



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUALIDADE AMBIENTAL**



EMANUELE GIULIANI FRANCISCON

CARBONO DA BIOMASSA E ATIVIDADE BIOQUÍMICA EM SOLOS DE  
CERRADO SUBMETIDOS À APLICAÇÃO DO NEMATICIDA CADUSAFÓS

Emanuele Giuliani Franciscon

Prof. Dr. Lucas Carvalho Basílio de Azevedo

Orientador

Prof. Dr. Adão de Siqueira Ferreira

Co-orientador

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2018



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUALIDADE AMBIENTAL



EMANUELE GIULIANI FRANCISCON

CARBONO DA BIOMASSA E ATIVIDADE BIOQUÍMICA EM SOLOS DE  
CERRADO SUBMETIDOS À APLICAÇÃO DO NEMATICIDA CADUSAFÓS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Qualidade Ambiental – Mestrado, área de concentração em Meio Ambiente e Qualidade Ambiental, para a obtenção do título de “Mestre”.

Prof. Dr. Lucas Carvalho Basílio de Azevedo

Orientador

Prof. Dr. Adão de Siqueira Ferreira

Co-orientador

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

---

F819c  
2018      Franciscan, Emanuele Giuliani, 1992  
            Carbono da biomassa e atividade bioquímica em solos de Cerrado  
            submetidos à aplicação do nematicida cadusafós / Emanuele Giuliani  
Franciscan. - 2018.  
            56 f. : il.

Orientador: Lucas Carvalho Basílio de Azevedo.  
Coorientador: Adão de Siqueira Ferreira.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,  
Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental.  
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2018.762>  
Inclui bibliografia.

1. Qualidade ambiental - Teses. 2. Cerrados - Solos - Teses. 3.  
Microorganismos do solo - Teses. 4. Inseticidas - Teses. I. Azevedo,  
Lucas Carvalho Basílio de. II. Ferreira, Adão de Siqueira. III.  
Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em  
Qualidade Ambiental. IV. Título.

---

CDU: 574

Angela Aparecida Vicentini Tzi Tziboy – CRB-6/947

EMANUELE GIULIANI FRANCISCON

CARBONO DA BIOMASSA E ATIVIDADE BIOQUÍMICA EM SOLOS DE  
CERRADO SUBMETIDOS À APLICAÇÃO DO NEMATICIDA CADUSAFÓS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Qualidade Ambiental – Mestrado, área de concentração em Meio Ambiente e Qualidade Ambiental, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADO em 28 de Fevereiro de 2018.

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Alessandra Monteiro de Paula

UNB

Dr.<sup>a</sup> Simone Cristina Braga Bertini

UFU



Prof. Dr. Lucas Carvalho Basilio de Azevedo  
ICIAG-UFU  
(Orientador)

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL

2018

## AGRADECIMENTOS

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior), pela concessão da bolsa de estudos;

À Universidade Federal de Uberlândia e ao Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental, pela oportunidade de formação de qualidade que tive até aqui.

Ao meu orientador Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Lucas Carvalho Basilio de Azevedo por todos os ensinamentos, paciência e dedicação impostas na realização deste trabalho e em minha formação.

Ao meu co-orientador Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Adão de Siqueira Ferreira por ter me passado grandes conhecimentos sobre pesquisa e pela colaboração imprescindível na realização desse projeto.

À técnica Júlia por ter me ajudado na prática da realização de todos os experimentos, por ter me dado suporte durante todos os dias, dentro e fora do laboratório, durante essa jornada.

À Simone, por sempre estar com as portas abertas para me ajudar e tirar dúvidas.

Aos meus pais, por serem minha primeira escola da vida, por terem me dado todo o suporte e apoio nos estudos, por não medirem esforços para que eu pudesse realizar meus sonhos e objetivos, e por, mesmo longe, me fazerem sentir tão amada e confiante para chegar até aqui.

Aos meus colegas de jornada de trabalho, Christyan, Patrisia e Kênia, obrigada por cada incentivo, ajuda, esforços para contribuir com a finalização desse projeto, e pelas infinitas risadas e alegrias que fizeram o trabalho ser mais gratificante.

Aos meus amigos, que foram essenciais no meu caminho longe de casa, vocês foram meu chão muitas vezes. Obrigada por sempre fazerem todo o possível para me ajudar, não tenho palavras para descrever o quanto sou grata pelas amizades que conquistei em Uberlândia e as de infância, que se mantiveram mesmo com toda a distância.

À Sheila, Alini, Andréia, Maiko, Rubiana, Allyssane e tantos outros amigos queridos que colaboraram para a finalização deste trabalho, obrigada por terem sido tão incríveis e generosos.

Ao meu irmão Edinan e ao restante da família, sentir o amor e a torcida de vocês a cada dia me tornou mais forte para finalizar esta etapa.

A minha prima Julceia, obrigada por todas as vezes que me impulsionou a terminar o mestrado e me ajudou com conhecimento e dicas, você é uma inspiração.

Aos Técnicos, secretários e funcionários de limpeza do ICIAG, obrigada por toda a colaboração em ensaios, orientações, empréstimo de material, limpeza e organização do espaço físico, que proporcionaram melhores condições de trabalho diariamente. Em especial a secretária do programa PPGMQ, Marília, que foi sempre muito atenciosa e solícita em todos os processos.

Por último, mas aos que agradei ao início de cada dia dessa jornada: Deus por mais essa benção concedida em minha vida e por ser minha fortaleza em todos os momentos, e Maria, minha mãe protetora, por ter passado a frente de mais esse caminho;

*“Quem tem um amigo, mesmo que um só, não importa onde se encontre, jamais sofrerá de solidão, poderá morrer de saudades, mas não estará só”.*

***Amyr Klink***

*“A persistência é o menor caminho do êxito.”*

***Charles Chaplin.***

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Hipóteses .....	2
1.2 Objetivos .....	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 Solos do Cerrado .....	4
2.2 Microbiota do solo.....	5
2.3 Agrotóxicos .....	6
2.3.1 Nematicidas organofosforados .....	9
2.3.2 Cadusafós .....	10
2.4 Destino e transformações dos pesticidas no ambiente .....	11
2.4.1 Impactos de pesticidas sobre a microbiota do solo .....	14
2.5 Microbiota do solo como indicadora de contaminação .....	15
2.5.1 Atributos microbiológicos indicadores de qualidade do solo.....	16
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1 Coleta, preparação e identificação dos solos.....	18
3.2 Nematicida Cadusafós .....	20
3.3 Resposta da respiração e biomassa microbiana do solo à doses de Cadusafós .....	20
3.3.1 Respiração basal microbiana (RBM) .....	20
3.3.2 Carbono da Biomassa Microbiana (CBM).....	21
3.3.3 Quociente Metabólico do solo (qCO <sub>2</sub> ) .....	22
3.4 Resposta induzida da comunidade microbiana pela adição de glicose .....	22
3.4.1 Respiração Induzida pelo substrato (RIS) .....	23
3.4.2 Teor de Glicose .....	23
3.4.3 Rendimento microbiano (Y).....	24
3.4.4 Atividade da Desidrogenase .....	24
3.4.5 Estatística.....	25
4. RESULTADOS .....	26

4.1 Resposta da respiração e biomassa microbiana do solo à doses de cadusafós .....	26
4.1.1 Respiração basal microbiana (RBM) .....	26
4.1.2 Carbono da biomassa microbiana (CBM) .....	27
4.1.3 Quociente metabólico $qCO_2$ .....	28
4.2 Resposta induzida da comunidade microbiana à adição de glicose .....	29
4.2.1 Respiração Induzida pelo substrato (RIS) .....	29
4.2.2 Atividade de desidrogenase .....	30
4.2.3 Consumo de glicose.....	31
5. DISCUSSÃO.....	33
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	40
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	41

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.** Estrutura química de inseticidas organofosforados. (X= molécula de oxigênio ou enxofre; R' = CH<sub>3</sub> ou CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). .....11
- FIGURA 2.** Respiração basal microbiana (RBM) em solo argiloso, nas diferentes doses de Cadusafós durante 21 dias de incubação, em condições de laboratório. .... 26
- FIGURA 3.** Respiração basal microbiana (RBM) em solo arenoso, nas diferentes doses de Cadusafós durante 21 dias de incubação, em condições de laboratório. .... 27
- FIGURA 4.** Carbono da biomassa microbiana (CBM) nas diferentes doses de Cadusafós aos 21 dias de incubação, em condições de laboratório. Série 1- Argiloso; Série 2 - Arenoso. Letras minúsculas comparam médias entre tratamentos. Letras maiúsculas comparam médias entre solos. ....28
- FIGURA 5.** Quociente metabólico do solo (qCO<sub>2</sub>) nas diferentes doses de Cadusafós em 21 dias de incubação, em condições de laboratório. Letras minúsculas comparam médias entre tratamentos. Letras maiúsculas comparam médias entre solos. .... 29
- FIGURA 6.** Efeito da adição da glicose e Cadusafós na repiração basal microbiana (RIS) dos tratamentos em 48 horas, em condições de laboratório. Letras minúsculas comparam médias entre tratamentos. Letras maiúsculas comparam médias entre solos. .... 30
- FIGURA 7.** Atividade da enzima desidrogenase nos tratamentos em 48 horas de incubação, em condições de laboratório, Letras minúsculas comparam médias entre tratamentos. Letras maiúsculas comparam médias entre solos. .... 31
- FIGURA 8.** Padrão de consumo de glicose pela comunidade microbiana nos tratamentos GNP (Glicose+Nitrogênio+Fósforo) e GNPC (Glicose+Nitrogênio+Fósforo+Cadusafós) em 48 horas de incubação, em condições de laboratório. Letras minúsculas comparam médias entre tratamentos. Letras maiúsculas comparam médias entre solos. .... 31

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1.</b> Classificação dos agrotóxicos quanto aos efeitos à saúde de organismos vivos, segundo a OPAS/OMS (1996). .....	8
<b>TABELA 2.</b> Propriedades gerais do nematicida Cadusafós. ....	11
<b>TABELA 3.</b> Características físico-química dos solos coletados para análises microbiológicas. Argiloso e Arenoso.....	18
<b>TABELA 4.</b> Umidade relativa e Capacidade de retenção de água do solo arenoso e argiloso. ....	19
<b>TABELA 5.</b> Distribuição dos tratamentos por dose do ingrediente ativo Cadusafós.....	20
<b>TABELA 6.</b> Distribuição dos tratamentos de Resposta induzida da comunidade microbiana à adição de glicose. ....	23
<b>TABELA 7.</b> Resposta microbiana para adição de Cadusafós e glicose, em condições de laboratório. ....	32

## LISTA DE SÍMBOLOS

CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono;
CRA	Capacidade de retenção de água;
Mu	Massa úmida do solo;
Ms	Massa seca do solo;
U%	Umidade relativa do solo;
RBM	Respiração basal microbiana;
MHCL	Molaridade da solução de hcl;
CBM	Carbono da Biomassa Microbiana;
qCO <sub>2</sub>	Quociente Metabólico do solo;
Y	Rendimento metabólico;
i.a.	Ingrediente Ativo
p.c	Produto Comercial
INT	Cloreto de 2-p-iodo-3-nitrofenil 5-fenil-tetrazólio;
INTF	Iodonitrofenil formazano;
GNP	Glicose + Nitrogênio + Fósforo;
GNPC	Glicose + Nitrogênio + Fósforo + Cadusafós;
NP	Nitrogênio + Fósforo;
NPC	Nitrogênio + Fósforo + Cadusafós.

## RESUMO

FRANCISCON, EMANUELE GIULIANI. **Carbono da biomassa e atividade bioquímica em solos do cerrado submetidos à aplicação do nematicida Cadusafós**. 2018. 56 p. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e Qualidade Ambiental) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia – MG<sup>1</sup>

O cerrado é o segundo maior bioma brasileiro e considerado a última fronteira agrícola do planeta. Seus solos são predominantemente Latossolos, desprovidos de nutrientes e suscetíveis à erosão, mas que não foram empecilhos para a ocupação pela agricultura moderna, com aplicações de grandes quantidades de produtos químicos. Sem o uso destes produtos, o aumento de pragas e doenças poderia acarretar perda significativa na produção agrícola. O desafio é, então, evitar a degradação dos solos e reduzir a poluição ambiental conciliando com a crescente demanda por alimentos, fibras e energia. Os micro-organismos do solo participam de quase todos os processos que ali ocorrem, e são reconhecidos como sensíveis indicadores da saúde dos solos naturais e agrícolas. A microbiota do solo pode ser afetada pelos pesticidas químicos utilizados no combate de organismos patógenos das culturas agrícolas, já que estes produtos possuem baixa seletividade. Os efeitos que a aplicação de pesticidas organofosforados causam na microflora do solo, ainda são pouco conhecidos e relatados. O objetivo foi, então, analisar o efeito do nematicida organofosforado Cadusafós sobre a comunidade microbiana do solo, com a ajuda de alguns parâmetros microbiológicos. Para isso, foram coletados solos arenoso e argiloso representativos da região do Cerrado do estado de MG. O cadusafós utilizado foi o Rugby 200 CS, na taxa de concentração de 0,4 mg i.a. Kg<sup>-1</sup> de solo, recomendada para a aplicação em campo, e ainda em doses maiores para testar a concentração mínima inibitória. Em um ensaio com doses do cadusafós, as variáveis analisadas foram a respiração basal, carbono da biomassa e quociente metabólico. Posteriormente, foi avaliado a resposta induzida da comunidade microbiana à adição de glicose pela respiração basal, consumo de glicose, atividade da desidrogenase e rendimento metabólico. Os ensaios foram realizados em 4 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e normalidade, e as médias testadas ao nível de 5% de probabilidade pelos testes de Tukey e Kruskal-Wallis. Para os dois solos amostrados e em todos os atributos testados, não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos que receberam cadusafós e o controle não contaminado. Provavelmente o cadusafós foi adsorvido e ou biodegradado, ou que o efeito tóxico sobre os micro-organismos seja pequeno. Os nossos resultados indicam que a molécula de Cadusafós, não compromete a funcionalidade edáfica, mantendo a qualidade original do solo nas condições testadas. Avaliações mais profundas estrutural comunidade e a longo prazo devem ser realizadas para fortalecer os dados aqui encontrados. Isso é importante porque o conhecimento a respeito dos efeitos de pesticidas sobre a atividade da comunidade microbiana do solo pode fornecer subsídios para o planejamento do uso correto da terra.

**Palavras-chave:** Respiração basal. Desidrogenase. Rendimento metabólico. Glicose, organofosforado. Micro-organismos do solo.

---

<sup>1</sup> Comitê Orientador: Lucas Carvalho Basilio de Azevedo – Universidade Federal de Uberlândia e Adão de Siqueira Ferreira - Universidade Federal de Uberlândia.

## ABSTRACT

FRANCISCON, EMANUELE GIULIANI. **Biomass carbon and biochemical activity in cerrado soils subjected to the application of nematicide Cadusafós.** 2018. 56 p. Dissertation (Master Degree in Environment e Environmental Quality) – Federal Universtiy of Uberlândia, Uberlândia – MG<sup>2</sup>

The cerrado is the second largest Brazilian biome and considered the last agricultural frontier of the planet. Its soils are predominantly latosols, devoid of nutrients and susceptible to erosion, but which were not obstacles to the occupation by modern agriculture, with applications of large quantities of chemicals. Without the use of these products, increased pests and diseases could lead to significant losses in agricultural production. The challenge is to avoid soil degradation and reduce environmental pollution by meeting the growing demand for food, fiber and energy. Soil microorganisms participate in almost all the processes that occur there, and are recognized as sensitive indicators of the health of natural and agricultural soils. Soil microbiota can be affected by the chemical pesticides used to combat pathogens of agricultural crops, since these products have low selectivity. The effects that the application of organophosphate pesticides cause on soil microflora are still little known and reported. The objective was to analyze the effect of the organophosphate nematicide Cadusafós on the soil microbial community, with the help of some microbiological parameters. For this, sandy and loamy soils representative of the Cerrado region of Minas Gerais State were collected. The cadusafos used was the Rugby 200 CS, at the concentration rate of 0.4 mg i.a. Kg<sup>-1</sup> of soil, recommended for field application, and at higher doses to test the minimum inhibitory concentration. The parameters analyzed were basal respiration, biomass carbon and metabolic quotient, afterwards the induced response of the microbial community to the addition of glucose was evaluated through basal respiration, glucose consumption with time, enzyme activity dehydrogenase and metabolic yield, all in quadruplicate. Data were submitted to analysis of variance and normality, and the means tested at the 5% probability level, by Tukey and KruskalWallis test. For the two soils sampled and in all the attributes tested, no significant differences between the treatments that received cadusafós and the control were verified. The hypotheses are that the cadusafós was biodegraded, has no toxic effect on microorganisms, or that the molecule was not bioavailable by the various interacting forces that occur with the soil. Our results indicate that the Cadusafós molecule does not compromise edaphic functionality, maintaining the original quality of the soil under the conditions tested. Deeper structural and residual assessments should be performed to strengthen the data found here. Knowledge about the effects of pesticides on the activity of the soil microbial community can provide subsidies for planning the correct use of land.

**Keywords:** Basal respiration. Dehydrogenase. Metabolic yield. Glucose. Organophosphorus, Soil micro-organisms.

Supervising committee: Lucas Carvalho Basilio de Azevedo – Universtiy of Uberlândia and Adão de Siqueira Ferreira - Universtiy of Uberlândia.

## INTRODUÇÃO

Para prover alimentos a uma população mundial em crescimento (FAO, 2016), a agricultura moderna usa técnicas de melhoramento genético, fertilização do solo, irrigação, conservação de solo, mas também de pesticidas. Sem o uso destes produtos, a incidência de plantas daninhas, pragas e doenças poderia acarretar perda significativa na produção agrícola (PASSOS; REIS, 2013). No entanto, o uso contínuo e, às vezes, indiscriminado de agrotóxicos pode levar à contaminação do ambiente (NAWAZ et al., 2016). O desafio é, então, evitar a degradação dos solos e reduzir a poluição ambiental conciliando com a crescente demanda por alimentos, fibras e energia (MARTINELLI et al., 2010; EMBRAPA, 2014).

Os patógenos vegetais comprometem o desenvolvimento e a produtividade das culturas agrícolas. Dentre os patógenos, os nematoides fitoparasitas se alimentam do tecido vegetal do sistema radicular, afetando a absorção e a translocação de nutrientes e água, alterando a fisiologia da planta (MOREIRA et al., 2001). Esses organismos também podem predispor a planta a doenças e a estresses ambientais ou atuarem como transmissores de outros patógenos, diminuindo a produtividade vegetal (NAWAZ et al., 2016).

O controle químico de nematoides é realizado por nematicidas, dentre eles tem-se o Cadusafós, que pertence ao grupo dos organofosforados, e tem sido utilizado extensivamente e com sucesso sobre uma ampla gama de nematoides e outros insetos de várias culturas importantes (TOMLIN, 2003; GIANNAKOU et al., 2005; KARPOUZAS & SINGH, 2006). O Cadusafós atua inibindo principalmente a acetilcolinesterase, aumentando o nível de acetilcolina nas sinapses, provocando depressão do sistema nervoso central e em seguida a morte dos nematoides (HORNE et al., 2002).

