: fate and significance in the environment**. Washington: ACS, 1991. p.108-121.

KIM, Y. Adsorption, desorption and movement of napropamide in soils. **KSCE Journal of Civil Engineering**, Korea, v.8, n.6, p.619-623, 2004.

KLADIVKO, E.; GROCHULSKA, J.; TURCO, R.; VAN SCOYOC, G.; EIGEL, J. Pesticide and nitrate transport into subsurface tile drains of different spacing. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.28, p.997–1004, 1999.

LIMA, D.; VIANA, P.; ANDRÉ, S.; CHELINHO, S.; COSTA, C.; RIBEIRO, R.; SOUSA, J.; FIALHO, A.; VIEGAS, C. Evaluating a bioremediation tool for atrazine contaminated soils in open soil microcosms: the effectiveness of bioaugmentation and biostimulation approaches. **Chemosphere**, Kidlington, v.74, n.2, p.187-192, 2009.

LUDOVICE, M.T.F. **Influência de faixa filtro de *Brachiaria decumbens* na retenção de atrazina, nutrientes e sedimentos em escoamento superficial**. 2003. 163 f. Tese

(Doutorado em Engenharia Agrícola) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola, Campinas, 2003.

MASAPHY, S.; MANDELBAUM, R. Atrazine mineralization in slurries from soils irrigated with treated wastewater. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v.6, n.3, p.283-291, 1997.

MATOS, A.T. **Tratamento de resíduos agroindustriais**. Viçosa: Fundação Estadual do Meio Ambiente. 2005. 34 p.

MENDEZ, S.; MONDINO, P. Control biológico postcosecha en Uruguay. **Horticultura Internacional**, v.7, p.29-36, 1999.

MÜLLER, K.; MAGESAN, G.; BOLAN, N. A critical review of the influence of effluent irrigation on the fate of pesticides in soil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v.120, n.2-4, p.93-116, 2007.

MUNIER-LAMY, C.; FEUVRIER, M.P.; CHONÉ, T. Degradation of ¹⁴C-Atrazine bound residues in brown soil and rendzina fractions. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.31, p.241-247, 2002.

NAKAGAWA, L.; ANDRÉA, M. Liberação de resíduos ligados de atrazina de solos por meio de esterilização por autoclavagem e radiação gama. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.21, p.707-710, 1997.

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

OLIVEIRA, R.; CAMPELO, P.; MATOS, A.; MARTINEZ, M.; CECOM, P. Influência da aplicação de águas residuárias de suinocultura na capacidade de infiltração de um solo podzólico vermelho-amarelo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.4, n.2, p.263-267, 2000.

OSMAN, K.; AL-REHIAYANI, S.; AL-DEGHAIRI, M.; SALAMA, A. Bioremediation of oxamyl in sandy soil using animal manures. **International Biodeterioration & Biodegradation**, Birmingham, v.63, n.3, p.341-346, 2009.

PEIXOTO, M., LAVORENTI, A., REGITANO, J., TORNISIELO, V. Degradação e formação de resíduos ligados de ^{14}C -atrazina em Latossolo Vermelho Escuro e Gleia Húmico. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.57, n.1, p.147-151, 2000.

PRATA, F. **Comportamento do glifosato no solo e deslocamento miscível de atrazina**. 2002. 161 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2002.

PRATA, F.; LAVORENTI, A. Comportamento de herbicidas no solo: influência da matéria orgânica. **Biociências**, Taubaté, v.6, n.2, p.17-22, 2000.

SCHOTTLER, S.; EISENREICH, S.; CAPEL, P. Atrazine, alachlor, and cyanazine in a large agricultural river system. **Environmental Science and Technology**, Missouri, v.28, p.1079-1089, 1994.

SHAPIR, N.; MANDELBAUM, R.; FINE, P. Atrazine mineralization by indigenous and introduced *Pseudomonas* sp. strain ADP in sand irrigated with municipal wastewater and amended with composted sludge. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.32, n.7 p.887-897, 2000.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. 2 ed. Porto Alegre: Departamento de Solos, UFRGS, 1995. 174 p.

