

ADELINO PELISSARI

ESTABELECIMENTO DE METODOLOGIA PARA AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE  
HERBICIDAS NA POPULAÇÃO, ATIVIDADE MICROBIANA E BIOQUÍMICA  
DO SOLO: 2,4-D, PICLORAM E HALOXYFOP-METHYL

Dissertação submetida à consideração  
da Comissão Examinadora no Curso de  
Pós-Graduação em Agronomia, Área de  
Concentração Ciência do Solo, Setor  
de Ciências Agrárias da Universidade  
Federal do Paraná, como requisito par-  
cial para obtenção do título de Mestre.

CURITIBA

1987



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA-ÁREA DE CONCENTRAÇÃO  
"CIÊNCIA DO SOLO"

**P A R E C E R**

Os Membros da Comissão Examinadora, designada pelo Colegiado do Curso de Pós-Graduação em Agronomia-Área de Concentração "Ciência do Solo", para realizar a arguição da Dissertação de Mestre apresentada pelo candidato ADELINO PELISSARI, com o título "ESTUDO DOS HERBICIDAS 2,4-D, PICLORAN E HALOXYFOP-METHYL NA ATIVIDADE MICROBIANA E BIOQUÍMICA DO SOLO VISANDO AO ESTABELECIMENTO DE METODOLOGIA PARA A AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE HERBICIDAS NA MICROBIOLOGIA DO SOLO", para obtenção do grau de Mestre em Agronomia - Área de Concentração "Ciência do Solo", do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, após haver analisado o referido trabalho e arguido o candidato, são de parecer pela APROVAÇÃO da Dissertação, completando assim, os requisitos necessários para receber o grau e o diploma de Mestre em Agronomia-Área de Concentração "Ciência do Solo".

Observação:- O critério de avaliação da Dissertação e Defesa da mesma é apenas APROVADA ou NÃO APROVADA.

Secretaria do Curso de Pós-graduação em Agronomia - Área de Concentração "Ciência do Solo", em Curitiba, 14 de agosto de 1.987.

*Francisco J. Carvalho*

Professor Francisco José Pereira de Campos Carvalho, Ph.D.  
Presidente

*H. Pitelli*

Professor Robinson Antonio Pitelli, Dr.  
Primeiro Examinador

*D. Santos*

Professor Honório Roberto dos Santos, Dr.  
Segundo Examinador

*Carlos Duarte*

Prof. Carlos Duarte, Ph.D.  
Curso de Pós-Graduação em Agronomia  
Área de Concentração "Ciência do Solo"  
14/08/87



Ofereço

A DEUS

por ter-me usado como sua ferramenta

A meus pais, meus primeiros MESTRES  
ORLANDO e MARIA LOURDES

A minha esposa ISILDA,  
meu ETERNO AMOR

Aos meus filhos, alegria radiante  
ALAN, MÔNICA e CARLA

e a meus irmãos, exemplos de vida  
JOÃO, CATARINA, ORLANDO (de saudososa memória),  
IZOLINA, MARIA DE LOURDES, PAULO, PEDRO,  
DOROTÉIA, LUIZ CARLOS e TEREZINHA

DEDICO.

## AGRADECIMENTOS

Ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia Área de Concentração Ciência do Solo do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, pelo acolhimento, por possibilitar a realização do presente trabalho.

Ao Professor Doutor Francisco José Pereira de Campos Carvalho, pelo estímulo, amizade, confiança, dedicação e valiosa orientação.

Ao Professor Doutor Honório Roberto dos Santos, pela amizade, sugestões e valiosa co-orientação.

Ao Professor Doutor Marcos Luiz de Paula Souza, pela amizade, inestimável ajuda, distinta confiança e fornecimento de importantes informações.

Ao Professor Doutor Hélio Olímpio da Rocha, pela amizade e valiosas sugestões.

À Dow Química S/A, nas pessoas dos Doutores Augusto Antonio Bronhara, Nivaldo Carlucci, Fernando Croaro e Lauro Bitencourt Neto pela amizade, estímulo, inestimável ajuda na obtenção de dados e apoio no desenvolvimento desta pesquisa.

Ao Laboratorista Arlindo Marques Pereira Neto, pela amizade, dedicação e auxílios valiosos prestados.

Aos Professores e Doutores José Alberto Pedras e Nilcélia Pedras, pelo valioso auxílio e colaboração na correção da linguagem.

Ao Professor e Mestre Anibal de Moraes, pelo auxílio e fornecimento de importantes informações.

Ao Professor Doutor Carlos Bruno Reissmann pela colaboração e auxílios valiosos prestados.

Aos professores Henrique Soares Koheler e Celina W. Koheler pela valiosa ajuda na análise preliminar dos dados experimentais e sugestões.

Ao Professor Paulo Reais da Sociedade Paranaense de Ensino e Informática pela valiosa ajuda nas análises estatísticas.

Ao Centro de Estações Experimentais da Universidade Federal do Paraná, pela concessão das facilidades indispensáveis à execução do trabalho experimental de campo.

Ao Sr. Lauro Strapasson (de saudosa memória) pela compreensão e carinho. Exemplo de vida, a quem DEUS colheu por agradar a seus olhos.

Ao Professor e Amigo Luimar Perly pelo constante incentivo, atenção e, sobretudo pela distinta e sincera amizade desprendida.

Ao Professor e Mestre Afonso Gava pela dedicação e empenho decisivos na execução deste trabalho.

Aos amigos Sílvio Antônio Degaspari, Edelclaiton Daros, Flávio Zanette, Cláudio Puríssimo, Narciso Marques da Silva, Rudi Arno Seitz, Sidon Keinert Júnior, Fernando Gravina Munhoz, Paulo Piekarski, Aristeu Lopes Negrão, Dinizal Mezzadri, Dizaldo Schtspar, Luiz Doni Filho e Maria Elizabete Doni, José Luiz e Fernanda Zambon, Flora Osaki, Sílvia Schmidlin Keil, Amalia Lia Endler Kahil, Sebastião Gonçalves Franco, Roberto Fernandez Abia, Genésio Correa de Freitas Neto, Osvaldo Rodrigues de

Oliveira, Odette Elza Fior, Regina Schinda e Gerson Novicki pela amizade e agradecida colaboração.

Aos meus irmãos e irmãs pelo exemplo de vida e carinho sempre revelados.

Ao Professor Miguel Antonio Loyola da Rocha, um amigo a quem quero e estimo como a meu pai, pelas palavras apropriadas. Para mim o querido "MIKE".

Aos meus pais Orlando e Maria Lourdes, que nunca mediram esforços para o aperfeiçoamento de minha formação moral e profissional.

À minha esposa, ISILDA e aos meus filhos, ALAN, MÔNICA e CARLA cuja presença, compreensão, amor e dedicação foram decisivos na superação dos momentos mais árduos.

Afinal, a todos quantos, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução deste trabalho.

## BIOGRAFIA

ADELINO PELISSARI, filho de Orlando Pelissari e Maria Lourdes de Oliveira Pelissari, nasceu em Maringá-PR, aos cinco dias do mês de julho de 1952.

Em 1976, colou grau, como Engenheiro Agrônomo, pela Universidade Federal do Paraná.

Em 1977, ingressou como Engenheiro Agrônomo das Indústrias MONSANTO S/A.

De 1978 a 1979, trabalhou como Professor visitante da Universidade Federal do Paraná, lotado no Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo.

Em 1980, trabalhou como pesquisador das Indústrias MONSANTO S/A.

De 1981-1983, trabalhou como Gerente de Desenvolvimento de Produto das Indústrias MONSANTO S/A.

De maio de 1983 a junho de 1986, exerceu o cargo de Diretor do Centro de Estações Experimentais da Universidade Federal do Paraná.

Em 1983, iniciou o Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração, Ciência do Solo, na Universidade Federal do Paraná.

Em 1986, foi contratado para exercer o cargo de professor do departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo SCA-UFPR, cargo que exerce até o presente.

## S U M Á R I O

	<u>LISTA DE ILUSTRAÇÕES</u> .....	xi
	<u>LISTA DE TABELAS</u> .....	xiii
	<u>RESUMO</u> .....	xv
1	<u>INTRODUÇÃO</u> .....	01
2	<u>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</u> .....	04
2.1	RELAÇÃO ENTRE HERBICIDAS E MATÉRIA ORGÂNICA..	06
2.2	RELAÇÃO ENTRE HERBICIDAS E MICROORGANISMOS...	08
2.3	EFEITO DOS HERBICIDAS NAS ENZIMAS DO SOLO....	12
2.4	EFEITOS DOS HERBICIDAS NA MICROBIOLOGIA DO SO LO, ESPECIFICAMENTE 2,4-D, PICLORAM E HALOXY- FOP-METHYL.....	19
2.4.1	Efeitos na Bactéria do Solo e em suas Ativi- dades.....	22
2.4.2	Efeitos na Nitrificação.....	22
2.4.3	Efeitos na Denitrificação.....	22
2.4.4	Efeitos no Rhizobium e Nodulação de Legumi- nosas.....	23
2.4.5	Efeitos na Fixação do Nitrogênio.....	24
2.4.6	Efeitos nos Fungos do Solo e Actinomicetos.	24
2.4.7	Efeitos nas Algas do Solo.....	26
2.4.8	Efeitos nas Atividades Combinadas da Biomas sas Microbianas do Solo.....	27



2.5	METODOLOGIA DE AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DOS HERBICIDAS NA MICROBIOLOGIA DO SOLO.....	32
3	<u>MATERIAL E MÉTODOS</u> .....	35
3.1.	DESCRIÇÃO GERAL DA ÁREA.....	35
3.1.1	Situação Geográfica.....	35
3.1.2.	Geologia.....	35
3.1.3	Tipo de Solo.....	35
3.1.4	Clima.....	37
3.2	PREPARO DO SOLO E MONTAGEM DO EXPERIMEN- TO.....	37
3.2.1	Preparo do Solo.....	37
3.2.2	Montagem do Experimento.....	37
3.3	APLICAÇÃO DOS HERBICIDAS.....	40
3.4.	AMOSTRAGEM DO SOLO PARA ANÁLISES.....	40
3.5	DETERMINAÇÕES EXPERIMENTAIS.....	43
3.5.1	Determinações Enzimáticas da Sacarase; Amilase e Celulase.....	43
3.5.2	Biomassa Microbiana e Respiração do So- lo.....	45
3.5.3	População Microbiana.....	45
3.5.4	Análises Físicas.....	46
3.5.4.1	Granulometria.....	46
3.5.4.2	Curva Característica de Retenção de Umidade do Solo.....	46
3.5.4.3	Densidade Real.....	47
3.5.4.4	Umidade Atual.....	47
3.5.5	Análises Químicas.....	47
3.5.5.1	pH.....	47

3.5.5.2	Fósforo.....	47
3.5.5.3	Potássio.....	47
3.5.5.4	Carbono.....	48
3.5.5.5	Hidrogênio + Alumínio.....	48
3.5.5.6	Cálcio + Magnésio.....	48
3.5.6	Reagentes e Solventes.....	48
3.5.7	Análise Estatística.....	48
3.5.7.1	Ajuste das Curvas de Carbonato de Po tássio.....	48
3.5.7.2	Ajuste das Curvas Padrão da Glicose para cada Enzima.....	49
3.5.7.3	Análise Estatística da Respiração e Biomassa Microbiana.....	49
3.5.7.4	Análise das Curvas de Determinações Enzimáticas e População Microbiana..	49
4	<u>RESULTADOS E DISCUSSÃO</u> .....	51
4.1	SOBRE OS HERBICIDAS USADOS .....	51
4.2	SOBRE OS PARÂMETROS DE ANÁLISE E METO- DOLOGIA.....	56
4.3	SOBRE A ÁREA EXPERIMENTAL E PROCEDIMEN TOS DE CAMPO.....	57
4.4	PROCEDIMENTOS DE LABORATÓRIO E OTIMIZAÇÃO DOS MÉTODOS.....	58
4.5	AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA BIOLÓGICA DOS TRATA MENTOS 2,4-D, PICLORAM, HALOXYFOP METHYL E CAPINA.....	63
4.6	RESPIRAÇÃO DO SOLO.....	71
4.7	BIOMASSA MICROBIANA.....	73

4.8	POPULAÇÃO FÚNGICA TOTAL.....	76
4.9	POPULAÇÃO BACTERIANA TOTAL.....	79
4.10	RELAÇÃO POPULAÇÃO BACTERIANA TOTAL/POPULAÇÃO FÚNGICA TOTAL.....	83
4.11	ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA SACARASE DO SOLO.	85
4.12	ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA AMILASE DO SOLO..	88
4.13	ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA CELULASE DO SOLO.	90
4.14	EFEITO DOS HERBICIDAS 2,4-D, PICLORAM, HALOXYFOP-METHYL E CAPINA NOS DIFERENTES PARÂMETROS ANALISADOS EM RELAÇÃO AO TEMPO..	92
4.15	AVALIAÇÃO QUALITATIVA DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS HERBICIDAS E CAPINA COM OS PARÂMETROS ESTUDADOS.....	96
5	<u>CONCLUSÃO</u> .....	106
	<u>SUMMARY</u> .....	109
	<u>APÊNDICE</u> .....	110
	<u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u> .....	125

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### FIGURA

1	LOCALIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO .....	36
2	VISTA GERAL DA ÁREA EXPERIMENTAL NO MOMENTO DO PREPARO DO SOLO .....	38
3	VISTA DA COMPOSIÇÃO FLORÍSTICA E ESTÁGIO DE CRESCIMENTO DAS PLANTAS NO MOMENTO DA APLICAÇÃO.....	38
4	VISTA DA ÁREA EXPERIMENTAL APÓS A INSTALAÇÃO DO ENSAIO E APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS .....	39
5	CROQUIS DO ENSAIO EXPERIMENTAL COM PROCEDIMENTOS DE CAMPO E LABORATÓRIO PARA O PREPARO DAS AMOSTRAS PARA AS ANÁLISES DA BIOMASSA MICROBIANA E RESPIRAÇÃO DO SOLO E DAS DETERMINAÇÕES ENZIMÁTICAS E POPULAÇÃO MICROBIANA.....	44
6	FÓRMULA ESTRUTURAL DAS MOLECULAS DE 2,4-D, PICLORAN E HALOXYFOP-METHYL .....	55
7	VISTA DOS TRATAMENTOS 2,4-D NAS DUAS DOSAGENS ESTUDADAS COMPARADAS COM A CAPINA E TESTEMUNHA NO FINAL DO ENSAIO .....	56
8	VISTA DOS TRATAMENTOS PICLORAM EM AMBAS DOSAGENS COMPARADAS COM A CAPINA E TESTEMUNHA .....	68
9	VISTA DOS TRATAMENTOS COM HALOXYFOP NAS DUAS DOSAGENS ESTUDADAS COMPARADAS COM A CAPINA E TESTEMUNHA .....	70
10	CURVAS DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS 2,4-D, PICLORAM, HALOXYFOP METHYL E CAPINA COMPARADOS COM A TESTEMUNHA, NA RESPIRAÇÃO DO SOLO .....	72
11	DADOS CLIMÁTICOS DE PRECIPITAÇÃO PLUVIOMÉTRICA E TEMPERATURA A 10 cm DE SOLO NU NO PERÍODO DO ENSAIO A CAMPO .....	74
12	CURVAS DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS 2,4-D, PICLORAM, HALOXYFOP E CAPINA COMPARADOS COM A TESTEMUNHA NA BIOMASSA MICROBIANA DO SOLO .....	75

