
Biodegradação de Fungicidas

**Célia Maria Maganhotto de Souza Silva, Elisabeth Francisconi Fay e
Rosângela Blotta Abakerli**

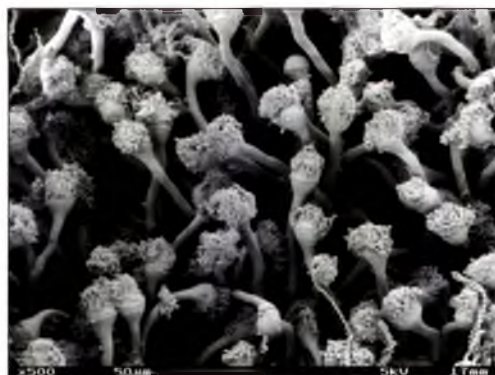


Foto: I.S. Melo

I. Introdução

A estimativa de aplicação de agrotóxicos em escala mundial é em torno de 2,5 milhões de toneladas ano⁻¹. Entre as classes de agrotóxicos, a dos fungicidas, responde por 15,2% do valor das vendas totais dos compostos usados na agricultura brasileira em 2000, sendo superado pelos herbicidas (52%) e pelos inseticidas incluindo os formicidas (27,6%), acaricidas (2,6%) e outros, que incluem antibrotantes, reguladores de crescimento, óleo mineral e espalhantes adesivos (2,5%), de acordo com os dados do Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola (SINDAG) (FERREIRA *et al.*, 2002). No Brasil, as vendas de fungicidas, em valores correntes, aumentaram de US\$ 147 milhões em 1991 para US\$ 380,5 milhões em 2000 (FERREIRA *et al.*, 2002).

A Tabela 1 mostra os principais grupos de fungicidas usados no Brasil em 2001 (ANDEF, 2003). Os triazóis junto com os benzimidazóis mantêm a liderança seguidos dos alquilfenóis(ditiocarbamatos) e das estrobirulinas.

A preocupação com o efeito adverso dos agrotóxicos no ambiente e na saúde humana iniciou-se na década de 1960 (CARSON, 1962). Eles geralmente causam efeitos ambientais não intencionais uma vez que não são totalmente seletivos para os organismos alvo. A quantidade de produto que entra em contato direto ou que é consumida pelas espécies alvo é extremamente baixa, em torno de 0,3% do que é aplicado, portanto, 99,7% vão para “algum lugar” no ambiente (PIMENTEL, 1995). Uma vez que o uso destes produtos na agricultura leva a exposição inevitável de organismos não-alvo (incluindo humanos), efeitos colaterais indesejáveis podem ocorrer em algumas espécies, comunidades ou no ecossistema como um todo (Van der WERF, 1996). Existe consenso de que o impacto ambiental de um agrotóxico depende do

TABELA 1. Principais classes de fungicidas utilizadas no Brasil em 2001.

Classes Fungicidas	Percentual de Uso
triazóis	28
benzimidazóis	23
ditiocarbamatos	11
estrobirulinas	9
ftalonitrilas	5
cobre	5
organoestânico	4
ftalimidas	3
fenilamidas	2
outros	10

Fonte: Andef, 2003.

grau de exposição (sua dispersão e conseqüente concentração no ambiente) e de suas propriedades toxicológicas (SEVERN & BALLARD, 1990; EMANS *et al.*, 1992).

É importante salientar que a classificação quanto à toxicidade dos ingredientes ativos (BRASIL, 1998) depende da formulação, estado físico, e toxicidade oral ou dérmica (Tabela 2). Os adjuvantes usados nas formulações de agrotóxicos podem modificar os efeitos agrônômicos (efetividade e fitotoxicidade) do produto formulado. Também podem causar impactos ambientais, uma vez que a dispersão padrão pode ser alterada e o período de atividade funcional do ingrediente ativo pode ser prolongado ou sua biodegradação impedida ou retardada (LEVITAN *et al.*, 1995). Infelizmente, pouquíssima informação sobre o efeito e o destino dos adjuvantes está disponível na literatura científica e, portanto, o papel dos adjuvantes não será levado em consideração neste capítulo.

Devido às baixas doses aplicadas, os fungicidas usados hoje na agricultura não constituem um sério risco em relação aos problemas de toxicidade aguda para mamíferos, embora um produto com baixa toxicidade possa ser perigoso devido à concentração, alta volatilidade, descuidos na aplicação ou efeitos em longo prazo.

Após a verificação de que os fungicidas ou seus produtos de degradação possam ter um efeito tóxico obscuro ou retardado no homem ou em outros organismos, ou ainda entrar na cadeia alimentar, podendo bioconcentrar, tiveram início as preocupações sobre o destino destes compostos no ambiente, as quais hoje são consideráveis.

Além disso, hoje existe a preocupação relacionada com a possível interferência dos agrotóxicos com o funcionamento do sistema endócrino tanto em humanos como em animais, tanto que alguns deles estão sendo chamados de disruptores endócrinos ou disruptores xenoendócrinos (EDC's) (GRAY, 1998). Esses compostos podem ocasionar uma série de problemas no desenvolvimento, comportamento e reprodução. Embora os riscos associados aos disruptores endócrinos para a saúde humana e ambiente não sejam claros, estão sendo objeto de muita pesquisa, as quais visam reduzir ou mitigar os riscos dos mesmos (KOOKANA *et al.*, 1998). Entre os fungicidas podem-se citar os princípios ativos carbendazim, benomil, vinclozolina e procimidona como disruptores endócrinos propriamente ditos (OSTBY *et al.*, 1999; VIGGAARD *et al.*, 1999), enquanto penconazol, procloraz, propiconazol, tridemorfe, epoxiconazol, e metiram são considerando potenciais disruptores pela Agência de Proteção Ambiental da Alemanha (ENDS, 1999).

TABELA 2. Classificação toxicológica de fungicidas e LD₅₀ (mg kg⁻¹).

Classe		LD ₅₀ para ratos (mg kg ⁻¹ peso corporal)			
		Oral		Dérmica	
		Sólidos ^a	Líquidos ^a	Sólidos ^a	Líquidos ^a
I	Extremamente Tóxico	5 ou <	20 ou <	10 ou <	40 ou <
II	Altamente Tóxico	5 - 50	20 - 200	10 - 100	40 - 400
III	Medianamente Tóxico	50 - 500	200 - 2.000	100 - 1.000	400 - 4.000
IV	Pouco Tóxico	> 500	> 2.000	> 1.000	> 4.000

^a: os termos "sólidos" e "líquidos" indicam o estado físico do ingrediente ativo classificado.

LD₅₀: IPCS. 2002.

Portanto, já é bem reconhecida a necessidade de conhecer tanto as características degradativas quanto os efeitos biológicos das novas moléculas com atividade fungicida, além das já existentes.

As informações sobre a biodegradação lamentavelmente são incompletas. Existem informações parciais disponíveis na literatura sobre a biodegradação de aproximadamente 1000 compostos, sendo que menos de 0,01% dos compostos orgânicos conhecidos foram testados (WACKETT & ELLIS, 1999).

As rotas pelas quais os fungicidas são dissipados ou dispersados das áreas-alvo após a aplicação já são bem conhecidas. O que ainda não é bem conhecido é a importância relativa quantitativa de cada rota, o que dependerá das propriedades físicas e químicas das moléculas orgânicas. As perdas dos fungicidas são causadas principalmente pela degradação química ou biológica do composto que alcança a superfície do solo. A perda por escoamento superficial é menor que 5%, por lixiviação provavelmente menor que 1%, enquanto que a volatilização pode explicar perdas de 40-80%, dependendo das propriedades físicas e ambientais (SCHNOOR, 1992; SCHIAVON *et al.*, 1995). Perdas por volatilização entre 80-90% foram medidas poucos dias após a aplicação (GLOTFELTY *et al.*, 1984; TAYLOR & SPENCER, 1990).

A influência dos fungicidas na biota do solo é determinada pela persistência do composto orgânico que, por sua vez, é dependente de importantes fatores físicos (temperatura, umidade, fatores climáticos, textura do solo, entre outros), químicos (matéria orgânica, estado nutricional do solo, entre outros.) e biológicos (biomassa microbiana, diversidade biológica e cobertura vegetal). As propriedades físico-químicas da molécula do fungicida como: tamanho molecular, ionizabilidade, solubilidade em água, lipofilicidade, polarizabilidade e volatilidade governarão o seu comportamento no solo e sua atividade biológica. As variáveis ambientais como temperatura e conteúdo de umidade não controlam especificamente a biodegradação, mas controlam a atividade metabólica microbiana nos solos.

Embora possam existir condições favoráveis para a atividade microbiana nos solos, a degradação dos agrotóxicos pode ser dificultada devido à baixa disponibilidade do composto como resultado da limitação de transferência de massa via processos de sorção, dessorção ou solubilização. Além disso, o tipo e quantidade de matéria orgânica e argilas presentes, a temperatura local e umidade, o histórico de uso e aplicação, também afetam a velocidade de degradação dos agrotóxicos (KOOKANA *et al.*, 1998). Portanto, a degradabilidade de uma molécula deve ser definida em relação ao meio a que está exposta.

Os microrganismos do solo têm uma função importante na atenuação do impacto ambiental dos compostos orgânicos que estão biodisponíveis, uma vez que eles podem adaptar-se à presença destes compostos potencialmente tóxicos e sobreviver por meio de sua transformação ou degradação. É essencial fazer a distinção entre estes dois processos. A transformação é todo e quaisquer processos físico, químico ou biológico que acarrete mudanças na natureza química de uma molécula com atividade agrotóxico. As degradações química e biológica dos agrotóxicos são os principais processos envolvidos nas transformações, ocorrem simultaneamente, sendo difícil definir a contribuição relativa de cada processo. Deve ser enfatizado

que a transformação de agrotóxicos está relacionada com o aparecimento de metabólitos com propriedades diferentes do composto parental - frequentemente mais polares, mais solúveis em água e mesmo mais tóxicos os quais podem lixiviar mais facilmente.

Como são poucos os dados disponíveis sobre a ocorrência ou comportamento ambiental dos metabólitos, as predicções devem ser baseadas no conhecimento das propriedades químicas relevantes e da provável ocorrência de metabólitos em associação com o composto parental. Deve ser assumido que processos de transformação e transporte influenciarão o destino dos metabólitos e suas propriedades físicas determinarão sua partição nos compartimentos ambientais (KOOKANA & AYLMOORE, 1994; PLIMMER, 2002).

Por exemplo, os produtos iniciais da biotransformação podem, em alguns casos, ser incorporados ao material celular como os ácidos carboxílicos formados pela oxidação dos *n*-alquil cloretos de cadeia longa, incorporados aos ácidos graxos pelas linhagens de *Mycobacterium* sp. (MURPHY & PERRY, 1983); metabólitos do metolaclopro que poderiam ser extraídos de células com acetona, aparentemente ficaram ligados quimicamente em componentes celulares, não identificados, que continham enxofre (LIU *et al.*, 1989).

Segundo Alexander (1999) a detoxicação é o papel mais importante desempenhado pelos microrganismos na transformação de agrotóxicos, tornando-os menos ativos a uma ou mais espécies susceptíveis. A detoxicação resulta em inativação, com a substância toxicologicamente ativa sendo convertida em um produto inativo. Como a atividade toxicológica está associada com muitas propriedades químicas da molécula (estrutura, solubilidade, concentração, grupos substituintes, entre outros), com os modos de ação, a detoxicação similarmente inclui um grande conjunto de diferentes tipos de reações, tais como, hidrólise, hidroxilação, dehalogenação, metilação, nitro-redução, conversão de nitrila à amida, dentre outras. Estas reações, entretanto, não são sempre de detoxicação, pois pode ocorrer a formação de produtos mais tóxicos que os parentais.

A formação de substâncias mais tóxicas é um dos aspectos mais surpreendentes, e possivelmente, o mais indesejável da biotransformação. Um grande número de compostos que são inócuos pode e frequentemente são convertidos a produtos mais tóxicos, tanto para microrganismos, plantas, animais quanto para o homem. Neste caso, os microrganismos desenvolvem poluentes onde não os havia. O processo de formação de produtos tóxicos a partir de precursores inócuos é chamado de ativação. A ativação ocorre em solo, água, e em outros ambientes nos quais os microrganismos são ativos, e o composto produzido pode ser persistente ou não. A conversão pode representar uma reação simples ou uma sequência simples de um processo co-metabólico.

Como conseqüências da ativação podemos ter a biossíntese de compostos carcinogênicos, mutagênicos, teratogênicos, fitotoxinas e produtos com atividade inseticida e fungicida. Como exemplo cita-se os ditiocarbamatos que geram etilenotiouréia (ETU). Além disso, a mobilidade do produto de ativação é algumas vezes muito diferente do parental, podendo então o produto ser transportado para locais distantes, com uma bem maior ou significativamente menor mobilidade. A

ativação também pode ocorrer durante a biorremediação, particularmente se houver biotransformação das moléculas, no lugar de biodegradação.

A biodegradação, por sua vez, sob condições aeróbicas resulta na mineralização de um composto orgânico para dióxido de carbono e água e – se o composto contém nitrogênio, enxofre, fósforo ou cloro – com a liberação de amônio (ou nitrito), sulfato, fosfato ou cloreto. Estes produtos inorgânicos podem entrar nos ciclos biogeoquímicos. Sob condições anaeróbicas, pode ser formado metano além do dióxido de carbono, e o sulfato pode ser reduzido para sulfeto (NEILSON, 2000).

A biodegradação e a biotransformação são, geralmente, alternativas, mas elas não são mutuamente exclusivas. Por exemplo, Allard *et al.* (1987) propuseram que a reação de *O*-metilação para compostos clorofenólicos poderia ser uma alternativa importante em suas rotas degradativas. Além do significado ambiental muitas reações da biotransformação têm enorme importância na biotecnologia, como por exemplo, a síntese de derivados do esteroide e as reações que tiram vantagem do potencial oxidativo das bactérias metanotróficas (LINDSTROM & STIRLING, 1990) e dos rodococci (FINNERTY, 1992).

2. Metabolismo dos fungicidas

O catabolismo dos fungicidas normalmente envolve uma hidrólise seguida do metabolismo por microrganismos adaptados, os quais utilizam os produtos da hidrólise como nutriente ou fonte de energia. O metabolismo frequentemente resulta na completa mineralização de um fungicida, isto é, em sua conversão para dióxido de carbono, água e íons inorgânicos. Esta rota metabólica consiste de uma série de reações sequenciais de transformação, cujo propósito é a conversão do fungicida em moléculas que possam ser processadas pelo metabolismo intermediário ou central, servindo então como precursores para a biossíntese dos constituintes celulares (JANKE & FRITSCH, 1985). A energia necessária aos propósitos biossintéticos é derivada da oxidação completa da porção remanescente para CO_2 e água. As primeiras reações periféricas são normalmente catalisadas por enzimas que são induzidas pelo fungicida substrato e que tem uma limitada especificidade de substrato. Os genes que codificam as enzimas que catalisam estas reações iniciais, frequentemente residem em plasmídeos.

É também importante considerar a degradação de agrotóxicos no amplo contexto das reações que ocorrem fora das células. As células precisam obter energia para realizar as reações biossintéticas essenciais (anabolismo) para a continuidade de sua existência e serem capazes de crescer e reproduzir-se. O substrato não pode, portanto, ser degradado inteiramente para dióxido de carbono ou metano, por exemplo, uma porção precisa ser canalizada para a biossíntese de moléculas essenciais. Na verdade, muitos organismos somente degradarão agrotóxicos na presença de um substrato de crescimento mais facilmente degradável, o qual fornecerá carbono para a célula e energia para o crescimento. O fenômeno onde a degradação ocorre na presença de dois substratos tem sido denominado de co-oxidação, ou menos especificamente de co-metabolismo ou metabolismo concorrente. Pesquisas sobre

estas transformações co-metabólicas microbianas revelam que estes processos são normalmente atribuídos a atividades de enzimas não específicas do metabolismo periférico celular, capazes de modificar outras substâncias que não são seus substratos naturais.

A especificidade das enzimas ativas contra agrotóxicos difere de um microrganismo para outro. O metabolismo fortuito, não específico, fornece um importante mecanismo para a degradação de agrotóxicos no ambiente (KNACKMUSS, 1981; SLATER & LOVATT, 1984). A transformação fortuita de substratos por estas enzimas de baixa especificidade é provavelmente a forma predominante de degradação de agrotóxicos, principalmente quando eles estão em concentrações muito baixas.

3. Biotransformação de fungicidas

3.1 Fungicidas inibidores da demetilação (DMI)

Várias classes de fungicidas atuam inibindo a biossíntese de esteróis, sendo o grupo mais importante já desenvolvido para o controle de doenças fúngicas, exibindo vários graus de sistemicidade e altíssima potência antifúngica. Estes fungicidas foram, inicialmente, chamados de inibidores da biossíntese de ergosterol. Atualmente passaram a ser classificados como inibidores da biossíntese de esterol, uma vez que existem fungos como os oídeos e ferrugens, onde o ergosterol não é o principal esterol produzido (LINHARES & GHINI, 2001).

Incluem compostos químicos, que necessitam de um anel heterocíclico para sua atividade e são estruturalmente muito diversificados, como morfolinas, piperazinas, imidazóis, pirimidinas e triazóis, e compartilham as seguintes características: apresentam pelo menos um anel heterocíclico (N), contém pelo menos um carbono assimétrico (há exceção) e interferem na síntese de esteróis. Na Tabela 3 apresentamos os fungicidas do grupo dos DMI utilizados no país.

A persistência no solo destes compostos causa preocupação ambiental. Poucos são os trabalhos encontrados na literatura sobre este parâmetro. A persistência destes compostos poderia levar a sua acumulação no campo após aplicações repetidas, lixiviação dos mesmos para aquíferos e drenos, ou causar efeitos deletérios nos processos microbiológicos do solo. Contudo, estes compostos são pelo menos moderadamente lipofílicos e assim moderadamente sorvidos no solo (JAMET & EUDELINE, 1992).

Os fungicidas triazóis (Figura 1) são os compostos mais importantes deste grupo, sendo os mais usados no país (Tabela 1).

O flutriafol é o mais polar dos fungicidas triazóis e foi moderadamente móvel no solo (WECHSLER *et al.*, 1996). O flutriafol (PP450) é muito persistente em testes de laboratório utilizando solo argiloso à temperatura de 15°C, ainda que o benzotriazol substituído tenha sido rapidamente degradado por microrganismos,

TABELA 3. Grupos químicos e ingredientes ativos dos demetiladores da biossíntese de esteróis (DMI).

Grupo químico	Ingrediente ativo
Imidazóis	Imazalil, procloraz, triflumizol
Piperazina	Triforine
Piridina	Pirifenóxi
Pirimidina	Fenarimol
Triazóis (incluindo conazóis)	Bitertanol, bromuconazol, ciproconazol, difeconazol, epoxiconazol, fluquinconazol, flutriafol, hexaconazol, metconazol, miclobutanil, paclobutrazol, propiconazol, tebuconazol, tetraconazol, triamedifom, triamedinol, triticonazol.
Morfolina	Fempromorfe

Disponível: ANVISA, 2004.