Apesar de sua eficácia comprovada, os pesticidas são considerados um dos mais graves poluentes ambientais, ocasionando problemas associados à contaminação de água superficial e subterrânea, e elevada toxicidade ao homem, animais e meio ambiente (STOLF, 2006; HUSAIN et al., 2010). Outro problema grave, ocasionado devido à baixa seletividade dos pesticidas químicos, é que estes não atingem apenas o organismo-alvo, tornando-se tóxicos para outros que habitam o solo e as plantas, como os micro-organismos do solo.

Os micro-organismos sofrem efeitos adversos por serem sensíveis a mudanças no ambiente (LARCHEVÊQUE et al., 2006; CHU et al., 2007). No solo, os micro-organismos participam de grande parte dos processos de transformações químicas, e estão associados

principalmente a rizosfera, em uma relação de interdependência com a vegetação, podendo realizar interações benéficas ou prejudiciais (NANNIPIERI et al., 2003). Uma das principais contribuições da microbiota do solo é para a fertilidade natural do solo, visto sua ação na decomposição de moléculas orgânicas e outras substâncias, disponibilizando nutrientes para as plantas (ARTIOM, 2016; FRIEDEL et al., 2001).

Os pesticidas afetam a dinâmica da comunidade do solo de três formas: primeiro, ocasionando a morte de micro-organismos alvos e não-alvos; segundo, a utilização direta destes produtos por organismos capazes de degradá-los; e terceiro, surgimento ou desenvolvimento de populações microbianas que dependem de fontes nutritivas secundárias, como os metabólitos produzidos a partir da decomposição dos pesticidas (GIANFREDA E RAO, 2008).

As alterações na composição da comunidade microbiana do solo podem levar a mudanças que interferem na diversidade funcional e na qualidade do solo, na sustentabilidade de ecossistemas terrestres, além do rendimento da produtividade agrícola, associado à função de fertilização natural do solo (TURCO et al., 1994). No entanto, prever a relação entre a estrutura do pesticida e a comunidade microbiana do solo em determinado solo não é fácil. Há relatos de pesticidas que estimulam o crescimento de micro-organismos do solo (MORENO et al., 2007; REIS et al., 2008; SANTOS et al., 2010), enquanto outros causam inibição temporária ou permanente de determinadas populações (JOHNSEN et al., 2001; GIANFREDA; RAO, 2008; KOOKANA et al., 2014). Mas é sabido que alguns atributos dos micro-organismos do solo, como taxa de respiração e biomassa microbiana, diversidade e atividade enzimática, respondem rapidamente a essas mudanças e são sensíveis indicadores de qualidade dos solos (JANGID et al., 2008; FERREIRA et al., 2010; BURNS et al., 2013; EPELDE et al., 2014).

O Brasil é considerado o maior consumidor mundial de pesticidas, no entanto, os efeitos que a aplicação de pesticidas, principalmente os organofosforados, causam na microbiota do solo ainda são pouco conhecidos e relatados (IBAMA, 2017). Esse entendimento é importante na avaliação de risco do pesticida e de seu uso, trazendo a necessidade de estudos e incentivos ao desenvolvimento, oferta e consumo de pesticidas de menor periculosidade.

## **1.1 Hipóteses**

- Nos solos contaminados pelo nematicida Cadusafós a microbiota do solo é afetada, uma vez que os efeitos que o agrotóxico causa nos nematoides também prejudica os micro-organismos, pois estes irão desviar a energia do crescimento e reprodução para a manutenção celular.
- As variáveis avaliadas (RBM, CBM,  $qCO_2$ , atividade da enzima Desidrogenase, RIS,

consumo de glicose e rendimento microbiano) sofrem alterações e servem para indicar contaminação por Cadusafós.

- Após aplicação do Cadusafós no solo, a comunidade bacteriana tende a se recuperar ao longo do tempo, o que pode ser visto através da RBM, CBM e  $qCO_2$ .

## **1.2 Objetivos**

O objetivo do presente trabalho foi analisar o efeito do nematicida organofosforado Cadusafós sobre a comunidade microbiana do solo, pela avaliação de variáveis microbiológicas indicadoras de perturbações e qualidade do solo, que foram RBM, CBM,  $qCO_2$ , atividade da enzima Desidrogenase, RIS, consumo de glicose e rendimento microbiano (Y).

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Solos do Cerrado

O solo é uma ocorrência natural em que materiais orgânicos, minerais e biológicos formam uma mistura heterogênea e estruturas complexas, fornecendo um ambiente favorável para o desenvolvimento da vida (JENNY, 1992; DITTERICH, 2016). Entre as diversas funções que o solo desempenha, tem-se a de moderar a estocagem, liberação e ciclagem de nutrientes, da água e outros elementos, habitat e suporte para o crescimento de diversos organismos vivos, além de diversos serviços sociais, como fonte de alimentos, vestuário e suporte para edificações (ARTIOM, 2016). São compostos por três fases: sólida, líquida e gasosa. A parte sólida inorgânica é constituída por minerais primários e secundários, distribuídos nas frações areia, silte e argila.

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, ocupando cerca de 21% do território, e perdendo em termos de área apenas para a Amazônia. É considerado a última fronteira agrícola do planeta (BORLAUG, 2002). O clima da região é estacional, com um período chuvoso durando dos meses de outubro a março, e um período de seca de abril a setembro. A precipitação média anual varia de 750 a 2000 mm e temperaturas médias entre 22°C e 27°C (MORENO; HIGA, 2005).

Os solos do Cerrado são predominantemente Latossolos, estando presente em cerca de 46% da área total do bioma (EMBRAPA, 2006). Latossolos são solos muito antigos, ácidos, intemperizados e, portanto, pobre em nutrientes e suscetíveis à erosão (MANZATTO, 2002; KLINK; MACHADO, 2005). Também são profundos e bem drenados, e na fração argila predominam caulinitas, óxidos de ferro e alumínio (FURLEY, 1999; MANZATTO, 2002).

A baixa fertilidade dos solos não foi um empecilho para a ocupação pela agricultura moderna em grandes extensões de áreas, onde são aplicadas grandes quantidades de calcário e fertilizantes no solo para suprir a pobreza natural dos solos desse bioma (MÜLLER, 2003). Além disso, as características fisiográficas favoráveis à mecanização e irrigação, a disponibilidade de terras a baixos custos e localização geográfica privilegiada para logística, também foram fatores que colaboraram para o rápido e intenso processo de expansão agrícola do cerrado (BICKEL; DROS, 2003).

Dos aproximadamente 2 milhões de km<sup>2</sup> de Cerrado originais, mais da metade já foi convertido em áreas agrícolas. Os principais usos agrícolas do Cerrado são para pastagens e

culturas anuais, com destaque para as monoculturas de soja, cana-de-açúcar, milho, café e algodão (MACHADO et al., 2004; MARRIS et al., 2005).

Essas transformações intensivas acarretaram em danos ambientais, como a degradação de ecossistemas, fragmentação de habitats, redução da biodiversidade, invasão de espécies exóticas, erosão dos solos, poluição de aquíferos, desequilíbrio no ciclo de carbono, entre outros (KLINK & MACHADO, 2005). O Cerrado é considerado um dos líderes de biodiversidade mundiais (MYERS et al., 2000; SILVA; BATES, 2002), e é relatado que expansão agrícola e exploração de recursos naturais são as principais causas de ameaça dessa diversidade (HILTON-TAYLOR, 2004).

É inegável que a expansão agrícola moderna no Cerrado trouxe benefícios socioeconômicos para a região e para o Brasil, como ganhos na produtividade, aumento da oferta de produtos agrícolas para consumo interno e exportação, diversificação da economia local, melhorias sociais, entre outras (BONELLI, 2001). Porém, um dos principais desafios é o uso sustentável do Cerrado, demonstrando a importância que a biodiversidade desempenha no funcionamento dos ecossistemas, e para isso a necessidade de sua conservação (KLINK & MACHADO, 2005).

## **2.2 Microbiota do solo**

Os micro-organismos do solo participam de diversos processos que ocorrem nesse compartimento, como na decomposição de resíduos orgânicos e ciclagem de nutrientes (COIMBRA et al., 2009). Estão associados principalmente à rizosfera em uma relação de interdependência com a vegetação, podendo realizar interações benéficas ou prejudiciais (NANNIPIERI et al., 2003). As associações benéficas ocorrem devido à liberação de exsudatos pelas raízes das plantas e compostos orgânicos que os micro-organismos utilizam para sobreviver. Em troca, os microorganismos podem fixar nitrogênio, melhorar a absorção de água e nutrientes, produzir substâncias reguladoras de crescimento para as plantas e ainda aumentar a tolerância a contaminantes e a fitopatógenos do vegetal (JENNY, 1992).

Uma das principais contribuições da microbiota do solo é para a fertilidade natural, que é a capacidade que os solos possuem de disponibilizar nutrientes vegetais. Isto é possível pela participação em processos-chave como mineralização, imobilização, nutrição, decomposição de xenobióticos e moléculas orgânicas, tornando assim muitos elementos essenciais disponíveis para as plantas (ARTIOM, 2016; FRIEDEL et al., 2001). Além da participação nos ciclos geoquímicos, os papéis que os micro-organismos realizam resultam em efeitos primordiais nas propriedades químicas e físicas do solo (WARDLE 1992; SPARLING 1997; SEYBOLD et al.,

1999). Por outro lado, os tipos de manejo agrícola e/ou a contaminação do solo por agrotóxicos podem afetar a microbiota do solo.

### **2.3 Agrotóxicos**

A evolução da indústria agroquímica ocorreu durante a Segunda Guerra Mundial, quando inseticidas orgânicos sintéticos começaram a ser usados para proteger soldados de pragas transmissoras de doenças nas regiões tropicais (BRANCO, 2003). Mas o marco de expansão foi após este evento histórico, quando o aumento populacional pressionou os investimentos sobre a agricultura, em termos de insumos e agrotóxicos, para suprir a demanda por alimentos (BRANCO, 2003).

No Brasil, o uso de agrotóxicos se intensificou a partir da década de 1970, com o II Plano Nacional de Desenvolvimento, que condicionava uma cota de agrotóxicos para cada financiamento rural. Além disso, na mesma época acontecia a expansão agrícola dos estados do Norte do Brasil e da região do cerrado (considerado a última fronteira agrícola brasileira), impulsionando o desenvolvimento da indústria agroquímica no país (PIRES et al., 2005).

A demanda por alimentos, fibras e energia ainda é crescente e requer aumento constante da produtividade (EMBRAPA, 2014), obtido pela intensificação dos sistemas agrícolas (FOLEY, 2011). Sem o uso de produtos químicos, o aumento de pragas e doenças poderia acarretar perda significativa na produção agrícola (PASSOS E REIS, 2013). O desafio é, então, evitar a degradação dos solos e reduzir a poluição ambiental em concílio com o aumento da produção (MARTINELLI et al., 2010). Em 1989, com a Lei n. 7.802/1989 foram normatizadas exigências e procedimentos para a fabricação e uso de agrotóxicos, para minimização dos riscos e perigos ao meio ambiente, à saúde do consumidor e aos trabalhadores rurais (PELAEZ et al., 2010).

O Decreto 4.074, de 4 de janeiro de 2002, que regulamenta a Lei 7.802/1989, dispõe em seu artigo 1º, inciso IV, a definição de agrotóxico e afins:

“...são produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos

empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento” (BRASIL, 1989).

Defensivos químicos, pesticidas, praguicidas, remédios de planta e venenos, são algumas das inúmeras denominações relacionadas ao termo agrotóxico. (FUNDACENTRO, 1998). Os pesticidas podem ser classificados quanto a sua finalidade, como:

- Inseticidas (controle de insetos),
- herbicidas (controle de plantas invasoras),
- fungicidas (controle de fungos),
- fumigantes (controle de bactérias do solo),
- raticidas (controle de roedores),
- nematicidas (controle de nematoides),
- acaricidas (controle de ácaros), e
- desfolhantes (controle de folhas indesejadas).

Também podem ser classificados quanto ao modo de ação, como, por exemplo, por ingestão e contato, e também quanto à origem em compostos inorgânicos, orgânicos, de origem vegetal, bacteriana ou fúngica (CAVALHEIROS, 1993).

O Potencial de Periculosidade Ambiental (PPA) para os agrotóxicos foi normatizado no Brasil em 1996 pelo Ministério do Meio Ambiente, definindo classes que se baseiam em características intrínsecas do produto, seu comportamento e destino no ambiente, e nos efeitos sobre organismos não-alvo:

- “ Classe I – Produto altamente perigoso;
- Classe II - Produto muito perigoso;
- Classe III – Produto perigoso;
- Classe IV – Produto pouco perigoso” (BRASIL, 1996).

Em relação ao poder de toxicidade, a Lei 7.802/89 classifica os agrotóxicos em:

- “Classe I – extremamente tóxicos;
- Classe II – altamente tóxicos;
- Classe III – mediamente tóxicos;
- Classe IV – pouco ou muito pouco tóxicos (BRASIL, 1989).”

Por determinação legal, todos os agrotóxicos devem conter uma faixa em seu rótulo com a cor indicativa de sua classe toxicológica (TABELA 1). Ainda se pode fazer uma classificação

quanto ao efeito na saúde, decorrente da exposição humana aos agentes e estabelecidas doses letais (DL) em 50% dos animais utilizados em determinada concentração.

**Tabela 1.** Classificação dos agrotóxicos quanto aos efeitos à saúde de organismos vivos, segundo a OPAS/OMS (1996).

<b>Classe toxicológica</b>	<b>Toxicidade</b>	<b>DL<sub>50</sub></b>	<b>Cor da faixa</b>
I	Extremamente Tóxico	$\leq 5 \text{ mg.Kg}^{-1}$	Vermelha
II	Altamente Tóxico	Entre 5 e 50 $\text{mg.Kg}^{-1}$	Amarela
III	Mediamente Tóxico	Entre 50 e 500 $\text{mg.Kg}^{-1}$	Azul
IV	Pouco tóxico	Entre 500 e 5000 $\text{mg.Kg}^{-1}$	Verde

O registro e comercialização de agrotóxicos no Brasil é feito mediante avaliação de três órgãos federais de acordo com sua competência: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que avalia a eficiência e o potencial de uso na agricultura; Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), ao qual compete a avaliação do potencial poluidor; e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que visa a segurança para a saúde da população (Decreto 4.074/2002).

As empresas detentoras de registros de produtos agrotóxicos apresentam relatórios semestrais de comercialização destes produtos para o órgão federal responsável (IBAMA), por obrigatoriedade do artigo 41 do Decreto 4.074/2002. O último relatório, atualizado no ano de 2017, mostra uma quantidade de 551.313,25 toneladas vendidos nesse ano, correspondentes a 325 ingredientes ativos, o que coloca o Brasil como maior consumidor desde o ano de 2008. Além disso, os relatórios apontam para uma tendência do crescimento do consumo de agrotóxicos da classe II nos últimos anos, frente as demais classes (IBAMA, 2017).

As áreas contaminadas por agrotóxicos no Brasil vêm causando problemas crescentes para o ambiente, sendo a agricultura uma das atividades contaminadoras. Os impactos da contaminação podem ser sentidos de forma direta, indireta, local, regional, imediato, temporário

e/ou permanente (SPADOTTO, 2004). O cenário de uso desses produtos no país vem trazendo a necessidade de estudos e incentivos ao desenvolvimento, oferta e consumo de agrotóxicos de menor periculosidade ao meio ambiente (IBAMA, 2017).

### **2.3.1 Nematicidas organofosforados**

Há diversos patógenos que comprometem o desenvolvimento e a produtividade das culturas agrícolas, entre eles, os nematoides fitoparasitas. Os nematoides prejudicam as plantas pela ação nociva sobre o sistema radicular que, por sua vez, afeta a absorção e a translocação de nutrientes e água, alterando a fisiologia da planta (NAWAZ et al., 2016). Esses organismos também podem predispor a planta a doenças e a estresses ambientais ou atuarem como transmissores de outros patógenos (FILETI et al., 2011).

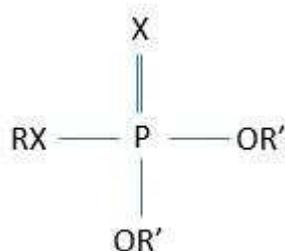
Os sintomas de infestação desses parasitas no campo são percebidos pelas mudanças morfológicas nas plantas, como o amarelecimento e desfolhamento da parte aérea, consequência do déficit nutricional ocasionado, e culminando com sua morte súbita (NAWAZ et al., 2016). Nos casos em que os nematoides não causam a mortalidade dos hospedeiros, há reflexos negativos na produção e comercialização das culturas, pois estas perdem o vigor, e os frutos não atingem o tamanho e aparência padrão (MOREIRA et al., 2001). As perdas por nematoides são contabilizados em até 12% de toda a produção agrícola mundial, ocasionando um prejuízo em termos monetários de cerca de 157 bilhões de dólares anualmente (SINGH et al., 2013).

As formas de controle desses parasitas no campo envolvem a rotação de cultura com culturas não hospedeiras de nematoide, utilização de cultura resistente quando disponível, controle biológico, pousio, método de alqueive que mantém o solo sem a presença de plantas invasoras que possam hospedar os nematoides, dentre outras, como o controle químico, realizado por nematicidas (MAPA, 2013; MAPA, 2014; RITZINGER; FANCELLI, 2006). O manejo integrado dessas formas de controle é importante para diminuir os custos, não agredir o meio ambiente e aumentar a produção (RITZINGER; FANCELLI, 2006).

Os nematicidas podem ser classificados de forma geral como fumigantes e não fumigantes. A maioria dos nematicidas são não fumigantes (organofosforados e carbamatos). Os organofosforados, em especial, têm sido amplamente utilizados em todo o mundo nas últimas décadas devido à proibição do uso de inseticidas organoclorados em muitos países (DUNGAN et al., 2003).

Os organofosforados são ésteres de amido ou tiol derivados do ácido fosfórico, tiofosfórico ou ditiofosfórico (SAVOY, 2011). São caracterizados por conter átomos de carbono e fósforo em sua estrutura química (FIGURA 1).

**FIGURA 1.** Estrutura química de inseticidas organofosforados. (X= molécula de oxigênio ou enxofre; R' = CH<sub>3</sub> ou CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).



A ação desses produtos é principalmente pela inibição da enzima colinesterase, por processo de fosforilação, no sistema nervoso central do inseto (COUTINHO et al., 2005). A inativação da colinesterase gera um acúmulo de acetilcolina, que é um neurotransmissor químico, nas sinapses, com conseqüente bloqueio de transmissão de novos impulsos nervosos. Essa ação ocasiona diversos danos aos organismos atingidos (MARONI et al., 2000).

Quando inalados, esta classe de inseticida causa diversos danos à saúde, como dificuldade respiratória, crises asmáticas, problemas de pele, náuseas, dores abdominais e de cabeça, entre outros, porém os piores efeitos são sentidos no sistema nervoso central, devido à inativação da enzima colinesterase, podendo causar problemas de coordenação motora, psicoses, paralisia das extremidades e dos músculos, convulsões e até levar ao coma (KAMRIN, 1997).