FIGURA

13	CURVAS DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS 2,4-D, PICLORAM, HALOXYFOP E CAPINA COMPARADOS COM A TESTEMUNHA NA POPULAÇÃO FÚNGICA TOTAL DO SOLO .....	77
14	CURVAS DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS 2,4-D, PICLORAM, HALOXYFOP E CAPINA COMPARADOS COM A TESTEMUNHA NA POPULAÇÃO BACTERIANA TOTAL DO SOLO .....	80
15	CURVAS DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS 2,4-D, PICLORAM, HALOXYFOP E CAPINA COMPARADOS COM A TESTEMUNHA NA RELAÇÃO POPULAÇÃO MICROBIANA TOTAL/POPULAÇÃO FÚNGICA TOTAL .....	84
16	CURVAS DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS 2,4-D, PICLORAM, HALOXYFOP E CAPINA COMPARADOS COM A TESTEMUNHA NA ATIVIDADE DA SACASE DO SOLO .....	86
17	CURVAS DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS 2,4-D, PICLORAM, HALOXYFOP E CAPINA COMPARADOS COM A TESTEMUNHA NA ATIVIDADE DA AMILASE DO SOLO .....	89
18	CURVAS DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS 2,4-D, PICLORAM, HALOXYFOP E CAPINA COMPARADOS COM A TESTEMUNHA NA ATIVIDADE DA CELULASE DO SOLO .....	91
19	CURVA CARACTERÍSTICA DA UMIDADE DO SOLO NOS PRIMEIROS 10 cm SUPERFICIAIS COM AMOSTRAS DEFORMADAS ....	122
20	CURVA DE CALIBRAÇÃO DO CARBONATO DE POTÁSSIO PARA RESPIRAÇÃO DO SOLO E BIOMASSA MICROBIANA DA TITULAÇÃO AOS 10 DIAS PARA A PRIMEIRA COLETA .....	123
21	DADOS DE PRECIPITAÇÃO PLUVIOMÉTRICA COM MÉDIAS DOS ÚLTIMOS 20 ANOS, COMPARADOS ÀS PRECIPITAÇÕES OCORRIDAS NO PERÍODO DE CONDUÇÃO DO ENSAIO A CAMPO.....	124

LISTA DE TABELAS

TABELA

1	RELAÇÃO DOS TRATAMENTOS HERBICIDAS E DOSAGENS RECOMENDADAS .....	41
2	COMPOSIÇÃO FLORÍSTICA DA ÁREA EXPERIMENTAL NO MOMENTO DA APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS .....	59
3	EVOLUÇÃO DA COMPOSIÇÃO FLORÍSTICA E RESPECTIVAS MÉDIAS DE CONTROLE E EFICÁCIA BIOLÓGICA DO 2,4-D AVALIADAS NAS ÉPOCAS DE AMOSTRAGEM DO SOLO .....	64
4	EVOLUÇÃO DA COMPOSIÇÃO FLORÍSTICA E RESPECTIVAS MÉDIAS DE CONTROLE DE EFICÁCIA BIOLÓGICA DO PICLORAM AVALIADAS NAS ÉPOCAS DE AMOSTRAGEM DO SOLO .....	67
5	EVOLUÇÃO DA COMPOSIÇÃO FLORÍSTICA E RESPECTIVAS MÉDIAS DE CONTROLE DE EFICÁCIA BIOLÓGICA HALOXYFOP METHYL AVALIADAS NAS ÉPOCAS DE AMOSTRAGENS DO SOLO .....	69
6	AVALIAÇÃO QUALITATIVA DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS HERBICIDAS E CAPINA COM OS PARÂMETROS ESTUDADOS..	97
7	AVALIAÇÃO QUALITATIVA DAS TENDÊNCIAS DE EQUILÍBRIO AOS 134 DIAS DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS HERBICIDAS E CAPINA COM OS PARÂMETROS ESTUDADOS .....	98
8	RESULTADOS DAS ANÁLISES QUÍMICAS E FÍSICAS DO SOLO EM ESTUDO SOB CONDIÇÃO DE VEGETAÇÃO EXPONTÂNEA	111
9	RESULTADO DO AJUSTE DAS CURVAS DO CARBONATO DE POTÁSSIO DAS TITULAÇÕES DE 10 E 20 DIAS PARA RESPIRAÇÃO DO SOLO E BIOMASSA MICROBIANA.....	112
10	RESULTADOS DO AJUSTE DAS CURVAS PADRÃO DA GLICOSE PARA CADA ENZIMA .....	113
11	ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA RESPIRAÇÃO (mg CO <sub>2</sub> /100g SOLO SECO). .....	114
12	ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA BIOMASSA (mg C/100g SOLO SECO) .....	115

TABELA

13	MÉDIAS DOS RESULTADOS DA POPULAÇÃO FÚNGICA TOTAL DO SOLO OBTIDOS NAS DIFERENTES ÉPOCAS AVALIADAS ( $10^{-3}$ )	116
14	MÉDIAS DOS RESULTADOS DA POPULAÇÃO BACTERIANA TOTAL DO SOLO OBTIDOS NAS DIFERENTES ÉPOCAS AVALIADAS ( $10^{-6}$ )	117
15	RELAÇÃO ENTRE AS MÉDIAS DA POPULAÇÃO BACTERIANA TOTAL DO SOLO PELAS MÉDIAS DA POPULAÇÃO FÚNGICA DO SOLO	118
16	RESULTADOS DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA SACARASE NAS DIFERENTES ÉPOCAS AMOSTRADAS EM MICROGRAMAS DE GLICOSE POR 100 GRAMAS DE SOLO SECO POR MINUTO	119
17	RESULTADOS DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA AMILASE NAS DIFERENTES ÉPOCAS AMOSTRADAS EM MICROGRAMA DE GLICOSE POR 100 GRAMAS DE SOLO SECO POR MINUTO	120
18	RESULTADOS DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA CELULASE NAS DIFERENTES ÉPOCAS AMOSTRADAS EM MICROGRAMA DE GLICOSE POR 100 GRAMAS DE SOLO SECO POR MINUTO	121

## RESUMO

O presente trabalho foi conduzido com o objetivo de estabelecimento de metodologia para avaliação dos efeitos dos herbicidas na microbiologia do solo. A área experimental escolhida sobre Latossolo Vermelho-Amarelo Álico em pousio há 4 anos, que foi mobilizado por uma aração e três gradagens, 47 dias antes da aplicação dos tratamentos, para a estabilização da população microbiana do solo e restabelecimento de nova composição florística espontânea, a qual foi submetida aos tratamentos com os herbicidas 2,4-D 1,5 l e 15,0 l ha<sup>-1</sup> (2,4-D), picloram 0,5 l e 5,0 l ha<sup>-1</sup> (PIC.), haloxyfop-methyl 0,125 l e 1,25 l ha<sup>-1</sup> (H.M.), capina (CAP.) e testemunha infestada, aplicados em delineamento experimental de blocos ao acaso, com oito tratamentos e quatro repetições. Avaliaram os efeitos dos tratamentos na atividade microbiana do solo pelos parâmetros respiração do solo, biomassa microbiana, população fúngica total do solo, população bacteriana total do solo, relação população bacteriana total/população fúngica total do solo e atividade da sacarase, amilase e celulase do solo. Os resultados obtidos permitiram concluir: (a) A análise isolada dos parâmetros da microbiologia do solo utilizados não permite avaliar a magnitude dos efeitos dos tratamentos; (b) A utilização de combinações de vários parâmetros favorece uma melhor compreensão e interpretação desses efeitos, e permite observar nas condições deste estudo, efeitos dos tratamentos no equilíbrio do solo; (c) Verificou-se para os parâmetros estudados desequilíbrio microbiano do solo crescente nas doses normais dos herbicidas comparados com a capina como segue: CAP < HM < PIC < 2,4-D; (d) Observou-se ainda a inversão entre os tratamentos haloxyfop-methyl e picloram nas dosagens superiores estabelecendo-se a seguinte ordem crescente de efeitos PIC < HM < 2,4-D; (e) O conjunto de parâmetros utilizados permitiu a avaliação do efeito de herbicidas no solo, sugerindo a possibilidade de futuros estudos a serem desenvolvidos no sentido de padronização e escolha de parâmetros para avaliação dos efeitos de herbicidas na microbiologia do solo.



## 1 INTRODUÇÃO

As transformações ambientais iniciaram-se quando o homem no seu processo evolutivo, percebeu que era necessário cultivar e proteger determinadas plantas que lhe serviam de alimento, principiando assim, a abertura da mata primitiva e o cultivo do solo.

O homem evoluiu, e continua evoluindo. A tendência natural que o acompanhou e acompanha no seu dia a dia na procura de explicações para diferentes fenômenos que ocorrem na natureza, tem sido a mola mestra para a evolução da ciência e tecnologia. Esta mesma ciência e tecnologia, merecedoras dos mais sensibilizados elogios, podem ser incriminadas por causar graves acidentes ecológicos, devido ao seu mau uso ou principalmente pela falta de conhecimento mais aprofundado daqueles que manuseiam os seus produtos, tais como os produtos químicos.

Entre os diferentes produtos químicos situam-se os de uso agrônômico, uma das importantes descobertas do homem, interferindo positivamente na manutenção da produção agropecuária. No entanto, reagindo de forma diferente ao sentido natural ou ordenado dos eventos que ocorrem normalmente nos complexos e altamente organizados sistemas biológicos, podem produzir efeitos colaterais indesejáveis alterando o equilíbrio dos ecossistemas.

Dos produtos químicos de utilização agrícola, a família dos herbicidas constitui-se atualmente, em fonte das mais diversas especulações e ingerências, muitas destas não embasadas cientificamente. Porém, algumas áreas de estudo, diretamente

relacionadas com diagnósticos e avaliações desses produtos químicos, encontram-se pouco desenvolvidas a nível internacional sendo praticamente inexistente no Brasil. Dessas áreas, a microbiologia do solo situa-se entre as pouco desenvolvidas e dentro desta, considera-se a avaliação da atividade microbiana através de enzimas do solo, biomassa microbiana, respiração do solo e avaliação da população microbiana como área em formação e em desenvolvimento.

Na microbiologia do solo, estas avaliações proporcionam um estudo mais aprofundado no conhecimento da ação desses químicos na natureza (McLAREN<sup>64</sup>; SKUJINS<sup>84</sup>; ATLAS & BARTHA<sup>5</sup>; ALEXANDER<sup>1</sup>).

Os herbicidas afetam a população microbiana, as propriedades físicas e químicas do solo, positiva, negativa ou simultaneamente, tendo como consequência alterações na produção que não são efeitos diretos de seus objetivos de uso (CHAHAL<sup>23</sup>; FRYER & KIRKLAND<sup>35</sup>; TRAPPE et alii<sup>88</sup>; LEWIS et alii<sup>52</sup>). O efeito qualiquantitativo na população microbiana do solo pode afetar os ciclos dos nutrientes do solo como é de conhecimento geral (RUSSEL & RUSSEL<sup>79</sup>; ALEXANDER<sup>1</sup>; ATLAS & BARTHA<sup>5</sup>).

Entre as transformações degradativas que ocorrem no solo, pode-se salientar as transformações aceleradas da matéria orgânica do solo, que para SCHINTZER & KHAN<sup>79</sup> os microrganismos envolvem-se na síntese de substâncias húmicas do mesmo, levando à condições desfavoráveis quando em atividade acelerada afirmam, LOWE<sup>55</sup>; MARTIN & HAIDER<sup>63</sup>.

Para, MARTIN<sup>62</sup> uma atividade lenta e moderada favorece a humificação, propondo que, quanto maior a atividade microbiana do solo, tanto maior a degradação e decomposição da mesma.

Estas considerações, somadas às de LIU & CIBES-VIADÉ<sup>54</sup>; OU et alii<sup>70</sup> sobre o efeito detrimental do 2,4-D na microfiora do solo motivaram este estudo. Entre os fatores a serem avaliados no sentido de diagnosticar os efeitos não objetivos da utilização dos herbicidas, situam-se os relacionados com a microbiologia do solo. As metodologias de avaliação desses efeitos estão sujeitas a revisão, e não estão plenamente estabelecidas havendo discordância no tocante aos fatores a serem avaliados (GREAVES et alii<sup>38</sup>).

Dentre os possíveis fatores de avaliação, o ciclo do carbono tem sido pouco estudado e resultados discrepantes são relatados (GREAVES et alii<sup>38</sup>).

Embora seja a pesquisa para este tipo de informação, incluindo o ciclo do carbono relativamente mais intensa nos países de clima temperado, nos países de clima tropical quase nada é feito.

O presente trabalho objetiva principalmente, avaliar metodologias que contemplem o ciclo do carbono. Sabe-se que este ciclo está intimamente ligado com a matéria orgânica e seus ácidos derivados, sendo de inquestionável importância para a conservação do solo e a estabilidade dos agregados (BUCKMAN<sup>15</sup>).

Para este estudo foram escolhidas moléculas diferentes de gerações de herbicidas, entre elas o 2,4-D introduzido como herbicida na década de 40, Picloram na década de 60 e Haloxyfop-Methyl na de 80 (CAMARGO<sup>20</sup>; HERTWIG<sup>44</sup>; ALMEIDA & RODRIGUES<sup>2</sup>), para a avaliação destas metodologias visando o estabelecimento de parâmetros que possam medir o efeito destes herbicidas e de outros na microbiologia do solo.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Na aplicação de químicos de uso agrônômico, mais propriamente os herbicidas, objetiva-se o controle da composição florística que interferindo com as diferentes culturas reduz a produção agropecuária.

Segundo IAPAR<sup>59</sup>, os prejuízos causados pelas plantas daninhas às culturas agrícolas tropicais situam-se ao redor de 30 a 50% evidenciando-se que uma população natural de plantas daninhas, interferindo na cultura pode causar prejuízos acima de 80% chegando-se a anular completamente a produção.