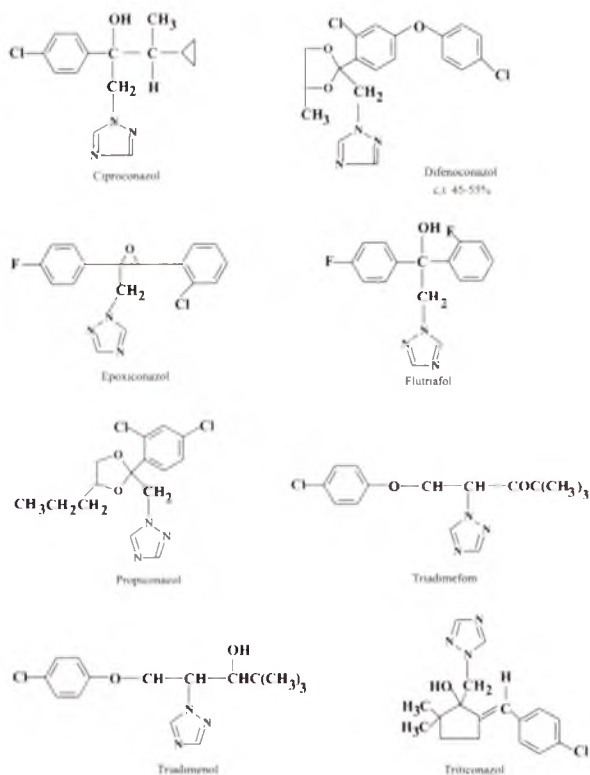


FIGURA 1. Estrutura química de alguns triazóis.

indicando que os anéis triazóis não conferem, necessariamente, estabilidade (PATIL *et al.*, 1988). O flutriafol não apresenta efeitos nas populações microbianas e nem nas transformações do carbono ou nitrogênio que ocorrem no solo (TOMLIN, 2000).

Outro exemplo é o triadimenol, metabólito derivado pela rápida redução do triadimefom em solo, para o qual Bromilow *et al.* (1996) observaram meia-vida de ± 1 ano à temperatura de 15°C , para ambos os diastereoisômeros em incubações de laboratório. Os mesmos autores observaram que o triadimefom não acumulou e nem influenciou a atividade microbiana do solo após 12 anos de aplicação. No solo o triadimenol é o produto de degradação do triadimefom. Esta degradação envolve uma clivagem hidrolítica que leva a

formação de 4-clorofenol. O metabolismo individual dos enantiômeros ocorre em diferentes velocidades (TOMLIN, 2000).

A taxa de degradação de cinco fungicidas triazóis em dois solos (arenoso e argiloso), durante um período de 720 dias foi estudada por Bromilow *et al.* (1999). O

comportamento dos compostos foi semelhante em ambos os solos. O triadimefom foi rapidamente reduzido a triadimenol, ainda que traços do primeiro tenham sempre sido detectados, indicando um possível equilíbrio redox. A degradação dos compostos seguiu essencialmente a cinética de primeira ordem durante os 720 dias de incubação e foi pouco sensível às diferentes taxas de umidade testadas. No entanto mostrou um típico aumento na taxa de degradação com o aumento da temperatura de 5° a 18°C. O flutriafol, epoxiconazol e triadimenol foram muito persistentes, com meia-vida maior que 2 anos na temperatura de 10°C e conteúdo de umidade equivalente a 80% da capacidade de campo. O propiconazol foi um pouco menos persistente com meia-vida próxima aos 200 dias. Já a temperatura de 25°C em solos aeróbios a DT_{50} é de 40-70 dias. As principais rotas de degradação são a hidroxilação da cadeia lateral propila e do anel dioxolano, com a formação final do 1,2,4-triazol (TOMLIN, 2000).

Segundo Bromilow *et al.* (1999), as taxas de degradação observadas para flutriafol, epoxiconazol e triadimenol, em ambos os solos, foram menores do que as esperadas em campo para as temperaturas de inverno, ou para a superfície do solo durante os períodos secos no verão.

Ao contrário dos fungicidas já descritos, a DT_{50} para difeconazol foi de apenas 33-54 dias em testes de laboratório à 30°C, com pré-tratamento e adição de palha para reduzir a persistência (THOM *et al.*, 1997). A DT_{50} por fotólise é de 145 dias. Este composto é praticamente imóvel no solo devido a grande adsorção e baixo potencial de lixiviação (TOMLIN, 2000).

O ciproconazol, outro fungicida triazol, é um produto relativamente novo com solubilidade em água de 140 mg L⁻¹ e um coeficiente de partição octanol-água (Kow) de 819. Este fungicida é relatado como não persistente, com meia-vida de ± 90 dias em solos agrícolas e não apresenta potencial para lixiviação (TOMLIN, 2000).

Em estudos comparativos entre solos e solos turfosos com vários níveis de matéria orgânica, Gardner *et al.* (2000) verificaram a persistência e dissipação de ciproconazol. O aumento da quantidade de matéria orgânica diminuiu a concentração do fungicida até os 15 cm de profundidade. A quantidade de ciproconazol detectado no solo sob turfa aos 4 e 32 dias após a aplicação foi de 1 e 11%, respectivamente, da quantidade detectada em solos normais. Em todos os tratamentos, os resíduos do fungicida não excederam 20 µg kg⁻¹ quando considerada a profundidade de 15-30 cm. A meia-vida do composto decresceu de 129 dias em solo normal para 12 dias em solo turfoso.

A meia-vida de um agrotóxico no solo varia de acordo com algumas condições como umidade do solo, temperatura e atividade microbiana e estas condições variam de acordo com o local, estação, clima e profundidade do solo (PRIMI *et al.*, 1994; WALKER, 2002). O rápido decréscimo do ciproconazol detectado em turfa comparado com o solo normal sugere uma rápida degradação microbiana. Neste estudo, a quantidade de ciproconazol detectado em material lenhoso e solo sob turfa, com 67% de matéria orgânica, diminuiu rapidamente até os 32 dias após a aplicação, decrescendo, então, lentamente. Segundo os autores, o ciproconazol é aplicado em baixas concentrações e o posterior declínio na concentração pode ter reduzido a disponibilidade da molécula para a degradação microbiana. É também possível que as temperaturas mais frias no final da avaliação, devido à estação, tenham reduzido a atividade microbiana.

Outro fungicida triazol, o triticonazol [(1RS)-(E)-5-(4c-clorofenil-metilen)-2,2-dimetil-1-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-ciclopentan-1-ol], usado no tratamento de sementes de cereais, controla a maioria das doenças de sementes e foliares, assim permitindo a proteção do cereal, da semente à planta adulta. A eficácia destes agrotóxicos sistêmicos aplicados em tratamentos de sementes depende muito de sua dissipação e disponibilidade no perfil do solo em relação a sua absorção pelo sistema radicular da planta. O transporte e destino destas moléculas nos solos são de crucial importância para uma ótima utilização.

As características sortivas e degradativas deste fungicida sistêmico em solo argiloso foram estudadas por Beigel *et al.* (1997; 1999). Sua degradação foi essencialmente devido a transformações co-metabólicas microbianas que poderiam ser adequadamente caracterizadas pela constante de mineralização de primeira ordem, variando de $0,3 \times 10^{-3}$ para $0,6 \times 10^{-3} \text{ d}^{-1}$, dependendo da dose inicial aplicada.

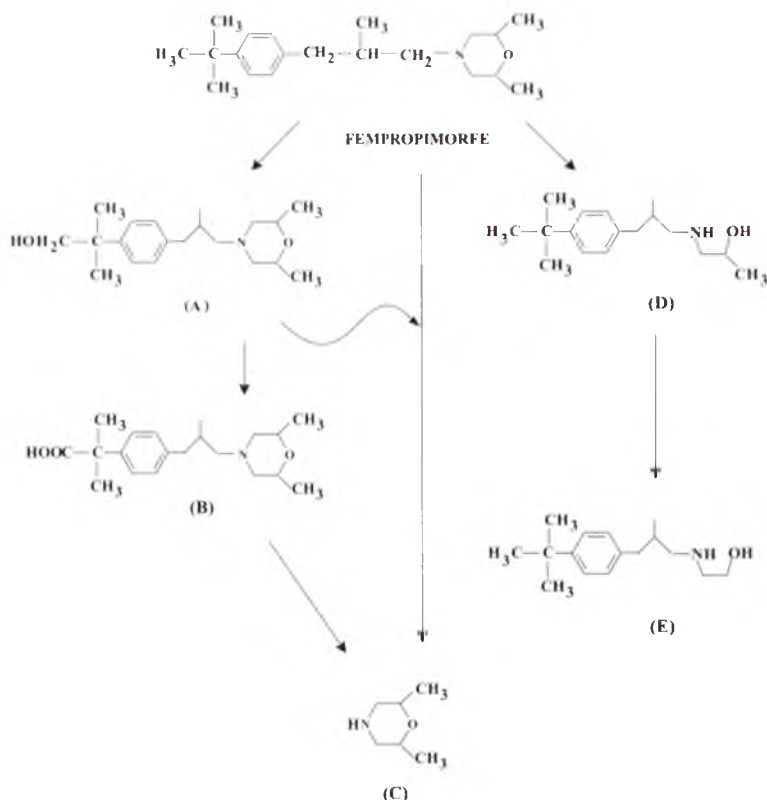
O fempropimorfe é um inibidor da biossíntese de esteróis, amplamente utilizado em aplicação foliar para o controle de fungos fitopatogênicos. Os efeitos colaterais deste fungicida em diversos organismos do solo foram relatados, uma vez que na dose de campo inibe muitos outros fungos não-alvo (KUCK & SCHEINPFLUG, 1986; STEEL *et al.*, 1989; LOEFFLER & HAYES, 1992). Alguns protozoários também são sensíveis ao produto nesta dose, reduzindo a pressão predatória sobre as bactérias (EKELUND *et al.*, 1994; EKELUND, 1999; THIRUP *et al.*, 2000). Segundo Thirup (2001) as *Pseudomonas* e os actinomicetos não foram afetados pelo fempropimorfe, ao contrário, estes organismos o degradaram para ácido fempropimórfico, que tem maior mobilidade no solo.

Este composto em condições de campo tem sua degradação iniciada pela oxidação do grupo *terc*-butil, além da oxidação e abertura do anel dimetilmorfolínico, produzindo os compostos: ácido (B), hidroxietilaminas (A, D e E) e dimetilmorfolina (C), conforme Figura 2. Estes resíduos foram identificados no solo por Huber, (1979) e von der Mühl *et al.* (1980). O primeiro autor determinou em experimento com ^{14}C -fempropimorfe que após 32 semanas o $^{14}\text{CO}_2$ desprendido foi de 50% da radioatividade total aplicada. Nenhum outro composto volátil radioativo foi observado. O autor concluiu que os resultados indicaram uma rápida degradação do composto parental e sugeriu a rota apresentada na Figura 2. No sistema aeróbio água-solo a degradação é similar com exceção do anel morfolínico que não é aberto. No solo são formados outros produtos através da fotólise deste composto.

Em experimentos de campo a meia-vida determinada para fempropimorfe foi de 36 a 47 dias em solos argilosos e arenosos, respectivamente (STOCKMAIER *et al.*, 1996). No entanto, Tomlin (2000) relata a meia-vida de aproximadamente 15 e 93 dias em solos arenosos com alto e baixo teor de matéria orgânica, respectivamente, indicando que o composto é fortemente adsorvido ao solo, portanto, com baixo potencial de lixiviação.

3.2 Benzimidazóis

Dentre os fungicidas orgânicos, com ação sistêmica dentro da planta, os benzimidazóis são os mais conhecidos devido à sua propriedade e eficácia no controle



(A) 4-[3-(4-(2-hidroxi-1,1-dimetil)etilfenil)-2-metilpropil]-*cis*-2,6-dimetilmorfolina

(B) 2-metil-2-[4-[2-metil-3(*cis*-2,6-dimetilmorfolina-4-il)propil]fenil]propanóico

(C) *cis*-2,6-dimetilmorfolina

(D) [3-(4-*terc*-butilfenil)-2-metilpropil](2-hidroxi)propil)amina

(E) [3-(4-*ter*-butilfenil)-2-metilpropil](2-hidroxi)etil)amina

FIGURA 2. Rota metabólica do fempropimorfe no sistema solo/água.

de fitopatógenos de importância econômica. Os fungicidas sistêmicos desse grupo, como o benomil, o tiofanato metílico, o tiabendazol e o carbendazim se caracterizam por uma alta especificidade e tóxicos a baixas concentrações. O uso contínuo desses produtos na agricultura tem resultado em uma pressão de seleção na população dos patógenos com subsequente surgimento de linhagens extremamente resistentes (PICININI, 1994). Além disso, a grande quantidade de produto que chega ao solo pode contaminar os lençóis freáticos e afetar a vida selvagem, principalmente no caso de moléculas mais resistentes e recalcitrantes, como o carbendazim.

Nos últimos vinte anos o benomil tem sido um dos fungicidas mais utilizados (JONHSON & LAVY, 1994). Nos solos, seu resíduo biologicamente ativo é o carbendazim (MBC) (AUSTIN & BRIGGS, 1976).

A velocidade de dissipação do fungicida na solução do solo depende das propriedades físico-químicas da molécula e do solo e das condições bióticas que prevalecem no solo. Em solos tratados com benomil, Fleecker *et al.* (1974) e Rouchaud *et al.* (1974) encontraram para a meia-vida deste fungicida, períodos de 3-6 e 6-12

meses em turfa e solo, respectivamente. Eles observaram que o produto encontrado em maior concentração foi carbendazim e o menor, o metabólito 2-aminobenzimidazol.

O benomil, incorporado nas concentrações 5,6, 11,2 e 22,4 kg i.a. ha⁻¹, em parcelas de algodão irrigado, em solo argiloso, foi detectado após 12 semanas. Para todas as concentrações aplicadas a quantidade restante foi suficiente para evitar a germinação de *Phymatotrichum omnivorum*. Após dezoito semanas, os resíduos foram detectados somente nas duas concentrações mais altas (HINE *et al.*, 1969). Os mesmos autores observaram em experimentos de laboratório que o benomil, aplicado ao solo nas concentrações de 10 e 100 µg g⁻¹ e incubado às temperaturas de 16°, 20°, 25°, 30° e 40°C, foi detectado mesmo após 19 semanas. As concentrações residuais foram suficientes para evitar a germinação de *Phymatotrichum omnivorum*, exceto para a concentração de 10 µg g⁻¹ incubado a 40°C. Os autores observaram também que a concentração original de 100 µg g⁻¹ de benomil diminuiu para 30 µg g⁻¹, após um período de 19 semanas, quando incubado a 40°C.

Em solo arável, Raynal & Ferrari (1973) detectaram 8 µg g⁻¹ de benomil após seis meses da aplicação de 100 µg g⁻¹ do fungicida. Um composto relacionado a benzimidazol, o tiofanato-metílico, foi menos persistente que o benomil (NETZER & DISHON, 1973). O benomil nos solos foi detectado mesmo após três meses de sua aplicação. A concentração de benomil adicionada (100mg g⁻¹) diminuiu mais rapidamente em extrato de solos ricos em húmus do que em solos de jardim e diminuiu lentamente em extratos de solos minerais (HELWEG, 1973). Após seis meses da aplicação do benomil, o efeito fungistático em extrato de solo foi de <10% em solos com húmus, cerca de 30% em solos de jardim e 75% em solos minerais. Nesses trabalhos, não ficou claro se o efeito fungistático foi devido ao benomil e/ou carbendazim. Possivelmente, o carbendazim, facilmente formado a partir do benomil, foi responsável pela fungistase.

Em estudos mais recentes, tem sido dada mais ênfase à persistência de carbendazim ao invés de benomil. O carbendazim resistiu à degradação e permaneceu, após muitos meses, como o maior metabólito de benomil nos solos, junto com 2-aminobenzimidazol (2-AB), como o menor produto (BAUDE *et al.*, 1974). O benomil marcado com ¹⁴C, aplicado em solução aquosa, se decompôs rapidamente nos solos. Em solos arenosos, foram detectados resíduos de benomil após quatro semanas, enquanto após doze semanas, só foram detectados carbendazim e 2-AB. A meia-vida dos resíduos ¹⁴C foi de um ano. Contudo, em solos argilosos, mesmo após 24 meses, cerca de 51% do ¹⁴C total foi detectado.

Laurisden *et al.* (1977), citado por Rajagopal *et al.* (1984), estudaram a persistência de benomil em solos, pela análise de carbendazim e 2-AB, durante dois anos. A meia-vida dos resíduos totais foi de quatro meses em solos arenosos e de dez meses em solos argilosos. Em solos secos ao ar, a perda de carbendazim em nove meses foi somente de 25 a 35%, enquanto em solos úmidos foi de 70 a 80% (AHARONSON & KAFKAFI, 1975). O carbendazim aplicado em três solos desapareceu mais rapidamente durante os quatro primeiros meses, enquanto que nos últimos três meses, quase não houve modificação no nível do resíduo. Foi detectado 2-AB, embora em quantidades muito pequenas, além disso observou-se também que o aumento de 2-AB foi maior em solo seco, quando comparado ao solo úmido. Kajfosz

(1977), citado por Rajagopal *et al.* (1984), confirma que o carbendazim adicionado ao solo diminuiu do nível original de $6 \mu\text{g g}^{-1}$ para $3 \mu\text{g g}^{-1}$, nos três primeiros meses, após a aplicação, sem nenhum decréscimo posterior durante os próximos seis meses.

Em solos, o tiofanato-metílico transformou-se em carbendazim (FLEECKER *et al.*, 1974), sendo esta transformação quatro vezes mais rápida em pH 7,4 do que em pH 5,6. Neste trabalho também foi novamente observada uma estabilidade relativa do carbendazim. O solo incubado 51 dias com carbendazim marcado liberava entre 1 a 16% do ^{14}C como $^{14}\text{CO}_2$. Foram recuperados, após 43 dias, 53 a 78% do ^{14}C como 2- ^{14}C -carbendazim (FLEECKER *et al.*, 1974). Siegel (1975) encontrou que, em solos argilosos suplementados com 1% de glicose e 0,5% de extrato de levedura, 21 e 34% do anel ^{14}C em benomil haviam sido liberados como $^{14}\text{CO}_2$, após incubação de 180 e 340 dias, respectivamente, contra 16 e 27% em solos não enriquecidos. A baixa liberação de $^{14}\text{CO}_2$ indicou que o anel benzimidazóico foi totalmente estável e resistente à completa biodegradação.