### 2.3.2 Cadusafós

O Cadusafós (S-di-sec-butil O-etil fosforoditioato) é um nematicida organofosforado, amplamente utilizado contra insetos e nematoides do solo em diversas culturas (LAMBERTI et al., 1998; GIANNAKOU et al., 2005; KARPOUZAS E SINGH, 2006). No Brasil é indicado para controle nas culturas de soja, algodão, café, batata e cana-de-açúcar, existindo três produtos formulados com esse ingrediente ativo registrados para comercialização (AGROFIT, 2018). O Cadusafós é classificado, pelos órgãos responsáveis, como altamente tóxico e se encontra na Classe II - Muito perigoso para o meio ambiente, constando em sua bula ser

altamente móvel, podendo atingir principalmente águas subterrâneas (ABO-AMER, 2012). O Cadusafós não se encontra entre os 80 princípios ativos mais usados no Brasil, e por isso não há dados de seu consumo atual no país (AGROFIT, 2018). Algumas propriedades gerais desse produto estão descritas na Tabela 2.

**Tabela 2** – Propriedades gerais do Cadusafós.

Propriedades	Cadusafós
Fórmula molecular	C <sub>10</sub> H <sub>23</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>2</sub>
Solubilidade em água (mg.L <sup>-1</sup> em 25°C)	245
K <sub>ow</sub> <sup>1</sup>	70800
K <sub>oc</sub> (para solos) <sup>2</sup>	227
Persistência em solos (PS <sub>50</sub> ) em dias	38

**Fonte:** Kookana et al., 2014. <sup>1</sup>K<sub>ow</sub>=coeficiente de partição n-octanol-água; <sup>2</sup>K<sub>oc</sub>=constante de ionização.

Mesmo o Cadusafós sendo amplamente utilizado em práticas agrícolas durante vários anos, ainda é defasada a avaliação de seus efeitos sobre o solo, principalmente sobre a sua degradação por micro-organismos. Os poucos resultados relatados são contrastantes quanto à biodegradação do composto: os autores Abo-Amer (2012), Kookana et al. (2014), Karpouzas e Singh (2006), Dimitrios et al. (2005) e Karpouzas et al. (2004) discorrem sobre a degradação acelerada da molécula de Cadusafós pela microbiota do solo, que o utiliza como fonte de carbono e energia. Já OliveiraVelona et al. (2008), reporta a baixa taxa de mineralização do Cadusafós, com apenas 10% do composto liberado na forma de C-CO<sub>2</sub> ao final dos 32 dias de incubação realizados. Além disso, também já foi inferido que em contato com o Cadusafós, algumas populações de micro-organismos crescem à custa da degradação do composto, enquanto, por competição, outras diminuem, modificando a estrutura da comunidade local (DIMITRIOS et al., 2005).

## 2.4 Destino e transformações dos pesticidas no ambiente

Quando um pesticida é aplicado, na maioria dos casos alcança o alvo e pode seguir diferentes destinos. Se a molécula de pesticida for absorvida pela planta ou pelos organismos alvos, sua função será cumprida, porém esses compostos também podem sofrer processos de

retenção, transformação e/ou transporte para outros compartimentos ambientais (PRATA, 2000).

A persistência ou o destino que as moléculas de pesticida tomam no ambiente, depende de suas propriedades físico-químicas, da quantidade e frequência de aplicação e características bióticas e abióticas do ambiente (KLINGMAN et al., 1982). Em virtude do tipo e número de átomos e da estrutura da molécula de pesticida, cada um possui propriedades físico-químicas diferenciadas, que irão definir, juntamente com as propriedades do solo, seu comportamento ambiental (NUNES; VIDAL, 2009; PRATA, 2002). Algumas dessas propriedades dos pesticidas podem ser determinadas por métodos conhecidos em laboratório, e são: solubilidade em água ( $S_w$ ), coeficiente de partição n-octanol-água ( $K_{ow}$ ), pressão de vapor (P), meia vida ( $T_{1/2}$ ), constante de ionização ácido (pKa) ou base (pK<sub>b</sub>).

No solo, o comportamento do pesticida depende fortemente dos fenômenos de sorção/dessorção, que determinam a persistência deste no solo (SILVA, 2012). A sorção compreende os processos de retenção da molécula, podendo ser através de adsorção, absorção ou partição hidrofóbica por constituintes da parte sólida do solo. Esse processo impede a molécula de se mover, podendo também impedir a manifestação de sua ação (SILVA, 2012). As moléculas sorvidas podem retornar à solução do solo, sendo o processo conhecido por dessorção, e acontece no equilíbrio com a concentração de molécula adsorvida e em solução do solo (GEBLER; SPADOTTO, 2008). Além disso, é preciso levar em consideração a energia de ligação entre pesticidas e os colóides do solo. Dependendo do mecanismo de ligação (químico, físico ou interações hidrofóbicas), os pesticidas podem ser sorvidos em diferentes intensidades no solo, tornando a molécula mais ou menos biodisponível (SILVA, 2012).

O conhecimento desses processos físico-químicos é importante para prever a mobilidade e biodisponibilidade dos pesticidas nos solos, sendo possível tomar medidas para limitar seu impacto em ecossistemas não visados (OLVERA-VELONA et al., 2008).

A molécula de pesticida também pode sofrer processos de transformação em outras moléculas, conhecidas como produtos de transformação ou metabólitos (PRESOTI, 2008). Os processos abióticos de transformação dos pesticidas se dão pela ação de componentes físicos e químicos do ambiente e pela extensão da solubilidade em água da molécula, por processos como a fotólise, hidrólise e oxidação (LAVORENTI et al., 2003). Porém, na maioria dos casos, as moléculas de pesticidas são transformadas por processos bióticos, pela ação do metabolismo dos micro-organismos do solo. O produto final dessas transformações é a mineralização em CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O e íons minerais. Este processo também é conhecido pelo termo biodegradação

(MONTEIRO, 1997). Os processos microbianos envolvidos na biodegradação podem ser divididos em:

*Catabolismo*: a molécula de pesticida serve como fonte de energia e/ou nutrientes para o crescimento e desenvolvimento da microbiota.

*Cometabolismo*: o pesticida não serve como fonte primária de energia e/ou nutrientes para os micro-organismos, porém atuam na transformação das moléculas principalmente quando há a adição de matéria orgânica no solo. Geralmente a transformação não é completa (PRATA et al., 2000; PRATA et al., 2001).

*Polimerização ou Conjugação*: a molécula de pesticida se junta a outra molécula de pesticida ou com compostos naturais do solo, originando uma molécula mais polar e, portanto, mais hidrolisável (ROBERTS et al., 1998).

*Acúmulo*: há apenas a incorporação da molécula de pesticida ao microrganismo, sem transformações. É uma forma temporária de retirada do pesticida (MONTEIRO, 1997).

No estudo de comportamento de pesticidas no solo, a dissipação e persistência são termos recorrentemente utilizados. A dissipação se refere à fração do pesticida que é mineralizada ou permanece no solo em formas diferentes do original (PRATA, 2002). Ou seja, a dissipação envolve todos os processos já citados: mineralização, metabolização, formação de resíduo, absorção e transporte.

O tempo para que 50% do total de pesticida aplicado seja dissipado no solo, é chamado de Índice de meia vida ( $T_{1/2}$ ), e representa o destino dos pesticidas na maioria das situações. Tempos de permanência acima do necessário para que o pesticida realize sua função, são uma das principais formas de impactos sobre o solo e sua microbiota (RIBEIRO; VIEIRA, 2010). Já a persistência é quando não há a dissipação, ou seja, os processos que modificam a estrutura química do pesticida não atuam. Uma alta persistência do pesticida no solo ocasiona um efeito negativo sobre a população microbiana e a atividade enzimática, causando uma perturbação ecológica com o tempo (MIN et al., 2001).

Caso o pesticida não tenha passado por nenhum processo de retenção ou transformação, pode ocorrer então sua lixiviação (movimentação vertical no perfil do solo), volatilização ou escoamento superficial (ENFIELD; YATES, 1990). O transporte de pesticidas é preocupante do ponto de vista de poluição e contaminação ambiental, porque podem atingir outros compartimentos, como águas subterrâneas e superficiais, onde o transporte dessas substâncias é facilitado, e provoca bioacumulação e alterações na fauna e flora por longas distâncias

(ALVES; OLIVEIRA-SILVA, 2003). Além disso, a contaminação do sistema hidrológico causa efeitos sobre a saúde humana, visto que sua utilização é indispensável em diversas atividades, como, por exemplo, para abastecimento doméstico e industrial, atividades de lazer (RIBEIRO; VIERIA, 2010).

Segundo Ribeiro e Vieira (2010), cerca de um terço das substâncias orgânicas produzidas por atividades antrópicas, acabam parando no ambiente como destino final. Segundo os autores, grande parte dos agrotóxicos possui ação bioquímica em organismos nãoalvo também, portanto as informações toxicológicas e de transporte devem ser levadas em consideração para evitar impactos indesejados (RIBEIRO; VIEIRA, 2010). No solo, a preocupação é referente ao efeito desses compostos em processos biológicos responsáveis pela fertilidade natural dos solos (RIBAS; MATSUMURA, 2009).

#### **2.4.1 Impactos de pesticidas sobre a microbiota do solo**

Os efeitos e magnitude dos impactos ambientais causados pelos pesticidas no solo dependem dos processos de retenção, transferência, transformação e transporte que ocorrem entre cada componente do sistema (RIBEIRO; VIEIRA, 2010).

O conhecimento sobre a influência de pesticidas na comunidade microbiana do solo ainda é pouco relatado, porém fundamental na avaliação de risco dos pesticidas (LO, 2010). Estes compostos podem provocar desde a morte de micro-organismos do solo até alterar as taxas de crescimento e processos metabólicos da comunidade (EDWARDS, 1978).

Os diferentes tipos de solo podem apresentar resultados diferentes nas respostas microbianas para aplicações de um mesmo pesticida (SCHUSTER; SCHRÖDER, 1990). O pesticida organofosforado Clorpirifós foi estudado por diversos autores em diferentes tipos de solo. Para Sarnaik et al. (2006), as respostas encontradas mostraram que o composto não alterou o número de micro-organismos viáveis, ao contrário de Martinez-Toledo et al. (1992) e Menon et al., (2005), que relataram significativa diminuição das populações microbianas analisadas. Em outro caso, foi constatado que o Clorpirifós causou modificação morfológica nas células microbianas do solo, causando altas taxas de células pleomórficas (MADHAIYAN et al, 2006).

Segundo Sato (1983), os pesticidas organofosforados afetam algumas reações bioquímicas importantes para a nutrição das plantas e fertilidade natural dos solos, como a mineralização do nitrogênio.

Também há relatos sobre a metabolização de pesticidas organofosforados pela microbiota do solo. As moléculas de pesticida podem ser utilizadas como fonte de carbono e

energia, e até serem substratos para as reações de co-metabolismo (FOURNIER et al., 1997). Torres et al. (2009) estudaram o organofosforado Paration-metílico e verificaram a biodegradação do composto logo nos primeiros dias. A biodegradação de Cadusafós também é relatada como acelerada em alguns estudos realizados internacionalmente (KARPOUZAS et al., 2004; DIMITRIOS et al., 2005).

## **2.5 Microbiota do solo como indicadora de contaminação**

Além de participar de processos chave para o funcionamento dos ecossistemas, a microbiota do solo é sensível a mudanças de condições ambientais (LARCHEVÊQUE et al., 2006; CHU et al., 2007). Alguns atributos da comunidade microbiana, como taxa de respiração e biomassa microbiana, diversidade de micro-organismos e atividade enzimática, respondem rapidamente à essas mudanças e são sensíveis indicadores de qualidade dos solos (JANGID et al., 2008; FERREIRA et al., 2010; BURNS et al., 2013; EPELDE et al., 2014). A qualidade do solo é, por definição, a capacidade do solo de sustentar a produtividade biológica, manter a saúde vegetal, animal e humana, e promover a qualidade do ar e da água, funcionando, portanto, como um sistema vital (DORAN; PARKIN, 1994; SPARLING, 1997; SEYBOLD et al., 1999).

Um bioindicador é uma medida final que avalia a saúde de um ecossistema, por meio de da biota ou componente biótico (ROSENBERG; RESH, 1993). Esses indicadores, quando avaliados para efeitos decorrentes do uso agrícola, podem servir para orientar o planejamento e avaliar as práticas de manejo utilizadas, contribuindo assim para a sustentabilidade agrícola (SHERWOOD; UPHOFF, 2000; TÓTH et al., 2007).

Um atributo é considerado bom indicador biológico quando: são exatos e precisos para obtenção de respostas em uma grande e variada escala de tipos e condições de solo; devem ser sensíveis a estresse, mas robustos o suficiente para não fornecer alarmes falsos; devem ser fáceis e econômicos de serem avaliados, devido ao grande volume de amostras analisadas; devem ter validação científica (VISSER; PARKINSON, 1992; BROOKES, 1995). Os indicadores individualmente, não fornecem uma descrição e quantificação de todos os aspectos da qualidade do solo, devendo ser utilizados dois ou mais atributos relacionados, para uma avaliação mais precisa (BROOKES, 1995; STENBERG, 1999).

### **2.5.1 Atributos microbiológicos indicadores de qualidade do solo**

Um dos indicadores microbiológicos mais utilizados é o carbono da biomassa microbiana (CBM). Por definição, é a parte viva da matéria orgânica do solo, formada por bactérias, fungos, protozoários e algas, excluindo raízes e animais maiores que  $5 \times 10^{-15} \text{ m}^2$ , sendo promotor das transformações bioquímicas do solo (JENKINSON; LADD, 1981; WARDLE, 1994; SPARLING, 1997). O CBM pode representar de 1 a 5% do carbono orgânico total do solo, em solos tropicais e subtropicais isso representa cerca de  $2500 \text{ Kg.ha}^{-1}$  (NOGUEIRA; HUNGRIA, 2013). O CBM varia de acordo com o aumento dos níveis de perturbação como uma constante, o que suporta à adoção deste indicador como parâmetro da qualidade do solo (WARDLE 1998; HUNGRIA et al., 2009). Entretanto, se faz necessário também parâmetros que indiquem o estado metabólico dos micro-organismos do solo (BOWLES et al., 2014).

Os métodos de determinação do CBM podem ser diretos, como a microscopia e indiretos como a fumigação-extração, fumigação-incubação e a respiração induzida por substratos (ANDERSON; DOMSCH, 1978).

A respiração basal microbiana (RBM) pode ser usada como medida de atividade microbiana do solo tanto em ambientes agrícolas como naturais, e está fortemente relacionada ao conteúdo de matéria orgânica do solo e o CBM, sendo definido como a soma de todas as funções metabólicas nas quais se produz  $\text{CO}_2$ , pela oxidação biológica da matéria orgânica (ALEF, 1995; NOGUEIRA; HUNGRIA, 2013). A RBM é fundamental no ciclo do carbono nos ecossistemas terrestres (ALEF, 1995).

Os organismos aeróbios são os responsáveis pela liberação de  $\text{CO}_2$ , sendo os fungos e bactérias os principais responsáveis. As condições abióticas do solo como umidade, temperatura e aeração, além da disponibilidade de substrato no solo, afetam a RBM (CATTELAN; VIDOR, 1990). A disponibilidade de carbono no solo, por exemplo, contribui para o aumento da RBM.

Outro parâmetro que permite verificar o estado metabólico dos micro-organismos do solo, é o quociente metabólico ( $q\text{CO}_2$ ), derivado da relação entre a RBM e CBM (ANDERSON & DOMSCH, 1993). Segundo Saviozzi et al. (2002), este atributo indica a eficiência da comunidade microbiana na utilização de carbono disponível para crescimento. Neste caso, valores maiores representam menor eficiência metabólica, já que a comunidade precisa desviar energia do crescimento e reprodução para manutenção celular, sendo indicativo de uma condição de estresse para os organismos (ODUM, 1985). Esse valor elevado de  $q\text{CO}_2$  pode estar representando a mineralização de formas estáveis de C do solo, emitindo maiores taxas de

carbono na forma de CO<sub>2</sub> para a atmosfera, e conseqüentemente, o sistema está contribuindo para o aquecimento global (NOGUEIRA; HUNGRIA, 2013).

A diversidade metabólica é outra importante ferramenta na análise da qualidade dos solos. A capacidade de uso de diferentes fontes de carbono pode indicar se houve modificação no padrão de consumo destes substratos e, portanto, alteração no metabolismo da microbiota. Está intimamente ligada a CBM, pois as transformações de compostos orgânicos ocorrem por intermédio de micro-organismos do solo (AJWA et al., 1999).

As enzimas também são bons indicadores do desempenho de funções do solo. Elas são biomoléculas que catalisam reações termodinâmicas, e são principalmente de natureza protéica (MELO et al., 2008). As enzimas existentes no solo são introduzidas pelos micro-organismos, raízes e fauna, dentre as quais estão os grupos de óxido-redutases, hidrolases e transferases (RESENDE et al., 2002). As enzimas externas, que são excretadas ou ficam ligadas à membrana externa dos micro-organismos, são responsáveis por hidrolisar moléculas de alto peso molecular, como amido, celulose e proteínas. As moléculas menores, oriundas dessa hidrólise, são absorvidas e enzimas internas são sintetizadas para a continuidade do processo metabólico (MELO et al., 2008).

Alterações e fatores de estresse no solo, afetam a síntese de enzimas e a atividade enzimática já existente através de alteração na configuração dos sítios ativos, por meio das ligações químicas com as moléculas de xenobióticos introduzidas (PEIXOTO, 2010). A determinação da atividade de várias enzimas no solo é uma maneira de se medir a atividade microbiana, indicando mudanças ocorridas na microbiota do solo, sem, entretanto, relacioná-las a algum grupo específico de organismo. Alguns estudos relatam a influência dos fatores edáficos e climáticos na atividade enzimática do solo (JHA et al., 1992; JENSEN et al., 1997; MAMILOV; DILLY, 2002).

A estrutura da comunidade microbiana também é outro importante indicador de qualidade do solo. A diversidade de espécies é essencial para manter a estrutura da comunidade do solo, pois contribui para a regulação de sobreposições de espécies. Essa regulação promove efeitos sobre a manutenção dos ciclos biogeoquímicos do solo e de todas as funções que a microbiota realiza no solo, além de maior resiliência após um distúrbio.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Coleta, preparação e identificação dos solos

Para os ensaios, dois solos sem histórico de uso do Cadusafós e representativos da região do Cerrado do Triângulo Mineiro provenientes do município de Uberlândia-MG, foram coletados na profundidade de 10 cm: Latossolo vermelho distrófico típico (LVd), de textura argilosa, sob pastagem de *Urochloa* sp., localizado nas coordenadas (18°57'35.88" S 48°12'13.18" O), e Latossolo vermelho distrófico típico, de textura franco arenosa, sob *Urochloa* sp. na entrelinha de eucaliptos em integração pecuária-floresta (18°50'22.96" S 48°15'20.57" O). A partir deste ponto, o LVd textura argilosa será chamado de solo argiloso e o LVd textura franco arenosa de solo arenoso. As amostras foram homogeneizadas, para formar uma amostra composta, e peneiradas em malha de 2 mm. Subamostras de 100 gramas foram secas em estufa a 100° C por 24 horas, para análises físicas e químicas. As características físico químicas dos solos arenosos e argilosos estão expressos na TABELA 3.

**Tabela 3.** Características físico-química dos Latossolos Vermelhos Distróficos coletados em Uberlândia para os ensaios.