Para CERVELLI et alii<sup>22</sup> os agroquímicos são de importância crítica para o aumento da produção agrícola. Concordando, IAPAR<sup>59</sup> cita que o homem passou a contar com meios mais poderosos para controlar as plantas daninhas: os herbicidas. Considerando que as técnicas como enxada e máquinas cultivadoras só apresentam razões práticas e econômicas na pequena agricultura de subsistência e nas grandes lavouras perenes. Entretanto a utilização destes químicos para uso agrônômico despertou o interesse no estudo de seus efeitos na natureza. Assim a comunidade científica afim, diz GREAVES et alii<sup>38</sup>, preocupando-se com possíveis efeitos colaterais e alterações nos agroecossistemas, reuniu-se durante o período de 1973-77 na Alemanha onde se realizaram 4 simpósios e mais dois encontros de trabalhos internacionais respectivamente na Alemanha em 1978 e na Inglaterra em 1979, e que a decisão unânime dos trabalhos de 1979 foi que as recomendações hoje constantes da

Weed Research Organization, Technical Report nº 59<sup>38</sup>, deveriam circular pelo maior número possível de pessoas envolvidas direta e indiretamente, ou interessadas no impacto dos agroquímicos na microflora do solo.

Ainda, os riscos para o meio ambiente de um produto químico de utilização agrônômica ou seus produtos formulados dependem de muitos fatores (GREAVES et alii<sup>38</sup>). Por exemplo: propriedades tóxicas, persistência e mobilidade no meio ambiente, quantidade aplicada, a formulação, método e tempo de aplicação e particularmente intensidade de uso. No entanto o estabelecimento dos parâmetros relativos à microbiologia do solo para a avaliação dos herbicidas sujeitam-se a discussões, não tendo-se ainda consenso relativo aos aspectos qualitativos e quantitativos dos efeitos deste e de outros herbicidas na atividade microbiana do solo, avaliada por metodologias que procuram correlacionar estes efeitos com possíveis variações nas enzimas do solo, biomassa microbiana, respiração do solo e população microbiana.

Para DOMSCH<sup>38</sup>, necessita-se urgentemente desenvolver maneiras de avaliar com objetividade os efeitos dos agroquímicos, sugerindo os seguintes tópicos para uma atenção especial com relação ao efeito dos agroquímicos individuais, das combinações e seqüências dos mesmos:

1. Estudo da rizosfera - em particular nodulação de leguminosas economicamente importantes e associações de micorrizas.
2. Desenvolvimento de patógenos de plantas no solo, incluindo antagonismo microbiano.

3. Aspectos microbianos da estrutura do solo.

4. Aspectos microbianos do ciclo de nutrientes.

Podendo-se estudar estes assuntos efetivamente se métodos apropriados forem desenvolvidos.

## 2.1 RELAÇÃO ENTRE HERBICIDAS E MATÉRIA ORGÂNICA

A aplicação de herbicidas no meio ambiente, resulta na liberação de moléculas que iniciam uma série de reações químicas, físicas e biológicas de repercussões múltiplas (GOELLNER<sup>36</sup>).

A matéria orgânica exerce sobre as propriedades físicas e químicas do solo uma influência grande, se consideradas as suas diminutas quantidades presentes (BUCKMAN<sup>15</sup>).

Sabe-se que a permanência das substâncias orgânicas depositadas no solo varia conforme sua natureza, podendo ser facilmente decomposta por microrganismos ou a eles resistentes e assim permanecer por períodos de tempo variável, de poucas semanas a muitos anos (BURGES<sup>16</sup>), com níveis de decomposição anual da matéria orgânica do solo entre 2 a 5% em florestas tropicais, 0,5 a 1% em florestas temperadas, 1,2% nas savanas tropicais e 0,4% nas pradarias temperadas (SANCHES<sup>80</sup>). Sendo a manutenção ou o aumento nos teores de matéria orgânica proporcional às frequências com que os resíduos vegetais se depositam no solo, e do modo como nele são incorporados (RUSSEL<sup>79</sup>).

Atribui-se a degradação do solo principalmente em climas tropicais ao cultivo, que somada às altas temperaturas e umidade favorecem a atividade microbiana o que resulta numa alta degradação da matéria orgânica do solo bem como num declínio da sua estrutura (MARTEL<sup>61</sup>).

Nota-se que para LEWIS et alii<sup>52</sup> os herbicidas aparentemente não afetam a decomposição geral da matéria orgânica em dois solos estudados em diferentes condições, para SOUZA<sup>86</sup>, quando se aplica um herbicida à superfície do solo um ou mais dos seguintes fatores podem ocorrer: perdas por volatilização; degradação fotoquímica; degradação química; degradação por microrganismos; absorção por colóides do solo, biologicamente ativos ou inativos; precipitação ou quelação como complexos não disponíveis; perdas por lixiviação; absorção e degradação por plantas resistentes.

Dentre os fatores citados, a adsorção por colóides do solo foi estudada por LIU & CIBES-VIADÉ<sup>54</sup>, que determinaram a capacidade de adsorção do fluometuron, prometrina, sencor e 2,4-D em 48 solos espectrofotometricamente, os resultados indicaram que o conteúdo de matéria orgânica foi o fator mais altamente correlacionado com a adsorção destes herbicidas por 48 horas, no entanto nenhuma correlação significativa foi notada entre o conteúdo de argila e a adsorção da prometrina e 2,4-D.

O estudo de SHARON & STEPHENSON<sup>83</sup>, sobre a influência da matéria orgânica na adsorção, mobilidade e fitotoxicidade do metribuzin, mostrou que à medida que se aumentava a capacidade de sorção do solo, sua fitotoxicidade decrescia também, HELENE et alii<sup>43</sup>, verificaram a relação existente entre o conteúdo de matéria orgânica e elevados índices de sorção de agroquímicos nos solos, o que vem confirmar os dados de TU & BOLLEN<sup>89</sup>, citando que a adsorção é maior nos solos com alto teor de matéria orgânica e argila, discordando de LIU & CIBES-VIADÉ<sup>54</sup> se considerarmos o conteúdo de argila e a adsorção de prometrina e 2,4-D.

## 2.2 RELAÇÃO ENTRE HERBICIDAS E MICRORGANISMOS

Relata-se que os herbicidas contribuem sobremaneira para a manutenção da produção agrícola deixando a cultura livre da concorrência de plantas daninhas (IAPAR<sup>59</sup>).

A ação destes herbicidas entretanto não limitou-se ao objetivo imediato de matar, ou não permitir a germinação de uma determinada espécie de planta daninha, tem sido relatado por AUDUS\*, citado por CHAHAL et alii<sup>23</sup> constituir-se numa séria ameaça ao equilíbrio dinâmico da população do solo e ainda diminuir a fertilidade do mesmo.

Posteriormente, segundo TRAPPE et alii<sup>88</sup>, afirmou-se que os fungos micorrízicos e a formação de micorrizas podem ser drasticamente afetados por alguns herbicidas. Com raras exceções as concentrações de herbicidas necessárias para afetar o crescimento dos fungos, foram consideravelmente maiores do que as recomendadas e que com atrazina e 2,4-D verificou-se que diminuíram a formação de ectomicorriza.

Os trabalhos de FRYER & KIRKLAND<sup>35</sup>, em experimento de campo com MCPA, triallate, simazina e linuron, com amostras regulares de 1964-67 para análises químicas, mostraram que as maiores alterações têm sido causadas pelos herbicidas nos níveis de potássio disponível, nitrato, amônio, fósforo disponível ou pH.

Entretanto, segundo LEWIS et alii<sup>52</sup>, estudando-se o efeito de alguns herbicidas na atividade microbiana do solo, sugeriu-se que os herbicidas nas doses utilizadas na agricultura

\* AUDUS, L.J. The physiology and biochemistry of herbicides. London, Academic Press, 1964.



não afetam a atividade microbiana da microflora do solo o que, GROSSBARD & MARSH<sup>40</sup>, estudando o efeito de sete herbicidas de uréia substituída na microflora também observaram: algumas uréias substituídas podem exercer uma influência na população e atividade da microflora do solo, mas somente a altas concentrações, sendo que, segundo VUKHRER & KAPLUN<sup>92</sup>, o fluometuron e a trifluralina não afetaram os microrganismos aeróbicos mas o dalopon inibiu o crescimento de todos os grupos especialmente anaeróbicos.

Segundo McLAREN & PETERSON<sup>65</sup>, a *Arthrobacter* sp. pode usar o 2,4-D como sua reserva de carbono para o crescimento e a formação do fenol que é o seu maior objetivo de degradar o 2,4-D e que provavelmente os microrganismos de solo responsabilizam-se pela decomposição da maioria dos herbicidas, e os actinomicetos, fungos e bactérias são os responsáveis primários pela decomposição biológica dos herbicidas nos solos.

Trabalhando com moléculas paraquat, TU & BOLLEN<sup>90</sup>, constataram que a mesma diminuiu a camada vegetal total como as populações bacterianas no solo areno-siltoso, sendo que não teve nenhuma influência significativa na atividade microbiana de importância para a fertilidade do solo. BELLINCK & MAYAUDON<sup>10</sup>, observaram que a phenmedipham e seus derivados aplicados a uma concentração de 10 ppm teve pequena influência na flora bacteriana e causando aumento no número de actinomicetos e fungos. Por outro lado, CALERO et alii<sup>18</sup> estudando o efeito da atrazina e ametrina em um solo gleizoso escuro, plástico, em dois anos consecutivos, afirmam que não há efeito numérico no total de actinomicetos, fungos e microrganismos que se desenvolveram no meio de agar-carne-peptona e agar-amido-amoníaco. Também

CHAHAL et alii<sup>23</sup>, fizeram um estudo sobre a degradação do alachlor, onde isolaram um *Penicillium* sp. e um *Trichoderma* sp. em um solo previamente tratado com alachlor, observando a presença destes fungos degradando o herbicida.

Procurando-se ainda verificar a ação de produtos químicos no meio ambiente segundo AU<sup>6</sup>, estudando-se o efeito do endotal, pentaclorofenoato de sódio e TD-47 na população microbiana, amonificação, nitrificação e respiração de seis solos diferentes, constatou-se que o endotal a 20 e 200 ppm não teve nenhum efeito nos fatores acima citados, entretanto nos tratamentos com Na-PCP a 40 ppm e combinado com endotal observou-se efeito supressivo. O TD-47 a 100 ppm teve um efeito estimulatório nas bactérias nos solos arenosos.

No entanto, segundo GREAVES<sup>37</sup>, têm sido pouco evidente os efeitos de herbicidas sobre as populações microbinas do solo. Assim estudando-se o efeito de 25 herbicidas e combinações de herbicidas em dosagens comparáveis as usadas na agricultura, LEWIS et alii<sup>52</sup> observaram que os herbicidas não afetam a respiração e que o dinoseb reduziu a população de algas no solo arenoso em mais de 90%, a trifluralina, linuron e metribuzin não as inibiu.

Trabalhando com dicamba marcado <sup>14</sup>C, SMITH<sup>85</sup> verificou que, em solo argiloso e úmido, mais de 50% do produto perdeu a ação de herbicida em 4 semanas. Enquanto neste mesmo solo e em solo arenoso médio, este herbicida foi rápida e completamente degradado em 3 semanas, detectando-se como produtos da degradação apenas CO<sub>2</sub> e ácido 3,6 diclorosalicílico, e que o mesmo não ocorre em solo estéril.

Utilizando-se as formulações comerciais de propaclor e propaclor BW misturados com carbonil C dialate e alil-2-C-trialate

respectivamente, segundo ANDERSON<sup>3</sup>, constatou-se que os solos estudados para ambos herbicidas as taxas de degradação relacionaram-se à biomassa microbiana e que a adição de nutrientes e celulose aos solos causou aumento imediato da biomassa microbiana e que em solos não corrigidos esta diminuiu com o tempo.

Estudando-se as interações entre solo-microrganismos e paraquat, TU & BOLLEN<sup>89</sup> observaram que na concentração de 10 ppm o paraquat atuou como fonte só de carbono, em concentrações superiores o herbicida foi aparentemente tóxico. O paraquat serviu como única fonte de nitrogênio para certas bactérias.

As investigações de MOORE et alii<sup>67</sup> demonstraram que o glifosate é completamente degradado pelos microrganismos do solo. Usou-se uma raça de bactéria que utiliza rápida e eficientemente o herbicida como fonte de fósforo num meio sintético.

Discutem RODES et alii<sup>78</sup> em seu trabalho, o efeito da hexazinone nas populações bacterianas, fúngicas e na nitrificação do solo, concluindo-se que a adição de 10 ppm de hexazinone nos três solos agrícolas estudados, não reduziu a quantia da população dos fungos ou bactérias durante 8 semanas do período teste e que a adição de 5 e 20 ppm de hexazinone não teve efeito no processo de nitrificação durante o período teste de 5 semanas.

Depois de 35 anos de pesquisa segundo SOUZA<sup>86</sup>, concluiu-se que os herbicidas atualmente usados apresentam pouco ou nenhum efeito sobre os microrganismos do solo, a não ser sobre algas quando aplicados em doses normais. Contudo, afirma-se que tais experimentos mostraram que a aplicação de doses acima daquelas normalmente usadas no campo produzem efeitos sobre estes microrganismos no solo, no entanto, nenhuma redução no número total de

microrganismos fora observada. Todavia, há poucos estudos referentes ao fato de um microrganismo específico estar reduzindo e outro aumentando, mesmo quando o equilíbrio é mantido.

Ainda inibidores de microrganismos ou enzimas produzidas por eles adicionam-se ao solo para prolongar a atividade herbicida (SOUZA<sup>86</sup>). Exemplo disto é um N-metil carbamato que inibe a enzima produzida por determinados microrganismos do solo, cuja ação degrada os herbicidas protham e chlorprotham. Isto desenvolve-se sob o código PPG-124, os chamados "Extenders" para o EPTC e outros tiocarbamatos para diminuir a velocidade de degradação em solos que têm uma população de microrganismos adaptada na degradação de herbicidas.

### 2.3 EFEITO DOS HERBICIDAS NAS ENZIMAS DO SOLO

Há grande divergência entre os pesquisadores quanto a validade ou não da avaliação das enzimas do solo para se medir os efeitos dos herbicidas (GREAVES<sup>38</sup>).

Referindo-se aos trabalhos de SKUJINS\*, MELLO et alii<sup>66</sup>, diz que a enzimologia do solo desenvolveu-se consideravelmente, tendo em vista sua potencialidade na indicação de níveis de atividade biológica e na elucidação de processos bioquímicos específicos.