Já Helweg (1977) recuperou, após 270 dias, 33 e 90% de ^{14}C como $^{14}\text{CO}_2$ em solos estéreis e não enriquecido com ^{14}C -carbendazim. Após 250 dias, 5 a 13% do ^{14}C adicionado foram recuperados como carbendazim e 4 e 8% como 2-AB. A degradação foi mais rápida em solos retratados. Belanger (1989), analisando resíduos de agrotóxicos em óleo de monarda, recuperou somente $0,07 \mu\text{g mL}^{-1}$ de benomil, como carbendazim, enquanto no ano anterior foi recuperado $0,19 \mu\text{g mL}^{-1}$. Esse fato ocorreu devido a uma aplicação inicial de $1,12 \text{ kg}$ de ingrediente ativo, seguida de uma segunda aplicação 14 dias antes da colheita.

Foi curta a persistência de carbendazim aplicado em dois solos, via irrigação por gotejamento (SOLEL *et al.*, 1979). De 60 a 80% do fungicida foram perdidos entre 1 e 4 semanas e a degradação foi quase completa dentro de 10 semanas, após a aplicação. Em laboratório, o carbendazim resistiu até 9 meses, nos dois solos, mostrando uma meia-vida de 4 a 6 meses. O catabolismo mais rápido de carbendazim no campo foi atribuído às altas temperaturas de verão ($>30^\circ\text{C}$) e à alcalinidade do solo.

O carbendazim aplicado nas concentrações de 5, 10, 20 e $40 \mu\text{g g}^{-1}$ não foi detectado no solo após 3, 5, 8, e 11 meses respectivamente (SINHÁ *et al.*, 1980). Já Musumeci *et al.* (1980a) observaram a persistência de carbendazim em dois solos latossolos (62 a 86%), mesmo após 300 dias de incubação. O produto de degradação 2-AB foi detectado em maiores quantidades (23%) em um dos solos enriquecido com glicose e extrato de levedura. A degradação de carbendazim foi mais rápida em solos ricos em matéria orgânica (MUSUMECI *et al.*, 1980b). Após 150 dias de incubação, 2-AB foi o principal produto de degradação detectado.

O destino de produtos de degradação tem sido estudado em condições de laboratório, sob influência de tratamentos prévios dos respectivos fungicidas. Tem-se verificado que a adaptação microbiana aos produtos de degradação é relativamente significativa (YARDEN *et al.*, 1990), principalmente quando o efeito agrotóxico é causado pelos produtos de degradação. Estes podem acelerar a degradação de agrotóxicos aplicados repetidamente, como podem também, por outro lado, prolongar a persistência dos mesmos no ambiente. O 2-AB foi instável no solo, decompondo-se rapidamente após um intervalo de três semanas, mas pequenas quantidades

permaneceram no solo por muitas semanas, presumivelmente pela adsorção das partículas no solo (HELWEG, 1977). O desprendimento máximo de $^{14}\text{CO}_2$ a partir de ^{14}C -2-AB foi a 22°C e permaneceu constante entre 25° e 30°C. Todavia, a 40°C, o desprendimento de $^{14}\text{CO}_2$ foi insignificante (HELWEG, 1979). A degradação de 2-AB (desprendimento de $^{14}\text{CO}_2$) mostrou um aumento experimental de acordo com o aumento do conteúdo de água, de 28 a 94% da capacidade de campo do solo. Mas o desprendimento de $^{14}\text{CO}_2$ foi comparativamente menor em solos com a quantidade de água acima de 94% da capacidade de campo. O 2-aminobenzimidazol se dissipa rapidamente em solos expostos à molécula-mãe, carbendazim, permanecendo somente 6% deste após 4 dias de aplicação (AHARONSON *et al.*, 1990). Nestes solos, a degradação de 2-aminobenzimidazol foi mais rápida do que da molécula parental. A taxa de degradação do benzimidazol, um metabólito estruturalmente semelhante, não é afetada por aplicações continuadas do carbendazim. Já o carbendazim apresentou uma taxa de degradação mais rápida em solo com história de aplicação de benomil do que em solo sem aplicação desse produto (YARDEN *et al.*, 1985).

Não há literatura sobre a persistência de benomil em água, porém dados de Johnson & Lavy (1994) demonstraram que é persistente no solo, embora seja reduzida a probabilidade do carbendazim chegar às camadas mais profundas do solo, devido à sua característica de forte adsorção e baixa permeabilidade.

Os microrganismos têm sido responsáveis pela degradação do benomil e do carbendazim, esta constatação está baseada em estudos de persistência em sistemas estéreis e não estéreis (HELWEG, 1973; SIEGEL, 1975; HELWEG, 1977).

A primeira referência de degradação microbiana foi feita a partir de estudos onde foi observada uma rápida perda de benomil no solo, o que poderia ser atribuído à lixiviação ou absorção pela planta. Em laboratório, o mesmo autor observou uma rápida perda do fungicida, quando os solos tinham sido previamente tratados com benomil ou carbendazim. Em solos irradiados com raios gama ou que não foram tratados previamente com benomil, não houve perdas do fungicida (WOODCOCK, 1978).

Muitas espécies bacterianas pertencentes aos gêneros *Achromobacter* e *Flavobacterium* foram isoladas em solos enriquecidos com benomil (SMITH & WORTHING, 1975; SPENCER *et al.*, 1972; WEEKES & HEDRIC, 1971), mas não foi observada a capacidade desses microrganismos em degradar o benomil, com a clivagem do anel benzimidazólico. Da mesma forma, o anel heterocíclico benzimidazólico, do carbendazim ou de benzimidazóis relacionados resistiu a clivagem, pelos fungos, durante o metabolismo (DAVIDSE, 1976; VALENTA *et al.*, 1974; YASUDA *et al.*, 1973). Há poucos exemplos da degradação pelos microrganismos, com aparente clivagem da porção heterocíclica da molécula de carbendazim (FLEECKER *et al.*, 1974; HELWEG, 1977; SIEGEL, 1975). De acordo com Helweg (1977), o fungicida foi raras vezes usado pelos microrganismos como fonte de energia, possivelmente pelo fato do núcleo benzimidazólico ser degradado por co-metabolismo. Para outros autores, como Rouchaud *et al.* (1974, 1977a; b); Solel *et al.* (1973), as plantas também são responsáveis pela clivagem do anel benzimidazol, porém, segundo Vonk & Kaars Sijpesteijn (1977), a decomposição fotoquímica contribui para a clivagem do anel.

Helweg (1979) verificou que os microrganismos foram os responsáveis pelo aumento da degradação de 2-AB, em solos enriquecidos com 2-AB por um período de seis meses. Segundo o mesmo autor (1973), quatro linhagens bacterianas e duas linhagens fúngicas, isoladas em solos de jardim tratados com benomil, utilizaram o fungicida como fonte de carbono e nitrogênio e degradaram o composto após dois meses de incubação. Fuchs & de Vries (1978a; b), demonstraram que culturas mistas de *Pseudomonas* spp., isoladas em solo tratado com benomil, efetuavam mais rapidamente a degradação de benomil do que as culturas puras. *Pseudomonas* spp. utilizaram o benomil e carbendazim como única fonte de carbono. O grupo *n*-butilcarbamoil, da cadeia lateral de benomil, fornecia principalmente ou exclusivamente o carbono para a energia microbiana (FUCHS & de VRIES, 1978b).

Em meio basal tamponado, suplementado com solo tratado com benomil, a concentração do carbendazim marcado começava a decrescer após 10 dias e quase desaparecia aos 40 dias. Concomitantemente havia formação de 2-AB radioativo, alcançando a concentração máxima aos 24 dias, diminuindo após 35 dias. A análise Budget demonstrou que o 2-AB foi convertido subsequente a CO_2 (65%) e 2-AB nucleotídeo. Realmente, após 40 dias a maior parte da radioatividade encontrada no meio foi relacionada a 2-AB nucleotídeo. A análise total, conclusiva, demonstrou uma clivagem significativa do anel do núcleo benzimidazol de 2- ^{14}C -carbendazim para $^{14}\text{CO}_2$. Segundo Fuchs & de Vries (1978b), a proporção

de degradação do benomil e carbendazim é baixa, e o composto parental benomil foi recuperado em quantidades substanciais mesmo após 80 dias de incubação.

A Figura 3 ilustra a rota da degradação de benomil proposta por Rajagopal *et al.* (1984), tanto no solo como em cultura pura.

O método de enriquecimento do solo com benomil foi eficiente para o isolamento de microrganismos degradadores de carbendazim. O fungo *Alternaria alternata*, isolado de solos agrícolas que haviam recebido aplicações de benomil, degradou 66% do fungicida carbendazim em dois dias

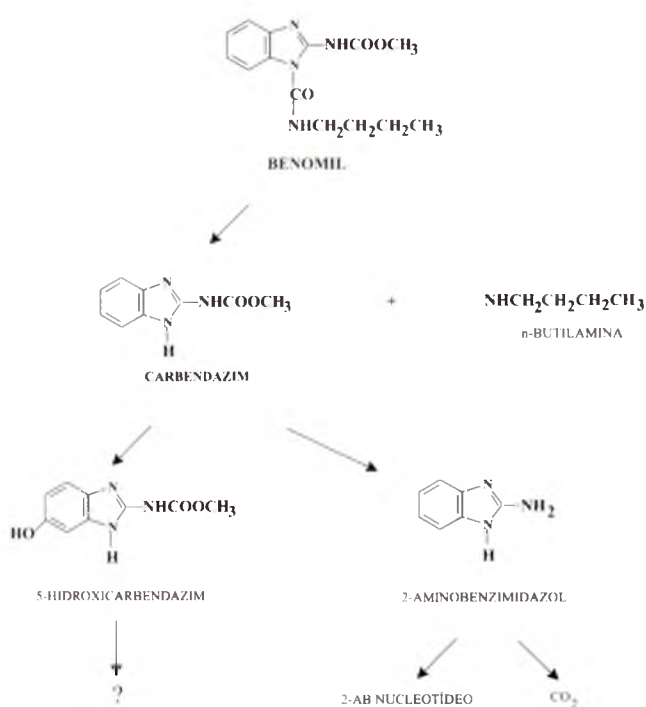


FIGURA 3. Rota da degradação de benomil no solo e em cultura pura.

com meia-vida de aproximadamente 20 horas (SILVA, 1996). Yarden *et al.* (1990) atribuíram a degradação de carbendazim por *A. alternata* ao mecanismo metabólico do fungo, segundo eles, a conjugação ou detoxificação oxidativa poderiam ser consideradas como processos igualmente presentes na degradação. *A. alternata*, e todos os *Porosporae* não são inibidos pelos fungicidas do grupo dos benzimidazóis e podem ser considerados como potentes agentes de descontaminação ambiental, pois esses fungicidas são usados extensivamente na agricultura, muitas vezes indiscriminadamente. Eles atuam numa ampla gama de gêneros de fungos fitopatogênicos de importância agrônômica como os oídios, bolores (*Penicillium*), *Botrytis* spp., antracnoses, cercosporioses, sarnas e patógenos de solo.

Dentro da linha de biorremediação com a utilização de fungos degradadores Silva *et al.* (1996) verificaram que o fungo lignocelulolítico *Phanerochaete chrysosporium* utiliza carbendazim como fonte de carbono e apresenta um potencial para degradação do produto.

Vários trabalhos têm demonstrado a recalcitrância dos anéis benzimidazóis à degradação microbiana (HELWEG, 1972; FUCHS & DEVRIES, 1978a; b.). No entanto, a degradação acelerada de MBC pode ser obtida em solos sem histórico de aplicações ou em solos pré-condicionados para degradação aumentada através de aplicações prévias.

Yarden *et al.* (1987); Yarden *et al.* (1990), observaram que as taxas mais altas de degradação de carbendazim foram em solos tratados previamente com benomil, indiferente ao tipo de solo, cultivo, método de aplicação e outros fatores. Esta degradação acelerada também foi evidente no campo onde houve aplicação foliar do fungicida. Isso indica que mesmo baixas doses do agrotóxico são suficientes para condicionar o solo à degradação acelerada do mesmo composto.

Ao mesmo tempo em que as aplicações repetidas de agrotóxicos aumentaram sua velocidade de degradação, outras práticas agrícolas como a desinfestação diminuíram esta velocidade (YARDEN *et al.*, 1985). Os solos desinfestados com brometo de metila, solarização ou esterilização em autoclave apresentaram aumento de persistência de carbendazim, após o tratamento. Por outro lado, os autores observaram que também os fungicidas tiram e acetato de fentina inibiram a degradação de carbendazim. Como os agrotóxicos mencionados suprimem principalmente a população fúngica no solo, os resultados obtidos validam a importância dos fungos na degradação de carbendazim e benomil.

O aumento da degradação dos agrotóxicos não só resulta da aplicação freqüente do mesmo composto, mas também da capacidade de degradação adquirida devido ao contato com outros agrotóxicos estruturalmente relacionados. Yarden *et al.* (1985) observaram, em solos que recebiam aplicações constantes de benomil, em condições de campo, um aumento na degradação desse composto, 2 meses após a colheita.

Segundo Helweg (1977), a degradação de carbendazim e benomil é principalmente microbiana, porém uma certa proporção poderia ser imobilizada por processos não biológicos.

A estabilidade hidrolítica do carbendazim para pH 5,7 e 9 e a temperatura nominal de 22, 50 e 70°C foi estudada em intervalos acima de 30 dias. A elevação da

temperatura e do pH aumentava a degradação do carbendazim. As meias-vida calculadas para a degradação deste fungicida no pH 5 e a 22, 50 e 70°C foram de 457, 108 e 20 dias, respectivamente. No pH 7,0 e a 50 e 70°C as meias-vida foram de 43 e 12 dias (não houve grande declínio à 22°C). A meia-vida para pH 9,0 e 22, 50 e 70°C foram de 22, 1,4 e 0,3 dias, respectivamente (PURSER, 1987).

O carbendazim também foi exposto à luz solar por 30 horas (como resíduo em sílica gel G) e menos que 10% foi dissipado após a exposição. A foto-oxidação do anel benzeno do carbendazim foi a reação predominante com detecção de guanina, carbometoxiguanina e carbometoxiurea. Quando o carbendazim foi aplicado em folhas de milho e exposto a luz solar por 18 horas, não foram detectados produtos da fotólise nos extratos das plantas (FLEEKER & LACY, 1977).

3.3 Ditiocarbamatos

Os ditiocarbamatos constituem uma classe importante de fungicidas orgânicos para o controle de doenças de plantas (EBDC, 1977; ANDEF, 2003). De acordo com os diferentes modos de ação e vias de degradação, são reconhecidos dois grandes grupos dentro desta classe, os monoalquilas e derivados diaquilas, (KAARS SIJPSTEINJN *et al.*, 1977; KAARS SIJPSTEINJN & van DERK, 1954). O primeiro grupo, derivado das aminas primárias, possui um hidrogênio reativo no(s) átomo(s) de nitrogênio e como consequência produz produtos de conversão que diferem em muitos aspectos dos dialquilditiocarbamatos (KAARS SIJPSTEINJN *et al.*, 1977). Com a exceção do fungicida de solo metilditiocarbamato sódico, os monoalquilditiocarbamatos são derivados da etilenodiamina, enquanto os dialquilditiocarbamatos são derivados da dimetilamina.

a) Monoalquilditiocarbamatos

Os fungicidas deste grupo incluem manebe, zinebe (Figura 4) e o derivado relacionado mancozebe (KAARS SIJPSTEINJN *et al.*, 1977).

Os fungicidas etilenobisditiocarbamatos (EBDC) são compostos relativamente instáveis que são transformados para vários produtos principalmente por processos químicos, mas com significativo envolvimento biológico. O composto solúvel em água nabam (etilenobisditiocarbamato dissódico) (Figura 4) não é usado como fungicida, mas serve como modelo para estudar a ação e degradação dos fungicidas EBDC's. Ele, por exemplo, é extremamente instável em solução aquosa e é transformado para os seguintes produtos: etilenotiouréia (ETU), 5,6-dihidro-3H-imidazo (2,1-c)-1,2,4-ditiazol-3-tiona (DIDT), dissulfeto polimérico de etilenotiuram, etilenodiamina, etilenodiisotiocianato, enxofre elementar, CS₂ e H₂S (KAARS SIJPSTEINJN *et al.*, 1977). Zinebe e manebe produzem os mesmos produtos de decomposição em solução aquosa como nabam, mas em menor velocidade (KAARS SIJPSTEINJN *et al.*, 1977).

A ETU (Figura 4), uma impureza encontrada nos fungicidas técnicos EBDC's (WOODCOCK, 1977) é o maior produto de degradação destes fungicidas (ETHYLENETHIOUREA, 1977) e é susceptível a biodegradação. Há muitas preocupações em relação a ETU devido ao seu risco potencial ao homem (FISHBEIN,

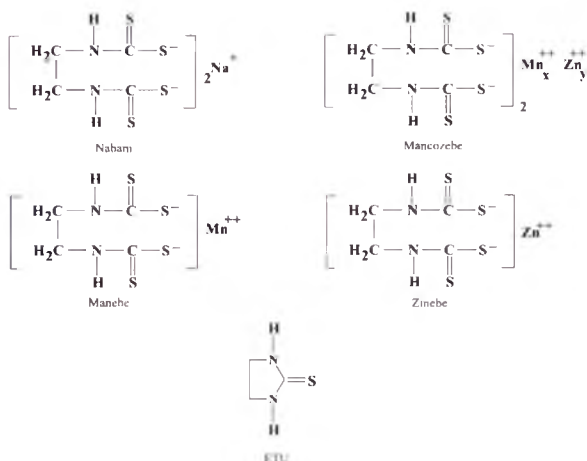


FIGURA 4. Estrutura de alguns etilenobisditio-carbamatos e etilenotiurêia (ETU).

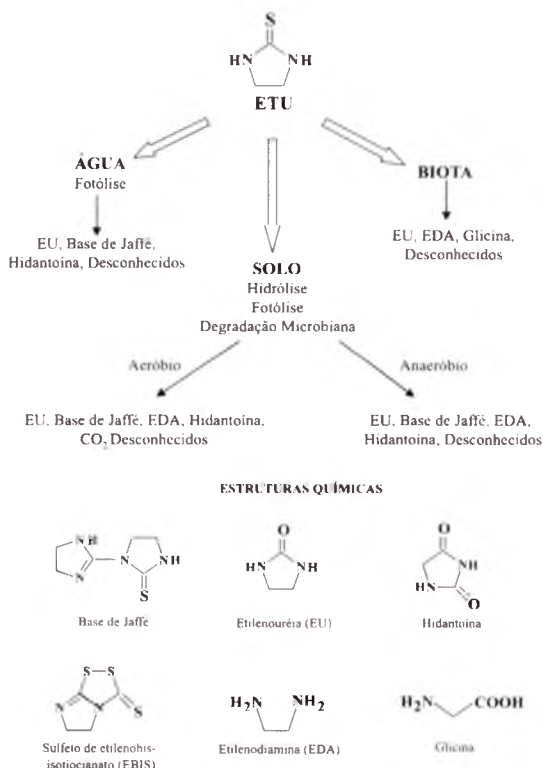


FIGURA 5. Degradação da etilenotiurêia em água, solo e biota (XU, 2003a).