TOPP, E., TESSIER, L., GREGORICH, E. Dairy manure incorporation stimulates rapid atrazine mineralization in an agricultural soil. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v.76, p.403-409, 1996.

TSUI, L.; ROY, W. Effect of compost age and composition on the atrazine removal from solution. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v.139, n.1, p.79-85, 2007.

WANG, H.; LI, Y.; LU, Y.; HUANG, C.; ZHANG, M.; WANG, X. Influence of bovine manure on dissipation of hexazinone in soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v.72, n.1, p.93-98, 2009.

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS DE ÁGUA RESIDUÁRIA DA SUINOCULTURA VISANDO BIORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS COM ATRAZINA

RESUMO

A atrazina é um herbicida triazínico, empregado largamente na agricultura para o controle de plantas daninhas nas culturas de milho e cana-de-açúcar. Entretanto, graças ao seu alto potencial de escoamento e elevada persistência nos solos, a atrazina é considerada um contaminante ambiental. Técnicas de biorremediação, com a utilização de micro-organismos degradadores, vêm sendo estudadas para o auxílio na descontaminação de solos agrícolas. Neste trabalho foram isolados e identificados micro-organismos presentes na água residuária da suinocultura (ARS), resistentes e com capacidade de crescimento em meio contendo atrazina. Os micro-organismos foram cultivados, em condições controladas, em meio líquido contendo 0,01 e 0,1 g L⁻¹ de atrazina e repicados em meio sólido contendo 10 mg L⁻¹ de atrazina. Foram isoladas três bactérias do gênero *Corynebacterium spp* e três fungos das espécies *Cladosporium cladosporioide*, *Rhizopus stolonifer* e *Penicillium purpurogenum* com resistência ao herbicida. O crescimento das bactérias e fungos em meio enriquecido com atrazina, indicou a possibilidade de utilização desses micro-organismos na biorremediação de solos contaminados com atrazina.

Palavras-chave: herbicida, suíno, biodegradação, bactérias, fungos.

INTRODUÇÃO

A atrazina é um herbicida triazínico utilizado para o controle pré e pós-emergente de gramíneas e folhas largas nas culturas do milho, sorgo e cana-de-açúcar (CORREIA & LANGENBACH, 2006). Os pesticidas têm sido usados na agricultura com o objetivo de se obter maior produtividade das culturas. Entretanto, apenas uma pequena quantidade do agroquímico lançado ao campo atinge o alvo específico, enquanto o restante da aplicação tem potencial para se movimentar no solo, podendo atingir águas superficiais e subterrâneas. Os resultados de alguns trabalhos têm revelado a presença de níveis alarmantes de atrazina e seus produtos de degradação em solos e águas superficiais e subterrâneas (HALLBERG, 1989; CLAVER et al., 2006; HILDEBRANDT, 2008).

A molécula de atrazina, formada por um anel aromático heterocíclico clorado e N-alquilado, não é facilmente biodegradada, porém micro-organismos têm demonstrado capacidade para metabolizar parcial ou totalmente a molécula, levando à formação de NH₃ e CO₂ (UETA et al., 2001; WACKETT et al., 2002). Tecnologias que utilizam sistemas

biológicos para biodegradação de resíduos perigosos podem ser aplicadas na descontaminação de solos agrícolas. A biorremediação é um processo no qual organismos vivos, normalmente plantas ou micro-organismos, são utilizados para remover e reduzir poluentes no ambiente (Gaylarde et al., 2005).

No contexto microbiológico, a água residuária proveniente da suinocultura possui certa diversidade microbiana incluindo fungos e bactérias, sendo que alguns desses micro-organismos possuem uma alta capacidade de metabolismo e amplo espectro de tolerância a fatores ambientais diversos (WIECHETECK et al., 2004). Portanto, o isolamento e a seleção de linhagens microbianas, presentes na água residuária de suinocultura, que possuem habilidade em degradar atrazina e a possibilidade de seu uso direto ou após processo de microencapsulação, na biorremediação de áreas agrícolas contaminadas, é um trabalho interessante quando se utiliza solos tropicais e sub-tropicais submetidos à agricultura intensiva.