Também para ROSS et alii<sup>77</sup> os organismos influenciam as propriedades bioquímicas dos componentes do solo, as quais podem ser afetadas pela estação do ano, mudanças temporárias que ocorrem no crescimento das plantas e no número e atividade

\* SKUJINS, J. Extracellular enzymes in soil. Crit. Rev. Microbiol., 4(5): 383-421, 1976.

metabólica da flora e fauna que nele habitam. Comentam ainda os autores que as mudanças na biomassa microbiana, por exemplo, dependem somente da massa de organismos do solo, e que a taxa de produção de  $\text{CO}_2$  e mineralização do nitrogênio também são influenciadas pelos tipos, números e atividade metabólica dos organismos presentes.

Assim sendo o conhecimento de mecanismos bioquímicos que agem no solo, podem explicar diferentes fenômenos de ordem microbiológica.

Os resultados de DICK<sup>26</sup> indicam que a atividade de fosfatase ácida, fosfatase alcalina, arilsulfatase, invertase, amilase e urease de 0-7,5 cm de profundidade num solo orgânico de floresta o aumento foi significativamente maior na área não cultivada do que na cultivada no sistema convencional de preparo do solo. Abaixo de 7,5 cm de profundidade, o efeito do cultivo nas atividades enzimáticas variou com o solo e ou a enzima estudada, como também o efeito do cultivo e rotação nas atividades das enzimas do solo foram fortemente correlacionadas com as concentrações do carbono orgânico, atribuindo ainda aos maiores valores de atividades enzimáticas na superfície do perfil do solo não cultivado, comparado com o cultivado, a uma maior atividade biológica estabelecida próxima à superfície do mesmo.

Entretanto, DOMSCH<sup>38</sup> comenta que o consenso do encontro realizado em 1979, na Inglaterra foi de que os testes com as enzimas do solo são inoportunos, e de pequeno valor para avaliação dos efeitos dos agroquímicos na microflora do solo, pelas seguintes razões:

- a) a capacidade enzimática total de um solo são feitas de várias frações, isto é, proliferação microbiana, formação de substratos a partir de células e restos mortos, enzimas associadas com matéria húmica coloidal, etc, julgando ser extremamente difícil quantificar a contribuição de cada enzima componente do solo para a catálise de um substrato particular;
- b) e que correntes de pesquisas identificam o termo "enzima do solo" com a matéria húmica do solo, acreditando-se ter um papel importante na transformação do substrato, daí não ter nenhuma metodologia universalmente concordante. No entanto afirma que pode-se obter algum resultado variando as condições do ensaio (temperatura, pH, concentrações do substrato).

Para LADD<sup>49</sup>, aceita-se que as enzimas nos solos originam de fontes animal, planta e microbiana. Assim a presença nos solos de enzimas derivaram diretamente e especificamente de fontes animal e plantas.

KISS et alii<sup>48</sup> consideram que a atividade das enzimas do solo resulta da atividade das enzimas acumuladas e da atividade enzimática da proliferação de microrganismos. Neste trabalho os autores classificaram os componentes da atividade enzimática dos solos e sugeriram duas situações nas quais as enzimas acumuladas têm importante papel:

- a) nas fases iniciais da decomposição dos resíduos orgânicos (vegetal e animal) e da transformação de alguns compostos minerais;
- 2) as condições desfavoráveis para a proliferação de microrganismos.

Uma variedade de análises de enzimas usa-se para determinar as atividades dos microrganismos do solo (ATLAS & BARTHA<sup>5</sup>).

A partir dos dados de HOFMANN & SEEGERER\* afirma-se, SKUJINS<sup>84</sup>, que a atividade da invertase indicaria a qualidade do solo e que seria útil para medir sua fertilidade. Mencionando-se que a determinação do conteúdo de enzima no solo, foi mais importante para a fertilidade do solo do que uma medida microbiológica.

Segundo LADD<sup>49</sup>, os solos são perturbados inevitavelmente na amostragem e freqüentemente se ressecam antes da análise laboratorial, causando morte de alguns animais e microrganismos, favorecendo a persistência das enzimas nos solos que são inerentemente estáveis ou são estabilizados por ligação com colóides do solo.

Comenta-se, segundo BURNS<sup>17</sup>, que a atividade no solo de algumas enzimas em particular é um composto de atividades associadas com muitos componentes bióticos e abióticos, proliferando células, células latentes, restos de células, minerais de argila, colóides húmicos e fases aquosas do solo. A localização da enzima é ao menos parcialmente determinada por alguns fatores como tamanho e solubilidade do seu substrato, as espécies de microrganismos e a natureza química e física dos colóides do solo, entretanto podem mudar sua localização com o tempo. Ainda, as enzimas derivadas da microflora, sistema de raízes de plantas e resíduos de plantas, para ROBERGE<sup>76</sup>, tem um maior papel nos solos por envolverem-se nas múltiplas transformações que nele se processam.

\* HOFMANN, E. & SEEGERER, A. Soil enzyme as measure of biological activity. Biochem. Z., 321: 97, 1950.

Observa-se nos estudos de PANCHOLY & RICE\*, citado por LADD<sup>49</sup>, que a atividade das enzimas amilase, celulase e invertase do solo diminuíram em estágios sucessivos de vegetação de gramíneas de prado, não encontrando nenhuma correlação entre atividade enzimática e quantias de matéria orgânica e sim para tipos de vegetação e matéria orgânica adicionada, como também a atividade de várias enzimas no campo ou em casa de vegetação foram afetados diretamente pela natureza da cobertura vegetal.

Para alguns pesquisadores, cita LADD<sup>49</sup>, a atividade da invertase de vários solos não foram consistentemente relativos aos números de microrganismos dos mesmos. No entanto, segundo ele, supõe-se que as principais atividades da invertase e amilase de frações leves de diversos solos foram respectivamente 6-7 vezes e 18 vezes maiores do que das frações pesadas.

As complexas e múltiplas relações biológicas que ocorrem para ecossistema agrícola com a utilização de químicos de uso agrônômico tornaram-se um desafio para a comunidade científica avaliar a ação destes químicos neste ecossistema.

Afirmam CERVELLI et alii<sup>22</sup> que um agroquímico, se não é imediatamente degradado no solo, pode exercer um efeito fisiológico nos organismos. Para os autores as enzimas do solo são envolvidas em transformações dos agroquímicos comumente empregados na agricultura. Vários agroquímicos não são diretamente transformados pelas enzimas do solo mas a maioria deles tem alguma influência nos organismos e enzimas do solo.

\*PANCHOLY, S.K. & RICE, E.L. Soil enzymes in relation to old field succession: amylase, cellulase, invertase, dehydrogenase and urease. Soil Sci. Soc. Am. Proc., 37: 47-50, 1973.



Entretanto, para KISS et alii<sup>47</sup> os efeitos dos agroquímicos nas enzimas do solo, dependem de muitos fatores, incluindo-se a natureza química e a dose de agroquímicos, tipo de enzima, tipo de solo, condições do experimento campo ou laboratório. E que parcelas cultivadas com milho, sendo aplicado simazine, chlorazine, 2,4-D butil éster, diminuíram levemente a atividade da amilase do solo. Mas em 1964, tratamentos com simazine e simazine mais 2,4-D butil éster aumentou levemente a atividade. Citam ainda, baseados nos trabalhos de MERESHKO\*, que em experimento de vaso em solos chernozêmicos, superfície tratada com atrazine, simazine ou 2,4-D os solos foram cultivados com milho ou deixados sem cultura, as análises das enzimas foram feitas 30 dias após a aplicação dos herbicidas, concluindo que nenhum dos herbicidas estudados teve efeito significativo na atividade da amilase, tanto cultivado como não cultivado. Trabalhos de ZAGURAL'SKAYA & KLEIN\*\* citado por KISS et alii<sup>47</sup> relataram que a celulase no solo foi resistente a uma simples aplicação de 2,4-D usado como arbusticida. Ainda, KISS et alii<sup>47</sup> citando LISOVAL\*\*\* e VLASYUK & LISOVAL\*\*\*\* afirmaram que no solo com leguminosas a atividade foi mais baixa no início do crescimento e mais alta na colheita.

\* MERESHKO, M.Y. Effect of herbicides on the biological activity of microflora in chernozemic soils. Mikrobiol.Zh., Kiev, 31:525-29, 1969.

\*\* ZAGARUL'SKAYA, L.M. & KLEIN, L.A. Effect of the herbicide 2,4-D on the enzymatic activity of soil. In: "vozdeistvie 2,4-D na Biogeotsenozy Listevenno-Sosnovykh Molodnyakov". Karel. Filial Akad. Nauk SSSR, Petrozavodsk, 1976. p. 134-37.

\*\*\* LISOVAL, A.P. Cellulase activity of soil under various conditions of plant growing. Dobr. Polyakh Ukr., Tez. Dop. Nauk. Konf., Kiev, 1967. p. 127-132.

\*\*\*\* VLASYUK, P.A. & LISOVAL, A.P. Effect of plants and fertilizers on the activity of some enzymes in soil. Sb. Dokl. Simp. Ferment. Pochvy, Minsk, 1967: 10-23, 1968.

A atividade da urease e celulase também foram estudadas por BELLINCK & MAYAUDON<sup>9</sup>, onde constataram que a utilização de fenilcarbamatos favoreceram levemente a atividade das enzimas citadas, mas pequenas mudanças foram observadas com relação as outras atividades enzimáticas.

Os dados de CALERO et alii<sup>19</sup>, revelam que os resultados obtidos com os herbicidas do grupo das S-triazinas (ametrina e atrazina) sobre a atividade enzimática de um solo gleizoso escuro e plástico, nenhum dos tratamentos apresentaram diferenças significativas que permitam concluir que haja variação enzimática no solo, como um efeito da aplicação dos herbicidas.

Mas LENHARD<sup>51</sup> havia constatado que a atividade da desidrogenase foi reduzida apreciavelmente em concentrações excedentes a 100 ppm, sendo que aplicações nas concentrações normais de 2,4-D não afetam a nitrificação apreciavelmente.

Para DAVIES & GREAVES<sup>24</sup> determinando os efeitos dos herbicidas glifosate, paraquat, trifluralina e atrazina nas atividades da desidrogenase, fosfatase e urease observaram que somente o glifosate na dosagem de 21,6 kg/ha inibiu as atividades enzimáticas. Ainda, as atividades enzimáticas associadas com microrganismos não foram afetadas por estes herbicidas.

Em um experimento de campo, NAMDEO & DUBE<sup>68</sup>, utilizando 200 kg N/ha de uréia, 100 kg/ha de dalapon e 3,75 kg/ha de paraquat, observaram que durante os 18 meses seguintes houve um aumento da atividade da urease entre 67-79% pela adição da uréia e herbicida aplicados separadamente ou em combinação, mas houve uma diminuição da protease pelos tratamentos.

Segundo FRANKENBERGER JR. & JOHANSON<sup>34</sup>, estudos dos efeitos do pH na estabilidade das enzimas do solo são importantes porque expõe os valores extremos que podem inativar as enzimas irreversivelmente e estas tem papel importante na transformação dos nutrientes N, C, P, S, e formação do húmus.

Segundo observações laboratoriais de EL-NAWAWY et alii<sup>28</sup>, constatou-se que a atividade da desidrogenase e celulase foram reduzidas pelos herbicidas testados fluometuron, atrazina e trifluralina para desidrogenase e atrazina e simazina na invertase, amilase e celulase sendo que a atividade da amilase foi aumentada e da invertase diminuída pela atrazina e aumentada pela simazina.

STRYCKERS et alii<sup>87</sup>, observaram que depois da aplicação de cálcio cianamida, DNOC, mecroprop, simazina + methoprotyna diminuíram a atividade da sacarase do solo.

Em dois anos de estudo de campo e laboratório, UZIAK & LEONIAK-STEINBRICH<sup>91</sup> observaram que o linuron, PCA e 2,4-D + dicamba não afetaram grandemente a atividade da sacarase, protease e urease em solos leves e arenosos.

Observando a concordância de muitos pesquisadores sobre os efeitos de diferentes herbicidas e cobertura vegetal no complexo enzimático do solo, fica evidenciada a necessidade de padronização de metodologia para o estudo enzimático, como um parâmetro de medida ecológica.

#### 2.4 EFEITOS DOS HERBICIDAS NA MICROBIOLOGIA DO SOLO, ESPECIFICAMENTE 2,4-D, PICLORAM E HALOXYFOP-METHYL

Em alguns casos os resultados obtidos por pesquisadores independentes como já vimos não são concordantes.

Observa-se uma evolução marcante na estrutura, formulação e atividade dos herbicidas para o objetivo proposto que é o de maximizar sua eficiência no controle das plantas daninhas. Para ANDERSON<sup>4</sup>, este avanço assumiu um aspecto consideravelmente significativo, nos últimos anos, referente evolução molecular dos agroquímicos em relação aos efeitos nos organismos alvos e que ainda não se estenderam aos organismos não objetivos, os quais podem ser afetados positiva ou negativamente.

Os fatores segundo ANDERSON<sup>4</sup>, que influenciaram os efeitos dos agroquímicos nos microrganismos não objetivos são:

a) Variabilidade do solo

A textura, conteúdo de argila mineral, matéria orgânica, pH; condutividade e capacidade de retenção de umidade dos solos são conhecidos por variar consideravelmente com regiões geográficas.

b) Prática agrônômica e cobertura de plantas

Nos solos de mesma classe química e geológica, o tipo de cobertura de planta deve influenciar na composição da biomassa do solo.

Há diferenças consideráveis entre solos cultivados e não cultivados e isto se deve indubitavelmente à presença de uma ação ativa da rizosfera no solo cultivado.

O cultivo, aração para incorporação dos resíduos de cultura geralmente acelera a decomposição microbiana da matéria orgânica, entretanto os resíduos acumulados no solo favorecem a lenta oxidação.

Em essência, as variações nas composições das estirpes e espécies microbianas que são determinadas pelos tipos e condições do solo, práticas agronômicas e populações de plantas presentes na área devem ser importantes na determinação da população da biomassa microbiana.

#### c) Formulação do agroquímico

A forma em que o agroquímico é adicionado ao solo é especialmente importante. Se é usada a formulação comercial, o investigador nunca pode estar certo ou não, se os aditivos da formulação são responsáveis por algumas das trocas na atividade microbiana.

Os chamados ingredientes inertes, caolinita pura, devem afetar os microrganismos do solo.

#### d) Tipo de agroquímico e método de aplicação

A diferença entre os agroquímicos sistêmicos e não sistêmicos devem ser de importância considerável no êxito da determinação das investigações nos seus efeitos nos microrganismos do solo.

Em gramínea, por exemplo, muito pouco de um fungicida ou herbicida pode contactar totalmente a superfície do solo. A maior parte do material permanece nas folhas. Este material pode ser incorporado no solo, mas mudanças significativas devem ocorrer na química neste interim.