1977). ETU é carcinogênica, goiterogênica, teratogênica e mutagênica havendo evidências suficientes em experimentos animais. Não há evidências da carcinogenicidade em humanos (IARC, 2004). Em água a ETU é relativamente estável à hidrólise mas pode ser rapidamente fotolisada na presença de fotossensibilizadores, que estão presentes em muitas águas naturais (XU, 2003a).

Além da ETU formada pela degradação química dos fungicidas EDBC's, os microrganismos aceleram a sua formação a partir dos produtos intermediários de degradação (DIDT). Bactérias e fungos, tanto quanto preparações puras de enzimas destes organismos, convertem DIDT para ETU, mas estes organismos não degradam ETU (VONK, 1975).

Segundo Sittig (1985) a ETU é rapidamente degradada em solos e pode ser química e biologicamente decomposta a etilenotiurêia (EU) com meia-vida variando de 1 a 7 dias sob condições de campo (KAUFMAN & FLETCHER, 1973; NASH & BEALL, 1980; MILES & DOERGE, 1991). De acordo com Kaufman & Fletcher (1973), diferentes concentrações de ETU (2, 20 e 200 ppm) foram totalmente degradadas e principalmente convertidas para EU dentro de 2, 2 e 8 dias, respectivamente, em solos silto-argilosos. Vários autores verificaram que a ETU e EU podem ser mineralizadas para CO_2 em solos não estéreis (MILLES &

DOERGE, 1991; JOHANNENSEN *et al.*, 1996; JACOBSEN & BOSSI, 1997). A mineralização de 10ppm de ETU ocorreu em torno de 22 dias (LYMAN & LACOSTE, 1974). Os metabólitos de ETU em solos foram EU, hidantoína, base de Jaffé, etilenodiamina (EDA), CO_2 e outros compostos não conhecidos (Figura 5).

A degradação microbiana representa a menor rota na degradação do manebe (Figura 6) (DOWNING, 2003), porque esse fungicida é moderadamente solúvel em água e é hidroliticamente decomposto pela umidade presente no solo (SANBOM *et al.*, 1977). Seus principais produtos de hidrólise são o EU, ETU, sulfeto de etilenobis (isotiocianato) (EBIS) e glicina.

A dissipação do manebe é relatada em vários estudos com resultados diferenciados. Nash & Beall (1980) observaram que a meia-vida do manebe, aplicado na cultura de tomate em solo areno-argiloso, foi de 36 dias, enquanto Fraunhofer (1987a) observou que na degradação aeróbia em solo argiloso, 15,9% da radioatividade aplicada foi mineralizada e detectada como CO_2 , após 32 dias. Em solo areno-argiloso, com 30 dias de incubação os autores recuperaram 22,82% do CO_2 radioativo. A degradação do manebe em solo produziu EU, ETU, carbimida, EBIS e seis frações não identificadas (Figura 6). Na degradação anaeróbia observada em solo argiloso, 5,5% da radioatividade aplicada foi recuperada como $^{14}\text{CO}_2$. Neste caso, os produtos de degradação do manebe foram EU, ETU, carbimida, EBIS e quatro frações não identificadas (FRAUNHOFER, 1987b).

O mancozebe, outro membro dos fungicidas EBDC tem uma pressão de vapor insignificante, portanto, baixo potencial de volatilização no ar. Na água ele é facilmente hidrolisado com meia-vida menor que 2 dias. Os produtos da degradação hidrolítica são EU, ETU e EBIS (Figura 7) (XU, 2003b).

Este fungicida tem baixa persistência no solo porque é facilmente degradado. Após três meses de aplicação em solo não esterilizado, Doneche *et al.* (1983) não detectaram resíduos de mancozebe. Em condições aeróbias e em condições sequencial de aerobiose e anaerobiose, em solos silto-argilosos estéreis e não estéreis, foi verificado o metabolismo de 20 ppm e 10 ppm de ^{14}C -mancozebe (R&H Company, 1987a; b). A temperatura média nestes trabalhos foi de $23^\circ\text{C} \pm 0,6^\circ\text{C}$. Em ambos os solos estudados houve a formação de EU via

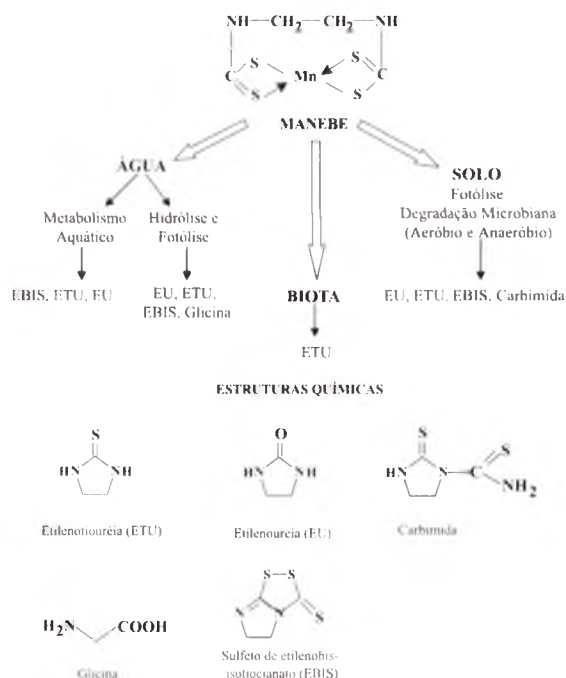


FIGURA 6. Rota degradativa do manebe.

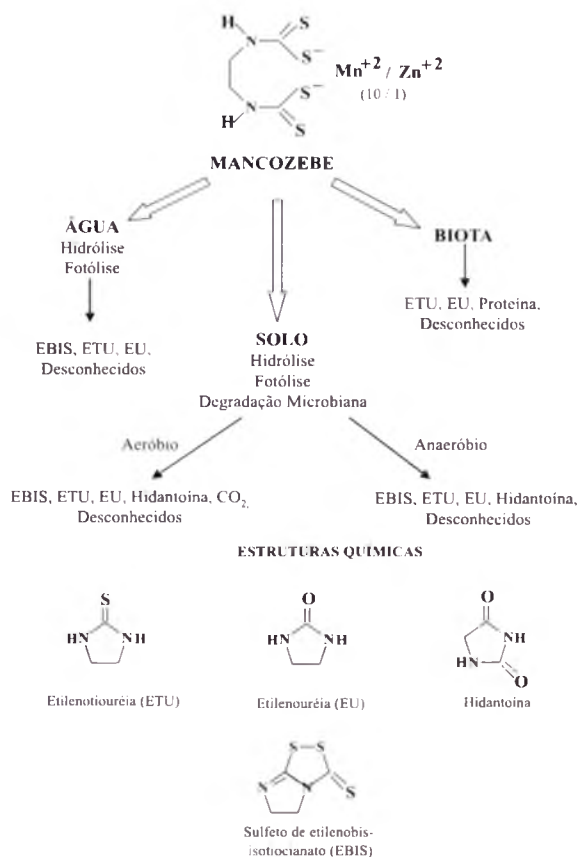


FIGURA 7. Rota degradativa do Mancozebe em solo, água e biota (XU, 2003b).

intermediário EBIS e ETU. Sob condições anaeróbias, uma pequena quantidade de EU foi posteriormente degradada para 2-imidazolina e outros compostos não conhecidos. A meia-vida estimada para a mineralização da concentração de 20 e 10ppm de Ditane M-45® foi de 50 e 90 dias, respectivamente (LYMAN & LACOSTE, 1975). Em solos aeróbios não estéreis e anaeróbios, a meia-vida aproximada de mancozebe foi menor que 2 e 8 dias, respectivamente, enquanto a ETU teve meia-vida menor que 2 dias em solos não estéreis (ARS, 1995).

b) Diaquilditiocarbamatos

As curvas de degradação do ferbam (dimetilditiocarbamato férrico) em solo foram comparáveis às do nabam, evidenciando novamente o processo de degradação físico-química. No entanto, a etilenotiouréia que ocorre tanto como impureza no etilenobisditiocarbamato técnico como produto de degradação foi susceptível a conversão biológica (KAUFFMAN & FLETCHER, 1973; KAARS SIJPESTEIJN & VONK, 1974).

Sob condições ácidas os dimetilditiocarbamatos são rapidamente decompostos para CS₂ e dimetilamina (THORNE & LUDWIG, 1962). A degradação microbiológica de tiram para estes produtos provavelmente aconteceu após a redução para dimetilditiocarbamatos (KAARS SIJPESTEIJN *et al.*, 1977). Esta degradação pode ser realizada por ácidos produzidos pelos organismos, contudo não pode ser excluído o envolvimento de mecanismos enzimáticos.

A velocidade de degradação do tiram em solo foi dependente da concentração aplicada (MUNNECKE & MIKAIL, 1967). A degradação foi mais rápida em solo não esterilizado do que em esterilizado, indicando o papel dos microrganismos na degradação. Além disso, o efeito da concentração do fungicida na velocidade de degradação refletiu, em parte, na inibição da atividade microbiana. Raghu *et al.* (1975) propuseram uma via de degradação para o tiram em solo, incluindo os metabólitos microbianos ácidos conjugados de DDC (α -aminobutírico e α -cetobutírico) e outros

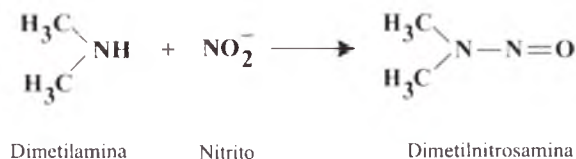


FIGURA 8. Reação de dimetilamina com nitrito para formar dimetilnitrosamina.

produtos como dimetilamina, dimetilnitrosamina, CS_2 , enxofre elementar, metionina, amônia e formaldeído.

A dimetilnitrosamina é formada a partir do tiram na presença de nitrato ou nitrito em solos ácidos sob condições de alagamento (AYANABA *et al.*,

1973), provavelmente como produto da degradação da dimetilamina (Figura 8).

Morgenroth & Muller-Kallert (1995) suplementaram um solo argiloso coletado em Nova York com 20,3 mg do ingrediente ativo kg^{-1} que representava a taxa de aplicação no campo (18 kg i.a. ha^{-1}). O solo foi incubado por 205 dias sob condições aeróbias, no escuro, a 20°C, sendo a umidade mantida a 75% da capacidade de campo. O desaparecimento do composto parental não seguiu a equação de primeira ordem, mas a meia-vida foi de 2 dias, com 87% de degradação aos 7 dias e 97% aos quatorze dias. O maior produto de degradação foi dimetil carbamotioperoxoato. Este metabólito alcançou o nível máximo 1,8 mg kg^{-1} aos 4 dias de incubação e excedeu o nível do composto parental após 42 dias, mas 98% da molécula teste já havia desaparecido neste tempo.

A mineralização do resíduo foi rápida com 9% do ^{14}C aplicado desprendido como $^{14}\text{CO}_2$ em dois dias e 50% dentro de 21 dias. Resíduos ligados ou não-extraíveis alcançaram um máximo de 48% da dose aplicada aos 14 dias e posteriormente declinaram lentamente para 31% aos dia 205. A produção de $^{14}\text{CO}_2$ foi bem menor do que os resíduos na forma ligada. Fracionamentos da matéria orgânica do solo demonstraram que a maior parte do ^{14}C não-extraível estava ligada às frações humina e ácidos húmicos.

Burri *et al.* (1995) aplicaram [^{14}C] tiram em uma fina camada do mesmo solo areno-argiloso utilizado por Morgenroth & Muller-Kallert (1995), na concentração equivalente a 18 kg i.a ha^{-1} . O solo foi exposto à luz artificial com o espectro simulando a luz do sol, com ciclos de 12 horas entre claro e escuro, durante 21 dias a 20°C. A meia-vida para o desaparecimento de tiram, no tratamento controle no escuro foi de 15,9 dias e no solo sob luz artificial foi de 3,7 dias. O ^{14}C volátil produzido pelo solo sob luz artificial alcançou 57% do ^{14}C aplicado (37% como CO_2 e provavelmente 20% como CS_2), enquanto 11% foram desprendidos pelo controle.

3.4 Ftalonitrilas

O clorotalonil (2,4,5,6-tetracloroisoftalonitrila-TPN) (Figura 9) é um fungicida de contato, clorado e de amplo espectro e muito utilizado no Brasil, em culturas de grãos, legumes e frutas (BRASIL, 1998) e, embora a sua aplicação seja foliar, análises de solos de regiões onde tal agrotóxico é utilizado têm apresentado valores residuais altos (CAUX *et al.*, 1996). É aplicado por ocasião da semeadura ou por aplicação foliar. Também é frequentemente aplicado via água de irrigação. A dosagem utilizada

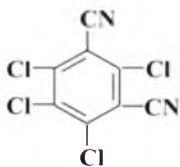


FIGURA 9. Estrutura química do fungicida clorotalonil (TPN).

varia de acordo com a cultura e o patógeno, variando de 0,8 a 4,7kg de ingrediente ativo por hectare (i.a. ha⁻¹). O modo de ação do fungicida nos fungos é atribuído à sua capacidade de ligação e depleção da glutatona celular. É também capaz de se ligar e inibir a enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), necessária para a glicólise (CAUX *et al.*, 1996; VINCENT & SISLER, 1968).

Esta molécula pode causar efeitos tóxicos à microflora do solo, a médio ou longo prazo, (HABTE *et al.*, 1992; KATAYAMA *et al.*, 1991b;c; SUYAMA *et al.*, 1993; Tu, 1993), o que poderá afetar uma série de atributos benéficos decorrentes da presença dos microrganismos no solo. A contaminação do solo e da água pelo clorotalonil pode ocorrer em função da aplicação direta do produto ou indiretamente via deriva ou escoamento superficial (CAUX *et al.*, 1996). Por ser o clorotalonil um composto policlorado e ter caráter lipofílico, a persistência de seus resíduos causa preocupação ambiental (GAJBHIYE *et al.*, 1996).

A reatividade dos substituintes halogênicos do clorotalonil é facilitada pelas propriedades eletrofílicas dos grupos ciano (TILLMAN *et al.*, 1973), e a posição e número de halogênios são fatores importantes na determinação de sua ação tóxica (VINCENT & SISLER, 1968). A hidrofobicidade do agrotóxico e a presença de grupos funcionais facilmente transferidos pelos microrganismos afetam a taxa de biodegradação.

A literatura apresenta muitos trabalhos mostrando que o TPN é rapidamente degradado pelos microrganismos do solo, apresentando meia-vida variando de 5 a 36 dias (KATAYAMA *et al.*, 1991a; MOTONAGA *et al.*, 1998; SATO & TANAKA, 1987; SUN *et al.*, 1985; TAKAGI *et al.*, 1991).

Gajbhiye *et al.* (1989), em experimento utilizando solo e duas doses do fungicida (1 kg ha⁻¹ e 2 kg ha⁻¹), observaram que a dissipação do clorotalonil foi mais rápida quando o produto foi aplicado em doses menores. Em baixas concentrações, o efeito do fungicida não foi muito efetivo porque a maior parte dele foi adsorvida pelos colóides do solo e somente uma pequena fração estava disponível para interação com a microbiota do solo. Assim, com o aumento da dose, cada vez mais porções tornavam-se disponíveis havendo conseqüentemente efeitos adversos nos crescimentos microbianos, inibindo desta forma a biodegradação. Os resíduos diminuíram com o passar do tempo, e as perdas foram rápidas durante os 7 primeiros dias após a aplicação, havendo dissipação de 49,7% e 58% em relação às doses aplicadas. Nos 23 dias subseqüentes a perda foi de 14,5% e 19,5%. Após 30 dias o solo tinha 0,54 e 1,16 µg g⁻¹ de resíduo, respectivamente, para a dose mais baixa e mais alta. Após 60 dias os resíduos eram não detectáveis (< 0,01 µg g⁻¹).

Segundo Balasubramanian & Mathan (1996) quanto maior o conteúdo de matéria orgânica e quanto menor for o valor do pH de um solo, maior a adsorção do clorotalonil resultando em menor degradação e maior persistência. Em estudos com coluna de solo, apenas 2,8% do clorotalonil aplicado foi recuperado na eluição da coluna, sugerindo a ocorrência de uma forte adsorção, aumentando a persistência do produto, ou uma degradação significativa do composto (REDUKER *et al.*, 1988).

As bactérias degradadoras de clorotalonil estão presentes em solos com e sem histórico de aplicação desse fungicida. Na região de Guaíra, SP, foram isoladas bactérias degradadoras de clorotalonil, tanto de solos provenientes de áreas cultivadas com tomate como de áreas de preservação ambiental. As bactérias isoladas e selecionadas, após crescimento em meio mineral líquido suplementado com diferentes concentrações do fungicida (20, 40 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$), foram repicadas em meio mineral líquido suplementado com 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de clorotalonil para estudo da degradação. Bactérias que degradaram acima de 80% do composto orgânico foram caracterizadas através da metodologia convencional e molecular. Pela análise convencional seis organismos selecionados pertenciam ao grupo dos actinomicetos; na base de dados do RDP estes organismos foram identificados como: *Arthrobacter nicotinovorans*, *A. globiformis*, *A. ilicis* e *A. ureafaciens* (FAY, 2000). Segundo o mesmo autor, a incorporação de diferentes materiais orgânicos ao solo aumentou a comunidade de degradadores e diminuiu a biodisponibilidade do fungicida, minimizando os efeitos adversos do clorotalonil.

De acordo com Katayama *et al.* (1991b) a maioria das bactérias degradou o clorotalonil na presença de outras fontes de carbono. Katayama *et al.* (1991a) observaram considerável similaridade com o co-metabolismo, após a aplicação repetida do fungicida em solo sem histórico de aplicação do produto. Ainda que a degradação tenha sido suprimida, o que diferencia este composto de outros agrotóxicos, não ocorreu uma *fase lag* quando o clorotalonil foi aplicado pela primeira vez. A capacidade de degradação foi recuperada após a adição de compostos orgânicos facilmente assimiláveis (glicose, extrato de carne) o que indicou a importância destes materiais na degradação microbiana do fungicida em solos.

A supressão da degradação do clorotalonil em solos agrícolas também foi observada por Takagi & Wada (1990) após um longo período de aplicação. Segundo os autores essa supressão poderia ser explicada pelo seguinte fato: os microrganismos degradadores do clorotalonil são sensíveis o suficiente para serem suprimidos pelo clorotalonil dissolvido na solução do solo em concentração superior a 0,1 mg L^{-1} . Eles observaram que a degradação do clorotalonil não foi suprimida após repetidas aplicações, quando foi incorporado carvão ativado ao solo, levando dessa forma à diminuição da concentração do produto na solução do solo. Segundo os autores, este fato indicou toxicidade do produto às bactérias degradadoras. No entanto, Sato & Tanaka (1987) sugeriram um enriquecimento das bactérias degradadoras do clorotalonil em solo, após a aplicação do fungicida.