Considerando a real escassez de trabalhos na literatura que realizaram o isolamento de micro-organismos de águas residuárias que possuem resistência e capacidade de degradação de pesticidas, este trabalho teve por objetivo isolar e identificar bactérias e fungos presentes na ARS que possam ser utilizados em técnicas de biorremediação de atrazina em solos agrícolas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Água residuária da suinocultura

A água residuária da suinocultura foi coletada em uma propriedade rural localizada na cidade de Toledo, PR, tratada via biosistema integrado constituído por biodigestor, tanque de sedimentação, duas lagoas de estabilização, tanque de algas e tanque de peixes. Amostras foram coletadas em frascos estéreis na saída da primeira lagoa de estabilização, sendo realizadas duas coletas, uma para cada batelada do experimento.

2.2. Meio líquido

A composição da solução mineral (por litro de água destilada) para a primeira batelada de ensaios, de acordo com Vargha et al. (2005), foi a seguinte: 0,8 g de K_2HPO_4 ; 0,2 g de KH_2PO_4 ; 0,5 g de NaCl; 0,1 g de $MgSO_4$; 0,4 g de $CaCl_2$; 0,02 g de $FeSO_4$; 0,01 g de $MnSO_4$.

Para que houvesse uma melhor adaptação inicial dos micro-organismos ao meio contendo atrazina, realizou-se uma segunda batelada de ensaios em condições diferentes,

entretanto com a mesma composição do meio de cultura já citada, adicionando-se 1,73 g de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ e 2,5 ml de glicose a 40%.

2.3. Atrazina

Foi utilizada a atrazina comercial Atranex 500 SC® com concentração de 500 g L⁻¹.

2.4. Primeira batelada

Na primeira batelada de ensaios, foram utilizados frascos *erlenmeyers* de 250 mL, contendo 100 mL de solução mineral e atrazina na concentração de 0,01 g L⁻¹ como única fonte de carbono e nitrogênio. Inoculou-se dez frascos com um mL de água residuária da suinocultura. A incubação seguiu por 15 dias a 100 rpm e temperatura entre 25 e 30°C. Após esse período, foram repicados 0,1 mL do meio contido nos frascos *erlenmeyers* em placas de Petri contendo a mesma solução mineral e concentração de atrazina, mais 1,5% de agar-agar. Repicou-se cinco placas de cada frasco *erlenmeyer* e incubou-se a 28°C por 72 horas, com o intuito de observar-se o possível crescimento dos micro-organismos resistentes à presença da atrazina.

2.5. Segunda batelada

Na segunda batelada de ensaios, utilizou-se a mesma quantidade de frascos e solução mineral; entretanto, adicionou-se fosfato de amônio monobásico e glicose e aumentou-se a concentração de atrazina para 0,1 g L⁻¹. A incubação dos frascos seguiu a 150 rpm e 28°C durante 15 dias, sendo que a cada sete dias realizou-se a repicagem nas placas.

2.6. Isolamento e identificação dos micro-organismos resistentes a atrazina

Após a incubação das placas preparadas na primeira e segunda batelada, observou-se o crescimento dos micro-organismos resistentes. As bactérias isoladas foram mantidas em meio sólido composto por solução mineral, atrazina (10 mg L⁻¹) como única fonte de carbono e nitrogênio, e acrescido de ágar (1,5%). As bactérias que apresentaram melhor crescimento das colônias neste meio foram submetidas a testes fisiológicos e bioquímicos.