#### 2.4.1 Efeitos na bactéria do solo e em suas atividades

Poucos são os herbicidas que têm algum efeito, significativo ou prolongado na população bacteriana dos solos. Espécies individuais de bactérias são frequentemente afetadas adversamente em algum grau, mas os efeitos são raramente permanentes. O estado nutricional dos solos pode ter um impacto significativo no tipo de resposta obtida.

Assim, para LENHARD<sup>51</sup>, estudando o efeito do 2,4-D em certos aspectos fisiológicos dos microrganismos do solo mencionou que a microflora do solo não foi seriamente afetada pela aplicação de 2,4-D acima de 100 ppm, sendo que em concentrações superiores a 500 ppm as colônias de bactérias perderam sua estrutura normal e a fixação de nitrogênio pelo azotobacter diminuiu rapidamente.

#### 2.4.2 Efeitos na nitrificação

Uma pesquisa interessante para estudar os efeitos dos herbicidas na nitrificação do solo foi realizada por DOMSCH & PAUL<sup>27</sup>. Testando os efeitos de 35 herbicidas por meio de modelos experimentais e matemáticos, concluíram que a maioria dos herbicidas tinham um efeito negligenciável à aplicações normais de campo e a nitrificação foi efetiva novamente quando o pH estava abaixo de 7,0. A oxidação do  $\text{NO}_2$  para  $\text{NO}_3$  pareceu ser mais sensível do que a oxidação do  $\text{NH}_4^+$  p/ $\text{NO}_2$ .

#### 2.4.3 Efeitos na denitrificação

Denitrificação ou redução do nitrato ou nitrito, é uma atividade comum e importante no solo, o qual se processa enzimaticamente pela redutase (MALAVOLTA et alii<sup>58</sup>).

Os trabalhos de HART & LARSON<sup>41</sup> estudando o efeito do 2,4-D a 0,221 p/1,105 ppm no desenvolvimento de 3 bactérias denitrificantes perceberam que o crescimento aeróbico foi menos afetados do que o crescimento anaeróbico com  $\text{NO}_3^-$  como receptor de elétron a *Pseudomonas denitrificans* foi menos sensível ao 2,4-D do que a *Ackromobacter nephridii* ou *Pseudomonas stutzeri*. Experimentos manométricos para comparar os efeitos do 2,4-D na redução do  $\text{NO}_3^-$  para  $\text{NO}_2^-$  pelo descanço das células de *Pseudomonas denitrificans* mostrou que quando o  $\text{NO}_3^-$  ao agir como receptor de elétron a taxa de formação do gás foi diminuída de 50 e 100% com 0,77 e 1,56 ppm de 2,4-D respectivamente; quando o  $\text{NO}_2^-$  foi usado como receptor de elétron a produção de gás ocorreu com 2,3 ppm de 2,4-D mas a taxa de produção foi diminuída. Os dados demonstraram também que diferentes bactérias apresentam variações sensitivas para este herbicida e que alguma correlação há entre a resposta do 2,4-D e do conteúdo de enzima e fisiologia dos microrganismos.

#### 2.4.4 Efeitos no *Rhizobium* sp. e Nodulação de Leguminosas

A importância de determinar se os herbicidas e outros agroquímicos afetam a nodulação agora assume um papel econômico relevante pois, poucos pesquisadores estudaram estes aspectos dos diferentes herbicidas do solo.

Afirma ANDERSON<sup>4</sup>, a partir dos dados de GAUR & MISRA\*; KRASIL'NIKOV\*\*; MICKOVSKI\*\*\*, que o *Rhizobium leguminosarum*

\* GAUR, A.C. & MISRA, K.C. Effect of 2,4-D on the growth of *Rhizobium* spp. in vitro. *Indian J. Microbiol.*, 12: 45-46, 1972.

\*\* KRASIL'NIKOV, M.A. Microbes and chemicals against pests. *Sel'Khoz. Biologiya*, 2: 857-865, 1967. (Weed Abstr., 17: 1929).

\*\*\* MICKOVSKI, M.D. The influence of hormone herbicide upon the growth of some species of rhizobia as well as upon the germination and nodulation of *Medicago sativa* and *Trifolium repens*. *Godisen Zb. Zemjod.-sum.Fak. Univ. Skopje*, 19:5-25, 1966.

mostrou uma diminuição no crescimento com 50 ppm de 2,4-D, mas 250 ppm foi necessário para uma diminuição significativa no crescimento do *Rhizobium meliloti* e *Rhizobium japonicum*. Alguns *Rhizobium* spp. toleraram 2,4-D a 300 ppm e o crescimento do *Rhizobium meliloti*, *Rhizobium trifolii*, *Rhizobium leguminosarum* e *Rhizobium phaseoli* foi inibido com 5 a 300 ppm de MCPA, MCPB ou 2,4-D.

A supressão temporária do crescimento do *Rhizobium* sp. foi obtido com taxas de 50 a 100 ppm 2,4-DB, mas foi necessário mais de 500 ppm para completar a inibição.

Os três herbicidas mais tóxicos foram linuron, diuron, dinoseb e a mistura de profan + diuron os quais foram tóxicos a várias centenas de ppm.

#### 2.4.5 Efeitos na Fixação de Nitrogênio

O efeito dos herbicidas na cobertura vegetal deve ser particularmente importante para a fixação do nitrogênio pela bactéria aeróbica e anaeróbica. Para ANDERSON<sup>4</sup>, as plantas mortas resultam num aumento do nível de matéria oxidável oriundas das folhas, caules e raízes. Em geral, o nitrogênio livre não é afetado grandemente pelos herbicidas exceto a altas doses de aplicação.

#### 2.4.6 Efeitos nos Fungos do Solo e Actinomicetos

Foi citado anteriormente que muitos fungos do solo exibem um alto grau de tolerância a herbicidas, mas isto não implica que eles sejam inafetados totalmente.



A partir dos dados de BAKALIVINOV\* comenta ANDERSON<sup>4</sup>, que o 2,4-D a 400 ppm inibiu *Penicillium herquei*, *Fusarium nivale*, *Theilavia terricola* e *Cunninghamella echinulata* mas a baixas concentrações não teve efeito. O crescimento micelial do *Parcilomyces varioti*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus tamaris* e *Penicillium funiculosum* em cultura líquida foi estimulado por 2,4-D (5-20 ppm) e MCPA (5-20 ppm) e o último composto aumentou a atividade no *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger* e a atividade da urease no *Aspergillus tamaris*. Afirma-se também, referindo-se aos trabalhos de PLAMADEALA\*\* que verificou ao adicionar 200 ppm de 2,4-D, aumento na síntese de ácido nucleico em 140%.

Doses de 100 a 1000 ppm de 2,4-D inibiu o crescimento e formação do espaço de *Alternaria* sp. e *Fusarium* sp. mas a 100 ppm a formação de *Alternaria* sp. aumentou.

Também SZEGI\*\*\*, citado por ANDERSON<sup>4</sup>, estudou os efeitos de 2,4-D e gramoxone em 20 fungos em cultura, descobrindo que o 2,4-D a 30 e 60 ppm freqüentemente estimulou o crescimento do fungo, que somente foi inibido a 120 e 250 ppm.

Também nos trabalhos de DESHMUKH & SHRIKHANDE<sup>25</sup>, usando-se os herbicidas 2,4-D, nata, simazina, atrazina e

\*BAKALIVINOV, D. Biological activity of certain herbicides on microscopic soil fungi. Symp. Biol. Hung., 11: 373-377, 1972. (Weed Abstr., 22: 1920).

\*\* PLAMADEALA, B. Effects of certain herbicides on the fungi *Rhizoctonia solani* Kühn, *Alternaria* sp. and *Fusarium* sp. An. Inst. Cercet. pent. cult. cart. Spec. Zahar, Brasov, 3: 365-372, 1972. (Weed Abstr., 24: 217).

\*\*\* SZEGI, J. Effect of some herbicides on the growth of cellulose decomposing microscopic fungi. Meded. Fac. Landb. Rijsuniv. Gent, 35: 559-561, 1970.

cianazina observou-se que os herbicidas em geral em suas doses normais parecem não afetar o balanço biológico da microflora do solo, exceto o éster de 2,4-D que inibiu a bactéria nos tratamentos pré-emergentes durante os primeiros 10 dias de incubação. Todos os herbicidas, tanto no tratamento pré-emergente como pós-emergente diminuíram a população fúngica nos primeiros dez dias com exceção do 2,4-D, mas posteriormente estes organismos cresceram normalmente.

#### 2.4.7 Efeitos nas Algas do Solo

Sabe-se que as algas do solo são, via de regra, afetadas sensivelmente por quase todos os herbicidas.

ANDERSON<sup>4</sup>, com base nos trabalhos de KISS\*, comenta que o amitrole, atrazina, monuron e diuron a 18 a 55 ppm inibiu a alga do solo mais prontamente em cultura do que no solo.

ANDERSON<sup>4</sup>, citando também os trabalhos de KAISER & REBER\*\* afirma que somente altas doses de simazine inibiram culturas de algas isoladas de rizosfera do milho, tendo a propazine efeito variável em várias raças de algas do solo. Por outro lado citando os trabalhos de BERTAGNOLLI & NADAKAVURAKEN\*\*\* diz que na presença de 1220 ppm de 2,4-D, *Chlorella pyrenoidosa* desenvolveu vesiculação da membrana do plasma, inchamento e desorganização da crista mitocondrial e desrupção do sistema cloroplasto lamelar.

\* KISS, A. Herbicides and soil algae. Novengvedelem, 2:217-224, 1966. (Weed Abstr., 18: 1976).

\*\* KAISER, P. & REBER, H. Unpublished data quoted by KAISER, P., POCHON, J.J. & CASSINI, R. (1970). Residue Rev., 32: 211-233, 1966.

\*\*\* BERTAGNOLLI, E.L. & NADAKAVUKAREN, M.J. Effect of 2,4-D on the fine structure of *Chlorella pyrenoidora* Chick. J. Phycol., 6:98-100, 1970.

#### 2.4.8 Efeitos nas Atividades Combinadas da Biomassa Microbiana do Solo

Observa-se que alguns pesquisadores afirmam, que uma atividade microbiana exagerada leva a uma rápida degradação do solo (MARTIN<sup>62</sup>; MARTEL<sup>61</sup>).

Segundo ANDERSON<sup>4</sup>, experimentos para se verificar a atividade celulolítica e degradação da matéria orgânica, foram realizados com culturas puras para estudar os efeitos dos herbicidas na celulose e degradação da matéria orgânica, concluindo serem limitados pela natureza do meio que é empregado. Ainda ANDERSON<sup>4</sup>, citando SZEGI\*, descobriu que o 2,4-D a 0,03-0,25 ppm afetou poucas espécies de organismos celulolíticos. Porém somente a altas doses, mas com paraquat a 0,003-0,03 ppm muitas espécies foram inibidas. Para ANDERSON<sup>4</sup>, desde que os herbicidas matam a vegetação, tratamentos com estes agroquímicos resulta em um aumento na matéria orgânica tanto na superfície como dentro do solo.

Segundo McLAREN & PETERSON<sup>65</sup>, o 2,4-D é o herbicida mais rapidamente degradado e que a rápida desintoxicação é resultado da ação microbiana.

Examinou-se segundo OU<sup>69</sup>, a influência da tensão da água do solo e temperatura do solo na degradação do <sup>14</sup>C- 2,4-D e na formação de resíduos não extraíveis de <sup>14</sup>C, e correlacionou-se a taxa de degradação do 2,4-D com a taxa de crescimento de microrganismos. O <sup>14</sup>C- 2,4-D, mineralizou-se rapidamente nos dois solos estudados, mantidos a 0,1 e 0,33 bar de tensão de água. As taxas de crescimento dos organismos degradados por 2,4-D nos solos secos (15 bars) foi pequena.

\* SZEGI, J. Effect of a few herbicides on the decomposition of cellulose. Symp. Biol. Hung., 11: 349-354, 1972.

Concluiu-se que a tensão de água ou o conteúdo de água no solo, tem um efeito significante na atividade microbiana.

Um outro parâmetro que é normalmente alterado no solo é a respiração do mesmo, sabe-se que uma alta taxa de respiração está diretamente relacionada com um desequilíbrio microbiano do solo. Comenta-se, segundo ANDERSON<sup>4</sup>, com base nos trabalhos de LAMARTINERE et alii\*, que a atividade respiratória na *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes* e *Micrococcus lysodeiktitikus* foi inibida por 2,21 ppm de 2,4-D enquanto a *Pseudomonas fluorescens* e *Staphylococcus aureus* requerem 3,31 0,33 ppm respectivamente. Contudo os herbicidas em geral não têm demonstrado efeito inibitório na atividade respiratória do solo, ou quando muito um leve efeito (LAMARTINERE et alii).

Entretanto BARBOSA<sup>7</sup> estudou os efeitos dos herbicidas fluometuron, simazina, atrazina, bromacil, bromacil + diuron (1:1), bromacil + diuron (2:1), terbacil, oxidiazon e nitrilodichlobenil, após 7 anos, concluiu que os mesmos não afetaram significativamente a respiração do solo.

Descrivendo-se, segundo WHITESIDE & ALEXANDER<sup>93</sup>, um método para medir o efeito de variações de herbicidas na respiração do solo, constatou-se que o ácido 4-(2,4-diclorofenoxi)butírico e o ácido 2,4 diclorofenoxiacético 2,4-D são metabolizados pela microflora do solo.

Em pesquisa conduzida para determinar o efeito de vários herbicidas na respiração de microrganismos contidos em três tipos de solos de Porto Rico, LIU & CIBES-VIADE<sup>53</sup> cons-

\*LAMARTINERE, C.A., HART, L.T. & LARSON, A.D. Delayed lethal effect of 2,4-D on bacteria. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 4: 113-119, 1969.

tataram um efeito inibitório significativo no oxigênio pela adição de 2,4-D e Trifluralina nos solos Coto e Fraternidade.

Em experimento de laboratório, OU et alii<sup>70</sup> utilizando-se 2,4-D técnico e formulado a 500, 5000 e 20000 mg/g foi inoculado em solo argiloso e caolinítico os dados tabulados descreveram o efeito do 2,4-D na população de bactérias, fungos e actinomicetos no solo, sugerindo que o 2,4-D não degradado teria um efeito detrimental na microflora do solo.

Sendo que, segundo SHARMA & SAXENA<sup>82</sup> constatou-se que aumentando-se a concentração do 2,4-D no solo até o nível de 4,5 ppm houve aumento no número de fungos, azotobacter e bactéria total até o segundo, décimo quarto e trigésimo dia após o tratamento respectivamente. Enquanto que para o mesmo tratamento diminuiu-se a quantia de actinomicetos em todos os níveis de aplicação no vigésimo dia do tratamento. A aplicação de 2,4-D acima do nível de 4,5 ppm demonstrou toxicidade para fungo, azotobacter e bactéria total.