Caracterização	Solo Argiloso	Solo Arenoso
pH H <sub>2</sub> O	5,8	4,9
Carbono (dag. Kg <sup>-1</sup> )	1,9	1,0
K <sup>+</sup> (cmolc.dm <sup>-3</sup> )	0,37	0,05
Ca <sup>+</sup> (cmolc.dm <sup>-3</sup> )	2,6	0,5
Mg <sup>2+</sup> (cmolc.dm <sup>-3</sup> )	0,8	0,2
Al <sup>3+</sup> (cmolc.dm <sup>-3</sup> )	0,0	0,4
H+Al	3,10	3,40
CTC	6,87	4,15
SB	3,77	0,75
V%	54,9	18,1
M	0,0	34,8
Areia (g.Kg <sup>-1</sup> )	425	788
Argila (g.Kg <sup>-1</sup> )	450	175
Silte (g.Kg <sup>-1</sup> )	125	37
Classe textural	Argila	Franco-arenoso

Métodos de determinação segundo Embrapa (2011). CTC – capacidade de troca catiônica potencial (K+Ca+Mg+H+Al); SB – soma de bases [K + Ca + Mg + (Na)]; V% - saturação da CTC por bases [(SB x 100) / T]; m – saturação da CTC efetiva por Al [(100 x Al<sup>3</sup>) / T].

O restante das amostras foi colocado em sacos plásticos fechados, mantidos sob refrigeração a uma temperatura de 4° C até a realização das análises biológicas.

O teor de umidade do solo foi obtido pelo método gravimétrico (TABELA 3), onde pesou-se amostras de 10 g de solo fresco que foram secas em estufa por 24 horas a 105° C, em triplicata (EMBRAPA, 2011).

A capacidade de Retenção de Água (CRA) também foi realizada por método gravimétrico, em triplicata (TABELA 3). Para isso, 10 gramas de cada solo foram dispostos em papel de filtro sobre um béquer e umedecidos com água destilada até o ponto de saturação. As amostras foram deixadas dentro de um frasco hermeticamente fechado, à temperatura ambiente por 24 horas, para drenagem da água. Então, 10 gramas de cada amostra úmida foram pesadas e colocadas em estufa a 105° C por 24 horas. Após esse período, o solo foi novamente pesado e o percentual de CRA calculado pela fórmula:

$$CRA\% = \frac{(Msat - Ms) \times 100}{Ms}$$

Onde, CRA%= porcentagem de Capacidade de Retenção de água do solo; Msat= massa do solo saturado com água; Ms= massa seca do solo.

Para ajustar a melhor correção de umidade para os ensaios posteriores, foram testados três percentuais de umidade por meio de três percentuais de CRA (40%, 50% e 60%). O teste foi realizado com 100 gramas de solo e em recipientes de vidro, ajustando-se a umidade com água destilada. Após decorrida algumas horas a consistência e pegajosidade dos solos foram analisadas nas três umidades, e selecionada a umidade que atingiu 50% da CRA.

**Tabela 3.** Umidade relativa e Capacidade de retenção de água do solo arenoso e argiloso.

Solo	U (%)	CRA (%)
Argiloso	10,34	55,87
Arenoso	1,92	33,42

U% - Umidade relativa do solo, de acordo com (EMBRAPA, 2011);<sup>2</sup> CRA% -Capacidade de Retenção de Água  $= \frac{(Msat - Ms) \times 100}{Ms}$  Onde, Msat=massa do solo saturado com água; Ms=massa seca do solo.

### 3.2 Nematicida Cadusafós

O Nematicida utilizado foi o Rugby 200 CS da FMC CORPORATION – Agricultural Products Group, possuindo em sua formulação comercial 20% (20g.L<sup>-1</sup>) do ingrediente ativo Cadusafós (S, S-di-sec-butyl O-ethyl phosphorodithioate). Foi utilizado como parâmetro para os tratamentos a dose recomendada em bula para a cultura da soja (4,0 L p.c./hectare, correspondente a 800 g i.a./hectare). Então, considerou-se uma profundidade de 10 cm de solo e uma densidade de 1g/cm<sup>3</sup>, sendo a dose de aplicação de 0,4 mg i.a./Kg de solo.

O produto foi diluído em água até as umidades desejadas, e a aplicação nas amostras de solo foi realizada em superfície, com o auxílio de micro-pipetas.

### 3.3 Resposta da respiração e biomassa microbiana do solo à doses de Cadusafós

#### 3.3.1 Respiração basal microbiana (RBM)

A respiração microbiana foi determinada por medição do CO<sub>2</sub> liberado, segundo Stotzky (1965), com modificações. Em recipientes de vidro de 300 ml foram distribuídos 100 gramas de solo, e incubados em temperatura ambiente no escuro por 7 dias, para fins de aclimação homogênea dos micro-organismos do solo. Então, os solos receberam glicose (1,6 g de solo seco C.kg<sup>-1</sup> de solo seco), fosfato de sódio heptahidratado (400 mg de P.Kg<sup>-1</sup> de solo seco), e nitrato de amônio (200 mg de N.Kg<sup>-1</sup> de solo seco) (FERREIRA et al., 2008). Os tratamentos com Cadusafós foram: 0,2, 0,4, 0,8 e 1,6 mg de i.a. Kg<sup>-1</sup> de solo (TABELA 4). Frascos com solos contendo apenas os nutrientes, sem aplicação do Cadusafós serviram como testemunha. A umidade foi corrigida para 50% da CRA e o ensaio realizado em 4 repetições.

**TABELA 4.** Distribuição dos tratamentos por dose do ingrediente ativo Cadusafós.

Nome	Tratamento (Cadusafós; mg.Kg <sup>-1</sup> solo)
T1	0
T2	0,2
T3	0,4
T4	0,8
T5	1,6

Em cada frasco de vidro, foi colocado um copo de plástico com 10 ml de NaOH (1 mol L<sup>-1</sup>) e vedados para incubação no escuro à temperatura ambiente por um período de 21 dias, sendo a quantificação de C-CO<sub>2</sub> liberado realizada aos 1, 3, 7, 14 e 21 dias após o início do

procedimento. Após cada período de incubação, o C-CO<sub>2</sub> capturado foi determinado por titulação do NaOH residual com ácido clorídrico (0,5 mol.L<sup>-1</sup>), depois da adição de 5 mL de BaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O (1 mol.L<sup>-1</sup>) e 3 a 4 gotas de indicador fenolftaleína (1%). O CO<sub>2</sub> produzido foi expresso em µg de C-CO<sub>2</sub>.kg<sup>-1</sup> de solo seco, calculado pela fórmula:

$$RBM = \frac{[(B-A) \times Mc \times MHCl]}{Ms \times 2}$$

Onde RBM = Respiração Basal Microbiana, expressa em quantidade de C liberada pelos micro-organismos em µg C-CO<sub>2</sub>.g<sup>-1</sup> de solo seco; B= volume de HCl necessário para titular a amostra branco; A= volume de HCl necessário para titular a amostra; Mc = massa atômica do C (12); MHCl= molaridade da solução de HCl (0,5 mol.L<sup>-1</sup>); MS= massa seca do solo (em gramas); 2 = proporcionalidade de massa na reação entre o C liberado, na forma de CO<sub>2</sub>, e o consumo de NaOH (STOTZKY, 1965).

### 3.3.2 Carbono da Biomassa Microbiana (CBM)

O CBM foi determinado pelo método de fumigação-extração conforme descrito por Vance et al. (1987), com modificações. Após os 21 dias de incubação do ensaio anterior, cada amostra foi dividida em duas subamostras de 10 gramas, uma amostra sendo fumigada com clorofórmio P.A. em dessecador acoplado a uma bomba de vácuo, e outra sem o procedimento de fumigação (controle). As subamostras foram mantidas no escuro por 24 horas, quando foi feita a extração do carbono com 50 ml de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,5 mol L<sup>-1</sup>) submetidas a agitação de 200 rpm por 30 minutos. As alíquotas passaram por decantação e a suspensão foi filtrada em papel filtro faixa azul (Ø=11µm).

A determinação da fração de carbono orgânico do extrato foi feita pelo método de oxidação com dicromato de potássio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>), segundo Vance et al., 1987. Para isto, uma quantidade de 8 mL de extrato foi misturada a 2 mL de dicromato de potássio 0,0667M e 15 mL de uma mistura de ácido sulfúrico concentrado (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e ácido fosfórico concentrado (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) na proporção de 2:1, e levados para bloco digestor por 30 minutos a 100°C. Depois de esfriar, a solução teve seu volume completado com água destilada para 50 mL, e foi transferido para frasco de erlenmeyer de 125 mL para determinação do dicromato residual.

O dicromato residual foi medido por meio de titulação com solução de sulfato ferroso amoniacal 0,0333M [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>Fe(SO<sub>4</sub>).6H<sub>2</sub>O] em ácido sulfúrico 0,4M e indicador ferroína

composto por O-fenantrolina (0,075 mol/L) e sulfato ferroso (0,041 mol/L). A quantidade de CBM foi calculada pela diferença entre o carbono orgânico extraído de amostra de solo fumigadas pela respectiva amostra não fumigada, utilizando o fator de correção (Kc) igual a 0,33, preconizado por Sparling e West (1988).

### **3.3.3 Quociente Metabólico do solo (qCO<sub>2</sub>)**

O quociente metabólico foi realizado calculando-se a razão entre o C-CO<sub>2</sub> acumulado da respiração basal do solo e o C da biomassa microbiana ( $qCO_2 = [RBS/(C-BMS \times 10^{-3})]$ ). Portanto o qCO<sub>2</sub> representa a quantidade de CO<sub>2</sub> que é liberada por unidade de biomassa microbiana em determinado tempo. Tem sido utilizado para estimar a eficiência do uso de substrato pelos micro-organismos (ANDERSON; DOMSCH, 1993).

### **3.4 Resposta induzida da comunidade microbiana pela adição de glicose**

O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito do Cadusafós, na dosagem recomendada para aplicação em campo, na biomineralização de um substrato facilmente assimilável (glicose).

Foi realizado um teste prévio para verificar qual o melhor tempo para determinação do teor de glicose remanescente no solo. Para tal, porções de 100 gramas de solo foram colocadas em frascos de vidro de 300 mL com tampa de vedação hermética, e incubados os tratamentos GNP e GNPC, em 4 blocos com 4 repetições cada, nos tempos de 12, 24, 48, 72 horas. Foram realizados os procedimentos descritos em “Teor de glicose”, em blocos incubado por tempo descrito.

A resposta induzida da atividade microbiana foi realizada com 100 gramas de solo distribuídos em frascos de vidro com tampas herméticas, que receberam tratamentos controle, adição de nitrogênio, fósforo e Cadusafós (TABELA 5).

As doses aplicadas de cada nutriente foram: glicose (1,6 g de solo seco C.kg<sup>-1</sup> de solo seco), fosfato de sódio heptahidratado (400 mg de P.Kg<sup>-1</sup> de solo seco), e nitrato de amônio (200 mg de N.Kg<sup>-1</sup> de solo seco). O nematicida Cadusafós foi utilizado na proporção de 0,4 mg i.a. Kg<sup>-1</sup> de solo seco. Os nutrientes foram diluídos em solução salina (NaCl 0,5%) e a correção de umidade dos solos foi realizada com alíquotas dessas soluções para 50% da CRA de cada solo. O experimento foi realizado com 4 repetições por tratamento.

**TABELA 5.** Distribuição dos tratamentos de Resposta induzida da comunidade microbiana à adição de glicose.

Nome	Tratamento
Controle 1	Adição de NaCl 0,5%
NP	Nitrogênio + Fósforo
NPC	Nitrogênio + Fósforo + Cadusafós
GNP	Glicose + Nitrogênio + Fósforo
GNPC	Glicose + Nitrogênio + Fósforo + Cadusafós

Glicose - 1,6 g C.kg<sup>-1</sup> solo seco; Fosfato de sódio heptahidratado – 400 mg P. kg<sup>-1</sup> solo seco; Nitrato de amônio – 200 mg N. kg<sup>-1</sup> solo seco; Cadusafós – 0,4 mg. kg<sup>-1</sup> solo seco.

### 3.4.1 Respiração Induzida pelo substrato (RIS)

O ensaio foi efetuado segundo Stotzky (1965), conforme descrito no Item 3.3.1; no entanto, a quantificação de CO<sub>2</sub> desprendido nos tempos de 24 e 48 horas.

### 3.4.2 Teor de Glicose

O melhor tempo para determinação da glicose foi de 48 horas. Após esse tempo os solos foram revolvidos, e 10g de solo foram colocados em tubos Falcon (50 mL). O teor de glicose foi extraído conforme Ferreira et al. (2008).

Os tubos foram levados para forno micro-ondas por 1 minuto para serem expostos a radiação eletromagnética (1,62.10<sup>5</sup>J). Em seguida, acrescentou-se 15 mL de NaCL (0,5%) em cada amostra e transferido para banho-maria a 70°C durante 20 minutos, sendo agitados periodicamente. Os solos foram centrifugados por 10 minutos para decantação de partículas argilosas e posteriormente filtrados em papel filtro faixa azul (Ø=11µm), de onde uma alíquota de 2 mL deste filtrado foi passado para micro-tubos e centrifugados a 8000 x g durante 10 minutos.

Uma alíquota de 100 µL do sobrenadante foram removidos para determinação da quantidade de glicose remanescente no solo, pelo método da glicose oxidase-peroxidase, seguindo recomendações do fabricante do kit (Sigma, EUA). A absorbância das amostras foi medida no espectrofotômetro a 500 nm, e uma curva padrão foi gerada com quantidades de glicose conhecida (0, 2, 4, 8, 16 e 32 µg.mL<sup>-1</sup>).

### 3.4.3 Rendimento microbiano (Y)

O rendimento metabólico (Y) é descrito como a relação entre absorção de carbono do substrato e a oxidação convertida para CO<sub>2</sub> (PRESCOTT et al., 1993). Sua determinação é pelo conteúdo energético do substrato, pelas vias bioquímicas dos micro-organismos degradantes e por outras condições de crescimento (SHEN;BARTHA, 1996).

O rendimento microbiano foi calculado de acordo com Shen e Bartha (1996), com adaptações, pela seguinte equação:

$$Y = \frac{Cr}{Ca}$$

Onde, Cr = carbono da glicose na forma C-CO<sub>2</sub> liberado na RBM em 48 horas, em µg C-CO<sub>2</sub>.g<sup>-1</sup> solo seco.h<sup>-1</sup>; Cc = carbono assimilado pela microbiota, aqui expresso como a quantidade de glicose que a comunidade consumiu no tempo de 48 horas em µg C-glicose.g<sup>-1</sup> solo seco.

### 3.4.4 Atividade da Desidrogenase

A atividade da enzima Desidrogenase foi determinada pelo método descrito por Mersi e Schinner (1991), com modificações, sendo medida pela redução do cloreto de 2-p-iodo-3-nitrofenil 5-fenil-tetrazólio (INT) para iodonitrofenil formazano (INTF).

Em tubos Falcons de 50 mL contendo 1g de solo de cada tratamento separados por repetições, foram adicionados 1,5 mL de TRIS (1 mol.L<sup>-1</sup>, pH 7,5) e 2 mL de INT 0,5%. Nos controles, além do TRIS, foram adicionados 2 mL de solução controle, a qual é desprovida do substrato INT. As amostras foram incubadas em banho-maria por 5 horas a 40°C. Após este intervalo, o produto da atividade enzimática (INTF) foi extraído com adição de 10 mL de solução etanol-dimetilformamida (1:1) e lavadas novamente ao banho-maria por 20 minutos, com posterior esfriamento e repouso no escuro durante 20 minutos.

Uma alíquota de 2 mL do sobrenadante de cada amostra foi transferido para micro-tubos e centrifugadas a 10000 xg por 5 minutos. Estas foram então lidas em espectrofotômetro a 490 nm. Uma curva padrão de INTF foi gerada em concentrações de (0; 5,65; 11,3; 22,6; 33,9 e 45,2 µg INTF.mL<sup>-1</sup>) para a obtenção da atividade da enzima nas amostras de solo. Os resultados foram expressos em µg INTF.g<sup>-1</sup> solo seco. h<sup>-1</sup>.

### **3.4.5 Estatística**

Os resultados foram submetidos a análise de normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, e a homogeneidade das variâncias pelo teste de Levene, ambos por meio do programa ACTION (PORTAL ACTION). As variáveis paramétricas tiveram suas médias avaliadas pelo teste de Tukey ao nível de probabilidade de 5% ( $p < 0,05$ ), utilizando o programa SISVAR. As médias dos resultados que não apresentaram distribuição normal e/ou homogeneidade de variância, foram avaliadas pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ) pelo programa ACTION.

## 4. RESULTADOS

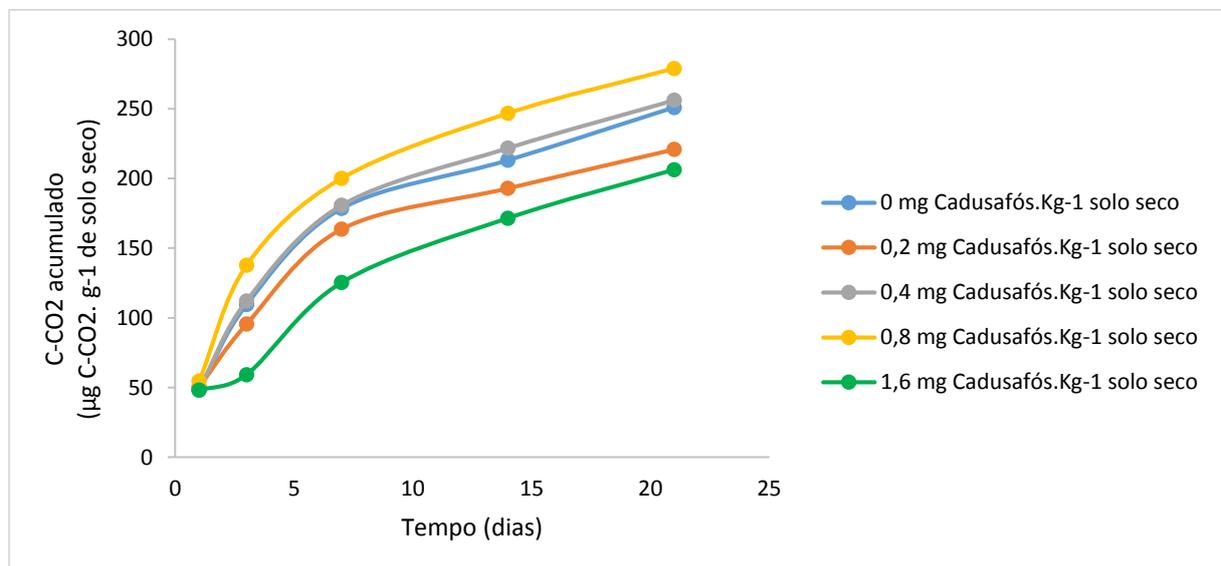
### 4.1 Resposta da respiração e biomassa microbiana do solo à doses de cadusafós

#### 4.1.1 Respiração basal microbiana (RBM)

Nenhuma das doses de Cadusafós aumentou significativamente a respiração microbiana dos solos analisados, quando comparados aos seus respectivos tratamentos controles (FIGURAS 2 e 3). Tanto o solo argiloso como o arenoso apresentam maiores taxas de RBM nos primeiros 7 dias de incubação, sendo a média de RBM nesse tempo de 150,4  $\mu\text{g}$  de  $\text{C-CO}_2\cdot\text{g}^{-1}$ , e 169,63  $\mu\text{g}$  de  $\text{C-CO}_2\cdot\text{g}^{-1}$  para o solo argiloso. Até o 7º dia de incubação há maiores taxas liberadas de  $\text{C-CO}_2$  em solo argiloso em comparação ao solo arenoso.