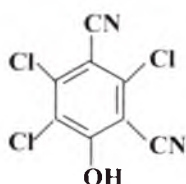
Katayama *et al.* (1991b) isolaram bactérias degradadoras tolerantes ao clorotalonil, em concentração de 40 mg L^{-1} , discordando da proposição de Takagi & Wada (1990). A razão pela qual a degradação do clorotalonil em solos é suprimida por aplicações repetidas, embora haja um aumento da população degradadora de bactérias, ainda precisa ser solucionada. Segundo Katayama *et al.* (1991b), a hipótese para essa supressão é que a falta de matéria orgânica facilmente degradável inibe a biodegradação de clorotalonil no solo. Além disso, os autores observaram que o clorotalonil da solução do solo teve sua concentração diminuída pela adsorção à matéria orgânica adicionada, resultando daí uma maior taxa de dissipação.

Ainda que a degradação deste fungicida possa ser suprimida, o clorotalonil acumulado pode vir a ser biodegradado após aclimação em posteriores aplicações repetidas (MOTONAGA *et al.*, 1996). Estes autores observaram que a taxa de degradação do clorotalonil era significativamente diminuída após aplicações repetidas em experimento de campo, embora a taxa de degradação fosse completamente recuperada após posteriores aplicações do produto. Contrariamente ao comportamento da maioria dos agrotóxicos, as aplicações repetidas do clorotalonil suprimem a biodegradação devido à toxicidade do persistente e altamente móvel metabólito, hidróxi-clorotalonil (TPN-OH) sobre a biomassa do solo (MOTONAGA *et al.*, 1998).

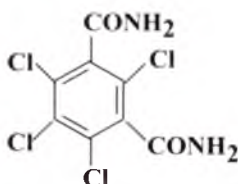
Motonaga *et al.* (1996) também observaram, em laboratório, a degradação do clorotalonil (TPN) em quantidades estequiométricas de TPN-OH e anion cloreto (Cl⁻). As bactérias que degradaram o TPN foram isoladas do solo e a suspensão das células dessas bactérias transformou o TPN em TPN-OH e Cl⁻, mas não o utilizaram, portanto houve co-metabolismo. Acreditam os autores que a aclimação ocorreu durante aplicações repetidas porque as bactérias não foram detectadas em solos que não haviam sido tratados com clorotalonil.

A influência da umidade e temperatura na degradação deste composto está demonstrada nos trabalhos realizados por Sato & Tanaka (1987). O aumento do conteúdo de umidade do solo (0,6 para 8,9%) ou aumento na temperatura de incubação acelerou a taxa de transformação. Os autores encontraram que 90% das bactérias isoladas em solos com aplicação prévia de clorotalonil foram capazes de degradá-lo e o fungicida foi metabolizado, principalmente, através de decloração. Essa dehalogenação hidrolítica haloaromática específica ocorre quando o halogênio é substituído por um grupo hidroxila da água, embora esse mecanismo pareça ser raro em comparação às dehalogenações oxidativas (SLATER *et al.*, 1995).

Em condições de laboratório, Sato & Tanaka (1987) observaram que a degradação ocorreu mais rapidamente com a umidade em 60% da capacidade de campo quando comparada a 20, 40 e 100% dessa capacidade. A 100% a degradação foi mínima havendo condições predominantemente anaeróbias no solo. Assim, concluíram que as condições aeróbias são as mais indicadas para a degradação desse fungicida no solo. No entanto, alguns agrotóxicos organoclorados podem sofrer degradação muito rápida em solos em condições de anaerobiose (STENERSON, 1965; SETHUNATHAN, 1973).



(A)



(B)

FIGURA 10. Estrutura química do TPN-OH (A) e do 1,3-dicarbamoil-2,4,5,6-tetraclorobenzeno (B).

A transformação primária do clorotalonil (TPN) em solos é microbiana, tendo como principal produto o TPN-OH (4-hidróxi-2,5,6-tricloroisofaltonitrila), (Figura 10), o qual pode ser encontrado em solo, planta e animais. É aproximadamente trinta vezes mais tóxico do que o clorotalonil e mais persistente e móvel no solo (COX, 1997; SATO &

TANAKA, 1987; ROUCHAUD *et al.*, 1987). Segundo Alexander (1999), uma variedade de fungicidas é convertida microbiologicamente a substâncias que também apresentam atividade antifúngica, sendo estas conversões fungicida-para-fungicida descritas em culturas microbianas. Rouchaud *et al.* (1987) demonstraram em solo a conversão do fungicida clorotalonil no fungicida 1,3-dicarbamoil-2,4,5,6-tetraclorobenzeno, por ação microbiana.

Motonaga *et al.* (1996) indicaram que uma possível rota de degradação do clorotalonil em solo é a substituição nucleofílica do cloro (posição 4) pelo íon hidroxila. A substituição não foi devida à hidrólise abiótica porque o pH do solo era ácido. Segundo Szalkowski & Stallard (1977) o clorotalonil é hidrolisado a pH 9,0 em soluções aquosas, enquanto a pH 7,0 ou mais baixo não foi observada a degradação. O metabolismo por microrganismos do solo foi responsável por esta degradação, possivelmente porque as bactérias o detoxificaram.

O destino do TPN-OH passa a ser um problema ambiental, porque o metabólito hidroxilado tende a lixiviar para o sub-solo ou águas subterrâneas uma vez que é mais solúvel em água (MOTONAGA *et al.*, 1996). Os autores supõem que grande parte do metabólito pode lixiviar e parte pode ser degradada ou retida no solo.

Outros metabólitos detectados para o clorotalonil foram a 3-cianotriclorohidroxibenzamida, 3-cianotriclorobenzamida e tricloro-3-carboxibenzamida (CAUX *et al.*, 1996), além da m-ftalodinitrila, também conhecida por isoftlonitrila (COX, 1997).

Regitano *et al.* (2001), estudaram a dissipação do clorotalonil utilizando carbono marcado (^{14}C), o que permitiu acompanhar os diferentes processos de transformação, como a mineralização, a degradação e a formação de resíduos ligados. Apresentaram também os coeficientes de sorção e a atividade microbiana dos solos. Utilizaram três tipos de solos ácidos do Brasil, gley húmico (GH), latossolo vermelho escuro (LE) e areia quartzosa (AQ), com ampla variação nas propriedades físico-químicas considerando que os solos tropicais são mais ácidos do que os de clima temperado, e conseqüentemente a rota metabólica do TPN poderia ser afetada. A mineralização foi lenta em todos os solos, e após 90 dias, somente 13,8, 5,7 e 2,8% do TPN aplicado foi desprendido como $^{14}\text{C}\text{-CO}_2$ nos solos GH, LE, e AQ, respectivamente. Este resultado indicou que a mineralização não foi a principal rota metabólica dos microrganismos degradadores, evidenciando que o TPN é degradado principalmente por co-metabolismo. Quanto à formação de resíduos ligados obteve 46, 34 e 18% nos solos GH, LE e AQ, respectivamente. A maior parcela de resíduos ligados foi formada no primeiro dia da aplicação, mas o envelhecimento também contribuiu para a formação de formas menos reversíveis do complexo TPN-solo. A degradação foi acompanhada pelo aparecimento de metabólitos por cromatografia de camada delgada (CCD), e a média geral da recuperação no experimento foi de 96,4%. No tempo zero a recuperação do $^{14}\text{C}\text{-TPN}$ extraível variou entre 95 a 98%, sendo que praticamente 100% desta radioatividade correspondia ao composto original nos solos LE e AQ. Já o solo GH não apresentou resultado com a utilização de CCD. Nos solos LE e AQ à medida que o metabólito ácido 3-carbamil-2,4,5-triclorobenzóico (Figura 11) aumentava, o TPN extraído do solo continuava a decrescer durante todo o período de incubação, sendo este o metabólito mais abundante em ambos os solos. Os autores acreditam

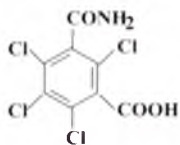


FIGURA 11. Estrutura química do metabólito ácido 3-carbamoyl-2,4,5-triclorobenzóico.

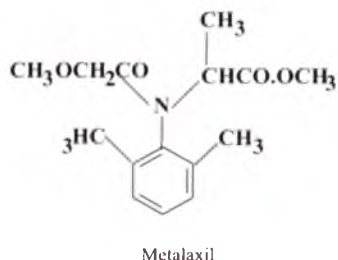


FIGURA 12. Estrutura química do metalaxil.

que a principal rota metabólica envolva oxidação/ hidratação dos grupos ciano, originando a amida correspondente, e subsequentemente o ácido orgânico, nos solos ácidos utilizados. Outra rota seria a dehalogenação redutiva ou a hidroxilação levando a formação do TPN-OH. A dissipação do TPN foi rápida nos solos testados principalmente devido à degradação microbiana e a ligação aos solos.

O metalaxil [metil D,L,N-(dimetilfenil)-N-(2-metoxiacetil)alaninato] (Figura 12) fungicida sistêmico do grupo dos alaninatos (acilaninas), é uma mistura racêmica de enantiômeros R- e S-, com classe toxicológica variando de II a IV, dependendo de sua formulação. É extensivamente utilizado na agricultura brasileira, em fruticultura, plantas ornamentais e hortaliças (GELMINI, 1991; SPESSOTO *et al.*, 2000; PAPINI & ANDRÉA, 2001; SPESSOTO, 2002). Em função do amplo espectro de atividade ele é registrado para uso em muitos países, em regiões temperadas, subtropicais e tropicais (MONKIEDJE *et al.*, 2002). Juntamente com o

furalaxil, foi primeiramente descrito em 1977 (URECH *et al.*, 1977) e sua fungitoxicidade está associada à função éster da molécula. O metalaxil inibe a síntese do RNA ribossomal, interferindo desta forma na síntese de proteínas (TOMLIN, 2000).

A degradação do metalaxil tem sido relatada como sendo, principalmente, microbiológica e dependente de fatores como tipo de solo, condições climáticas e histórico de aplicação (BAILEY & COFFEY, 1985; 1986). A capacidade de degradar o fungicida tem sido atribuída a muitos microrganismos, tanto em cultura pura como mista (MUSUMECI *et al.*, 1986; ZHENG *et al.*, 1989; ANAN'ÉVA *et al.*, 1997; SOUDAMINI *et al.*, 1997 e 1999). Entretanto, o papel das populações naturais na degradação desta molécula ainda é pouco conhecido. Droby & Coffey (1991) demonstraram que fungos, bactérias e actinomicetos presentes no solo foram capazes de transformar a molécula do fungicida. Em solo arenoso, a população natural apresentou na taxa de degradação do metalaxil diferenciada, quando considerada superfície e sub-superfície do solo (DI *et al.*, 1998). Spessoto *et al.* (2000); Spessoto (2002) confirmaram a biodegradação da molécula do metalaxil e observaram que as bactérias foram predominantes durante todo o experimento, enquanto que os actinomicetos e fungos foram suprimidos na presença do fungicida.

A meia-vida do metalaxil tem sido descrita como variável, podendo ser alguns dias até meses. Por exemplo, estudos realizados com microrganismos isolados de solos com histórico de aplicação do metalaxil apresentaram meia-vida de 14 dias

(BAILEY & COFFEY, 1986), enquanto que estudos sobre a mineralização do fungicida, considerando solos com diferentes teores de areia apresentaram meia-vida entre 69 e 159 dias (WANG *et al.*, 1995). Segundo Spessoto (2002) uma vez que a molécula esteja disponível na solução do solo ela pode ser rapidamente metabolizada, diminuindo os riscos ambientais provocados pela recalcitrância. A ausência de metabólitos provenientes da mineralização do anel radiomarcado em estudos realizados pelo autor reforçou esta hipótese, sugerindo que a degradação do metalaxil pode ocorrer num prazo inferior a 70 dias de incubação.

Outros trabalhos demonstraram o aparecimento de dois metabólitos provenientes da degradação do fungicida, após 60 dias de incubação, sendo que apenas um foi identificado como N-(2-metoxiacetil)-N-(2,6-xilil)-DL-alanina (MUSUMECI & RUEGG, 1984). Outros autores detectaram a presença de um metalaxil ácido como sendo o maior metabólito gerado pela degradação do fungicida (DROBY & COFFEY, 1991).

Solos que apresentam histórico de aplicação de agrotóxicos têm sido relatados como capazes de dissipar mais facilmente estas moléculas pelo fato de apresentarem populações microbianas que se caracterizam por um curto período de aclimação e rápida fase exponencial de crescimento (ALEXANDER, 1999). Vários autores demonstraram que em solos onde existe histórico de aplicações constantes de metalaxil foram observadas as maiores taxas de dissipação do fungicida em menor tempo (BAILEY & COFFEY, 1986; DROBY & COFFEY, 1991; NARESH *et al.*, 1997; PAPINI & ANDRÉA, 2001; SPESSOTO, 2002). A aplicação repetida do fungicida pode aumentar a seleção dos microrganismos degradadores e conseqüentemente aumentar a taxa de degradação da molécula, cujo fenômeno é conhecido como biodegradação acelerada. Droby & Coffey (1991) avaliaram as taxas de biodegradação de metalaxil ^{14}C em seis solos com características diferentes durante quatro semanas e os resultados variaram de 2,1% até 11,3%. Os solos com histórico de aplicações prévias do fungicida foram os que apresentaram as maiores taxas de biodegradação e, de acordo com as porcentagens remanescentes de radioatividade, determinaram a meia-vida do fungicida como sendo de apenas seis dias.

Um exemplo de degradação acelerada de metalaxil em solos brasileiros é apresentado por Papini & Andréa (2001). Os autores estudaram a dissipação do fungicida em dois tipos de solos utilizados para plantio de laranja e limão. Os resultados demonstraram que a degradação acelerada ocorreu somente em um tipo de solo, embora em ambos tenha sido detectado degradação parcial e mineralização do fungicida. Segundo os autores, as amostras de áreas tratadas apresentaram taxa de mineralização pelo menos duas vezes mais altas quando comparadas às áreas nunca expostas ao fungicida (máximo de 26,9% e 11,5%, respectivamente).

Em estudos sobre a degradação acelerada do metalaxil pela ação sinérgica entre bactérias e fungos isolados de três solos diferentes, Soudamini & Awasthi (1997) observaram que as culturas de fungos não oomicetos de todos os solos interagiram para aumentar a degradação do fungicida. Culturas enriquecidas em solo arenoso, depois de repetidas aplicações de metalaxil, nas condições de seco, alagado e irrigado agiram mais efetivamente na degradação do fungicida que outras culturas obtidas em solos nunca expostos ao agrotóxico.

Considerando quatro solos diferentes, Spessoto (2002) verificou que as bactérias demonstraram tendência a beneficiar-se com a presença da molécula do fungicida no solo, sugerindo a existência de populações adaptadas à degradação do composto, cujos resultados ficaram evidentes em solos com histórico de aplicação do fungicida. As maiores taxas de mineralização foram obtidas nestes solos, sugerindo que as aplicações sucessivas do composto estimulariam ou selecionariam o crescimento de microrganismos aptos a degradarem o fungicida. Segundo o autor os *Bacillus* seriam o grupo de degradadores de metalaxil mais indicados como agentes biológicos em estudos de biorremediação de solos contaminados com o fungicida.

3.5 Dicarboximidas

Os fungicidas dicarboximidas foram introduzidos na agricultura, no final da década de 1970, devido a forte resistência adquirida por fungos fitopatogênicos aos benzimidazóis. São amplamente utilizados para o controle de doenças fúngicas em vegetais e frutas. Iprodiona, procimidona e vinclozolina, diclorofenil dicarboximidas, são os mais importantes membros desta classe de fungicidas e inibe a germinação dos esporos, o crescimento micelial e ocasionam lise das células (CABRAL & CABRAL, 2000).

De forma geral, as culturas recebem várias aplicações destes compostos durante o crescimento e após a colheita os restos são aproveitados para compostagem. Neste processo a matriz verde sofre biodegradação aeróbia e estes compostos podem transformar-se em metabólitos de acordo com uma cinética específica. É importante verificar a presença ou não destes fungicidas no final da compostagem para evitar a reintrodução de substâncias potencialmente perigosas no ciclo de produção ou de seus metabólitos eventualmente mais tóxicos. Vanni *et al.* (2000a; b) determinaram a presença dos fungicidas carboximidas por meio da 3,5-dicloroanilina, metabólito comum deste grupo, no final do processo de compostagem. Em algumas amostras encontraram o composto parental e o metabólito, e em outras só a 3,5-dicloroanilina; portanto, a sua presença sem a molécula parental pode ser utilizada como um índice de transformação atingido pela compostagem. A ausência do metabólito na presença do parental pode ser devida ao limite de detecção do método utilizado para a análise dos resíduos ou pelo baixo grau de maturação atingido na compostagem. Deve-se levar em consideração que o produto resultante da compostagem tem diversos usos e o perigo da bioacumulação não deve ser ignorado, uma vez que a toxicidade dos possíveis produtos de degradação é desconhecida.

Estes autores propuseram a seguinte rota de degradação para a vinclozolina em solos (Figura 13).

A persistência da vinclozolina em três solos tropicais, sob cultivo de arroz, com características físico-químicas extremamente diferentes, foi comparada em condições de solo seco e alagado. A degradação do fungicida foi mais rápida em condições de alagamento para os três solos estudados. A degradação seguiu a cinética de primeira ordem independentemente do tipo de solo ou regime de água. Foi observado que a acidez do solo e a salinidade afetaram significativamente a persistência do

fungicida em condições de solo seco. A degradação foi acelerada depois de repetidas aplicações em um solo aluvial em ambos os regimes hídricos, sendo que em condições de alagamento a degradação acelerada foi maior. A 3,5-dicloroanilina foi detectada como metabólito da degradação do fungicida nestes solos (BANERJEE, 1999).

Vanni *et al.* (2000b) estudaram a presença e o destino da iprodiona e procimidona na compostagem, uma vez que este processo não é muito bem compreendido. Além disso, é possível encontrar em culturas e no ambiente resíduos e/ou metabólitos destes fungicidas como consequência das aplicações frequentes ou porque o intervalo entre os tratamentos não é respeitado. Os autores compararam a degradação biótica e abiótica destes compostos, num intervalo de oito meses, e observaram que a cinética das reações eram distintas. Propuseram então uma rota de biodegradação para estes compostos (Figura 14). A iprodiona mostrou rápida transformação para 3,5-dicloroanilina, único metabólito detectado após 30 dias. Por espectrometria de massas, o composto intermediário formado, durante o processo de compostagem, foi identificado como sendo isômero (3-isopropil-N-(3,5-diclorofenil)-2,4 dioxol-imidazolidina-carboxamida) quantitativamente convertido do composto parental. O resultado está de acordo com o encontrado em amostras de vegetais fortificadas com o produto por Newsome & Collins (1990).