Estudando-se a degradação do 2,4-D nos solos, para BELLINCK et alii<sup>8</sup> observou-se que a mineralização do 2,4-D aplicado a 10 ppm foi iniciada imediatamente depois de sua aplicação no solo. A altas concentrações houve um período de atraso e que os minerais P-K inibiram a mineralização do 2,4-D enquanto a combinação CaMg e aqueles que contém N a ativaram. Quando 500 ppm de 2,4-D foram aplicados, observou-se a formação de uma flora zimógena que foi muito ativa na descarboxilação do herbicida, mas incapaz de romper o anel aromático da molécula do herbicida, estes microrganismos provavelmente pertencem ao gênero *Arthrobacter* e *Pseudomonas*.

Para HELENE & RÜEGG<sup>42</sup>, observou-se que a população de microrganismos capaz de degradar o herbicida 2,4-D foi alterada pela introdução do mesmo.

Concordando com os autores, FOURNIER<sup>32</sup> afirma que o tratamento do solo com 2,4-D resultou num leve aumento no número de microrganismos metabolizadores e ainda, FOURNIER et alii<sup>33</sup> mencionaram que o número de microrganismos aumentou com a elevação da concentração do herbicida, os quais são capazes de usar o 2,4-D como fonte de carbono.

Cita KAUFMAN<sup>46</sup>, que a detecção de pequenas quantias de  $^{14}\text{CO}_2$  liberadas do carbonil  $^{14}\text{C}$ -lebil do solo tratado com picloram poderiam ser considerados indicativo de descarboxilação como uma possível reação de degradação. Comenta ainda que vários químicos baseados na piridina são de significância agrícola. Ácido fusárico (5-ácido-butilpicolínico), fusarina (3-butilpiridina), e 2-ácido-picolínico são produtos metabólicos de vários patógenos de plantas e tem sido conhecido por causar efeitos fitotóxicológicos associados com certas doenças de plantas. Para ele o picloram é o membro proeminente desta família química que se desenvolveu comercialmente como um herbicida. Afirma, KAUFMAN<sup>46</sup> que a conduta fitotóxicologia tem sido investigada extensivamente, entretanto seu destino ambiental é relativamente desconhecido. Os trabalhos de YOUNGSON et alii et alii\*, KEARNEY et alii\*\*, citados por KAUFMAN<sup>46</sup> indicam que o picloram não é particular-

\* YOUNGSON, C.R.; GORING, C.A.I.; MIEKLE, R.S.; SCOTT, H.H.; GRIFFITH, J.G. Factors influencing the decomposition of tordon herbicide in soils. Down Earth, 23: 3-11, 1967.

\*\* KEARNEY, P.C.; KAUFMAN, D.D. & ALEXANDER, M. Biochemistry of herbicide decomposition of soil. In: McLAREN & PETERSON, G.H. (eds.). Soil biochemistry. New York, Marcel Dekker, 1967. v.1

mente sensível a volatilização, mas é pouco sensível à degradação fotoquímica.

Segundo HAMAKER et alii\*, citados por KAUFMAN<sup>44</sup>, o picloram foi lixiviado do solo por chuvas pesadas e era muito persistente no solo devido ao movimento descendente.

Dos trabalhos de GORING et alii\*\* afirma-se, segundo KAUFMAN<sup>46</sup>, que há um desaparecimento gradual do picloram do solo com perdas de 58 a 96% dentro de um ano após a aplicação de 78 a 100% dentro de dois anos, e que a degradação no solo atribui-se aos microrganismos do mesmo. Segundo SOUZA<sup>86</sup>, a destruição do picloram ocorre lentamente em solo não esterelizado, mas inibe-se quando houver a esterilização.

Informação sobre a degradação do haloxifop-methyl no solo é ainda insipiente. Por tratar-se de molécula nova os trabalhos ainda estão em andamento.

ANDERSON<sup>4</sup>, citando os trabalhos de GAPONENKOV & NOGUMANOVA\*\*\* sobre atividade de algumas enzimas, diz que o 2,4-D de 24 a 40000 ppm suprimiu as enzimas pectolíticas do *Aspergillus niger* e o efeito aumentou com a concentração.

Para ANDERSON<sup>4</sup>, os efeitos dos grupos individuais de herbicidas são de acesso difícil devido as diferenças nos tipos de enzimas avaliadas.

Também a amonificação tem um papel importante a ser observado, que para ANDERSON<sup>4</sup>, sem a amonificação, a nitrificação seria severamente limitada aos íons de  $\text{NO}_3^-$ . Entretanto, em

\* HAMAKER, J.W.; JOHNSTON, H.; MARTIN, R.T.; REDEMANN, C.T. A picolinic acid derivative: a plant growth regulator. Science, 141:363, 1963.

\*\* GORING, C.A.I.; YOUNGSON, C.R. & HAMAKER, J.W. Tordon herbicide: Disappearance from soils. Down Earth, 20(4): 3-5, 1965.

\*\*\* GAPONENKOV, T.K. & NOGUMANOVA, S.T. The activity of pectolytic enzymes under the influence of herbicides. Sel'Khoz.Biol., 4: 298-299, 1969. (Weed Abstr., 19:2632).

muitos casos a amonificação é estimulada quando se aplica herbicidas, cujo fato não surpreende, desde que a morte das plantas e possivelmente a maior parte de suas populações da rizosfera resultem em um aumento na proteína disponível para estas transformações.

Verificou-se que somente a altas concentrações de herbicidas inibiu-se a amonificação e concentrações de 100-250 ppm não apresentou nenhum efeito, com exceção do linuron que foi tóxico a baixas concentrações.

## 2.5 METODOLOGIA DE AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DOS HERBICIDAS NA MICROBIOLOGIA DO SOLO

Como já vimos anteriormente há certa divergência entre os pesquisadores que investigam os efeitos colaterais dos agroquímicos na microflora do solo, e a necessidade de se desenvolver maneiras objetivas de avaliá-las.

Um problema está em decidir, segundo DOMSCH<sup>38</sup>, a importância relativa de cada efeito observado, causado por um agroquímico, como interpretar ou avaliar a importância dos efeitos inibitório, estimulativo ou ambos que poderiam ocorrer quando investigam-se as múltiplas atividades microbianas.

Para GREAVES et alii<sup>38</sup>, a seleção do solo para aplicação do teste a campo deveria seguir um cultivo padrão e preferencialmente que não tivesse recebido nenhum agroquímico por 5 anos ou então agroquímicos nos quais sejam conhecidos seus efeitos no processo microbiológico, sabendo-se do solo o conteúdo de carbono, argila, silte, areia, pH e tempo da amostragem.



Para os mesmos autores, os testes recomendados para a avaliação dos efeitos dos herbicidas na microflora do solo são: testes de respiração do solo, do litter, da amonificação e nitrificação e teste da fixação do nitrogênio.

Dentre os testes sugeridos por GREAVES et alii<sup>38</sup>, o da respiração do solo foi estudado. Neste, a maioria dos métodos possíveis é a determinação pelo acompanhamento contínuo ou semicontínuo da avaliação do CO<sub>2</sub>, o método mais comum tem sido o de JENKINSON & POWLSON<sup>45</sup> que visa medir a biomassa e a respiração do solo pela avaliação do CO<sub>2</sub> produzido nos tratamentos.

Estudando-se a comparação de diferentes métodos e avaliação do CO<sub>2</sub>, GRISI & GRAY<sup>39</sup> concluíram que nenhum dos métodos estudados é aplicável a todos os solos: isso significa que parece impossível uma comparação absoluta de biomassa microbiana de diferentes solos, sem incorrer em erro, por causa da heterogeneidade natural dos solos. No entanto os pesquisadores nada comentam de trabalhos realizados num mesmo tipo de solo quando submetido a um produto químico. Segundo GRISI & GRAY<sup>39</sup> a Biomassa microbiana de solo funciona como importante reservatório de vários nutrientes essenciais às plantas, porque a manutenção e a produtividade de um agroecossistema dependem em grande parte, do processo de decomposição da matéria orgânica do solo o qual é realizado pelos microrganismos e da conseqüente mineralização dos nutrientes. Para GRISI & GRAY<sup>39</sup> a estimativa da biomassa de microrganismos fornece dados úteis sobre mudanças nas propriedades biológicas do solo, efeito de fertilização e biocidas em geral.

Entretanto, o próprio DOMSCH<sup>38</sup> afirma existir conflitos entre as metodologias. Existe hoje, uma corrente de pesquisadores que com base nas metodologias de PANCHOLY & RICE<sup>71</sup> para a celulase, ROSS<sup>77</sup> para a amilase e a dos açúcares redutores para a sacarase, crê-se que o estudo destas enzimas pode avaliar a ação dos herbicidas na natureza, bem como afirma ROSS<sup>77</sup>, do importante papel que a amilase e sacarase desenvolvem na hidrólise de carboidratos do solo.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 DESCRIÇÃO GERAL DA ÁREA

##### 3.1.1 Situação Geográfica

O campo experimental localiza-se na região sul do estado do Paraná, no município de Quatro Barras, entre as coordenadas de 25º25' latitude norte e 49º10' longitude leste com uma altitude entre as cotas 915 e 925 e declividade média de 7%. De propriedade da Universidade Federal do Paraná denominada de Centro de Estações Experimentais - Fazenda do Canguiri, fazendo parte da sub-bacia do rio Iraí que por sua vez integra a bacia hidrográfica do rio Iguaçu (Figura 01).

##### 3.1.2 Geologia

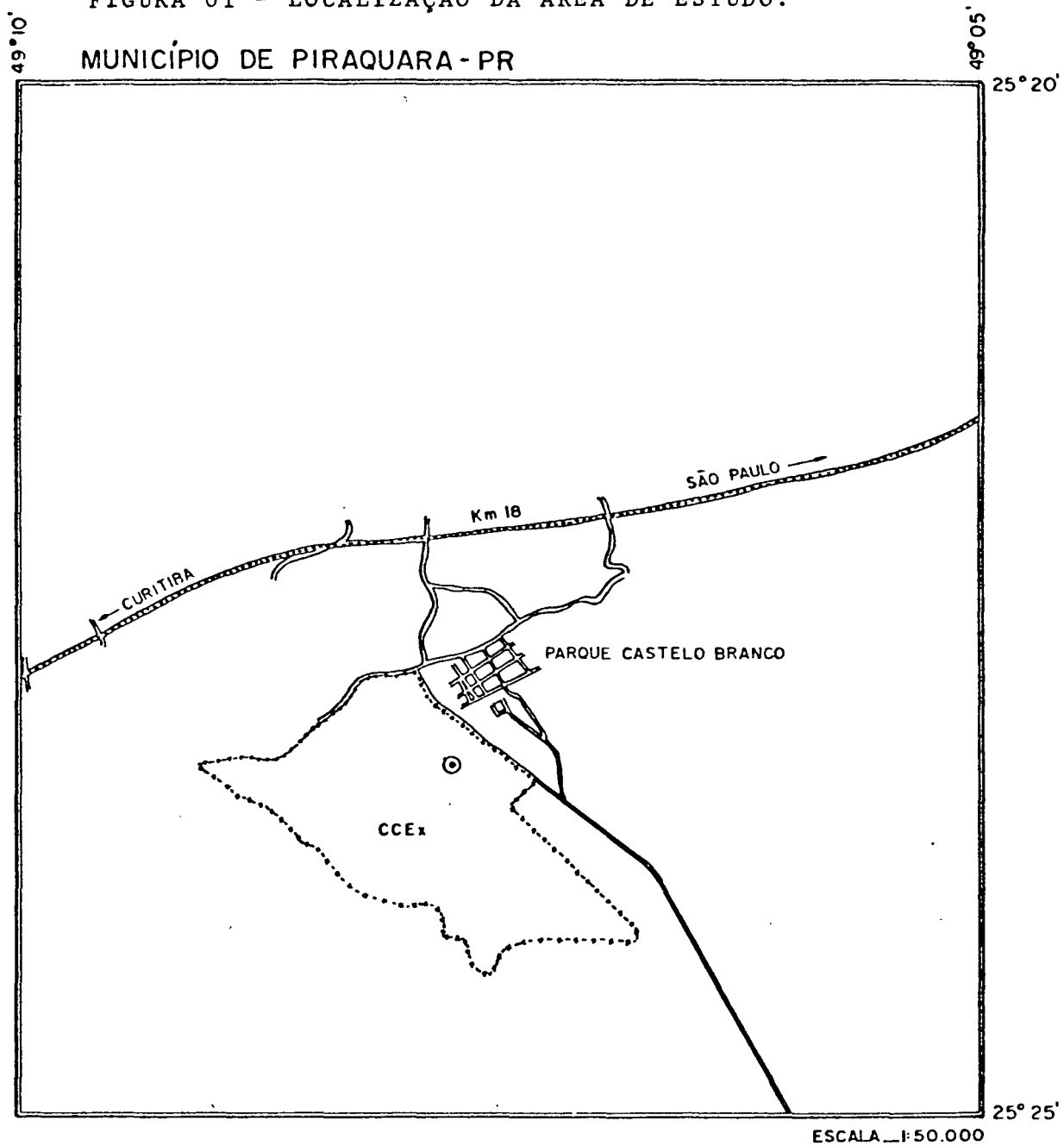
A formação geológica, segundo BIGARELLA & SALAMUNI<sup>12</sup>, é de que seus mais importantes componentes litológicos são os argilitos e os arcóseos, propondo para estes sedimentos a denominação de Formação Guabirota.

##### 3.1.3 Tipo de Solo

De acordo com o levantamento de reconhecimento dos solos da região sul do Paraná, segundo a EMBRAPA<sup>30</sup>, o solo da área experimental caracteriza-se como sendo um Latossolo Vermelho-Amarelo Álico A proeminente textura argilosa fase campo subtropical relevo suave ondulado (Haplic Acrorthox), com drenagem de Bem a acentuadamente drenado e seu uso atual com 4 anos de pouso e 100% da área com cobertura vegetal.

FIGURA 01 - LOCALIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO.

MUNICÍPIO DE PIRAQUARA - PR



## LEGENDA

⊙ ÁREA DE ESTUDO

- - - - CERCA

BR 116 - Km 18

CCEx - Centro de Estações Experimentais

— ESTRADAS

FONTE: BIGARELLA, J.J. - Folha geológica de Piraquara - XXIV-8, Curitiba, CODEPAR/UFPR, 1967 - Escala 1:50.000 (Base Cartográfica Folha S.G. 22-K-II-4 do Serviço Geográfico do Exército).

### 3.1.4 Clima

O clima desta região conforme carta climática do IAPAR<sup>60</sup> é característica subtropical úmido, mesotérmico com verões frescos, e freqüentes geadas severas, sem estação seca, cujas temperaturas médias anuais observadas estão compreendidas entre a máxima de 23°C e a mínima de 11°C, com uma média anual de 17°C. A precipitação média anual é de 1450 mm e uma umidade relativa do ar anual de 80%.