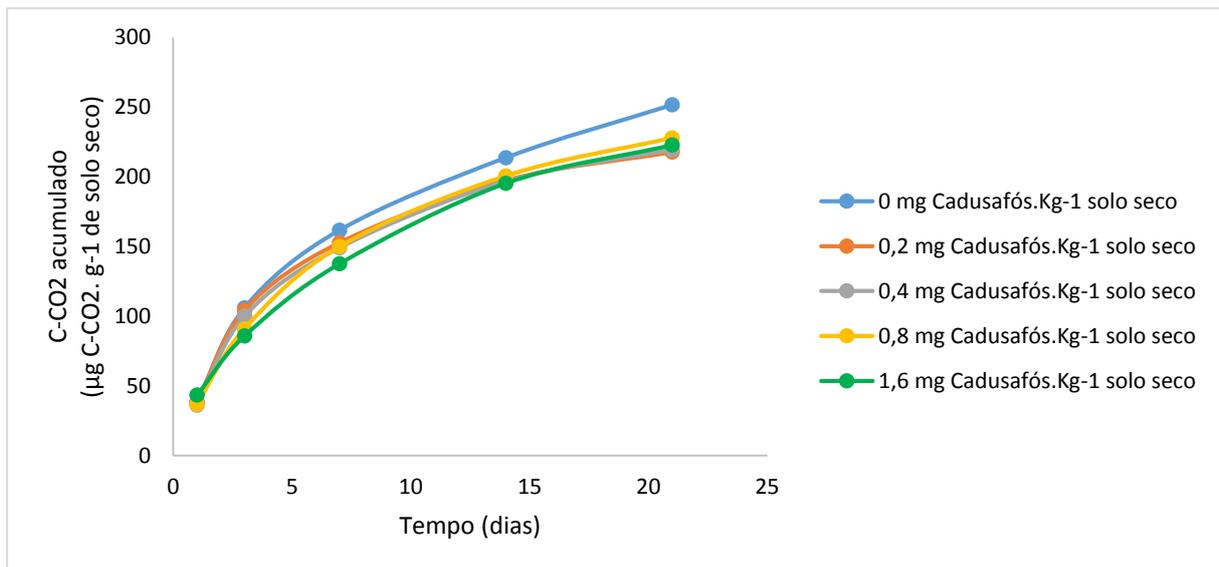
Após os 21 dias de incubação do solo com o nematicida, a quantidade máxima de  $\text{C-CO}_2$  liberado foi de 278,947  $\mu\text{g}$  de  $\text{C-CO}_2\cdot\text{g}^{-1}$  de solo seco para solo argiloso e 228,1454  $\mu\text{g}$  de  $\text{C-CO}_2\cdot\text{g}^{-1}$  de solo seco para solo arenoso.

**FIGURA 2.** Respiração basal microbiana acumulada (RBM) em solo argiloso, nas diferentes doses de Cadusafós durante 21 dias de incubação, em condições de laboratório.



Fonte: Os autores

**FIGURA 3.** Respiração basal microbiana acumulada (RBM) em solo arenoso, nas diferentes doses de Cadusafós durante 21 dias de incubação, em condições de laboratório.

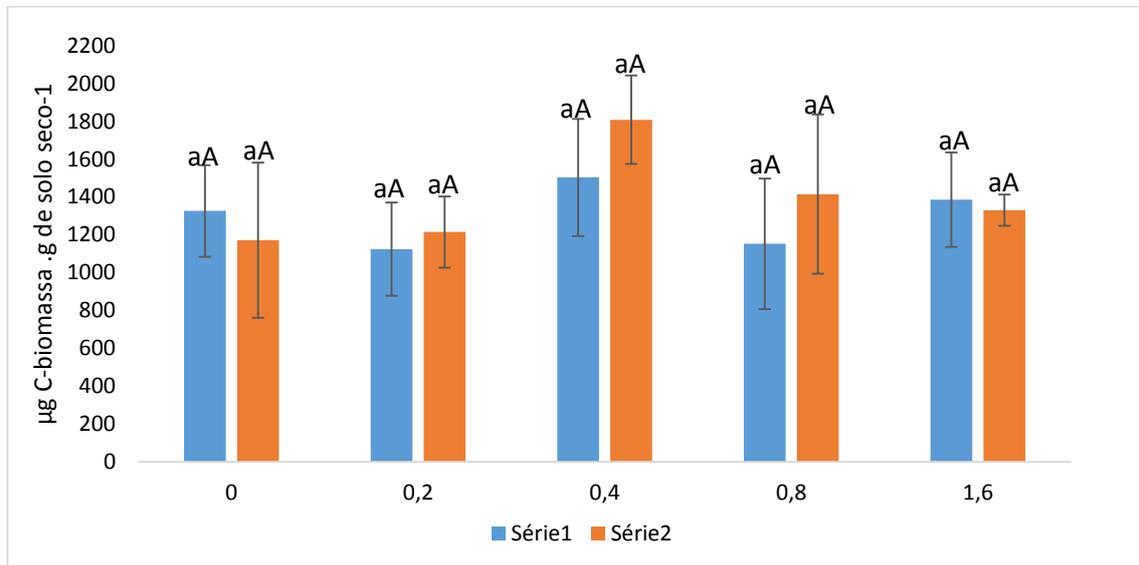


Fonte: Os autores

#### 4.1.2 Carbono da biomassa microbiana (CBM)

Os valores de CBM aos 21 dias de incubação variaram de 1123,917 a 1503,333  $\mu\text{g}$  de C.  $\text{g}^{-1}$  para solo argiloso seco e de 1172,034 a 1808,301  $\mu\text{g}$  de C.  $\text{g}^{-1}$  para solo arenoso seco (FIGURA 4). Porém, não houve diferenças de CBM entre doses de nematicida, nem entre o solo argiloso e arenoso (Tukey  $p < 0,05$ ).

**FIGURA 4.** Carbono da biomassa microbiana (CBM) nas diferentes doses de Cadusafós aos 21 dias de incubação, em condições de laboratório. Série 1 - Argiloso; Série 2 - Arenoso. Letras minúsculas comparam médias entre tratamentos. Letras maiúsculas comparam médias entre solos.

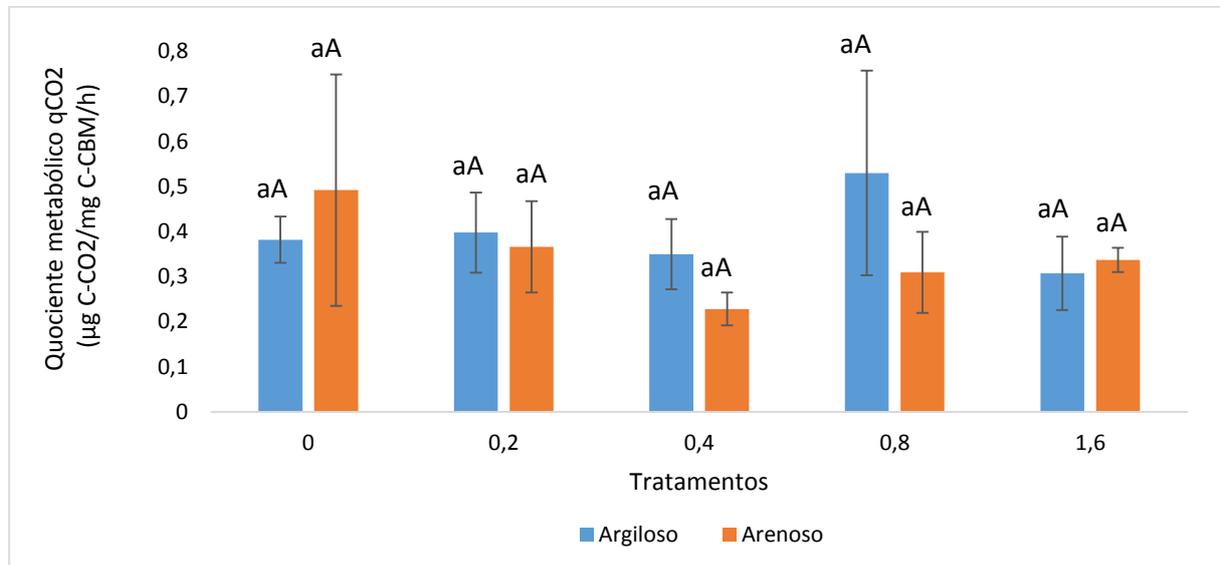


Fonte: Os autores

#### 4.1.3 Quociente metabólico $qCO_2$

Os valores de  $qCO_2$  variaram de  $0,307 \mu\text{g C-CO}_2.\text{mg}^{-1} \text{C-CBM.h}^{-1}$  a  $0,529 \mu\text{g C-CO}_2.\text{mg}^{-1} \text{C-CBM.h}^{-1}$  para solo argiloso, e de  $0,228 \mu\text{g C-CO}_2.\text{mg}^{-1} \text{C-CBM.h}^{-1}$  a  $0,492 \mu\text{g C-CO}_2.\text{mg}^{-1} \text{C-CBM.h}^{-1}$  para os solos arenosos. No entanto, o  $qCO_2$  indica que, a comunidade microbiana dos solos analisados não sofrem efeitos adversos com a aplicação do nematicida Cadusafós em um período de 21 dias de incubação (Kruskal-Wallis  $p < 0,05$ ) (FIGURA 5).

**FIGURA 5.** Quociente metabólico do solo ( $qCO_2$ ) nas diferentes doses de Cadusafós em 21 dias de incubação, em condições de laboratório. Letras minúsculas comparam médias entre tratamentos. Letras maiúsculas comparam médias entre solos.



Fonte: Os autores

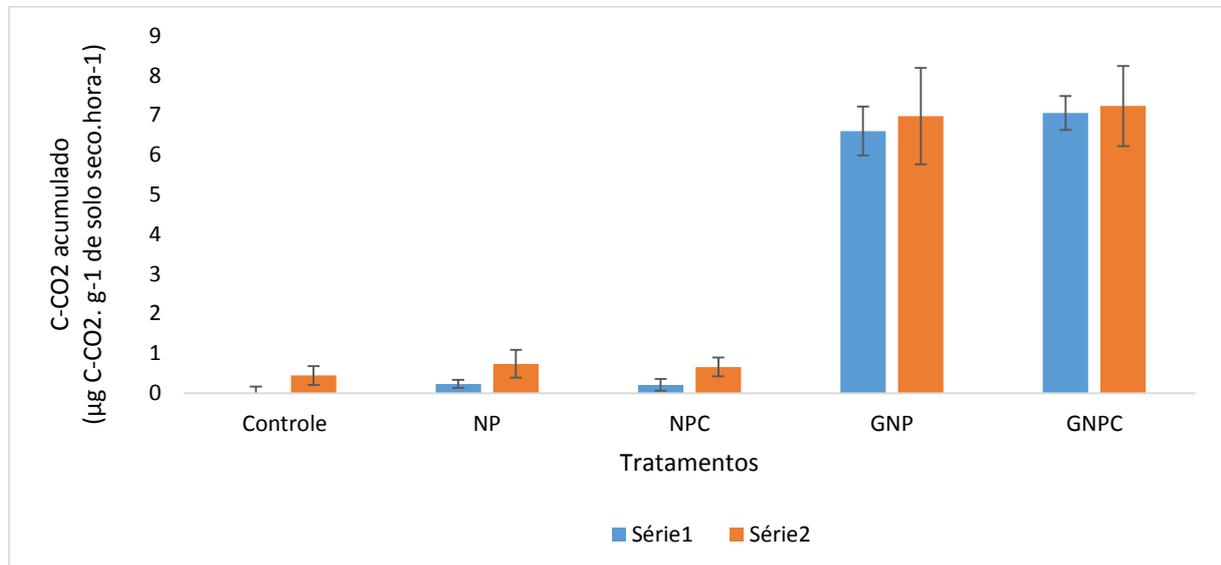
## 4.2 Resposta induzida da comunidade microbiana à adição de glicose

### 4.2.1 Respiração Induzida pelo substrato (RIS)

A liberação de  $C-CO_2$  nos tratamentos apenas com a adição de Nitrogênio e Fósforo ao solo (NP) se compara ao tratamento controle (FIGURA 6). Porém, a adição de Glicose resulta em uma liberação de  $C-CO_2$  substancialmente maior a ambos os solos. Para o solo argiloso, os tratamentos com glicose presente geram uma RIS de 28 (GNP) e 34 (GNPC) vezes maior que os tratamentos sem a presença do nutriente (NP e NPC). Já para o solo arenoso, a adição de glicose gera um acréscimo menor que o solo argiloso, de 9 vezes para GNP vs. NP e de 11 vezes para GNPC vs. NPC. No entanto, a aplicação do Cadusafós não alterou a resposta induzida de emissão de  $CO_2$  à adição de glicose (GNP vs. GNPC), no tempo de incubação de 48 horas (Kruskal-Wallis  $p < 0,05$ ).

Os tratamentos com glicose incluída (GNP e GNPC) não diferiram de solo para solo (Kruskal-wallis  $p < 0,05$ ). Porém, para os tratamentos NP e NPC o solo argiloso apresentou uma resposta cerca de 3 vezes maior que em solo arenoso (FIGURA 6).

**FIGURA 6.** Efeito da adição da glicose e Cadusafós na respiração induzida pelo substrato (RIS) dos tratamentos em 48 horas, em condições de laboratório. Série 1 - Argiloso; Série 2 - Arenoso. Letras minúsculas comparam médias entre tratamentos. Letras maiúsculas comparam médias entre solos.

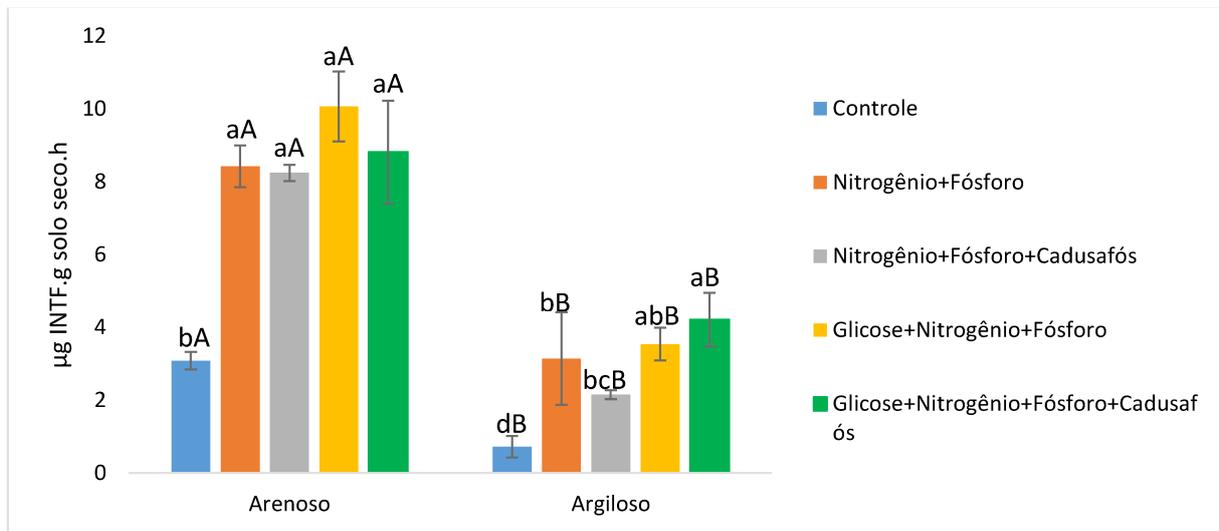


Fonte: Os autores

#### 4.2.2 Atividade de desidrogenase

O solo arenoso apresentou valores de atividade da enzima desidrogenase de 8,24 a 10,06  $\mu\text{g INTF.g}^{-1}$  solo seco. $\text{h}^{-1}$ , sendo maiores (Teste de Tukey,  $p < 0,05$ ) que o solo argiloso, com valores de 2,15 a 4,21  $\mu\text{g INTF.g}^{-1}$  solo seco. $\text{h}^{-1}$  (FIGURA 7). No solo arenoso, a atividade da desidrogenase respondeu igualmente para todos os tratamentos (NP, NPC, GNP e GNPC), mas superiores ao solo controle (Tukey  $p < 0,05$ ). A atividade da desidrogenase em solo argiloso respondeu de forma diferente aos tratamentos, sendo o maior pico observado no tratamento GNPC, com 4,21 ( $\mu\text{g INTF g solo}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ), seguido dos tratamentos GNP (3,54  $\mu\text{g INTF. g}^{-1}$  solo seco.  $\text{h}^{-1}$ ); NP (3,14  $\mu\text{g INTF. g}^{-1}$  solo seco.  $\text{h}^{-1}$ ) e NPC (2,15  $\mu\text{g INTF. g}^{-1}$  solo seco.  $\text{h}^{-1}$ ).

**FIGURA 7.** Atividade da enzima Desidrogenase nos tratamentos em 48 horas de incubação, em condições de laboratório. Letras minúsculas comparam médias entre tratamentos. Letras maiúsculas comparam médias entre solos.

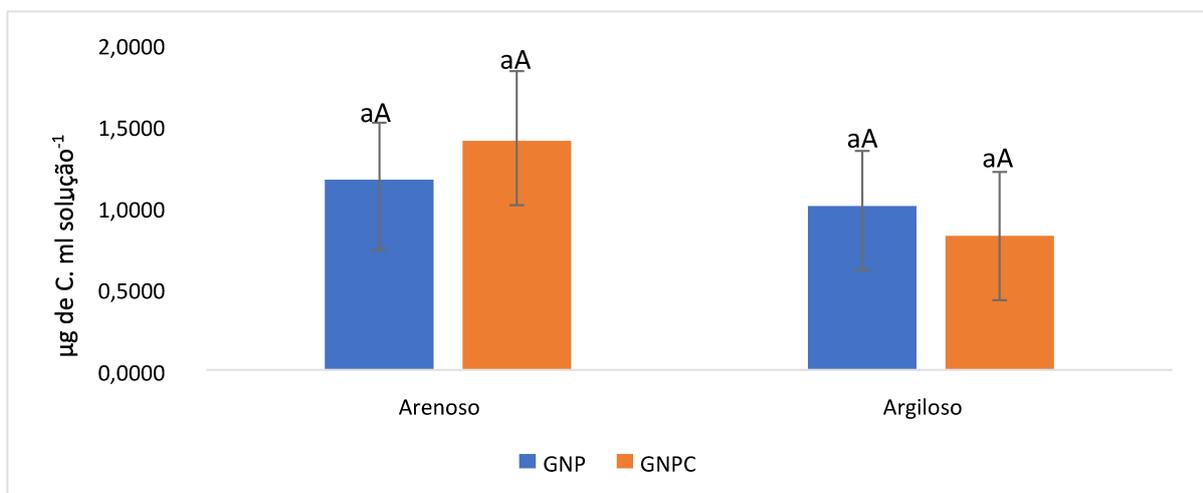


Fonte: Os autores

#### 4.2.3 Consumo de glicose

Não foi observada mudança no consumo de glicose com a adição do nematicida Cadusafós para ambos os solos (Tukey  $p < 0,05$ ) (FIGURA 8). A média do consumo de glicose após 48 horas foi de  $1,2832 \mu\text{g C.mL}^{-1}$  solução para solo arenoso e  $0,9117 \mu\text{g C.mL}^{-1}$  solução para solo argiloso.