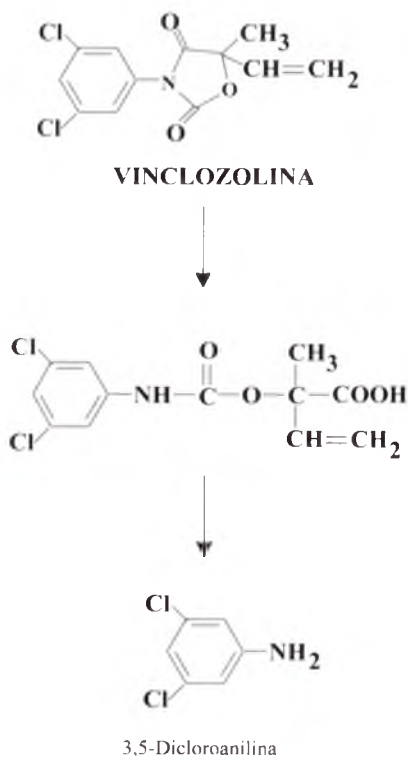


FIGURA 13. Rota de degradação da vinclozolina (VIGOUROUX, 2003).

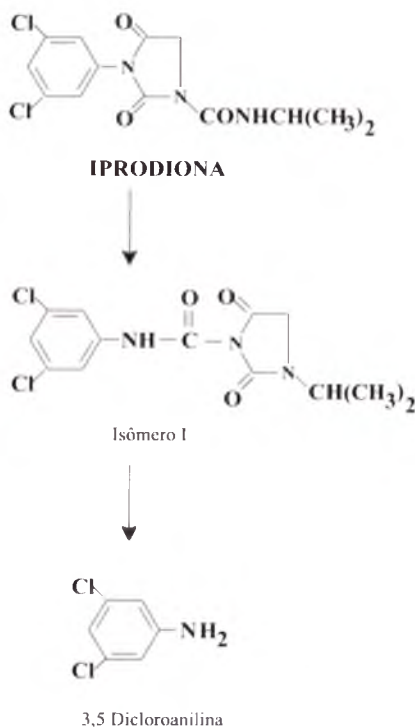


FIGURA 14. Rota da biodegradação de iprodiona (European Commission, 2004; VANNI *et al.*, 2000b).

A procimidona durante o período estudado (0 – 241 dias) apresentou 70% de transformação, permanecendo 30% da molécula original na compostagem. A degradação biológica da procimidona apresentou 2 metabólitos, a 3,5-dicloroanilina e o 2-(3,5-diclorofenilcarbamoi)-1,2-dimetilpropano carboxílico (metabólito I). O metabólito I, posteriormente foi degradado a 3,5-dicloroanilina.

Os fungicidas dicarboximidas e os tiocarbamatos parecem ser particularmente susceptíveis a biodegradação acelerada. Para os fungicidas iprodiona e vinclozolina a incorporação de pequenas quantidades (0,1%) de solo pré-condicionado em solos cuja degradação dos fungicidas foi relativamente lenta, aumentou as taxas de dissipação destes compostos (WALKER & WELSH, 1990).

3.6 Estrobilurinas

As estrobilurinas, uma nova classe de fungicidas para uso agrícola, são derivadas do ácido β -metoxiacrílico e estruturalmente relacionadas a estrobilurina A, produto natural excretado por fungos (BARTLETT *et al.*, 2002). São utilizadas para o controle e tratamento de várias culturas entre elas as frutícolas, apresentando amplo espectro de ação sendo, portanto, efetivas contra diferentes grupos de fungos fitopatogênicos (Oomycota, Ascomycota, Basidiomycota) (EPA, 1999; MCGRATH, 2003). De aplicação predominantemente foliar, estes compostos têm atividade translaminar, isto é, movem-se através das folhas tratadas, proporcionando controle em ambas as faces das mesmas (BARTLETT *et al.*, 2002; VINCELLI, 2002).

Comercializadas a partir de 1996 nos Estados Unidos, as estrobilurinas e os fungicidas relacionados (famaxadona e fenamidona, quimicamente distintos, mas no mesmo grupo de resistência cruzada) venderam aproximadamente US\$ 620 milhões em 1999, representando portanto, mais de 10% do mercado global de fungicidas em apenas 4 anos (BARTLETT *et al.*, 2002). A azoxistrobina foi o primeiro composto deste grupo a ser registrado pelo EPA seguido da trifloxistrobina (EPA, 1999).

O impacto deste grupo na agricultura pode ser observado pela venda da azoxistrobina, registrada em 72 países para uso em 84 diferentes culturas, representando acima de 400 sistemas cultura/doença. As vendas de azoxistrobina foram de US\$ 415 milhões em 1999, sendo o fungicida mais vendido no mundo (BARTLETT *et al.*, 2002). Apesar desta importância comercial, são escassas as referências bibliográficas sobre o comportamento e destino destes compostos.

No Brasil, segundo os números de registro no Sistema de Informação de Agrotóxicos (SAI), os primeiros produtos técnicos formulados à base de cresoxim-metílico e azoxistrobina tiveram seu registro no MAPA em 1998, enquanto a trifloxiestrobina e a piraclostrobina somente em 2001 (Tabela 4). Uma diferença estrutural importante entre a azoxistrobina e o cresoxim-metílico é que o último contém um grupo (*E*)-metil metoxiiminoacetato no lugar de (*E*)-metil β -metoxiacrilato (Figura 15), o que lhes confere distintas propriedades biológicas (BARTLETT *et al.*, 2002). As estrobilurinas apresentam propriedades físico-químicas muito diferentes o que conseqüentemente lhes confere uma ampla variedade de comportamentos biocinéticos tanto no interior da planta quanto na superfície externa (BARTLETT *et al.*, 2002).

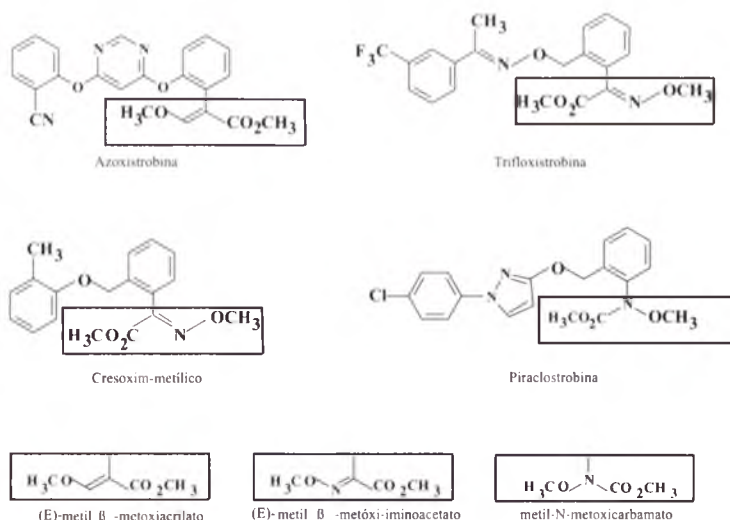


FIGURA 15. Fungicidas do grupo das estrobilurinas.

TABELA 4. Estrobilurinas registradas no Brasil.

Fungicidas	Ano de registro
Azoxistrobina	1998
Cresoxim-metílico	1998
Trifloxiestrobina	2001
Piraclostrobina	2001

Fonte: ANVISA, 2004.

As estrobilurinas têm um único sítio de atuação e inibem a respiração mitocondrial, pela ligação ao chamado sítio Q_o do citocromo *b*, localizado na membrana mitocondrial interna de fungos e outros eucariotos, bloqueando a transferência de elétrons na cadeia respiratória (MCGRATH, 2003; ZIEGLER *et al.*, 2003). Baseado neste novo modo de ação, as estrobilurinas controlam os fungos que são resistentes aos fungicidas inibidores da demetilação (DMI), fenilamidas, dicarboximidas e benzimidazóis (BARTLETT *et al.*, 2002; MA *et al.*, 2003). Estudos com azoxistrobina, cresoxim-metílico, trifloxiestrobina e piraclostrobina (Figura 15) demonstraram que no desenvolvimento dos fungos, a germinação dos esporos e a motilidade dos zoosporos são extremamente sensíveis a estes compostos (BARTLETT *et al.*, 2002). Isto pode ser explicado pelo modo de ação bioquímico destes produtos, pois são disruptores da produção de energia, sendo portanto efetivos nestes estágios de desenvolvimento que demandam alta energia, contrastando com os triazóis que inibem a biossíntese do ergosterol e portanto não impedem a germinação dos esporos e o crescimento dos tubos germinativos iniciais (BARTLETT *et al.*, 2002). O efeito potente das estrobilurinas sobre a germinação dos esporos e motilidade dos zoosporos explica o alto nível de atividade preventiva dada por estes fungicidas, em função da variação individual dos ingredientes ativos, amplo espectro, controle de isolados fúngicos

resistentes a outros fungicidas com diferentes modos de ação, aliado à baixa concentração na aplicação (BARTLETT *et al.*, 2002).

Por serem compostos com atuação sítio-específicos as estrobilurinas foram classificadas como de “risco reduzido” pela EPA (VINCELLI, 2002).

As estrobilurinas são rapidamente degradadas, portanto, a persistência em qualquer compartimento ambiental não é motivo para preocupação (Tabela 5) (BARTLETT *et al.*, 2002). A hidrólise não é a principal rota de dissipação ambiental, mas a adsorção, degradação microbiana e a fotólise também são rotas importantes. Embora não haja dados disponíveis para a piraclostrobina, as estrobilurinas seguem um padrão típico similar para a degradação em solos, com a formação de metabólitos que potencialmente têm maior mobilidade, porém são menos tóxicos do que o composto parental (BARTLETT *et al.*, 2002). O metabólito principal, a forma ácida destes compostos, é inativo. Não há evidências que estes compostos causem efeitos genéticos, carcinogênicos ou problemas na reprodução, portanto, quando aplicados segundo as recomendações técnicas, não apresentam efeitos adversos na saúde humana (AUSTRÁLIA, 2000; EUROPEAN COMMISSION, 2000).

A degradação rápida da trifloxiestrobina foi observada, em vários tipos de solos, sendo a meia-vida em laboratório menor do que três dias. O principal metabólito foi o ácido, cuja meia-vida foi significativamente maior em laboratório, em torno de cem dias, embora isômeros do composto parental e do metabólito ácido tenham sido formados sob muitas condições experimentais (AUSTRÁLIA, 2000). Em estudos de laboratório e campo foi observada rápida degradação para o metabólito ácido, mais solúvel e, portanto, mais lixiviável, principalmente em função do tipo de solo. No campo a meia-vida do composto parental foi inferior a 5 dias, e em solos com ampla diferença nas características físico-químicas o resultado foi o mesmo. A trifloxiestrobina foi caracterizada como não sendo preocupante em relação aos microrganismos do solo. Em sete solos testados, utilizando compostos radiomarcados, em aerobiose, a meia-vida da trifloxiestrobina foi de 2 dias, e o metabólito ácido apresentou meia-vida entre 100-473 dias. Entretanto, em solo estéril, a degradação foi significativamente retardada com meia-vida acima de 100 dias para o composto parental (AUSTRÁLIA, 2000).

A taxa de degradação pode ser afetada tanto pela temperatura quanto pela umidade dos solos, tanto para o parental quanto para o metabólito. Em condições normais de campo ($T=20^{\circ}\text{C}$ e umidade de 60%), a mineralização da trifloxiestrobina foi alta, na ordem de 50% ou mais. Esta rápida degradação foi independente do tipo de solo. O metabólito foi lentamente convertido para $^{14}\text{CO}_2$ por ter sido incorporado

TABELA 5. Persistência das estrobilurinas em solo e água.

Composto	Solo DT ₅₀ (dias)	Água DT ₅₀ (dias)
Azoxistrobina	7 - 56 ^a	±7 ^d
Cresoxim-metilico	<1 ^a	1 ^b
Trifloxiestrobina ^a	4 - 10	0,3 - 1
Piraclostrobina ^c	2 - 37	—

Fonte: a: Tomlin, 2000; b: US EPA, 1998; c: Ammermann *et al.*, 2000; d: Syngenta GLP data.

nos constituintes do solo (ácidos húmicos, fúlvicos e humina), indicando a mineralização da porção radiomarcada da molécula (AUSTRÁLIA, 2000).

4. Considerações finais

A maioria dos fungicidas é transformada predominantemente por processos biológicos. Os resíduos desses compostos podem ser mineralizados por um simples microrganismo ou envolver o efeito interativo das comunidades mistas de microrganismos e conta com a versatilidade metabólica das bactérias e fungos. As transformações bióticas dos fungicidas geralmente resultam na degradação da estrutura molecular em formas mais simples, no entanto a molécula pode persistir se as condições ambientais forem desfavoráveis para a atividade degradativa.

Quando a biodegradação é o principal processo de degradação, a aplicação repetida dos compostos leva ao enriquecimento das populações degradadoras, originando um desaparecimento acelerado da molécula com atividade fungicida. A biodegradação acelerada de fungicidas é uma ameaça significativa para a eficácia destes produtos. Embora seja consequência de processos naturais de adaptação metabólica, este processo pode ser considerado por dois ângulos: do ponto de vista agrônomo aumenta a necessidade de utilização do produto, diminui a eficácia e leva a necessidade de aumento de doses para obtenção do mesmo resultado, podendo resultar em prejuízo econômico ao produtor. Já do ponto de vista ecológico, é um dos maiores mecanismos para a biodegradação e detoxificação no controle de poluição. Muitos autores questionam se a adaptação microbiana responsável pela biodegradação acelerada é resultado do aumento do número de microrganismos ou do aumento na atividade enzimática. A capacidade dos microrganismos crescerem usando um composto orgânico específico como fonte de carbono não significa que a inoculação do microrganismo em um ambiente natural causará a degradação do composto. A capacidade para metabolizar o composto orgânico é necessária, mas não é condição suficiente para que o organismo efetue a transformação, pois as moléculas do fungicida ou seus metabólitos podem persistir sob condições desfavoráveis para a biodegradação.

Desta forma, deve-se levar em consideração o custo/ benefício social e ambiental do uso de fungicidas, para que ocorra minimização de riscos e maximização do retorno de benefícios do uso destes compostos na agricultura, visando a qualidade do ambiente.

Referências

- AHARONSON, N.; KAFKAFI, V. Adsorption, mobility and persistence of thiabendazole and methyl-2-benzimidazolecarbamate in soils. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.23, p.720, 1975.
- AHARONSON, N.; KATAN, J.; AVIDOV, E.; YARDEN, O. The role of fungi and bacteria in

the enhanced degradation of fungicide carbendazim and the herbicide diphenamid. In: RACKE, K.D.; COATS, J.R. (Ed.). **Enhanced biodegradation of pesticides in the environment**. Washington: American Chemical Society, 1990. p.113-127. (ACS Symposium Series, 426).

- ALEXANDER, M. **Biodegradation and bioremediation**. 2. ed. New York: Academic Press, 1999. 453 p.
- ALLARD, A.S.; REMBERGER, M.; NEILSON, A. H. Bacterial *O*-methylation of halogen-substituted phenols. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.53, p.839-845, 1987.
- ANAN'-EVA, N.D.; DEMKINA, T.S.; BLAGODATSKAYA, E. V.; SUKHOPAROVA, V.P.; ABELTSEV, V.I. A complex approach to the study of the behavior of pesticides in soil. **Pochvovedenie**, New York, v.6, p.763-769, 1997.
- ANDEF. **Associação Nacional de Defesa Vegetal**. Disponível em: www.undef.com.br/detr/banco.html Acesso em: 9 out. 2001.
- ANVISA. Consulta Pública nº 50. 09 de junho de 2003. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 11 jun. 2003. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP\[4882-2-0\].PDF](http://www.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP[4882-2-0].PDF). Acesso em: 09 março. 2004.
- ARS. **Pesticide properties**. Disponível em: <http://wizard.arsusda.gov/rsml/textfiles/MANCOZEB> Acesso em nov. 2003.
- AUSTIN, D.J.; BRIGGS, G.G. A new extraction method for benomyl residues in soil and its application in movement and persistence studies. **Pesticide Science**. London, v.7, n.2, p.201-210, 1976.
- AUSTRALIA. National Registration Authority for Agricultural and Veterinary Chemicals. **Public release summary on evaluation of the new active Trifloxystrobin in the product Flint fungicide**. Canberra, 2000.
- AYANABA, A.; VERSTRAETE, W.; ALEXANDER, M. Formation of dimethylnitrosamine, a carcinogen and mutagen, in soils treated with nitrogen compounds. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v.37, p.565, 1973.
- BAILEY, A.M.; COFFEY, M.D. Biodegradation of metalaxyl in avocado soils. **Phytopathology**. St. Paul, v.75, n.2, p.135-137, 1985.
- BAILEY, A.M.; COFFEY, M.D. Characterization of microorganisms involved in accelerated biodegradation of metalaxyl and metolachlor in soils. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.32, p.562-569, 1986.
- BALASUBRAMANIAN, G.; MATHAN, K.K. Adsorption and desorption of chlorothalonil in soils. **Journal of the Indian Society of Soil Science**, New Delhi, v.44, p.321-323, 1996.
- BANERJEE, A.; PADHI, S.; ADHYA, T.K. Persistence and biodegradation of vinclozolin in tropical rice soils. **Pesticide Science**, London, v.55, p.1177-1181, 1999.
- BARTLETT, D.W.; CLOUGH, J.M.; GODWIN, J. R.; HALL, A.A.; HAMER, M.; PARR-DOBRZANSKI, B. Review: The strobilurin fungicides. **Pest Management Science**, Chichester, v.58, p.649-662, 2002.
- BAUDE, F.J.; PEASE, H.L.; HOLT, R.F. Fate of benomyl on field soil and turf. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.22, n.3, p.413-418, 1974.
- BEIGEL, C.; BARRIUSO, E.; DI PIETRO, L. Time dependency of triticonazole fungicide sorption and consequences for diffusion in soils. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.26, p.1503-1510, 1997.
- BEIGEL, C.; CHARNAY, M.; BARRIUSO, E. Degradation of formulated and unformulated fungicide in soil: effect of application rate. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.31, p.525-534, 1999.
- BELANGER, A. Residues of azinphosmethyl, cypermethrin, benomyl and chlorothalonil in monarda and peppermint oil. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.249, p.67-73, 1989.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Coordenação de Fiscalização de Agrotóxicos. **"Agrofit 98": uso adequado de agrotóxicos**. Brasília, 1998. CD ROM.
- BROMILOW, R.H.; EVANS, A.A.; NICHOLLS, P. H. Factors affecting degradation rates of five triazole fungicides in two soil types: 1. laboratory incubations. **Pesticide Science**, London, v.55, p.1129-1134, 1999.
- BROMILOW, R.H.; EVANS, A.A.; NICHOLLS, P.H.; TODD, A.D.; BRIGGS, G.G. The effect on soil fertility of repeated applications of pesticides over 20 years. **Pesticide Science**, London, v.48, p.63-72, 1996.
- BURRI, R. **Photodegradation study of ¹⁴C-thiram in soil**. Bern: ROC Umweltchemie AG, 1995. Unpublished. (RCC Project 326171).
- CABRAL, S.M.J.C.S.; CABRAL, J.P.S. The primary mode-of-action of vinclozolin: are oxygen free radicals directly involved? **Pesticide Biochemistry and Physiology**, New York, v.66, p.145-152, 2000.
- CARSON, R.L. **Silent spring**. Cambridge: Riverside Press, 1962.
- CAUX, P.Y.; KENT, R.A.; FAN, G.T.; STEPHENSON, G.L. Environmental fate and effects of chlorothalonil: a canadian perspective. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, Palo Alto, v.26, n.1, p.45-93, 1996.
- COX, C. Chlorothalonil. **Journal of Pesticide Reform**, Eugene, v.17, n.4, p.14-20, 1997.
- DAVIDSE, L.C. Metabolic conversion of methyl benzimidazole-2-yl-carbamate (MBC) In: **Aspergillus nidulans**. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, New York, v.6, p.638, 1976.