A caracterização morfológica das bactérias foi feita pelo tamanho e agrupamento das células, presença ou ausência de esporos e pela coloração de Gram. Na caracterização das colônias bacterianas observou-se o tamanho, a forma, o bordo, a superfície e a

cromogênese. Para a caracterização bioquímica foram realizados os seguintes testes: hemólise em ágar sangue, produção de gás sulfídrico (H₂S), produção de gás, fermentação de carboidratos (manitol, sacarose, glicose e lactose), produção de catalase, teste de Voges-Proskauer (VP), hidrólise da gelatina, redução do nitrato, motilidade, metabolismo da glicose (O/F), produção de oxidase, produção de urease, crescimento em meio TSB a 37 e 42°C, descarboxilação da lisina e arginina, desaminação da fenilalanina e utilização do Citrato de Simmons. A identificação das bactérias foi realizada de acordo com o Manual de Bergey (HOLT et al., 1994).

Os fungos filamentosos isolados foram mantidos no mesmo meio sólido utilizado para as bactérias, sendo que os que apresentaram melhor crescimento foram identificados na Fundação Osvaldo Cruz (Fiocruz), a partir da observação das estruturas microscópicas produzidas em microcultivo.

3. RESULTADOS

3.1. Seleção e identificação de bactérias

Nas duas bateladas de ensaios foi observado crescimento de micro-organismos resistentes à presença de atrazina no meio. Três colônias de bactérias (isolados B1, B2 e B3), que apresentaram maior densidade de massa celular na presença de atrazina, foram identificadas como cocobacilos gram positivos, não formadores de esporos.

Em ágar nutriente, as colônias do isolado B1 apresentaram forma não delimitada, consistência cremosa, muco e coloração vermelha. O isolado B2 apresentou colônias de consistência cremosa, com muco, rugosas e de coloração bege. Já o isolado B3 possuía colônias com consistência cremosa, muco, lisas e coloração bege.

Nenhuma das bactérias isoladas apresentou atividade hemolítica em meio ágar sangue, nem desaminação da fenilalanina. As três bactérias isoladas demonstraram capacidade em descarboxilar lisina e arginina, e teste positivo para produção de urease, hidrólise da gelatina, redução de nitrato, VP e utilização do citrato como única fonte de carbono.

Todos os isolados fermentaram os carboidratos utilizados nos testes de fermentação (Tabela 1).

Tabela 1 Prova bioquímica de fermentação de carboidratos pelas bactérias isoladas

Isolado	Carboidrato			
	Manitol	Sacarose	Glicose	Lactose
B1	+	+	+	+
B2	+	+	+	+
B3	+	+	+	+

As bactérias isoladas apresentaram crescimento em temperatura de 37°C, entretanto na temperatura de 42°C não houve desenvolvimento das colônias (Tabela 2), sendo que todas metabolizaram a glicose por via fermentativa e não oxidativa (Tabela 3).

Tabela 2 Crescimento bacteriano em diferentes temperaturas

Isolado	Temperatura (°C)	
	37	42
B1	+	-
B2	+	-
B3	+	-

Os isolados B2 e B3 apresentaram motilidade positiva e o isolado B1 apresentou motilidade negativa. Nenhuma das bactérias produziu H₂S e todas manifestaram habilidade em produzir a enzima catalase. Somente o isolado B2 apresentou oxidase positiva e produção de gás (Tabela 3).

Tabela 3 Características bioquímicas das bactérias isoladas

Isolado	Catalase	Oxidase	O/F	Motilidade	Produção de gás	Produção de H ₂ S
B1	+	-	F	-	-	-
B2	+	+	F	+	+	-
B3	+	-	F	+	-	-

O/F: metabolismo oxidativo/fermentativo.

Os resultados das características morfológicas e bioquímicas sugerem que as bactérias isoladas pertencem ao gênero *Corynebacterium spp.*

3.2. Seleção e identificação de fungos

Foram isolados três colônias de fungos filamentosos (F1, F2 e F3) com possível habilidade para biodegradação de atrazina. A realização da análise microscópica dos micélios, após microcultivo, possibilitou a identificação dos fungos filamentosos.

Os isolados F1, F2 e F3 foram identificados como *Cladosporium cladosporioide*, *Rhizopus stolonifer* e *Penicillium purpurogenum*, respectivamente.