**FIGURA 8.** Padrão de consumo de glicose pela comunidade microbiana nos tratamentos GNP (Glicose+Nitrogênio+Fósforo) e GNPC (Glicose+Nitrogênio+Fósforo+Cadusafós) em 48 horas de incubação, em condições de laboratório. Letras minúsculas comparam médias entre tratamentos. Letras maiúsculas comparam médias entre solos.



Fonte: Os autores

O rendimento (Y) apresentou valores baixos para ambos os solos. Entre os tratamentos sem adição de Cadusafós (GNP) e com (GNPC) não houve diferença significativa na resposta do rendimento microbiano (Tukey  $p < 0,05$ ), para os dois solos (TABELA 7).

A adição de Cadusafós não resultou em diferenças na RBM, Desidrogenase e Y nos tratamentos que receberam glicose (TABELA 7). Por outro lado, foi observada uma mudança significativa (Tukey  $p < 0,05$ ) nas médias entre os solos para a atividade da Desidrogenase e no rendimento quando adicionado Cadusafós (GNPC), para os quais o solo arenoso apresentou atividade significativamente maior que o solo argiloso.

**TABELA 7.** Resposta microbiana para adição de Cadusafós e glicose, em condições de laboratório.

	<b>RIS</b> ( $\mu\text{g C-CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{ solo seco} \cdot \text{h}^{-1}$ )	<b>Desidrogenase</b> ( $\mu\text{gINTF} \cdot \text{g}^{-1} \text{ solo seco} \cdot \text{h}^{-1}$ )	<b>Y</b>
<b>Tratamento</b>	<i>Arenoso Argiloso</i>	<i>Arenoso Argiloso</i>	<i>Arenoso Argiloso</i>
GNP	6,60 aA 6,98Aa	10,06aA 3,54aB	0,048aA 0,040aA
GNPC	7,06 aA 7,23Aa	8,81aA 4,21aB	0,055aB 0,041aA

**RIS** – Respiração induzida pelo substrato segundo Stotzky (1965), com modificações; **Desidrogenase** – segundo Mersi e Schinner (1991), com modificações; **Y** =  $\frac{Gr}{Ca}$  – Rendimento microbiano segundo Shen e Bartha (1996), com modificações. Médias seguidas de mesmas letras são iguais entre si pelo teste de Kruskal-Wallis a 5% para RBM e Tukey a 5% para Desidrogenase e Eficiência. Letras minúsculas comparam médias dispostas na vertical. Letras maiúsculas comparam médias dispostas na horizontal.

Fonte: Os autores

## 5. DISCUSSÃO

A aplicação de pesticidas no solo pode ir além do seu efeito requerido, prejudicando organismos não-alvos como os micro-organismos do solo (LARCHEVÊQUE et al., 2006; CHU et al., 2007). O conhecimento sobre a influência de pesticidas na comunidade microbiana do solo ainda é pouco relatado, porém fundamental na avaliação de risco dos pesticidas (LO, 2010). As investigações a cerca de Cadusafós e micro-organismos do solo são limitados, e por isso, aqui, foram feitas correlações dos resultados obtidos com estudos envolvendo outros pesticidas organofosforados.

Em nossos resultados não foram encontradas diferenças, na RBM, CBM, atividade da desidrogenase, consumo de glicose e rendimento no uso da glicose, quando adicionado Cadusafós em solo arenoso ou argilosos sem histórico de aplicação deste produto, indicando que o composto não interfere na atividade microbiana dos solos nas condições testadas.

A RBM quantifica o carbono em forma de CO<sub>2</sub> advindo da respiração de organismos do solo e, portanto, a atuação destes na decomposição da matéria orgânica (ALEF, 1995). Como não foi observada inibição deste parâmetro no tempo e doses analisadas (FIGURAS 2 e 3), o Cadusafós poderia ser utilizado como fonte de carbono e fósforo pela comunidade microbiana. Porém, não ocasionou aumento nas taxas de respiração, devido à quantidade baixa de C e P adicionado: na maior dose de Cadusafós (1,6 mg de ingredient ativo. Kg<sup>-1</sup> de solo) são 0,711 µg de carbono e 0,111 µg de fósforo a cada grama de solo. Corroborando com a ideia do Cadusafós como fonte de carbono, a sua biodegradação em solos já foi relatada em alguns estudos. Em solos agrícolas do sul da Austrália, com características áridas e baixo conteúdo de matéria orgânica, foi efetuado aplicação de uma dose equivalente ao T3 (0,4 mg Cadusafós.Kg<sup>-1</sup> solo seco) deste estudo, e relatado que cerca de 44-52% do total de Cadusafós aplicado foi mineralizado no solo em 77 dias, sendo a degradação pela comunidade microbiana do solo a principal via de mineralização do composto (KOOKANA et al., 2014). Além disso, algumas bactérias que utilizam o Cadusafós como fonte de carbono foram isoladas de solo agrícolas do sul da Arábia Saudita, e.g., *Pseudomonas putida* (ABO-AMER, 2012). Já uma baixa taxa de mineralização do Cadusafós foi reportada pela avaliação da RBM em solos mexicanos com texturas semelhantes aos dois solos aqui analisados (Vertisol com textura franco-argilosa e Andosol com textura franco-arenosa) sendo que apenas 10% dos 0,56 mg.L<sup>-1</sup> adicionados haviam sido liberados na forma de C-CO<sub>2</sub> após 32 dias (OLVERA-VELONA et al., 2008). Os

autores também mostraram que após o período de incubação, foi detectado um metabólito da degradação do Cadusafós em baixas taxas, mas que não foi possível ser identificado.

As maiores taxas de RBM para os solos estudados foram observadas nos primeiros 7 dias de incubação, porém não é possível creditar-se esse pico a degradação do Cadusafós, visto que não houve diferença com o solo controle. Mas isso pode ser resultado da baixa quantidade de carbono adicionado por meio do nematicida. Estudo com cepas isoladas de bactéria com alto poder de degradação de Cadusafós mostram que a decomposição do composto ocorre após 72 horas, junto com o pico de população microbiana (DIMITRIOS et al., 2005). Já em experimento *in situ*, em campo de batata com histórico de aplicação do Cadusafós no Norte da Grécia, mostrou uma rápida degradação nos primeiros 14 dias e com posterior decréscimo da biodisponibilidade da molécula (KAPOUZAS et al., 2004). Porém, ambos os estudos relatam que a microbiota realiza essa degradação acelerada devido ao histórico de aplicação do Cadusafós e, portanto, uma aclimatação dos micro-organismos presentes nos solos. Além disso, Dimitrios et al. (2005) aponta para o crescimento dos micro-organismos degradantes de Cadusafós conforme a taxa de degradação, ou seja, utilizando o Cadusafós para crescer, sendo indicativo de não toxicidade para a microbiota. Porém, uma população pode crescer e a outra decresce por competição, mudando assim a estrutura da comunidade microbiana pelo período de tempo de permanência do pesticida.

Para verificar o efeito do Cadusafós sobre a parte viva da matéria orgânica do solo, é possível quantificar o CBM. Corroborando com os resultados da RBM, a adição de Cadusafós não afetou o CBM (FIGURA 4), sendo mais um indicativo de que este pesticida não causa efeitos importantes sobre a atividade da microbiota do solo na sua primeira aplicação. Para outros organofosforados, há maiores referências quanto ao decréscimo deste parâmetro. Metamidofós aumentou a população de algumas bactérias, mas diminuiu a biomassa microbiana total (WANG et al., 2006; HE et al., 2006). Pirimifós-Metílico, Clorpirifós e Profenofós diminuíram as populações microbianas e conseqüentemente a biomassa total (MARTINEZ-TOLEDO et al., 1992). As diferenças encontradas entre os resultados da literatura e com os deste estudo podem ser influenciadas pela diferença entre solos, ambientes e fatores de estresse atuando em conjunto (DOMSCH et al., 1983).

A aplicação de Cadusafós também não interferiu no nível de estresse medido pelo  $qCO_2$  (FIGURA 5), mostrando que o ambiente permanece em equilíbrio mesmo após a aplicação de elevadas doses do pesticida. Ambientes com algum fator de estresse (pesticidas, metais pesados,

pH, falta de nutrientes) podem causar um distúrbio no metabolismo do solo, elevando o  $qCO_2$  pela menor eficiência dos organismos na incorporação de carbono orgânico à biomassa, e talvez afetando a mineralização e imobilização de nutrientes importantes para a fertilidade do solo (ANDERSON; DOMSCH, 1990; BUSSE et al., 2001).

Apesar de vários trabalhos indicarem efeito deletério de organofosforados na biota do solo (MARTINEZ-TOLEDO et al., 1992; WANG et al., 2006; HE et al., 2006; GUNDI et al., 2005; TORRES et al., 2009), não observamos impactos significativos na atividade geral da microbiota do solo até o dobro da dose recomendada em bula para aplicação em campo (0,8 mg.Kg<sup>-1</sup> solo seco) e uma dose 4 vezes maior (1,6 mg.Kg<sup>-1</sup> solo seco). Comparável a esse resultado, foi investigada a influência do pesticida organofosforado Fenitrothion em solos arenosos sem histórico de uso, e demonstrada que a dose recomendada para aplicação no campo não afetava a RBM do solo (CYCON; PIOTROWSKA-SEGET, 2009). No entanto, o aumento dessa dosagem em 5 e 100 vezes influenciava negativamente o pico da respiração durante os 28 dias de experimento *ex situ* (CYCON; PIOTROWSKA-SEGET, 2009). Resposta semelhante foi obtida com os organofosforados Phorate, Fenofos e Isofenos (DIGRAK; KAZANICI, 2001).

É possível que não se tenha atingido a concentração mínima inibitória do Cadusafós com as dosagens testadas, permitindo inferir que as quantias testadas não ocasionam efeitos adversos a comunidade bacteriana quando analisadas por sua respiração basal, carbono da biomassa, atividade da desidrogenase e utilização de glicose. Este resultado pode estar também relacionado à baixa solubilidade em água apresentada pelo Cadusafós e pela sua maior afinidade de adsorção quando comparado a outros nematicidas organofosforados (KARPOUZAS et al., 2005), o que reduziria a sua biodisponibilidade no solo com o tempo.

Em diferentes tipos de solo vários fatores podem influenciar a sorção de uma molécula de pesticida, tornando-o menos biodisponível, como as interações entre matéria orgânica e constituintes minerais (KAISER; GUGGENBERGER, 2003), natureza de grandes cátions ligados à matéria orgânica do solo (LEENHEER; AHBRICHS, 1971), ou o pH do solo (BARRIUSO; CALVET, 1991). Além disso, a natureza química do pesticida também é um fator essencial a ser analisado para entender seu comportamento em um solo (LAABS et al., 2007).

Segundo Gamal et al. (2009) a adsorção de Cadusafós pelo solo é espontânea, endotérmica e aumenta conforme a entropia. Um estudo de adsorção de Cadusafós em dois tipos de solos (argilo-arenoso e arenoso) da região do delta do Nilo, no Egito, mostrou que o Cadusafós possui uma fraca interação com forças físicas do solo e, portanto, o conteúdo de matéria orgânica não é um parâmetro influenciador de adsorção das moléculas do pesticida (GAMAL et al., 2009). Resultado semelhante foi observado para solos tropicais com características semelhantes ao deste estudo (Franco-arenoso e fraco-argiloso) (OLVERAVELONA et al., 2008). Por outro lado, os autores também indicaram, através da diferença entre conteúdo de matéria orgânica total nos diferentes solos analisados, que a quantidade de carbono sozinha não explica o fenômeno adsorptivo do Cadusafós, sendo as diferentes propriedades do solo influenciadoras da sorção deste produto (OLVERAVELONA et al., 2008). De acordo com Zheng e Cooper (1996), em solos tropicais do Caribe com texturas semelhantes ao nosso solo arenoso (Regosol e Andosol) e ao solo argiloso (Ferrasol e Vertisol), o conteúdo total de argila e a capacidade de troca catiônica do solo tiveram forte influência na adsorção da molécula de Cadusafós.

Além disso, o Cadusafós, de forma geral, possui maior afinidade com solos mais oxidados (presença de grupo metoxi e carboxila), o que reduziria a taxa de biodisponibilidade para os micro-organismos em solos como os do Cerrado (FERNANDEZ-BAYO et al., 2013). Isso pode explicar a semelhança dos resultados entre doses de Cadusafós e os dois tipos de solo.

O Cadusafós não alterou a resposta da RIS à adição de glicose ao solo (FIGURA 6 e TABELA 7). A atividade microbiana, indicada pela mineralização da glicose, se mostrou eficiente em poucos dias, mesmo com a presença do Cadusafós. Este resultado está de acordo com o observado por Kookana et al. (2014) em solos da Austrália com a mesma quantidade de Cadusafós aplicada neste estudo, onde a taxa de mineralização de glicose não foi afetada por Cadusafós. A ausência de efeito do Cadusafós pode ser pela maior biodegradação devido à glicose adicionada. A adição de compostos químicos biodegradáveis no meio, como a glicose, tem papel de melhorar e acelerar a biodegradação de organofosforados (OU, 1991). Dimitrios et al. (2005) relataram que a glicose adicionada em solo com Cadusafós serviu como fonte de C prontamente assimilável, facilitando a proliferação e colonização de bactérias degradantes do pesticida. Os autores também observaram que a degradação do Cadusafós só foi iniciada quando a população de duas estirpes de bactérias, previamente isoladas, alcançaram um determinado número de células, e essa foi impulsionada e acelerada pela adição de glicose. Com a presença da glicose no meio, a completa degradação do Cadusafós ocorreu em até 72

horas e sem a presença o tempo aumentou para 124 horas (DIMITRIOS et al., 2005). Por outro lado, Abo-Amer (2012) relatou que a adição de glicose faz com que a biodegradação de Cadusafós seja mais lenta com o tempo, pois os micro-organismos consomem primeiro esta fonte de carbono.

A atividade da enzima Desidrogenase é um indicativo da atividade microbiana total em solos, pois é uma enzima intracelular envolvida nos processos de fosforilação oxidativos e, portanto, medida do metabolismo dos micro-organismos do solo (TREVORS, 1984; BENITEZ et al., 1999). O Cadusafós não teve efeito sobre a atividade desta enzima em nenhum dos dois solos (FIGURA 7), o que corrobora com resultados encontrados para outros pesticidas organofosforados, como o Diazinon (SINGH; SINGH, 2005), Paration-Metílico (PERES, 2000) e Fenamifós em uma concentração de até 100 mg.Kg<sup>-1</sup> (CACERES et al., 2008). A enzima Desidrogenase pode reagir de diferentes maneiras com a presença de pesticidas, podendo ser estimulada ou inibida temporariamente (TU, 1981). Como exemplo de estímulo, foi relatado o aumento da atividade da Desidrogenase com a aplicação de Monocrotofós (PERES, 2000). Em outros casos, o efeito foi diferente, como a inibição total da desidrogenase em campo quando na presença de Clorpirifós e Quinalfos (MENON et al., 2005). Já Mayanglambam et al. (2005) relataram que a atividade da enzima foi inicialmente inibida com a presença de Quinalfos, mas depois de 14 dias foi restaurada.

A maior atividade da enzima Desidrogenase encontrada para o solo arenoso, em comparação ao argiloso pode ser explicada pela diferença do teor de matéria orgânica existente entre os solos. Em solos com maior teor de areia e baixo conteúdo de matéria orgânica, a atividade enzimática depende principalmente de enzimas intracelulares, como a Desidrogenase (BURNS, 1982).

O rendimento (Y) da comunidade microbiana dos solos analisados se mostrou baixa (TABELA 7). Quando 50% do carbono do substrato é convertido para CO<sub>2</sub>, a biodegradação foi completa ou quase completa. Ou seja, em poucas horas (48h), as vias bioquímicas da microbiota e suas condições de crescimento não foram afetadas pela presença de Cadusafós, e podem ter sido aceleradas pelo substrato adicionado que é de fácil assimilação (DIMITRIOS et al., 2005). No entanto, Shen e Bartha (1996) ainda discorrem sobre uma teoria de que, concentrações de alguns substratos podem ser metabolizados pela comunidade autóctone sem causar crescimento de oportunistas e mantendo o equilíbrio da comunidade.

Os baixos valores de rendimento microbiano encontrados (TABELA 7) possuem importância ambiental no sequestro de carbono pelos organismos do solo. Sabe-se que os micro-organismos do solo controlam o sequestro de carbono orgânico e a decomposição em solos (SPOHN et al., 2016). Nas doses recomendadas para campo, o Cadusafós não interfere nesse ciclo. A importância dos processos microbianos de ciclagem de carbono orgânico recebeu atenção apenas recentemente (SCHMIDT et al., 2011), talvez sua compreensão seja limitada pela restrição metodológica ainda observada (DILLY, 2005; EKSCHMITT et al., 2005).

Apesar de os nossos dados estatísticos terem reforçado a hipótese de que o Cadusafós não afetou a microbiota do solo, recomendamos que análises de processos sortivos da molécula com o solo, além de análises moleculares, como sequenciamento de alta performance de genes taxonômicos, sejam realizadas para avaliar mais a fundo a estrutura da comunidade e confirmar os resultados aqui obtidos.

Uma gama de estudos realizados em solos com aplicação de organofosforados, mostram a redução temporária ou permanente da diversidade microbiana, por análises moleculares, de marcação ou com micro-organismos isolados. A estrutura da comunidade bacteriana de um solo arenoso foi dominada pelos estrategistas K e teve a biodiversidade original diminuída em todas as doses do organofosforado Fenitrothion (CYCON; PIOTROWSKA-SEGET, 2009). Monocrotofós, Clorpirifós e Malation afetaram a morfologia celular da comunidade do solo e causaram aumento do número de células pleomórficas (MADHAIYAN et al., 2006). No entanto, Malation quando comparados a outros pesticidas de grupo químicos diferentes, foi o que menos reduziu a comunidade microbiana de solo do semi-árido sergipano (SILVA, 2006). Já em outro estudo, este pesticida organofosforado gerou um aumento do número de bactérias desnitrificantes e não afetou a população de fungos (LOPES et al., 1993). Por outro lado, Phorate, Clorpirifós e Monocrotofós não causaram alterações significativas na contagem total viável de bactérias testadas ex situ (SARNAIK et al., 2006).

O estudo da diversidade microbiana do solo é importante porque ela indica resiliência e qualidade do solo (ZILLI et al., 2003). E a manutenção da diversidade é mais importante que a abundância de algumas espécies, visto que ela reflete o equilíbrio na comunidade microbiana e dos domínios funcionais do solo (LAVELLE, 2009).