- DI, H.J.; AYLMOORE, L.G.A.; KOOKANA, R.S. Degradation rates of eight pesticides in surface and subsurface soils under laboratory and field conditions. *Soil Science*, New Brunswick, v.163, n.5, p.404-411, 1998.
- DONECHE, B.; SEGUIN, G.; RIBERAU-GAYON, P. Mancozeb effect on soil microorganisms and its degradation in soil. *Soil Science*, New Brunswick, v.135, p.361, 1983.
- DOROUGH, H.W.; BALLARD, S.K. Degradation of pesticides by animals. In: MATSUMURA, F.; KRISHNA MURTI, C.R. (Ed.). **Biodegradation of pesticides**. New York: Plenum Press, 1982. p.3-20
- DOWNING, E. **Environmental fate of maneb**. Disponível em: <<http://www.cdpr.ca.gov/empm/pubs/fatememo/manebe.pdf>>. Acesso em: 14 set. 2003.
- DROBY, S.; COFFEY, M.D. Biodegradation process and the nature of metabolism of metalaxyl in soil. *Annals of Applied Biology*, Cambridge, v.118, n.3, p.543-553, 1991.
- EBDC. Fungicide Assessment Team. U.S. Department of Agriculture. **Assessment of ethylenebisdithiocarbamate (EBDC) fungicide uses in agriculture**. I. Analysis of uses and their relationship to exposure. Washington: U.S. Department of Agriculture, 1977.
- EKELUND, F. The impact of the fungicide fenpropimorph (Corbel) on bacterivorous and fungivorous protozoa in soil. *Journal of Applied Ecology*, Oxford, v.36, p.233-243, 1999.
- EKELUND, F.; RONN, R.; CHRISTENSEN, S. The effect of three different pesticides on soil protozoan activity. *Pesticide Science*, London, v.42, p.71-78, 1994.
- EMANS, H.J.B.; BEEK, M.A.; LINDERS, J.B.H.J. **Evaluation system for pesticides - (ESPE) I: agricultural pesticides**. Bilthoven: National Institute of Public Health and Environmental Protection (RIVM), 1992. (Report, 679101004).
- ENDS. Industry glimpses new challenges as endocrine science advances. **The ENDS Report**, London, v.290, p.26-30, 1999.
- ETHYLENETHIOUREA. **Pure and Applied Chemistry**, London, v.49, p.675, 1977.
- EUROPEAN COMMISSION. Health & Consumer Protection Directorate-General. **Trifloxystrobin: SANCO/4339/2000-Final**. Disponível em: <<http://www.fluorideaction.org/pesticides/trifloxystrobin.eu.april.03.pdf>>. Acesso em: 2 fev. 2004.
- EUROPEAN COMMISSION. Health and Consumer Protection Directorate-General. **Opinion of the Scientific Committee on Plants on specific questions from the Commission concerning the evaluation of iprodione in the context of Council Directive 91/414/EEC**. Disponível em: <http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scp/out123_ppp_en.pdf> Acesso em: 10 fev. 2004.
- FAY, E.F. **Dissipação do fungicida clorotalonil**. 2000. 96 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Rio Claro.
- FENPROPIMORPH: Disponível em: <http://www.fao.org/WAICENT/FAOINFO/AGRICULT/AGP/AGPP/Pesticid/JMPR/Download/95/fenpro.pdf> Acesso em 10 de março de 2004.
- FERREIRA, C.R.R.P.T.; SILVA, J.R.; ASSUMPÇÃO, R. Distribuição territorial das vendas de herbicidas no Brasil, 1991-2000. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.32, n.6, p.15-23, 2002.
- FINNERTY, W.R. The biology and genetics of genus *Rhodococcus*. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v.46, p.193-218, 1992.
- FISHBEIN, L. Toxicological aspects of fungicides. In: SIEGEL, M.R.; SISLER, H.D. (Ed.). **Antifungal compounds**. New York: Marcel Dekker, 1977. v.1, p.337-398.
- FLEECKER, J.R.; LACY, H.M. Photolysis of methyl 2-benzimidazole-carbamate. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.25, p.51-55, 1977.
- FLEECKER, J.R.; SCHULTZ, I.R.; HOUKOM, E.C. Persistence and metabolism of thiophanate-methyl in soil. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.22, n.4, p.592-592, 1974.
- FRAUNHOFER INSTITUT SCHMALLENBERG. **Aerobic biodegradation in soil of the EBDC - fungicide maneb**. Hannover, 1987a. (CDPR, v.110-039). #63345.
- FRAUNHOFER INSTITUT SCHMALLENBERG. **Aerobic biodegradation of the EBDC-fungicide maneb**. Hannover, 1987b. (CDPR Volume Number 110-039). #63346.
- FUCHS, A.; de VRIES F.W. Bacterial breakdown II. Mixed cultures. **Antonie van Leeuwenhoek. Journal of Microbiology and Serology**, Dordrecht, v.44, p.293, 1978b.
- FUCHS, A.; de VRIES F.W. Bacterial breakdown of benomyl. I-Pure cultures. **Antonie van Leeuwenhoek. Journal of Microbiology and Serology**, Dordrecht, v.44, p.283, 1978a.
- GAJBHIYE, V.T.; AGNIHOTRI, N.P.; GUPTA, R.K.; KUMAR, B.; SRIVASTAVA, K.P. Persistence and safety evaluation of chlorothalonil on tomato and mustard. **Annals of Agricultural Research**, London, v.17, n.1, p.70-73, 1996.
- GAJBHIYE, V.T.; JAIN, H.K.; AGNIHOTRI, N.P. Persistence of chlorothalonil in soil, water and sediment. **Pesticides**, Bombay, v.23, p.32 J-32 L, 1989.

- GARDNER, D.S.; BRANHAM, B.E.; LICKFELDT, D. W. Effect of turfgrass on soil mobility and dissipation of cyproconazole. **Crop Science**, Madison, v.40, p.1333-1339, 2000.
- GELMINI, G.A. **Agrotóxicos: legislação básica**. Fundação Cargill, Campinas, Brasil, 1991.
- GLOTFELTY, D.E.; TAYLOR, A.W.; TURNER, B. C.; ZOLLER, W. H. Volatilization of surface-applied pesticides from fallow soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.32, p.634-638, 1984.
- GRAY, L.E. Xenoendocrine disrupters: laboratory studies on male reproductive effects. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v.102-103, p.331-335, 1998.
- HABTE, M.; AZIZ, T.; YUEN, J.E. Residual toxicity of soil-applied chlorothalonil on mycorrhizal symbiosis in *Leucaena leucocephala*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.140, p.263-268, 1992.
- HELWEG, A. Degradation and adsorption of carbendazim and 2-aminobenzimidazole in soil. **Pesticide Science**, London, v.8, n.1, p.71-78, 1977.
- HELWEG, A. Influence of temperature, humidity and inoculation on the degradation of ¹⁴C labeled 2-aminobenzimidazole in soil. **Water, Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v.12, p.275, 1979.
- HELWEG, A. Microbial breakdown of the fungicide benomyl. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.4, p.377-378, 1972.
- HELWEG, A. Persistence of benomyl in different soil types and microbial breakdown of the fungicide in soil and agar culture. **Tidskrift for Panteavl**, Stuttgart, v.77, p.232-243, 1973.
- HINE, R.B.; JOHNSON, D.C.; WENGER, C.J. The persistency of two benzimidazole fungicides in soil and their fungistatic activity against *Phymatotrichum omnivorum*. **Phytopathology**, St. Paul, v.59, p.798, 1969.
- HUBER, R. **Stage on the investigations on the metabolism of fenpropimorph in soil**. Unpublished BASF report n° 1684, Maag, Doc. 041/0719. Ciba fenpropimorph submission to 1994 JMPR Volume 2 Section2, tab. 12, 1979.
- IARC. **Ethylenethiourea (group 3): summary of data reported and evaluation**. Disponível em: <<http://monographs.iarc.fr/htdocs/monographs/vol79/79-18.html>>. Acesso em: 10 fev.2004.
- IPCS – INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY. **The WHO recommended classification on pesticides by hazard and guidelines to classification 2000 – 2002**. [Genebra]: UNEP: ILO: WHO: [2002]. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/pds/pdsother/class.pdf>> Acesso em 10 mar. 2004.
- JACOBSEN, O.S.; BOSSI, R. Degradation of ethylenethiourea (ETU) in oxic and anoxic sandy aquifer. **FEMS Microbiological Reviews**, New York, v.20, p.539-544, 1997.
- JAMET P.; EUDLINE, V. Assessment of the movement of triazole fungicides by soil thin-layer chromatography. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v.123/124, p.459-468, 1992.
- JANKE, D.; FRITSCH, W. Nature and significance of microbial cometabolism of xenobiotics. **Journal of Basic Microbiology**, Berlin, v.23, p.603-619, 1985.
- JOHANNENSEN, H.; NIELSEN, A.B.; HELWEG, A.; FOMSGAARD, I.S. Degradation of [¹⁴C]ethylenethiourea in surface and subsurface soil. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v.191, p.271-276, 1996.
- JOHNSON, W.G.; LAVY, T.L. In-situ dissipation of benomyl, carbofuran, thiobencarb and triclopyr at three soil depths. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.23, p.556-562, 1994.
- KAARS SIJPESTEIJN, A.; DEKHUIJZEN, H.M.; VONK, J.W. Biological conversion of fungicides in plants and microorganism. In: SIEGEL, M. R.; SISLER, H. D. (Ed.). **Antifungal compounds**. New York: Marcel Dekker, 1977. v.2, p.99-147.
- KAARS SIJPESTEIJN, A.; van der KERK, G.J.M. Investigations on organic fungicides. VIII. The biochemical mode of action of bisdithiocarbamates and diisothiocyanates. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v.13, p.545, 1954.
- KAARS SIJPESTEIJN, A.; VONK, J.W. Decomposition of bisdithiocarbamates and metabolism by plants and microorganisms. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PESTICIDE CHEMISTRY, 3., 1974. Abstracts... London, 1974. Abstract 033.
- KATAYAMA, A.; ISEMURA, H.; KUWATSUKA, S. Population change and characteristics of chlorothalonil-degrading bacteria in soil. **Journal of Pesticide Science**, Tokyo, v.16, p.239-245, 1991b.
- KATAYAMA, A.; ISEMURA, H.; KUWATSUKA, S. Suppression of chlorothalonil dissipation in soil by repeated applications. **Journal of Pesticide Science**, Tokyo, v.16, p.233-238, 1991a.
- KATAYAMA, A.; KUWATSUKA, S. Effect of pesticides on cellulose degradation in soil under upland and flooded conditions. **Soil Science and Plant Nutrition**, Dordrecht, v.37, p.1-6, 1991c.
- KAUFMAN, D.D.; FLETCHER, C.L. Ethylenethiourea degradation in soil. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON PLANT PATHOLOGY, 2., 1973. Minneapolis. **Proceedings**... Minneapolis, 1973. Abstract 1018.

- KNACKMUSS, H.J. Degradation of halogenated and sulfonated hydrocarbons. In: LEISINGER, T. (Ed.). **Microbial degradation of xenobiotics and recalcitrant compounds**. New York: Academic Press, 1981. p.187-212.
- KOOKANA, R.S.; BASKARAN, S.; NAIDU, R. Pesticide fate and behavior in Australian soils in relation to contamination and management of soil and water: a review. **Australian Journal of Soil Research**, Victoria, v.36, p.715-764, 1998.
- KUCK, K.H.; SCHEINPFLUG, Biology of sterol-biosynthesis inhibiting fungicides. In: KATO, T.; KRÄMER, W.; KUCK, K.H.; NORRIS, D.M.; SCHEINPFLUG, (Ed.). **Chemistry of plant protection: n° 1: sterol biosynthesis, inhibitors and anti-feeding compounds**. Berlin: Springer-Verlag, 1986. p.65-96.
- LAVORENTI, A. Remobilização e transporte de resíduos ligados de agrotóxicos ao solo. In: SIMPÓSIO SOBRE DINÂMICA DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NO SOLO: aspectos práticos e ambientais, 2002, Piracicaba. **Apostila...** Piracicaba: ESALQ-USP, 2002. p.70-78.
- LEVITAN, L.; MERWIN, I.; KOVACH, J. Assessing the relative environmental impacts of agricultural pesticides: the quest for a holistic method. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v.55, p.153-168, 1995.
- LINDSTROM, M.E.; STIRLING, D.I. Mycorrhizotrophs: genetics and commercial applications. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v.44, p.27-58, 1990.
- LINHARES, A.L.; GHINI, R. **Resistência de fungos fitopatogênicos a fungicidas inibidores da demetilação (DMI): uma revisão**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2001. 64p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 26).
- LIU, S.Y.; ZHENG, Z.; ZHANG, R.; BOLLAG, J. M. Sorption and metabolism of metolachlor by a bacterial community. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.55, p.733-740, 1989.
- LOEFFLER, R.S.T.; HAYES, A.L. Effects of sterol biosynthesis inhibitors fungicides of *Ustilago maydis*, *Botrytis cinerea* and *Pyrenophora teres*. **Pesticide Science**, London, v.36, p.7-17, 1992.
- LYMAN, W.R.; LACOSTE, R.J. New developments in the chemistry and fate of ethylenebis(dithiocarbamate) fungicides. In: INTERNATIONAL IUPAC CONGRESS OF PESTICIDE CHEMISTRY, 3., 1974, Helsinki. **Proceedings...** Stuttgart: George Thieme Publishers, 1974. p.67-74.
- LYMAN, W.R.; LACOSTE, R.J. New developments in the chemistry and fate of ethylenebis(dithiocarbamate) fungicides. **Environmental Quality**, Washington, v.3, p.67-74, 1975.
- MA, Z.; FELTS, D.; MICHAILIDES, T.J. Resistance to azoxystrobin in *Alternaria* isolates from pistachio in California. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, London, v.77, p.66-74, 2003.
- McGRATH, M.T. **Resistance management is essential with Strobilurin fungicides**. Ithaca: Cornell University. Department of Plant Pathology, 2002.
- MILES, C.J.; DOERGE, R. Fate of ethylenethiourea in Hawaiian soil and water. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.39, p.214-217, 1991.
- MONKIEDJE, A.; ILORI, M.O.; SPITELLER, M. Soil quality changes resulting from the application of the fungicides mefenoxam and metalaxyl to a sandy loam soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.34, n.1, p.1-10, 2002.
- MORGENROTH, U.; MÜLLER-KALLERT, H.M. **¹⁴C-Thiram. Degradation and metabolism in one soil incubated under aerobic conditions**. Berne: RCC Umweltchemie AG, 1995. Unpublished. (RCC Project 326182).
- MOTONAGA, K.; TAKAGI, K.; MATUMOTO, S. Biodegradation of chlorothalonil in soil after suppression of degradation. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v.23, p.340-345, 1996.
- MOTONAGA, K.; TAKAGI, K.; MATUMOTO, S. Suppression of chlorothalonil degradation in soil after repeated application. **Environmental Toxicology and Chemistry**, Elmsford, v.17, p.1469-1472, 1998.
- MUNNECKE, D.E.; MICKAIL, K.Y. Thiram persistence in soil and control of damping-off caused by *Pythium ultimum*. **Phytopathology**, St. Paul, v.57, p.969, 1967.
- MURPHY, G.I.; PERRY, J.J. Incorporation of chlorinated alkanes into fatty acids of hydrocarbon-utilizing mycobacteria. **Journal of Bacteriology**, Washington, v.156, p.1158-1164, 1983.
- MUSUMECI, M.R.; CAINELLI, V.C.B.; RUEGG, E.F. Persistencia do fungicida carbendazim em amostras de solo do Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.5, n.31, p.305-309, 1980a.
- MUSUMECI, M.R.; LORD, A.; FLORES-RWGG, E. **Adsorption, leaching and persistence of carbendazim in Brazilian soils**. São Paulo: Instituto Biológico, 1980b. (Report. Biological Institute. State Department of Agronomy).