4. DISCUSSÃO

4.1. Seleção e identificação de bactérias

As bactérias isoladas neste trabalho são sugestivas do gênero *Corynebacterium spp.* As espécies pertencentes a esse gênero são em sua maioria catalase positiva, comumente aeróbias ou anaeróbias facultativas, fermentadoras de glicose e outros carboidratos e são encontradas amplamente no solo e águas (COLLINS & CUMMINS, 1986; HOLT et al., 1994).

Bactérias do gênero *Corynebacterium spp* tem demonstrado habilidade na biodegradação de compostos aromáticos (BARBIERI, 1997; JACQUES et al., 2007), resíduos petroquímicos (BARBOSA et al., 2007) e pesticidas (COSTA et al., 2009), indicando seu potencial para o uso em biorremediação de solos contaminados.

4.2. Seleção e identificação de fungos filamentosos

No presente estudo, fungos filamentosos das espécies *Cladosporium cladosporioide*, *Rhizopus stolonifer* e *Penicillium purpurogenum*, presentes na ARS e com tolerância e possível habilidade em biodegradar atrazina, foram isoladas. Algumas espécies de fungos filamentosos dos gêneros *Cladosporium sp*, *Rhizopus sp* e *Penicillium sp* tem sido isoladas de solos contaminados e resíduos, demonstrado alta capacidade de degradação de pesticidas (BORDJIBA et al, 2001; KODAMA et al., 2001; LIU et al., 2004; MARTINEZ et al., 2008), hidrocarbonetos aromáticos (CERNIGLIA, 1997; SILVA e MONTEIRO, 2000), petróleo (PEREIRA et al., 2004), entre outros xenobióticos.

Isolados de fungos *Penicillium sp* e *Rhizopus sp* com pouca sensibilidade a atrazina e degradação parcial da molécula foram relatados por Ueta et al. (2001) e Colla et al. (2008).

As bactéria e fungos filamentosos isolados da ARS neste trabalho, apresentaram resistência a presença de atrazina e capacidade de crescimento em meio contendo 100 ppm

de atrazina, indicando que esses micro-organismos podem ser usados na biorremediação de resíduos do herbicida.

4.3. Conclusões

Os resultados demonstraram a existência de micro-organismos com possível capacidade de degradação de atrazina na ARS. O crescimento de bactérias e fungos filamentosos em meio de cultura com atrazina indicou a possibilidade de utilização desses micro-organismos na biorremediação de solos contaminados com atrazina.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Paraná pelo financiamento do projeto, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa de estudos, e à Fundação Osvaldo Cruz pela identificação dos fungos.

REFERÊNCIAS

BARBIERI, S.M. Biodegradação de compostos aromáticos, in: Melo, I.S.; Azevedo, J.L. (Eds.), **Microbiologia Ambiental**. Embrapa, São Paulo, pp. 211-242, 1997.

BARBOSA, S.P.P.; CAMINHA, M.C.C.; PAZ, M.C.F. Identificação da microbiota bacteriana autóctone de efluentes petroquímicos no município de fortaleza. II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica, **Anais...**; João Pessoa, Brasil, 2007.

BORDJIBA, O.; STEIMAN, R.; KADRI, M.; SEMADI, A.; GUIRAUD, P. Removal of herbicides from liquid media by fungi isolated from a contaminated soil. **Journal of Environmental Quality**, 30, 418-426, 2001.

CERNIGLIA, C.E. Fungal metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: past, present and future applications in bioremediation. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, 19, 324-333, 1997.

CLAVER, A.; ORMAD, P.; RODRÍGUEZ, L.; OVELLEIRO, J.L. Study of the presence of pesticides in surface waters in the Ebro river basin (Spain). **Chemosphere** 64, 1437-1443, 2006.

COLLA, L.M.; PRIMAZ, A.L.; LIMA, M.; BERTOLIN, T.E.; COSTA, J.A.V. Isolamento e seleção de fungos para biorremediação a partir de solo contaminado com herbicidas triazínicos. **Ciência Agrotécnica**, 32, 809-813, 2008.