Os nossos resultados são inéditos para o nematicida Cadusafós em solos do Cerrado. Os pesticidas organofosforados são conhecidos por causar diversos impactos sobre o ambiente e,

por isso, as avaliações sobre seus possíveis efeitos nos diferentes compartimentos podem ajudar nas tomadas de decisão quanto ao uso e legislações pertinentes. No entanto, as inibições que ocorrem em alguns parâmetros biológicos da comunidade microbiana em solos tratados com pesticidas organofosforados são na maioria dos casos temporários, visto que este grupo é degradado com maior facilidade (TORRES et al., 2009). Dados, como os obtidos estatisticamente neste trabalho, podem desenhar um caminho para a substituição de outros pesticidas organofosforados pelo uso do Cadusafós, que tem indicativos de ser menos nocivo para o ambiente e, portanto, pode gerar uma maior segurança na agricultura. Ressalvamos que outros parâmetros biológicos (como diversidade microbiana e testes de toxicidade) e outros compartimentos ambientais (como nascentes e riachos próximos do local de aplicação) também devem ser avaliados para verificar se há periculosidade e toxicidade ambiental.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pelos parâmetros analisados nas condições de exposição e tempo em que esse trabalho foi conduzido, o inseticida organofosforado, cujo princípio ativo é o Cadusafós, quando de primeira aplicação em Latossolos vermelhos do cerrado, não interfere na comunidade e atividade microbiana do solo.

Nossos resultados mostraram que a comunidade microbiana do solo é profundamente afetada pela adição de glicose, mas não do nematicida. Apesar de não se ter conseguido comprovar a degradação do Cadusafós, muitos trabalhos mostram que a adição de um substrato fonte de carbono facilmente assimilável, pode ajudar acelerar a biodegradação de moléculas de organofosforados. Quando glicose é adicionada, nossos resultados mostraram altos valores de RIS e rendimento de utilização da glicose, que são indicativos que os micro-organismos estão assimilando carbono para seu crescimento, independentemente da presença do nematicida. Do ponto de vista ambiental, são resultados importantes que verificam incorporação de carbono orgânico no solo, em vez de emissão como CO<sub>2</sub>.

Entre os solos arenoso e argiloso, as diferenças que observamos não estão relacionadas com a presença da molécula Cadusafós, e sim entre as próprias propriedades contrastantes dos solos estudados.

O conhecimento sobre os efeitos de organofosforados sobre a comunidade microbiana dos solos ainda é escasso, e os trabalhos são contrastantes entre si, o que não permite desenhar uma conclusão definitiva por comparações.

Os parâmetros analisados são considerados bons indicadores de qualidade do solo e, quando analisados em conjunto, comprovam que o ambiente edáfico continua mantendo sua funcionalidade e rendimento. Porém, é necessário aliar os indicadores bioquímicos e microbiológicos a técnicas moleculares de monitoramento da biota do solo. Além disso, recomendamos análises em outras condições, como em outros tipos de solo, sobre cultivos agrícolas, diferentes épocas do ano e em áreas com histórico de uso do Cadusafós. Isso é importante para melhor compreensão das interações que ocorrem entre as comunidades microbianas e os efeitos geradas pela adição de Cadusafós no ambiente.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABO-AMER, A. E. Characterization of a strain of *Pseudomonas putida* isolated from agricultural soil that degrades cadusafos (an organophosphorus pesticide). **World Journal Microbiology Biotechnology**, v. 28, p. 805–814, 2012. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0873-5>

AJWA, H. A.; DELL, C. J.; RICE, C. W. Changes in enzyme activities and microbial biomass of tallgrass prairie soil as related to burning and nitrogen fertilization. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 31, p. 769-777, 1999.

ALEF, K.; NANNIPIERI, P. **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. Londres: Academic Press. 1995. p. 576.

ANDERSON, J. P. E.; DOMSCH, K. H. A. Physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.10, p.215-221, 1978. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(78\)90099-8](https://doi.org/10.1016/0038-0717(78)90099-8)

ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. The metabolic quotient for CO<sub>2</sub> (qCO<sub>2</sub>) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as Ph, on the microbial BIOMASS of forest soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v.25, n.3, p. 393-395, 1993. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(93\)90140-7](https://doi.org/10.1016/0038-0717(93)90140-7)

ARTIOM, F. **Improve the system of agriculture to provide ecosystem and social services**. 2016. 53 f. Tese de Mestrado. Faculty of sciences. Universidade da Coruña, Coruña.

BENITEZ, E.; NOGALES, R.; ELVIRA, C.; MASCIANDARO, G.; CECCANTI, B. Enzymes activities as indicators of the stabilization of sewage sludges composting by *Eisenia foetida*. **Biores. Technology**, v. 67, p. 297–303, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(98\)00117-5](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(98)00117-5)

BICKEL, U.; DROS, J. M. The impacts of soybean cultivation on Brazilian ecosystems. **WWF**, Amsterdam, 2003.

BORLAUG, N.E. Feeding a world of 10 billion people: the miracle ahead. In: R. Bailey (ed.). Global warming and other eco-myths. **Competitive Enterprise Institute**, Roseville, p. 29-60, 2002. <https://doi.org/10.1079/IVP2001279>

BOWLES, T. Soil enzyme activities, microbial communities, and carbon and nitrogen availability in organic agroecosystems across an intensively-managed agricultural landscape. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford v. 68, p. 252-262, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.10.004>

BRANCO, S.M. **Natureza e agroquímicos**. 2. ed. São Paulo: Moderna, 2003.

BRASIL. Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei no 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Publicado no Diário Oficial da União, Brasília.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Dados estatísticos. Disponível em: <<http://agricultura.gov.br>>. Acesso em: 20 de Janeiro de 2018.

BROOKES, D. C. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 19, p. 269-279, 1995.

BURNS, R.G. Enzyme activity in soil: location and a possible role in microbial ecology. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.14, p.423-427, 1982. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(82\)90099-2](https://doi.org/10.1016/0038-0717(82)90099-2)

BURNS, R. G.; FOREST, J.L.; MARXSEN, J.; SINSABAUGH, R.L.; STROMBERGER, M.E.; WALLENSTEIN, M. D.; WEINTRAUB, M.N.; WEINTRAUB, M.N.; ZOPPIN, A. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 58, p. 216 – 234, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.11.009>

BUSSE, M. D.; RATCLIFF, G. A.; SHESTAK, C. J.; POWERS, R. F. Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control and soil on soil microbial communities. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, n. 6, p. 1777-1789, 2001.

CÁCERES, T. P.; MALLAVARAPU MEGHARAJ, M.; NAIDU, R. Biodegradation of the Pesticide Fenamiphos by Ten Different Species of Green Algae and Cyanobacteria. **Current Microbiology**, Springer Verlag, v.57, p. 643– 646, 2008. <https://doi.org/10.1007/s00284-008-9293-7>

CARRIJO, B. R.; BACCARO, C. A. D. Análise sobre a erosão hídrica na área urbana de Uberlândia (MG). **Caminhos de Geografia**, Uberlândia, v. 2, n. 2, 2001.

CATTELAN, A.J.; VIDOR, C. Flutuações na biomassa, atividade e população microbiana do solo, em função de variações ambientais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 14, p. 133-142, 1990.

CAVALHEIROS, D.F. Ecotoxicologia de compostos organoclorados persistentes em um ecossistema eutrófico Represa de Barra Bonita (Médio Tietê - SP). Dissertação (Mestrado). 1993. 198f. Escola de Engenharia de São Carlos, USP.

CHEAR, U.B.; KIRKWOOD, R.C.; LUM, K.Y. Degradation of four commonly used pesticides in Malaysian agricultural soils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, p. 1217- 1223, 1998. <https://doi.org/10.1021/jf970579t>

CHU, H.; FUJII, T.; MORIMOTO, S.; LIN, X.; YAGI, K.; HU, J.; ZHANG, J. Community Structure of Ammonia-Oxidizing Bacteria under Long-Term Application of Mineral Fertilizer and Organic Manure in a Sandy Loam Soil. **Applied and Environmental Microbiology**, Elsevier, Amsterdam, v. 73, n. 2, p. 485-491, 2007.

COIMBRA, J.L.M.; DENARDIN, R. B. N.; GATIBONI, L.C.; WILDNER, L.P. Modificações na fauna edáfica durante a decomposição da palhada de centeio e aveia preta, em sistema plantio direto. **Biotemas**, Lages. v. 22, n. 2, p. 45-53, 2009.

COUTINHO, C.F.B.; TANIMOTO, S.T.; GALLI, A.; GARBELLINI, G.S.; TAKAYAMA, M.; AMARAL, R.B.; MAZO, L.H.; AVACA, L.A.; MACHADO, S.A.S. Pesticidas: mecanismo de ação, degradação e toxidez. **Pesticidas: r.ecotoxicológico e meio ambiente**, Curitiba, v. 15, p. 65-72, 2005.

CYCOŃ, M.; WÓJCIK, M.; PIOTROWSKA-SEGET, Z. Biodegradation of the organophosphorus insecticide diazinon by *Serratia* sp. and *Pseudomonas* sp. and their use in bioremediation of contaminated soil. **Chemosphere**, Oxford, v.76, n.4, p. 494-501, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.03.023>

DIGRAK, M.; KAZANICI, F. Effect of some organophosphorus insecticides on soil microorganisms. **Turkish Journal of Biology**, v.25, p. 51-58, 2011.

DILLY, O. **Microbial energetics in soils**. In: Buscot, F., Varma, A. (Eds.), *Microorganisms in Soils, Roles in Genesis and Functions, Microorganisms*. 2005. [https://doi.org/10.1007/3-540-26609-7\\_6](https://doi.org/10.1007/3-540-26609-7_6)

DITTERICH, F. Microbial community structure and function is shaped by microhabitat characteristics in soil. 125 f. 2016. Tese de Doutorado. Institute of Soil Science and Land Evaluation, University of Hohenheim, Würzburg.

DORAN, J.W.; PARKIN, T.B. Defining and assessing soil quality. In: Doran JW, Coleman, D.C.; Bedzdicek, D.F.; Stewart, B.A. (eds) *Defining soil quality for a sustainable environment*. **Soil Science Society of America**, Madison, p. 3–35, 1994.

DUNGAN, R.S.; IBEKWE, A.M.; YATES, S.R. Effect of propargyl bromide and 1,3-dicloropropene on microbial communities in a organically amended soil. **FEMS Microbiology Ecology**, Oxford, v.43, p. 75-87, 2003. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2003.tb01047.x>

EKSCHMITT, K.; LIU, M.; VETTER, S.; FOX, O.; WOLTERS, V. Strategies used by soil biota to overcome soil organic matter stability why is dead organic matter left over in the soil?. **Geoderma**, Amsterdam, v. 128, p.167-176, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.12.024>

EMBRAPA. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 2. ed. 2006. Rio de Janeiro - RJ: EMBRAPA-SPI.

EMBRAPA. O mundo rural no Brasil do século 21: a formação de um novo padrão agrário e agrícola. 2014. Brasília, DF.

EMBRAPA. Manual de Métodos de Análise de Solo. 2. ed. 2011. Rio de Janeiro, 230 p. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/990374/manual-de-metodos-de-analise-de-solo>>. Acesso em: 20 de Janeiro de 2018.

ENFIELD, C.G.; YATES, S.R. Organic Chemical transport to groundwater. In: CHENG, H.H. ed. *Pesticides in the soil environment: Processes, impacts, and modeling*. 2 ed. **Soil Science Society of America**, Madison, p. 271-302, 1990.

EPELDE, L. Microbial properties and attributes of ecological relevance for soil quality monitoring during a chemical stabilization field study. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 75, p. 1-12, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.10.003>

FERNANDEZ-BAYO, J.D.; SAISON, C.; VOLTZ, M.; VEREECKEN, H.; BERNS, A.E.

Sorption Characteristics of Chlordecone and Cadusafos in Tropical Agricultural Soils. **Current Organic Chemistry**, Hilversum, v. 17, n. 24, p. 2976-2984, 2013. <https://doi.org/10.2174/13852728113179990121>

FERREIRA, A.S.; OLIVEIRA, R.S.; SANTOS, M.A.; BORGES, E.M. Respiratory activity of soil microbiota and glucose content in response to phosphorus addition in Cerrado soil-Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.32, p.1891-1897, 2008.

FERREIRA, E.P.B. Microbial soil quality indicators under different crop rotations and tillage management. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 2, p. 177-183, 2010.

FILETI, M.S.; SIGNORI, G.; BARBIERI, M.; GIROTO, M.; FELIPE, A.L.S.; JUNIOR, C.E.I.; SILVA, D.P.; EPIPHANIO, P.D.; LIMA, F.C.C. Controle de nematóide utilizando adubos verdes. **Revista científica eletrônica de agronomia** –ISSN: 1677-0293, n. 20, 2011.

FOLEY, P.A.; CROSSON, P.; LOVETT, D.K.; BOLAND, T.M.; O' MARA, F.P.; KENNY, D.A. Whole-farm systems modelling of greenhouse gas emissions from pastoral suckler beef cow production systems. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 142, n. 3, p. 222-230, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.05.010>

FRIEDEL, J K; GABEL, D; STAHR, K. Nitrogen pools and turnover in arable soils under different durations of organic farming.II: Source- and-sink function of the soil microbial biomass or competition with growing plants? **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v.164, n.4, p. 421–429, 2001. [https://doi.org/10.1002/1522-2624\(200108\)164:4<415::AID-JPLN415>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/1522-2624(200108)164:4<415::AID-JPLN415>3.0.CO;2-D)

FUNDACENTRO. Prevenção de acidentes no trabalho com agrotóxicos: segurança e saúde no trabalho, n. 3. São Paulo: Fundação Jorge Duprat Figueiredo de Segurança e Medicina do Trabalho, Ministério do Trabalho, 1998.

FURLEY, P. A. The nature and diversity of neotropical savanna vegetation with particular reference to the Brazilian cerrados. **Global Ecology and Biogeography, Blackwell Science Ltda**, v. 8, n. 3-4, p. 223 – 241, 1999.

GAMAL, S.E.; SHAFEI, I.N.; AYMAN, S.M.; HASSAN, S.M. Kinetics and thermodynamics of adsorption of cadusafos on soils. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 172, p.1608-1616, 2005.

GEBLER, L.; SPADOTTO, C. A. Comportamento ambiental de herbicidas. In: VARGAS, L.; ROMAN, E. S. (ed.). **Manual de manejo e controle de plantas daninhas**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho. 2004. p. 57-87.

GIANFREDA, L; RAO, M A. Interactions between xenobiotics and microbial and enzymatic soil activity. **Critical Reviews in Environmental Science & Technology** v. 38, n. 4, p. 269–310, 2008. <https://doi.org/10.1080/10643380701413526>

GIANNAKOU, I O; KARPOZAS, D G; ANASTASIADES, I; TSIROPOULOS, N G; GEORGIADOU, A. Factors affecting the efficacy of non-fumigant nematicides for controlling root-knot nematodes. **Pest Management Science**, Sussex, v.61, p. 961–972, 2005. <https://doi.org/10.1002/ps.1081>

GONÇALVES-JÚNIOR, A.C. Descontaminação e monitoramento de águas e solos na região amazônica utilizando materiais adsorventes alternativos, visando a remoção de metais pesados tóxicos e pesticidas. **Inc. Soc., Brasília**, v. 6 n. 2, p.105-113, 2013.

GUNDI, V.A.; NARASIMHA, G.; REDDY B.R. Interaction effects of insecticides on microbial populations and dehydrogenase activity in a black clay soil. **Journal Environmental Science and Health B**, v.40, n. 2, p. 269–283, 2005. <https://doi.org/10.1081/PFC-200045550>

HE, X.J.; QING, L.M.; LIU, Y.L. The protective effect of borneol on experimental cerebral ischemia. **J. Guangdong Coll. Pharm.** v.2, p. 171, 2006.

HILTON-TAYLOR, C. IUCN red list of threatened species. Species Survival Commission (SSC), IUCN – The World Conservation Union, Cambridge, Reino Unido e Gland, Suíça, 2004.

HORNE, I; SUTHERLAND, T D; OAKESHOTT, J G; RUSSELL, R J. Cloning and expression of the phosphotriesterase gene *hocA* from *Pseudomonas monteilii* C11. **Microbiology**, v 148, p. 2687–2695, 2002. <https://doi.org/10.1099/00221287-148-9-2687>

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; BRANDÃO-JUNIOR, O.; KASCHUK, G.; SOUZA, R. A. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop rotation systems. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v.42, p. 288–296, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2009.05.005>

HUSAIN, K; ANSARI, R A L. Pharmacological agents in the prophylaxis/ treatment of organophosphorous pesticide intoxication. **Journal of Experimental Biology**, Amsterdam, v.48, p. 642–650, 2010.

JANGID, K.; WILLIAMS, M. A.; FRANZLUEBBERS, A. J.; JAMIE, S. S.; REEVES, J. H.; JENKINS, M. B.; ENDALE, D. M.; COLEMAN, D. C.; WHITMAN, W. B. Relative impacts of land-use, management intensity and fertilization upon soil microbial community structure in agricultural systems. **Soil Biology and Biochemistry**, Elsevier, Amsterdam, v. 40, n. 11, p. 2843-2853, 2008.

JANSSENS, I.A.; TRUMBORE, S.E. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. **Nature**, v.478, p. 49-56, 2011. <https://doi.org/10.1038/nature10386>

JENNY, H. Factors of soil formation: a system of quantitative pedology. Courier Corporation, 1994.

JENKINSON, D.S.; LADD, J.N. Microbial biomass in soils: measurement and turnover. In: Paul EA, Ladd JN (eds) **Soil biochemistry**, v. 5, p. 415–471, 1981.

JENSEN, L.S.; MUELLER, T.; MAGID, J.; NIELSEN, N.E. Temporal variation of C and N mineralization, microbial biomass and extractable organic pools in soil after oilseed rape straw incorporation in the field. **Soil Biology and Biochemistry**, Exeter, v.29, n.7, p.1.043- 1.055, 1997.

JHA, D.K.; SHARMA, G.D.; MISHRA, R.R. Soil microbial population numbers and enzyme activities in relation to altitude and forest degradation. **Soil Biology and Biochemistry**, Exeter, v.24, n. 8, p.761-767, 1992. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(92\)90250-2](https://doi.org/10.1016/0038-0717(92)90250-2)

JOHNSEN, K; JACOBSEN, C S; TORSVIK, V; SØRENSEN, J. Pesticide effects on bacterial diversity in agricultural soils – A review. **Biology & Fertility of Soils**, v.36, p. 443– 453, 2001.

KAMRIN, M. A. Pesticides Profile: Toxicity, Environmental Impact and Fate. New York: Lewis, 1997. <https://doi.org/10.1201/9781420049220>

KARPOUZAS, D.G.; KARANASIOS, E.; MENKISSOGLU-SPIROUDI, U.

Enhanced microbial degradation of cadusafos in soils from potato monoculture: demonstration and characterization. **Chemosphere**, Oxford, v. 56, p. 549-559, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.04.019>

KARPOUZAS, D.G.; FOTOPOULOU, A.; MENKISSOGLU-SPIROUDI, U.; BRAJESH, K. Non-specific biodegradation of the organophosphorus pesticides, cadusafos and ethoprophos, by two bacterial isolates. **Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 53, p. 369-378, 2005.