- MUSUMECI, M.R.; PIMENTEL, C.P.V.; RUEGG, E. F. Degradation in vitro of metalaxyl by pure cultures of plant pathogenic fungi. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.11, n.4, p.957-961, 1986.
- MUSUMECI, M.R.; RUEGG, E.F. Microbial degradation of metalaxyl in the soil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.9, n.3, p.583-591, 1984.
- NARESH M.; SAHARAN, G.S.; KATHPAL, T.S. Absorption and degradation of metalaxyl in mustard plant (*Brassica juncea*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v.37, p.119-124, 1997.
- NASH, R.G.; BEALL JR., M.L. Fate of manebe and zineb fungicides in microagroecosystem chambers. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.28, p.332-330, 1980.
- NEILSON, A.H. **Organic chemicals: an environmental perspective**. Boca Raton: Lewis Publishers, 2000. 870 p.
- NETZER, D.; DISHON, I. Persistence of benomyl and thiophanate compounds in soil and various plants following soil application. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v.1, p.33, 1973.
- NEWSOME, W.H.; COLLINS, P. Determination of iprodione, vinclozolin and procymidone as the heptafluorobutyramides of 3,5-dichloroaniline. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, New York, v.38, p.489-494, 1990.
- OSTBY, J.; KELCE, W.R.; LAMBRIGHT, C.; WOLF, C.J.; MANN, P.; GRAY, L.E.J. The fungicide procymidone alters sexual differentiation in the male rat by acting as an androgen-receptor antagonist in vivo and in vitro. **Toxicology and Industrial Health**, Little Rock, v.15, p.80-93, 1999.
- PAPINI, S.; ANDRÉA, M. M. Enhanced degradation of metalaxyl in agricultural soils of São Paulo State, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.1, p.1-5, 2001.
- PATIL, S.G.; NICHOLLS, P.H.; CHAMBERLAIN, K.; BRIGGS, G.G.; BROMILOW, R.H. Degradation rates in soil of 1-benzyltriazoles and two triazole fungicides. **Pesticide Science**, London, v.22, p.333-342, 1988.
- PICININI, E.C. Fungicidas benzimidazóis. **RAPP: Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.2, p.357-409, 1994.
- PIMENTEL, D. Amounts of pesticides reaching target pests: environmental impacts and ethics. **Journal of Agricultural and Environmental Ethics**, Dordrecht, v.8, p.17-29, 1995.
- PLIMMER, J.R. Chemistry of pesticides. In: KRIEGER, R.; DOULL, J.; ECOBICHON, D.; GAMMON, D.; HODGSON, E.; REITER, L.; ROSS, J. (Ed.). **Handbook of pesticide toxicology - v.1, Pesticide risk characterization**. New York: Academic Press, 2002. p.95-107.
- PRIMI, P.; SURGAN, M.H.; URBAN, T. Leaching potential of turf care pesticides; a case study of Long Island golf courses. **Groundwater Monitoring and Remediation**, New York, v.14, p.129-138, 1994.
- PURSER D. **Carbendazim: behavior in water**. Harrogate: Hazelton Laboratories, 1987. (Unpublished Report No. 5220-269/12, prepared for E. I. Du Pont de Nemours and Co., Inc.).
- R&H COMPANY. **Aerobic and anaerobic soil metabolism of mancozeb**. Sacramento: Department of Pesticide Regulation, 1987a. (DPR, v.176-041 # 53694 & 53695).
- R&H COMPANY. **Soil photolysis study of mancozeb**. Sacramento: Department of Pesticide Regulation, 1987b. (DPR, v.176-039 # 53692).
- RAGHU, K.; MURTHY, N.B.K.; KUMARASAMY, R.; RAO, R.S.; SANE, P.V. Fate and persistence of thiram in plants and soil. In: **Proceedings of the Joint FAO/IAEA Division of Atomic Energy in Food and Agriculture**. Vienna: International Atomic Energy Agency, 1975. p.137-148.
- RAJAGOPAL, B.S.; BRAHMAPRAKASH, G.P.; REDDY, B.R.; SINGH, U.D.; SETHUNATHAN, N. Effect and persistence of selected carbamate pesticides in soil. **Residue Reviews**, New York, v.93, p.6-19, 1984.
- RAYNAL, G.; FERRARI, F. Remenence et action sur la microflore fongique du bénomyl utilisé en incorporation a un sol. **Phytiatrie - Phytopharmacie**, Paris, v.22, p.259, 1973.
- REDUKER, S.; UCHRIN, C.G.; WINNETT, G. Characteristics of the sorption of chlorothalonil and azinphosmethyl to a soil from a commercial cranberry bog. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v.41, p.633, 1988.
- REGITANO, J.B.; TORNISIELO, V.L.; LAVORENTI, A.; PACOVSKY, R.S. Transformation pathways of ¹⁴C-chlorothalonil in tropical soils. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v.40, p.295-302, 2001.
- ROUCHAUD, J.P.; DECALLONE, J. R.; MEYER, J.A. Metabolic fate of methyl-2-benzimidazolecarbamate in melon plants. **Phytopathology**, St. Paul, v.63, n.12, p.1513-1571, 1974.
- ROUCHAUD, J.P.; DECALLONE, J.R.; MEYER, J.A. Metabolism of 2-aminobenzimidazole in melon plants. **Pesticide Science**, London, v.8, n.1, p.31-34, 1977a.
- ROUCHAUD, J.P.; LHOEST, G.J.; MERCIER, M.J.; MEYER, J.A. Metabolism of benomyl in carrot, strawberry and apple. **Pesticide Science**, London, v.8, p.23-30, 1977b.

- ROUCHAUD, J.; ROUCOURT, P.; VANACHTER, A.; BENOIT, F.; CEUSTERMANS, N. Hydrolytic biodegradation of chlorothalonil in the soil and in cabbage crops. **Toxicological and Environmental Chemistry**, London, v.17, p.59-68, 1987.
- ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY. **The Agrochemicals handbook - Cyproconazole**, A1032/Aug.91. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1991.
- SANBOM, J.R.; FRANCIS, B.M.; METCALF, R.L. **The degradation of selected pesticides in soil**. Washington: EPA, 1977. p.573-582. (EPA 600/9-77-022).
- SATO, K.; TANAKA, K. Degradation and metabolism of a fungicide, 2,4,5,6-tetrachloroisophthiantrile (TPN) in soil. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v.3, p.205-209, 1987.
- SCHIAVON, M.; PERRIN-GARNIER, C.; PORTAL, J.M. La pollution de l'eau par les produits phytosanitaires: état et origine. **Agronomie**, Paris, v.15, p.157-170, 1995.
- SCHNOOR, J.L. Chemical fate and transport in the environment. In: SCHNOOR, J.L. (Ed.). **Fate of pesticides and chemicals in the environment**. New York: John Wiley & Sons, 1992. p.1-24.
- SETHUNATHAN, N. Microbial degradation of insecticides in flooded soil and anaerobic cultures. **Residue Reviews**, New York, v.47, p.143-165, 1973.
- SEVERN, D.J.; BALLARD, G. Risk/benefit and regulations. In: CHENG, H. H. (Ed.). **Pesticides in the soil environment: processes, impacts and modeling**. Madison: Soil Science Society of America, 1990. p.467-491. (SSSA. Book Series, 2).
- SIEGEL, M.R. Benomyl-soil microbial interactions. **Phytopathology**, St. Paul, v.65, p.219, 1975.
- SILVA, C.M.M.S. **Biodegradação do fungicida carbendazim**. 1996, 86 p.Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.
- SILVA, C.M.M.S.; FAY, E.F.; MELO, I.S. Degradação do fungicida carbendazim por *Phanerochaete chrysosporium*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.21, p.496-498, 1996.
- SINHA, A.P.; AGNIHOTRI, V.P.; SINGH, K. Persistence of carbendazim in soil and its effect on rhizosphere in fungi of sugar beet seedlings. **Indian Phytopathology**, Bombay, v.3, p.21, 1980.
- SITTIG, M.M. **Handbook of toxic and hazardous chemicals and carcinogens**. 2. ed. Park Ridge: Noyes Data Corporation, 1985.
- SLATER, J.H.; BULL, A.T.; HARDMAN, D.J. Microbial dehalogenation. **Biodegradation**, Amsterdam, v.6, p.181-189, 1995.
- SLATER, J.H.; LOVATT, D. Biodegradation and the significance of microbial communities. In: GIBSON, D.T. (Ed.). **Microbial degradation of organic compounds**. New York: Marcel Dekker, 1984. p.439-485.
- SMITH, P.M.; WORTHING, C.R. Microbial degradation of soil applied fungicides. **Report. Glasshouse Crops Research Institute**, Littlehampton, v.1974, p.106, 1975.
- SOLEL, Z.; SANDLER, D.; DINOOR, A. Mobility and persistence of carbendazim and thiabendazole applied to soil via drip irrigation. **Phytopathology**, St. Paul, v.69, n.12, p.1273-1277, 1979.
- SOLEL, Z.; SCHOOLEY, J.M.; EDGINGTON, V. Uptake e translocation of benomyl and carbendazim (methyl benzimidazol-2-yl carbamate) in the symplast. **Pesticide Science**, London, v.4, p.713, 1973.
- SODAMINI-MOHAPATRA, P.; AWASTHI, M. D. Degradation of metalaxyl by enrichment cultures from sandy loam soil developed under different moisture regimes. **Pesticide Research Journal**, Bangalore, v.9, n.1, p.36-40, 1997.
- SODAMINI-MOHAPATRA, P.; AWASTHI, M.D.; MOHAPATRA, S. Enhanced degradation of metalaxyl by enrichment cultures from different soils. **Journal of the Indian Society of Soil Science**, Madras, v.47, n.2, p.217-221, 1999.
- SODAMINI-MOHAPATRA; AWASTHI, M.D.; MOHAPATRA, S. Enhancement of metalaxyl degradation by synergistic interaction among bacterial and fungal isolates. **Pesticide Research Journal**, Bangalore, v.9, n.1, p.62-66, 1997.
- SPENCER, D.M.; SMITH, P. M.; WORTHING, C.R. Breakdown of benomyl by soil microorganisms. **Report. Glasshouse Crops Research Institute**, Littlehampton, v.1971, p.111, 1972.
- SPESSOTO, A.M. **Dissipação do fungicida metalaxil em solos brasileiros e caracterização genética por RAPD de isolados envolvidos no processo**. 2002. 93 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- SPESSOTO, A.M.; MELO, I.S.; FERRACINI, V.L. Dissipação do fungicida metalaxil em solos brasileiros. **Revista Brasileira de Fitopatologia**, Brasília, v.25, n.4, p.596-601, 2000.
- STEEL, C.C.; BALOCH, R.I.; MERCER, E.J.; BALDWIN, B. C. The intracellular location and physiological effects of abnormal sterols in fungi grown in the presence of morpholine and functionally related fungicides. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, New York, v.33, p.101-111, 1989.

- STENERSON, J.H.B. DDT metabolism in resistant and susceptible stable flies and bacteria. **Nature**, London, v.207, p.660-661, 1965.
- STOCKMAIER, M.; KREUZIG, R.; BAHADIR, M. Investigations on the behavior of fenpropimorph and its metabolite fenpropimorphic acid in soils. **Pesticide Science**, London, v.46, p.361-367, 1996.
- SUN, T.; HASHIMOTO, T.; WADA, H.; TAKAI, Y. Effects of organic amendments on soil microbial ecosystem modified by long-term application of pesticides. **Japanese Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v.56, p.31-36, 1985. (in Japanese).
- SUYAMA, K.; YAMAMOTO, H.; TATSUYAMA, K.; KOMADA, H. Effect of long-term application of a fungicide, chlorothalonil, on cellulose decomposition and microflora in soil under upland conditions. **Journal of Pesticide Science**, Tokyo, v.18, p.225-230, 1993.
- SZALKOWSKI, M.B.; STALLARD, D.E. Effect of pH on the hidrolysis of chlorothalonil. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.25, p.208-210, 1977.
- TAKAGI, K.; WADA, H. A long-term change in biodegradation of a fungicide chlorothalonil: (TPN) in upland soils. **Transactions of the 14th International Congress of Soil Science**, v.3, p.196-201, 1990.
- TAKAGI, K.; WADA, H.A.; YAMAZAKI, S. Effect of a long-term application of a fungicide chlorothalonil: (TPN) in upland ecosystem. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v.37, p.583-590, 1991.
- TAYLOR, A.W.; SPENCER, W.F. Volatilization and vapor transport process. In: CHENG, H. H. (Ed.). **Pesticides in the soil environment**. Madison: Soil Science Society of America, 1990. p.213-269. (Book Series n° 2).
- THIRUP, L.; EKELUND, F.; JOHNSEN, K.; JACOBSEN, C.S. Population dynamics of the fast-growing sub-populations of *Pseudomonas* and total bacteria, and their protozoan grazers, revealed by fenpropimorph treatment. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.32, p.1615-1623, 2000.
- THIRUP, L.; JOHNSEN, K.; TORSVIK, V.; SPLIID, N.H.; JACOBSEN, C.S. Effects of fenpropimorph on bacteria and fungi during decomposition of barley roots. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.33, p.1517-1524, 2001.
- THOM, E.; OTTOW, J.C.G.; BENEKISER, G. Degradation of the fungicide difeconazole in a silt loam soil as affected by pretreatment and organic amendment. **Environmental Pollution**, Barking, v.96, p.409-414, 1997.
- THORNE, G.D.; LUDWIG, R.A. **The dithiocarbamates and related compounds**. Amsterdam: Elsevier, 1962.
- TILLMAN, R.W.; SIEGEL, M.R.; LONG, J.W. Mechanism of action and fate of the fungicide chlorothalonil (2,4,5,6-tetrachloroisophthalonitrile) in biological systems. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, New York, v.3, p.160-167, 1973.
- TOMLIN, C.D.S. **The pesticide manual: a world compendium**. 12. ed. Farnham: The British Crop Protection Council, 2000. 1250 p.
- TU, C.M. Effect of fungicides, captafol and chlorothalonil, on microbial and enzymatic activities in mineral soil. **Journal of Environmental Science and Health. Part B**, New York, v.28, n.1, p.67-80, 1993.
- URESH, P.A.; SCHWINN, F.; STAUB, T. CGA 48988, a novel fungicide for the control of late blight downy mildew and related soil borne diseases. In: BRITISH CROP PROTECTION CONFERENCE OF PESTS AND DISEASES, 9., 1977. Brighton. **Proceedings...** Brighton: BCPC, 1977. p.623-631.
- VALENTA, J.R.; DICUOLLO, C.J.; FARE, L.R.; MILLER, J.A.; PAGANO, J.F. Microbial transformation of methyl 5(6)-butyl-2-benzimidazolecarbamate. **Applied Microbiology**, New York, v.28, p.995, 1974.
- van der WERF, H.M.G. Assessing the impact of pesticides on the environment. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v.60, p.81-96, 1996.
- VANNI, A.; GAMBERINI, R.; CALABRIA, A.; NAPPI, P. Determination and identification of metabolites of the fungicides Iprodione and procymidone in compost. **Chemosphere**, Amsterdam, v.41, p.1451-1439, 2000b.
- VANNI, A.; GAMBERINI, R.; CALABRIA, A.; PELLEGRINO, V. Determination of presence of fungicides by their common metabolito, 3,5-DCA, in compost. **Chemosphere**, Amsterdam, v.41, p.453-458, 2000a.
- VIGOUROUX, M. **Iprodione pathway map**. Disponível em: <http://umbbd.ahc.umm.edu/ipd_map.html> Acesso em 10 mar. 2004.
- VINCELLI, P. Q.I (Strobilurin) fungicides: Benefits and risks. **The Plant Health Instructor**. DOI: 10.1094/PHI-I-2002-0809-02, 2002. Disponível: <www.apsnet.org/education/> Acesso em: 06 mar. 2004.
- VINCENT, P.G.; SISLER, H.D. Mechanism of antifungal action of 2,4,5,6-tetrachloroisophthalonitrile. **Physiologia Plantarum**, Dordrecht, v.21, p.249-246, 1968.
- VINGGAARD, A.M.; JOERGENSEN, E.C.; LARSEN, J.C. Rapid and sensitive reporter gene assays for detection of antiandrogenic and estrogenic effects of environmental chemicals. **Toxicology and Applied Pharmacology**, Orlando, v.155, p.150-160, 1999.

- von der MÜHLL., P.A.; PRYDE, A.; GÄTZI, M.; ETERLI, M. **Soil field dissipation, metabolism and leaching study with radioactive fenpropimorph**. Unpublished Maag, Ltd. Report 204-12-173; Internal report 041/1176. Ciba fenpropimorph submission to 1994 JMPR Volume 4, tab. 24, 1980.
- VONK, J.W. **Chemical decomposition of bisdithiocarbamate fungicides and their metabolism by plants and microorganisms**. 1975. Thesis (PhD.) - University of Utrecht.
- VONK, J.W.; KAARS SIJPESTEIJN. **Metabolism**. In: MARSH, R. H. (Ed.). **Systemic fungicides**. London: Longman, 1977. p.160-175.
- WACKETT, L.P.; ELLIS, L.B.M. Predicting biodegradation. **Environmental Microbiology**. London, v.1, p.119-124, 1999.
- WALKER, A. Adsorption and degradation: from the laboratory to the real world. In: SYMPOSIUM ON PESTICIDE CHEMISTRY, 12., 2002, Cremona. **Proceedings...** Piacenza: Università Cattolica de Sacro Cuore, 2002.
- WALKER, A.; WELCH, S.J. Enhanced biodegradation of dicarboximide fungicides in soil. In: RACKE, K.D.; COATS, J.R. (Ed.). **Enhanced biodegradation of pesticides in the environment**. Washington: American Chemical Society, 1990. p.53-67.
- WANG, H.; PENG, G.; QI, M. Study on degradation and residues of ^{14}C -metalaxyl in soil. **Acta Agriculturae Universitatis Pekinensis**. Beijing, v.21, n.4, p.395-401, 1995.
- WECHSLER, K.; ROMBOURG, M.; BINDLER, F.; EXINGER, A.; BREUZIN, C. Pollution potential on some trizole pesticides. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, New York, v.65, p.277-288, 1996.
- WEEKS, R.E.; HEDRICK, H.G. Influence of a systemic fungicide on oxygen uptake by soil microorganisms. **Soil Science**, New Brunswick, v.119, p.280, 1971.
- WOODCOCK, D. Microbial degradation of fungicides, fumigants and nematocides. In: HILL, I.R.; WRIGHT, S.J.L. (Ed.). **Pesticide microbiology**. New York: Academic Press, 1978. p.731-780.
- WOODCOCK, D. Nonbiological conversions of fungicides. In: SIEGEL, M.R.; SISLER, H.D. (Ed.). **Antifungal compounds**. New York: Marcel Dekker, 1977. v.2, p.209-249S.
- XU, S. **Environmental fate of ethylenethiourea**. Disponível em: <http://www.cdpr.ca.gov/emppm/pubs/fatememo/etu.pdf> Acesso em: 17 set. 2003a.
- XU, S. **Environmental fate of mancozeb**. Disponível em: <http://www.cdpr.ca.gov/emppm/pubs/fatememo/mancozeb.pdf> Acesso em: 17 set. 2003b.
- YARDEN, O.; AHARONSON, N.; KATAN, J. Accelerated microbial degradation of methyl benzimidazol-2-ylcarbamate in soil and its control. **Soil Biology and Biochemistry**. Oxford, v.19, p.735-739, 1987.
- YARDEN, O.; KATAN, J.; AHARONSON, N.; BEN-YEPHET, Y. Delayed and enhanced degradation of benomyl and carbendazim in desinfested and fungicide treated soil. **Phytopathology**. St. Paul, v.75, p.763-767, 1985.
- YARDEN, O.; SALOMON, R.; KATAN, J.; AHARONSON, N. Involvement of fungi and bacteria in enhanced and nonenhanced biodegradation of carbendazim and other benzimidazole compounds in soil. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.36, p.15-23, 1990.
- YASUDA, Y.; HASHIMOTO, S.; SOEDA, Y.; NOGUCHI, T. Metabolism of thiophanate-methyl by pathogenic fungi and antifungal activity of its metabolites. **Annals of the Phytopathological Society of Japan**, Tokyo, v.39, p.49, 1973.
- ZHENG, Z.; SHU-YEN, L.; FREYER, A.J.; BOLLAG, J.M. Transformation of metalaxyl by the fungus *Syncephalastrum racemosum*. **Applied and Environmental Microbiology**. Washington, v.55, n.1, p.66-71, 1989.
- ZIEGLER, H.; BENET-BUCHHOLZ, J.; ETZEL, W.; GAYER, H. Trifloxystrobin - a new strobilurin fungicide with an outstanding biological activity. **Pflanzenschutz-Nachrichten**, Stuttgart, v.56, n.2, p.213-230, 2003.