## 3.2 PREPARO DO SOLO E MONTAGEM DO EXPERIMENTO

### 3.2.1 Preparo do Solo

Escolhida a área experimental a mesma foi roçada com roçadeira mecânica tratorizada e realizado o preparo convencional com arado de disco e três gradagens com grade niveladora tipo globe ou V. As operações efetuaram-se em 22 de agosto de 1986, com antecedência de 47 dias da aplicação dos tratamentos para a estabilização da população microbiana do solo e restabelecimento de nova população florística (Figura 2 e 3).

### 3.2.2 Montagem do Experimento

O ensaio foi demarcado e aplicado em 8 de outubro de 1986, obedecendo desenho experimental de blocos ao acaso com 8 tratamentos, 4 repetições e unidades experimentais de 4,0 m X 5,0 m totalizando 20 m<sup>2</sup> isolados por bordaduras isoespecíficas de 1,0 m entre unidade experimental e 1,5 m entre blocos (Figura 04). Os tratamentos foram aplicados obedecendo-se as do-

FIGURA 02. VISTA GERAL DA ÁREA EXPERIMENTAL NO MOMENTO DO PREPARO DO SOLO



FIGURA 03. VISTA DA COMPOSIÇÃO FLORÍSTICA E ESTÁGIO DE CRESCIMENTO DAS PLANTAS NO MOMENTO DA APLICAÇÃO

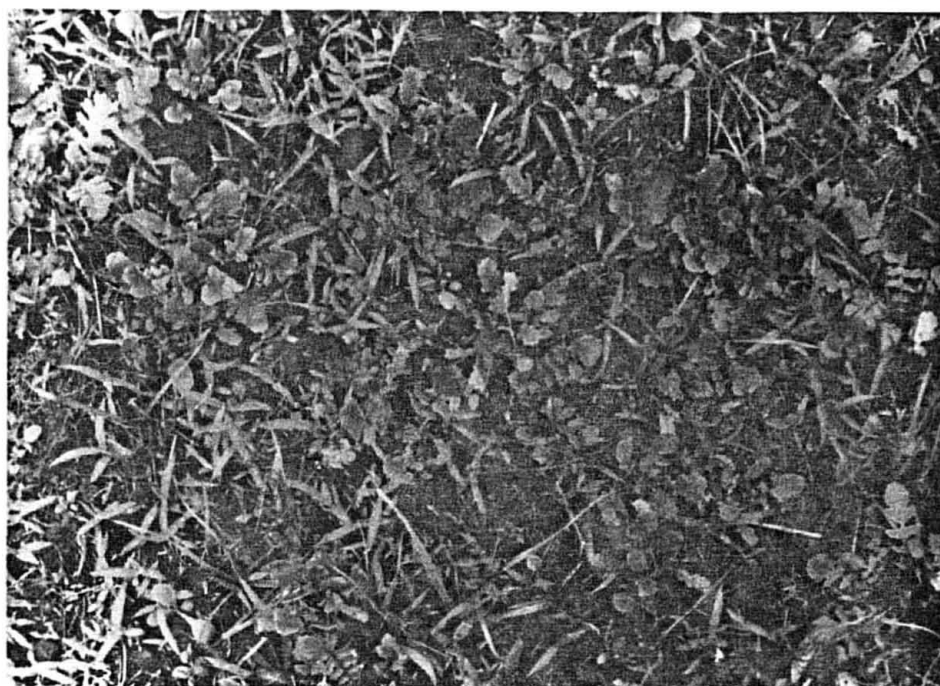
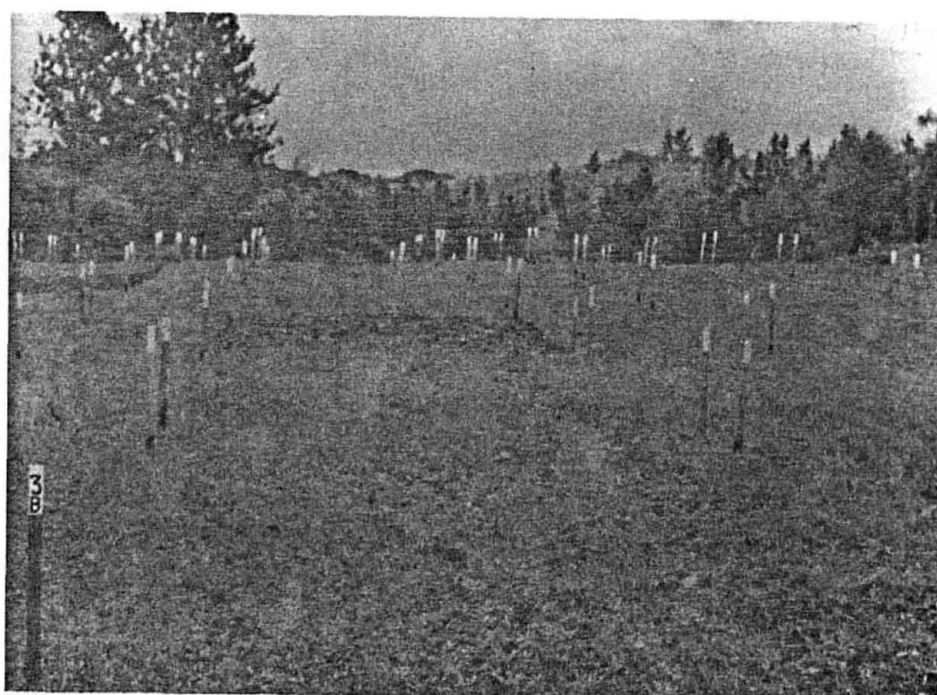


FIGURA 04. VISTA DA ÁREA EXPERIMENTAL APÓS A INSTALAÇÃO DO ENSAIO E APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS



sagens recomendadas pela Weed Research Organization, Technical Report nº 59<sup>38</sup> conforme Tabela 1.

### 3.3 APLICAÇÃO DOS HERBICIDAS

Os tratamentos herbicidas foram aplicados em pós-emergência das plantas, com pulverizador pressurizado CO<sub>2</sub> a uma pressão de 45 libras por polegada quadrada, equipado com barra de 4 bicos da série APG-ALBUZ, cor verde, com volume de calda de 350 litros por hectare, e faixa efetiva de pulverização de 2,0 m a 0,50 m de altura acima das plantas. A aplicação iniciou-se às 15h40 com término às 16h20, estando o solo com superfície seca e úmida a partir de 1,5 cm de profundidade, a temperatura a 10 cm de profundidade solo nu de 23,5°C medida no local, e ventos de 2,3 quilômetros por hora na direção sul norte. O tratamento nº7 foi capinado e mantido no limpo durante a permanência de experimento no campo. O tratamento nº8 foi mantido com vegetação durante todo o transcorrer do ensaio constituindo-se na testemunha.

### 3.4 AMOSTRAGEM DO SOLO PARA ANÁLISES

O solo para análise da biomassa microbiana, determinações enzimáticas e contagem das colônias de fungos e bactérias, foi coletado segundo a metodologia de POCHON & THARDIEUX<sup>72</sup>, fazendo-se 15 furos por parcela na profundidade de 10 cm superficiais com trado tipo holandês, amostrando os tratamentos antes da aplicação, 14, 30, 61, 105 e 134 dias após tratamento,



TABELA 01. RELAÇÃO DOS TRATAMENTOS HERBICIDAS E DOSAGENS RECOMENDADAS, CURITIBA, 1987

TRATAMENTOS	PRODUTO FORMULADO ha <sup>-1</sup>		INGREDIENTE ATIVO ha <sup>-1</sup>
1. 2,4-D formulação amina *	1,5	1	1.209 g.
2. 2,4-D formulação amina	15,0	1	12.090 g.
3. Picloram **	0,5	1	50 g.
4. Picloram	5,0	1	500 g.
5. Haloxyfop-Methyl ***	0,125	1	30 g.
6. Haloxyfop-Methyl	1,25	1	300 g.
7. Capina	-		-
8. Testemunha	-		-

\* Produto formulado pela Dow Química, com marca comercial DMA 806 BR solução aquosa concentrada, 670 g.e.a./l;

\*\* Produto formulado especialmente para o trabalho, pela Dow Química, contendo 100 g.e.a./l;

\*\*\* Produto formulado pela Dow Química com marca comercial Verdict, concentrado emulsionável, 240 g.i.a./l.

iniciadas as amostragens em 8 de outubro de 1986 e concluída em 19 de fevereiro de 1987.

Seguiu-se as normas da Weed Research Organization,, Technical Report nº 59<sup>38</sup>, para a conservação das amostras, recomendando que se façam as análises microbianas o mais rápido possível conservando as amostras em sacos plásticos amarrados de maneira que permita o livre acesso do ar, a uma temperatura de 2-4°C, sendo que as mesmas não devem ser guardadas por mais de 10 semanas. Todas as amostragens obedeceram o mesmo tempo de armazenagem, contudo antes de serem usadas elas eram retiradas da geladeira e colocadas à temperatura ambiente 22-28°C durante 2 dias para o equilíbrio microbiano, conforme recomendações da Weed Research Organization, Technical Report nº 59<sup>38</sup>.

Todas amostras deste trabalho seguiram rigorosamente os seguintes passos:

a) Após a coleta as amostras devidamente acondicionadas em sacos plásticos foram colocadas em geladeira na temperatura recomendada por um período de 8 dias.

b) Retiradas após este período e colocadas para secar à sombra até possível peneiramento em peneira de malha de 2 mm e quarteamento, cuidando entre uma amostra e outra lavar o material usado e desinfetar com álcool, para evitar contaminações entre os tratamentos.

c) Terminada esta operação as amostras retornaram para a geladeira por um período de mais 4 dias nas mesmas condições, sendo retiradas da geladeira após este tempo, colocadas à temperatura ambiente por 2 dias para estabilização micrônica.

d) Iniciando-se a partir de então as análises da biomassa microbiana, determinações enzimáticas e contagem das colônias de fungos e bactérias seguindo cada uma segundo sua metodologia.

e) Para as determinações enzimáticas e contagem de colônias de fungos e bactérias cada tratamento foi homogeneizado em suas repetições e quarteado no momento da tomada das quantidades a serem submetidas às diferentes avaliações.

A Figura 05 mostra um desenho esquemático da coleta e preparo das amostras para análise da biomassa microbiana, respiração do solo, determinações enzimáticas e população microbiana.

A biomassa microbiana e respiração do solo foram analisadas a partir dos tratamentos com suas respectivas repetições.

As determinações enzimáticas e população microbiana foram determinadas a partir de cada tratamento homogeneizado em suas repetições.

### 3.5 DETERMINAÇÕES EXPERIMENTAIS

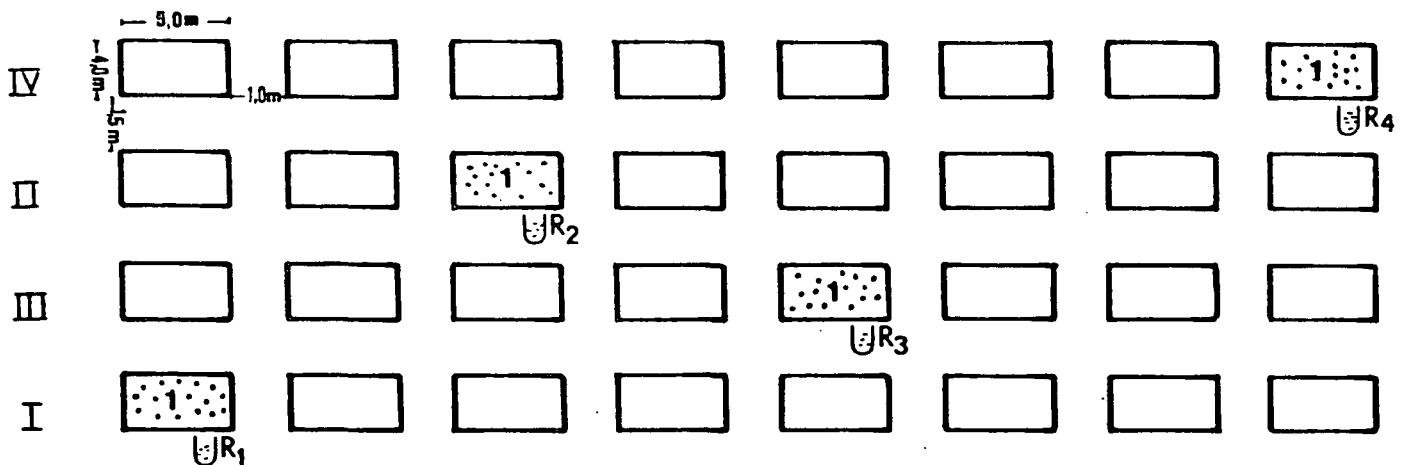
#### 3.5.1 Determinações enzimáticas da SACARASE, AMILASE e CELULASE.

As determinações das atividades enzimáticas seguiram cada qual sua própria metodologia como segue:

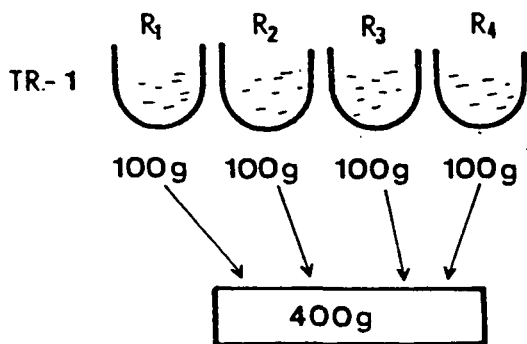
a) Sacarase pelo método de determinações de açúcares redutores.

b) Amilase segundo ROSS<sup>77</sup>.

FIGURA 05. CROQUIS DO ENSAIO EXPERIMENTAL COM PROCEDIMENTOS DE CAMPO E LABORATÓRIO PARA O PREPARO DAS AMOSTRAS PARA AS ANÁLISES DA BIOMASSA MICROBIANA E RESPIRAÇÃO DO SOLO E DAS DETERMINAÇÕES ENZIMÁTICAS E POPULAÇÃO MICROBIANA.



Repetição 1=15 furos por parcela, profundidade de 0-10cm, homogeneizados e quarteados formando uma composta.



ANÁLISE

- Biomassa microbiana
- Respiração do solo

DETERMINAÇÕES

- Enzimáticas
- População Microbiana

c) Celulase segundo o método de PANCHOLY & RICE<sup>71</sup>.

Todos os métodos foram modificados por CARVALHO<sup>21</sup> no sentido da utilização da  $\text{NaN}_3$  como agente antimicrobiano na concentração de 0,02% (P/V) antes do ajuste do pH do tampão acetato de cálcio 0,1N pH 5,4.