KARPOUZAS, D G; SINGH, B K. Microbial degradation of organophosphorus xenobiotics: metabolic pathways and molecular basis. **Advances in Microbial Physiology**, v.51, p. 119– 185, 2006. [https://doi.org/10.1016/S0065-2911\(06\)51003-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2911(06)51003-3)

KATAGI, T. Surfactant effects on environmental behavior of pesticides. **Ver. Environ. Contam. Toxicol.** v.194, p.1-177, 2008.

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

KLINK, C.A.; MACHADO, R.B. A conservação do Cerrado brasileiro Departamento de Ecologia. Instituto de Biologia. Universidade de Brasília (UnB). **Megadiversidade**, Brasília, v.1, n. 1, 2005.

KOOKANA, R.S.; ALI, A.; SMITH A.M. Contrasting effects of two antimicrobial agents (triclosan and triclocarban) on biomineralisation of an organophosphate pesticide in soils. **Chemosphere**, Amsterdam, v.107, p. 360-365, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.12.090>

LAABS, V.; WEHRHAN, A.; PINTO, E.; DORES, W.; AMELUNG. Pesticide fate in tropical wetlands of Brazil: An aquatic microcosm study under semi-field conditions. **Chemosphere**, Amsterdam, v. 67, p.975-989, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.10.067>

LAMBERTI, F.; GRECO N.; DI VITO, M. Possible alternatives to methyl bromide for the control of plant parasitic nematodes in Italia. **Nematol. Medit**, v. 26, p. 91-93, 1998.

LARCHEVÊQUE, M.; BALLINI, C.; KORBOULEWSKY, N. MONTES, N. The use of compost in afforestation of Mediterranean areas: Effects on soil properties and young tree seedlings. **Science of the Total Environment**, Elsevier, Amsterdam, v. 369, n. 1-3, p. 220 – 230, 2006.

LAVELLE, P. Ecology and the challenge of a multifunctional use of soil. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.44, n.8, p.803-810, 2009.

LO, C-C. Effect of pesticides on soil microbial community. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 45, n.5, p.348-359, 2010. <https://doi.org/10.1080/03601231003799804>

MACHADO, R.B.; RAMOS NETO, M.B.; PEREIRA, P.; CALDAS, E.; GONÇALVES, D.; SANTOS, N.; TABOR, K.; STEININGER, M. Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. Conservation International do Brasil, Brasília, 2004.

MAMILOV, A.S.; DILLY, O.M. Soil microbial ecophysiology as affected by shortterm variations in environmental conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, Exeter, v.34, n.9, p.1.283-1.290, 2002.

MANZATTO, C. V.; DE FREITAS JUNIOR, E.; PERES, J. R. R. Uso agrícola dos solos brasileiros. **Embrapa**, 2002. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04225.x>

MANZONI, S., TAYLOR, P., RICHTER, A., PORPORATO, A., ÅGREN, G.I. Environmental and stoichiometric controls on microbial carbon-use efficiency in soils. **New Phytologist**, Cambridge, v. 196, p. 79-91, 2012.

MARONI, M.; COLOSIO, C.; FERIOLI, A.; FAIT, A. Organochlorine pesticides. **Toxicology**, v. 143, n. 1, p. 61-75, 2000.

MARRIS, E. Conservation in Brazil: The forgotten ecosystem. **Nature**, v. 437, n. 7061, 128 p. 944 – 945, 2005.

MARTINELLI, L. A.; NAYLOR, R.; VITOUSEK, P. M.; MOUTINHO, P. Agriculture in Brazil: impacts, costs, and opportunities for a sustainable future. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, v. 2, n. 5, p. 431-438, 2010.

MARTINEZ-TOLEDO, M.V.;GONZALEZ-LOPEZ, J. Effect of an organophosphorus insecticide, profenofos, on agricultural soil microflora. **Chemosphere**, Oxford, v. 24, n.1, p.71–80, 1992. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(92\)90568-C](https://doi.org/10.1016/0045-6535(92)90568-C)

MAYANGLAMBAM, T.; SINGH, D.K.; K VIG. Quinalphos Persistence and Leaching Under Field Conditions and Effects of Residues on Dehydrogenase and Alkaline Phosphomonoesterases Activities in Soil. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.75, n.6, p.1067-76, 2005. <https://doi.org/10.1007/s00128-005-0858-x>

MELO, V. F.; CASTILHOS, R. M. V.; PINTO, L. F. S. Reserva Mineral do Solo, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo (**Química e Mineralogia do Solo- Parte II**), f 252, 2009.

MENDONÇA, E. S.; MATOS, E. S. Matéria Orgânica do Solo: Métodos de análises. 2005. Ed. Viçosa- MG.

MIN, H.; YE, Y. F.; CHEN, Z.Y. Effects of butachlor on microbial populations and enzyme activities in paddy soil. **Journal Environmental Science Health**, v.36, n.5, p. 581-595, 2001. <https://doi.org/10.1081/PFC-100106187>

MONTEIRO, R. T. R. Degradação de pesticidas. In: MELO, I.S & AZEVEDO, J.L., ed., **Microbiologia Ambiental**. Jaguariuna: Embrapa, CNPMA. 1997 p. 107-124.

MOREIRA, W A; BARBOSA, F R; MOURA, A O. Distribuição populacional de fitonematoides em goiabeira do vale do São Francisco. In XXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 23. 2001, Marília. **Nematologia Brasileira**, Marília, v.25, n.1, p.125, 2001.

MORENO, J.L.; ALIAGA, A.; SIMÓN, N.; HERNANDEZ, T.; GARCIA C. Effects of atrazine on microbial activity in semiarid soil. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v.35, n.1, p.120-127, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2006.05.002>

MORENO, G.; HIGA, T. C. S Geografia de Mato Grosso. Cuiabá: Entrelinhas. 2005.

MÜLLER, C. Expansion and modernization of agriculture in the Cerrado – the case of soybeans in Brazil's center-West. Department of Economics Working, 306f. 2003. Universidade de Brasília, Brasília.

MYERS, N.; MITTERMEIER, M.A.; MITTERMEIER, C.G.; FONSECA, G.A.B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853-858, 2000.

NANNIPIERI, P; ASHER, J; CECCHERINI, M T; LANDI, L; PIETRAMELLARA, G; RENELLA, G. Microbial diversity and soil functions. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v.54, p. 655–670, 2003. <https://doi.org/10.1046/j.1351-0754.2003.0556.x>

NASS, D. P. O conceito de poluição .Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo. **Revista Eletrônica de Ciências**. 2002. Disponível em: <<http://graduacao.iqsc.usp.br/files/poluicao.pdf>> Acesso em: 20 de Janeiro de 2018.

NAWAZ, M; ABBASI, M W; HISAINDEE, S. Synthesis, characterization, antibacterial, anti fungal and nematicidal activities of 2-amino-3-cyanochromenes. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**, Lausanne, v. 164, p. 160–163, 2016.

NOGUEIRA, M.A.; HUNGRIA, M. Indicadores microbiológicos da qualidade do solo. Embrapa Soja - Artigo em anais de congresso, 2013.

NUNES, A.L.; VIDAL, A.R. Seleção de plantas quantificadoras de herbicidas residuais. **Pesticidas: r. ecotoxicol. e meio ambiente**, Curitiba, v. 19, p. 19, 2009.

ODUM, E. P. Trends expected in stressed ecosystems. **BioScience**, Londres, v.35, p. 419-422, 1985. <https://doi.org/10.2307/1310021>

ODUM, E.P. **Ecologia**. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogana. 1988. 434p.

OLIVERA-VELONA, A.; BENOIT, P.; BARRIUSO, E.; ORTIZ-HERNANDEZ, L.

Sorption and desorption of organophosphate pesticides, parathion and cadusafos, on tropical agricultural soils. **Agronomy for Sustainable. Development**, v. 28, p. 231–238, 2008.

OPAS - ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. Manual de vigilância da saúde de populações expostas a agrotóxicos. Brasília: Ministério da Saúde, Organização Panamericana da Saúde/OMS. 1997 72p. Disponível em <http://www.opas.org.br/sistema/arquivos/livro2.pdf>> Acesso em: 20 de Janeiro de 2018.

PASSOS, F.; REIS, M.R. Resíduos de agrotóxicos em alimentos de origem vegetal: revisão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, 2013.

PEIXOTO, F.G.T. Microbiana e atividade enzimática em solos do estado de São Paulo sob vegetação nativa e cultivados. Dissertação de mestrado. 2010. 83 p. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Jaboticabal, São Paulo.

PELAEZ, V.; TERRA, F.H.B.; SILVA, L. R. A regulamentação dos agrotóxicos no Brasil: entre o poder de mercado e a defesa da saúde e do meio ambiente. **Revista de Economia**, v.36, n. 1, p. 27-48, 2010. <https://doi.org/10.5380/re.v36i1.20523>

PERES T.B. Efeito da aplicação de pesticidas na atividade microbiológica do solo e na dissipação do <sup>14</sup>C-paration metílico. Dissertação de mestrado. Instituto de pesquisas energéticas e nucleares Autarquia associada à Universidade de São Paulo. São Paulo. 2000. 87 f.

PRATA, F.; LAVORENTI A.; REGITANO, J.B; TORNISIELO, V.J. Degradação e absorção de diuron em solos tratados com vinhaça. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, p.217-223, 2000.

PRESCOTT, L. M.; HARLEY, J.P.; KLEIN, D.A. **Microbiology**, Iowa. 1993. p. 119.

PRESOTI, A.E.P. Avaliação de impactos ambientais da sojicultura em um ecossistema aquático da microrregião de Chapadinha, MA. São Luis. Universidade Federal do Maranhão. 2008. 117 p.

REIS, M.R; SILVA, A.A.; COSTA, M.D.; GUIMARÃES, A.A.; FERREIRA, E.A.; SANTOS, J.B.; CECON, P.R. Atividade microbiana em solo cultivado com cana-de-açúcar após aplicação de herbicidas. **Planta Daninha**, Rio de Janeiro, v.26, n.2, p.323-331, 2008.

RESENDE, M.; CURI, N.; REZENDE, S.B.; CORRÊA, G.F. **Pedologia: base para distinção de ambientes**. 4 ed. Viçosa: NEPUT. 2002. 338p.

RIBAS, P.P.; MATSUMURA, A.T.S. A química dos agrotóxicos: impacto sobre a saúde e meio ambiente. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, v. 10, n. 14, p. 149-158, 2009.

RIBEIRO, D. H. B.; VIEIRA, E. Avaliação do potencial de impacto dos agrotóxicos no meio ambiente. Artigo em Hypertexto.2010 Disponível em:

<[http://www.infobibos.com/Artigos/2010\\_2/agrotoxicos/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2010_2/agrotoxicos/index.htm)>. Acesso em: 20 de Janeiro de 2018.

RITZINGER, C.H.S.P.; FANCELLI, M. Manejo integrado de Nematóides na cultura da bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v., 28, .2, p. 331-338, 2006.

ROBERTS, T. R.; HUTSON, D.H.; LEE, P.W.; NICHOLLS, P.H.; PLIMMER, J.R. Metabolic pathways of agrochemicals. Part 1: Herbicides and plant growth regulators. **The Royal Society of Chemistry**, p. 386-400, 1998. <https://doi.org/10.1039/9781847551382>

SANTOS, E.A.; COSTA, M.D.; FERREIRA, L.R.; REIS, M.R.; FRANÇA, A.C.; SANTOS, J.B. Atividade rizosférica de solo tratado com herbicida durante processo de remediação por *Stizolobium aterrimum*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.40, n.1, p.1-7, 2010.

SAVIOZZI, A.; BUFALINO, P.; LEVI-MINZI, R.; RIFFALD, R. Biochemical activities in a degraded soil restored by two amendments: a laboratory study. **Biology & Fertility of Soils**, Berlin, v. 35, p. 96-101, 2002. <https://doi.org/10.1007/s00374-002-0445-9>

SAVOY, V.L.T. Classificação dos Agrotóxicos. **Instituto Biológico**, São Paulo, v. 78, n. 1, p.91-92, 2011.

SEYBOLD, C.A.; Herrick, J.E.; Brejda, J.J. Soil resilience: a fundamental componente of soil quality. **SoilSci**, v.164, p.224–234, 1999. <https://doi.org/10.1097/00010694-199904000-00002>

SINGH, J.; SINGH, D.K. Dehydrogenase and phosphomonoesterase activities in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) field after diazinon, imidacloprid and lindane treatments. **Chemosphere**. Oxford, v. 60, n.1, p.32-42, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.11.096>

SINGH, S K; HODDA, M; ASH, G J. Plant-parasitic nematodes of potential phytosanitary importance, their main hosts and reported yield losses. **EPPO Bulletin**, v.43, p.334–374, 2013. <https://doi.org/10.1111/epp.12050>

SHEN, J.; BARTHA, R. Metabolic Efficiency and Turnover of Soil Microbial Communities in Biodegradation Tests†. **Applied and environmental microbiology**, Amsterdam, v. 62, n. 7, p. 2411–2415, 1996.

SHERWOOD, S.; UPHOFF, N. Soil health: research, practice and policy for a more regenerative agriculture. **Appl Soil Ecol.**, v.15, p.85–97, 2000.

STENBERG, B. Monitoring soil quality of arable land: microbiology indicators. **Soil and Plant Science**, Copenhagen, v. 49, p.1-24, 1999.

STOLF, E C. Efeito de fungos endofíticos sobre o desenvolvimento de nematoides da bananeira (*Musa spp.*). 2006. 50f. Trabalho de conclusão de curso. Centro Agrônômico Tropical de Investigación y Enseñanza, Florianópolis.

SILVA, A.P.; MEOTTI, F.C.; SANTOS A.R.S.; FARINA, M. Lactational exposure to malathion inhibits brain acetylcholinesterase in mice. **NeuroToxicology**, v.27, p.1101-1105, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2006.04.002>

SILVA, J.M.C.; BATES, J.M. Biogeographic patterns and conservation in the South American Cerrado: a tropical savanna hotspot. **BioScience**, v.52, p. 225-233, 2002.

SISINNO, C. L. S.; BULUS, M. R. M.; RIZZO, A. C.; MOREIRA, J. C. Ensaio de Comportamento com Minhocas (*Eisenia fetida*) para Avaliação de Áreas Contaminadas: Resultados Preliminares para Contaminação por Hidrocarbonetos. **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, v. 1, n. 2, p.137-140, 2006. <https://doi.org/10.5132/jbse.2006.02.009>

SINSABAUGH, R.L.; MANZONI, S.; MOORHEAD, D.L.; RICHTER, A. Carbon use efficiency of microbial communities, stoichiometry, methodology and modelling. **Ecology Letters**, Oxford, v. 16, p. 930-939, 2013. <https://doi.org/10.1111/ele.12113>

SCHMIDT, M.W.; TORN, M.S.; ABIVEN, S.; DITTMAR, T.; GUGGENBERGER, G.; MADHAIYAN, M.; POONGUZHALI, S.; RYU, J.-H. Regulation of ethylene levels in canola (*Brassica campestris*) by 1- aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase-containing *Methylobacterium fujisawaense*. **Planta**, v.224, p. 268–278, 2006.

SEYBOLD, C.A.; HERRICK, J.E.; BREJDA, J.J. Soil resilience: a fundamental component of soil quality. **Soil Sci**, v. 164, p. 224–234, 1999. <https://doi.org/10.1097/00010694-199904000-00002>

SPARLING, G.P.; WEST, A.W. A direct extraction method to estimate soil microbial C: Calibration *in situ* using microbial respiration and <sup>14</sup>C labeled cells. **Soil Biol. Biochem.**, v.20, p.337-343, 1988.

SPARLING, G.P. Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling as indicators of soil health. In: Pankhurst CE, Doube BM, Gupta VVSR (eds) Biological indicators of soil health. **CAB International**, Wallingford, p. 97–119, 1997.

SPADOTTO, C.A. Abordagem Interdisciplinar na Avaliação Ambiental de Agrotóxicos. Revista Núcleo de Pesquisa Interdisciplinar. 2006. Disponível em <<http://www.fmr.edu.br/npi/003.pdf>> Acesso em: 20 de Janeiro de 2018.

SPOHN, M.; KLAUS, K.; WANEK, W.; RICHTER, A. Microbial carbon use efficiency and biomass turnover times Q<sub>10</sub> depending on soil depth e Implications for carbon cycling. **Chemosphere**, Oxford, v.56, p. 549-559, 2004.

STOTZKY, G. Microbial respiration. In: Black CA (Ed), Methods of soil analysis. **American Society of Agronomy**, v.2, p. 1551-1572, 1965.

TOMLIN, C. The pesticide manual, 13th edn. **British Crop Protection Council**, UK. 2013.

TÓTH, G.; STOLBOVOY, V.; MONTANARELLA, L. Soil quality and sustainability evaluation: an integrated approach to support soil-related policies of the European Union. Institute for Environment and Sustainability, **European Communities**, Luxembourg. 2007. 52 pp.

TREVORS, J.T. Dehydrogenase activity in soil. A comparison between the INT and TTC assay. **Soil Biol Biochem.**, v. 16, p. 673–674, 1984. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(84\)90090-7](https://doi.org/10.1016/0038-0717(84)90090-7)

TU, C.M. Effects of some pesticides on enzyme activities in an organic soil. **Bull Environ. Contamin. Toxicol.**, v. 27, p. 109-114, 1981.

- TURCO, R F; KENNEDY, A C; JAWSON, M D. Microbial indicators of soil quality. **Defining Soil Quality for a Sustainable Environment**, Madison ,v.35, p. 73-90, 1994.
- VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry, Elsevier**, Amsterdam, v. 19, n. 6, p. 703 – 707, 1987.
- VISSER, S.; PARKINSON, D. Soil biological criteria as indicators of soil quality: soil microorganism. **American Journal of Alternative Agriculture**, Greenbelt, v. 7, n. 1, p.33-37, 1992.
- VON MERSE, W.; SCHINNER, F. An improved and accurate method for determining the dehydrogenase activity of soils with iodinitrotetrazolium chloride. **Biol Fertil Soils**, v.11, p. 216-220, 1991. <https://doi.org/10.1007/BF00335770>
- ZHENG S.Q.; COOPER J.F.; PALCY L.; COSTE C.M.; MARNOTTE P. Mobility and dissipation of cadusafos in banana fields in Martinique. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v.156, p. 1–9, 1994. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(94\)90415-4](https://doi.org/10.1016/0048-9697(94)90415-4)
- ZILLI, J.E.; RUMJANEK, N.G.; XAVIER, G.R.; COSTA COUTINHO, H.L.; NEVES, M.C.P.. Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. **Caderno de Ciencia & Tecnologia.**, n.3, v. 20, 2003.
- WANG, L.; ZANG, Y.; HE, Y.; LIANG, M.; ZHANG, X.; TIAN, L.; WU, T.; JIANG, T.; LI, K. Changes in hippocampal connectivity in the early stages of Alzheimer’s disease: evidence from resting state fMRI. **Neuroimage**, v.31, n.2, p.496-504, 2006.
- WARDLE, D.A. A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. **Biologia Verde**, v. 67, p. 321–358, 1992.
- WARDLE, D.A. Controls of temporal variability of the soil microbial biomass: a global scale synthesis. **Soil Biol Biochem**, v.30, p. 1627–1637, 1998.
- WEBER, J. B., WILKERSON, G.G., REINBARDT, C.F. Calculating pesticide sorption coefficients ( $K_{sub}(d)$ ) using selected soil properties. **Chemosphere**, Oxford, v. 55, p. 157-166, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2003.10.049>