COLLINS, M. D.; CUMMINS, C.S. Genus *Corynebacterium* Lehmann and Neumann, in: Sneath, P.H.A.; Air, N.S.; Sharpe, M.E.; Holt, J.G. (Eds.), **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1266-1276, 1986.

CORREIA, F.V.; LANGENBACH, T. Dinâmica da distribuição e degradação de atrazina em argissolo vermelho-amarelo sob condições de clima tropical úmido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 30, 183-192, 2006.

COSTA, L.; SOUSA, M.V.; DELLAMATRICE, P.M.; MARINHO, G. Uso da bactéria do gênero *Corynebacterium* sp na biorremediação de uma área contaminada pelo pesticida Metamidofós. IV Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica, Belém, Brasil, 2009.

GAYLARDE, C.C.; BELLINASSO, M.L.; MANFIO, G.P. Biorremediação: aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos. **Biotecnologia: Ciência e Desenvolvimento** 34, 36-43, 2005.

HALLBERG, G.R. Pesticides pollution of groundwater in the humid United States. **Agriculture, Ecosystems & Environment** 26, 299-367, 1989.

HILDEBRANDT, A.; GUILLAMÓN, M.; LACORTE, S.; TAULER, R.; BARCELÓ, D. 2008. Impact of pesticides used in agriculture and vineyards to surface and groundwater quality (North Spain). **Water Research** 42, 3315-3326, 2008.

HOLT, J.G.; KRIEG, N.R.; SNEATH, P.H.A. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. Williams & Wilkins, Philadelphia, 1994.

JACQUES, R.J.S.; BENTO, F.M.; ANTONIOLLI, Z.I.; CAMARGO, F.A.O. Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. **Ciência Rural** 37, 1192-1201, 2007.

KODAMA, T.; DING, L.; YOSHIDA, M.; YAJIMA, M. Biodegradation of an s-triazine herbicide, simazine. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic** 11, 1073–1078, 2001.

LIU, Y.H.; LIU, Y.; CHEN, Z.S.; LIAN, J.; HUANG, X.; CHUNG, Y.C. Purification and characterization of a novel organophosphorus pesticide hydrolase from *Penicillium lilacinum* BP303. **Enzyme and Microbial Technology**, 34, 297-303, 2004.

MARTINEZ, C.O.; SILVA, C.M.M.S.; FAY, E.F. Caracterização de bactérias e fungos envolvidos na degradação de sulfentrazona em solos. **Embrapa Meio Ambiente**, Jaguariúna, 2008.

PEREIRA, L.T.C.; LEMOS, J.L.S.; SANTOS, R.L.C. **Degradação de hidrocarbonetos de petróleo por *Aspergillus niger* e *Penicillium corylophilum***. Centro de Tecnologia Mineral, Rio de Janeiro, 2004.

SILVA, J.H.; MONTEIRO, R.T.R. Degradação de xenobióticos por fungos filamentosos isolados de areia fenólica. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 24, 669-674, 2000.

UETA, J.; CERDEIRA, A.L.; PEREIRA, N.L.; SHUHAMA, I.K. Biodegradação de herbicidas e bioremediação: microorganismos degradadores de atrazina provenientes de solos da região do aquífero Guarani. **Plantio Direto** 81, 15-22, 2001.

VARGHA, M.; TAKÁTS, Z.; MÁRIALIGETI, K. Degradation of atrazine in a laboratory scale model system with Danube river sediment. **Water Research** 39, 1560-1568, 2005.

WACKETT, L.P.; SADOWSKY, M.J.; MARTINEZ, B.; SHAPIR, N. Biodegradation of atrazine and related s-triazine compounds: from enzymes to field studies. **Applied Microbiology and Biotechnology** 58, 39-45, 2002.

WIECHETECK, F.V.B.; BISCAIA, I.; SHERER, M.L.; GELINSKI, R.; BUENO, T.; OLIVEIRA, Z.C.Z.; PILEGGI, M. Análise microbiológica de resíduo suíno para avaliação de biorremediação e biodiversidade. **Ciências Biológicas e Saúde** 10, 47-51, 2004.