As condições ótimas do ensaio estabeleceram-se experimentalmente para o solo em questão utilizando-se o que segue: tempo de incubação para sacarase de 2 horas, amilase 3 horas, ambas em banho maria a 37°C de precisão  $\pm 0,3^\circ\text{C}$ , e 24 horas para celulase em banho maria a 55°C de precisão  $\pm 0,3^\circ\text{C}$ . Para cada conjunto de amostras analisadas foi feita a curva padrão de glicose nas concentrações de 0, 25, 50 e 100 microgramas de glicose, sendo a concentração 0 (zero) o branco de leitura a 660 nm para calibração do aparelho espectrofotômetro modelo 554 da Perkin-Elmer.

### 3.5.2 Biomassa Microbiana e Respiração do Solo

Determinou-se pelo método de JENKINSON e POWLSON<sup>45</sup>, modificado por CARVALHO<sup>21</sup> no sentido da utilização do ácido sulfúrico entre 0,015 a 0,025 N para as titulações. Para cada determinação utilizou-se uma curva padrão do carbonato de potássio com concentrações de 0,010; 0,020; 0,050; 0,100; 0,150; 0,200 e 0,250 gramas de carbonato de potássio.

### 3.5.3 População Microbiana

As populações fúngica e bacteriana se determinam pelas contagens em placas de petry, utilizando-se respectivamente os meios de cultura de MARTIN para fungos e agar nutriente da

MERCK para bactérias. As condições ótimas do ensaio determinadas experimentalmente, recomendaram as diluições  $10^{-3}$  para contagem das colônias fúngicas e  $10^{-5}$  para contagem das colônias bacterianas.

Utilizou-se controles para se assegurar do efeito de contaminação e os resultados foram traduzidos para número de propágulos por grama de solo seco.

#### 3.5.4 Análises Físicas

Analisadas pelo Laboratório de Física do Solo, do Departamento de Solo do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

##### 3.5.4.1 Granulometria

A fração argila foi determinada pelo método do densímetro, a fração areia por tamisação e a fração silte pela diferença, sendo que as amostras foram inicialmente dispersas mecanicamente pelo aparelho de ultra-som, segundo EMBRAPA<sup>30</sup>.

##### 3.5.4.2 Curva Característica de Retenção de Umidade do Solo

Fez-se a retenção de umidade do solo em amostras deformadas, dos primeiros 10 cm superficiais pelo método de terra fina segundo EMBRAPA<sup>30</sup>, usando-se para as pressões de 1/10, 1/3 e 1 atmosfera o método da panela de pressão com placa de cerâmica e para as pressões de 5 e 15 atmosferas empregou-se o método do extrator de RICHARDS com placa de cerâmica, com os re-

sultados descritos na sua curva característica.

#### 3.5.4.3 Densidade Real

Realizou-se pelo método do balão volumétrico, segundo EMBRAPA<sup>30</sup>.

#### 3.5.4.4 Umidade Atual

Utilizou-se para umidade atual o método da estufa a 105-110°C segundo EMBRAPA<sup>30</sup>, calculando-se a percentagem de umidade pela expressão:

% de umidade =  $100 \frac{\text{peso da amostra úmida} - \text{peso da amostra seca a } 105^{\circ}\text{C}}{\text{peso da amostra seca a } 105^{\circ}\text{C}}$

#### 3.5.5 Análises Químicas

Analisadas pelo Laboratório de Química do solo do Departamento de Solo do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

3.5.5.1 pH - Determinado segundo EMBRAPA<sup>30</sup>, em  $\text{CaCl}_2$  0,01M 1:2,5 usando eletrodo de vidro de nitrato de prata, medido em potenciômetro da marca Metron Herisan-Meter E 350B.

3.5.5.2 Fósforo - Determinado colorimetricamente utilizando reagente de molibdato de amônio, segundo EMBRAPA<sup>30</sup>.

3.5.5.3 Potássio - Determinado fotometricamente segundo metodologia preconizada pela EMBRAPA<sup>30</sup>, em fotômetro de chama marca

NK-2000 Digimed utilizando extrator de MEHLICH 1:10.

3.5.5.4 Carbono - Determinado pelo método colorimétrico segundo QUAGGIO & RAIJ<sup>74</sup>.

3.5.5.5 Hidrogênio + - Determinado segundo o método S.M.P. citado por RAIJ & QUAGGIO<sup>75</sup>.  
Alumínio

3.5.5.6 Cálcio + - Determinado pelo método complexométrico com emprego de EDTA preconizado pela EMBRAPA<sup>30</sup>  
Magnésio

### 3.5.6 Reagentes e Solventes

Todos os reagentes e solventes utilizados nas análises, foram com graus de pureza superiores ao P.A.

### 3.5.7 Análise Estatística

Analisadas no Centro de Computação Eletrônica da Universidade Federal do Paraná e Sociedade Paranaense de Ensino e Informática.

#### 3.5.7.1 Ajuste das Curvas de Carbonato de Potássio

O ajuste das curvas de calibração do carbonato de potássio, para cada uma das épocas, nas titulações, aos 10 dias e 20 dias foram efetuadas utilizando-se o pacote estatístico para ciências sociais (S.P.S.S. - Statistical Package for the Social Sciences).



O modelo ajustado foi a equação da reta ( $Y = b_0 + b_1X$ ).

#### 3.5.7.2 Ajuste das Curvas Padrão da Glicose Para Cada Enzima

O ajuste das curvas padrão da glicose para cada conjunto de amostra, fez-se segundo o modelo ajustado para a equação da reta ( $Y = b_0 + b_1X$ ), utilizando-se o pacote estatístico (Northwest analytical).

#### 3.5.7.3 Análise Estatística da Respiração e Biomassa Microbiana

Os dados de respiração e biomassa foram analisados segundo um delineamento em blocos ao acaso, com parcelas subdivididas, com 4 repetições. Às parcelas foram aplicados 8 tratamentos (6 dosagens, capina e testemunhas) e 6 épocas foram consideradas como sub-parcelas. As médias foram comparadas pelo teste de TUKEY, ao nível de 5% de probabilidade.

As análises foram efetuadas utilizando-se pacote estatístico para ciências sociais (S.P.S.S. - Statistical Package for the Social Sciences), em equipamento DEC 10.

#### 3.5.7.4 Análise das Curvas de Determinações Enzimáticas e População Microbiana

Para o traçado das curvas da respiração do solo, biomassa microbiana, sacarase, amilase, celulase, população fúngica, população bacteriana e relação população bacteriana total/população fúngica total utilizou-se de curvas francesas. As deter-

minações enzimáticas e população microbiana foram analisadas por justaposição de curvas avaliando-se visualmente, comparando-as entre si por aproximação das mesmas os efeitos dos tratamentos herbicidas e capina com a testemunha, visualizando-se a tendência de cada tratamento em relação aos parâmetros estudados.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 SOBRE OS HERBICIDAS USADOS

Os critérios para a escolha dos herbicidas, tratando-se de estudo para avaliação de parâmetros diferenciados para se medir os efeitos na natureza destes produtos químicos, aptou-se por analisar grupos químicos de gerações de herbicidas diferentes, observando-se na oportunidade, as diferenças existentes entre os grupos de herbicidas para a mesma metodologia estudada.

Sabe-se que os herbicidas são classificados de acordo com a estrutura fundamental de suas moléculas dentro das funções químicas a que pertencem.

Escolheu-se como primeira molécula o 2,4-D da classe de herbicidas homocíclicas do grupo químico homociclocarboxílico, pertencente à família dos ácidos fenoxiacéticos, sendo esta a primeira molécula orgânica introduzida como herbicida em 1942, expressando a molécula comportamento sistêmico de características hormonais, tendo sido estudado o seu mecanismo fisiológico e bioquímico mais do que o de qualquer outro herbicida (CAMARGO<sup>20</sup>; FLECK<sup>31</sup>). O 2,4-D sendo absorvido por via foliar, transloca-se dentro do floema, provavelmente se movendo com o material fotossintético. Contudo, se absorvido por via radicular, ele pode mover para cima, na corrente transpiratória. A translocação é influenciada pelo estágio de crescimento da planta. A acumulação do herbicida ocorre, principalmente, nas regiões meristemáticas das pontas de crescimento da parte aérea e das raízes.

A investigação tem demonstrado que ele causa resposta

anormal do crescimento e afeta a respiração, as reservas de alimentos e a divisão celular, mas o modo primário de ação ainda não está claramente esclarecido.

O 2,4-D pode atuar como regulador de crescimento vegetal; baixas doses podem induzir o enraizamento e a floração. Ele também controla o amadurecimento de frutos de banana, cítricos e atrasa a queda pré-colheita de alguns frutos (FLECK<sup>31</sup>). Seu efeito herbicida possui as seguintes principais características:

a) Pré-emergência para o controle de gramíneas e algumas latifoliadas com período residual de aproximadamente 30 dias.

b) Ação maior como herbicida pós-emergente seletivo para as gramíneas, controlando latifoliadas anuais e perenes agindo principalmente nas dicotiledôneas.

c) Ser sistêmico de característica hormonal.

A segunda molécula escolhida foi o picloram, da classe dos herbicidas heterocíclicos derivado do grupo das azinas, subgrupo das monoazinas, pertencentes à família dos ácidos picolínicos. Foi introduzido como herbicida em 1963 apresentando na fórmula estrutural de sua molécula o heteroátomo de nitrogênio.

O picloram apresenta um número considerável de efeitos bioquímicos sobre as plantas tais como:

a) Conteúdo total do RNA e DNA do tecido inversamente correlacionado com a resistência ao picloram.

b) Plantas resistentes ao picloram apresentam baixo teor de ácidos nucleicos, enquanto as plantas sensíveis apresentam alto teor de ácidos nucleicos.

Utilizando-se espécies sensíveis ao picloram como soja e pepino e espécies resistentes como cevada, trigo e milho foi

possível verificar trocas no metabolismo do ácido nucleico provocadas pelo herbicida. Contudo existe dificuldade em determinar o exato modo de ação de qualquer herbicida regulador do crescimento. É possível que o picloram, através de seus efeitos sobre a síntese e metabolismo do ácido nucleico, possa regular a síntese de proteínas nas células, afetar enzimas e sistemas enzimáticos em várias maneiras. Relacionar a fitotoxicidade do picloram a qualquer enzima específica parece praticamente impossível (FLECK<sup>31</sup> ).

O picloram apresenta efeito herbicida com as seguintes principais características:

- a) Pós-emergência latifoliada seletivo para as gramíneas.
- b) Largamente utilizado em pastagens como herbicida.
- c) Produto com características hormonais e de persistência prolongada no solo.

O poder residual do produto pode ser notado utilizando-se esterco de curral, curtido por um período de 6 meses, oriundo de animais alimentados em pastagens tratadas com o picloram, em cultura de tomateiro fazendo-se uso deste esterco como adubo orgânico, observa-se o efeito herbicida do produto na cultura.

Por último optou-se pela molécula do haloxyfop-methyl procedente da nova geração de herbicidas, produto da tão discutida química fina. Apresenta em sua fórmula estrutural ambas as funções homocíclica e heterocíclica ligadas por um átomo de oxigênio dando característica de um éter, observando em sua fórmula estrutural, o nitrogênio como heteroátomo para a estrutura heterocíclica (ALMEIDA & RODRIGUES<sup>2</sup>).

O mecanismo bioquímico e fisiológico da ação do haloxyfop-

methyl na planta é pouco conhecido, contudo sabe-se que após a sua aplicação o produto pode atuar de diferentes maneiras tais como:

a) Imediatamente após a aplicação na superfície foliar o haloxyfop-methyl é absorvido e hidrolizado em haloxyfop, sendo translocado por toda a planta, inclusive para a raiz.

b) O composto se concentra nos tecidos meristemáticos, paralisando o crescimento e levando a planta à morte.

c) O produto também é absorvido pelas raízes, por apresentar efeito residual afetando as plântulas de emergência tardia.

d) O haloxyfop-methyl apresenta sua ação limitada às gramíneas, controlando-as tanto em pré-emergência como em pós-emergência.

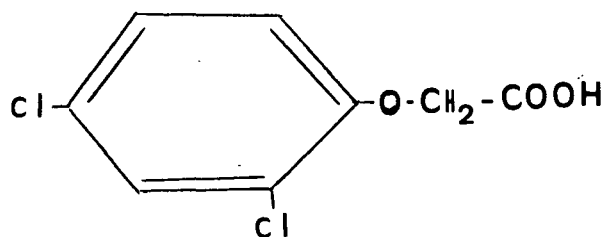
O mesmo foi introduzido na pesquisa junto aos órgãos oficiais em 1984, para determinação de sua eficiência biológica, estando seu relatório em poder do Ministério da Agricultura para sua análise, avaliação e posterior liberação do atestado de registro.

Na Figura 06 verificam-se as fórmulas estruturais das moléculas dos herbicidas 2,4-D, picloram e haloxyfop-methyl (CAMARGO<sup>20</sup>; ALMEIDA & RODRIGUES<sup>2</sup>).

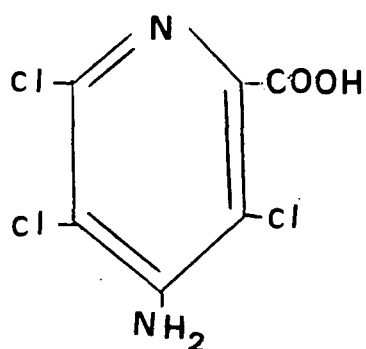
A evolução destas moléculas podem ainda ser notadas no aspecto de suas formulações e quantidades a serem utilizadas na prática.

As recomendações das dosagens dos produtos formulados dependendo do objetivo é variável, no entanto em média utiliza-se  $1,5 \text{ ha}^{-1}$ ,  $4,0 \text{ l ha}^{-1}$  e  $0,125 \text{ l ha}^{-1}$ , respectivamente, repre-

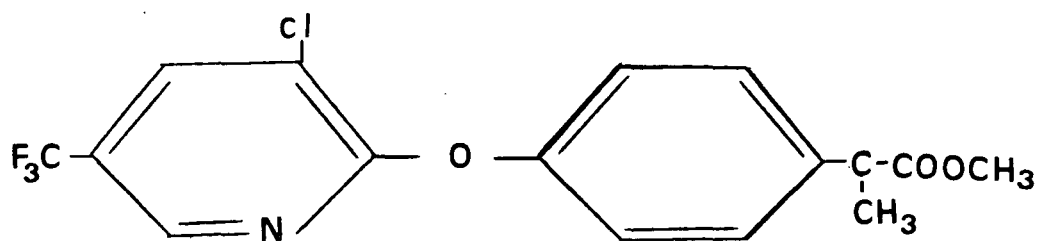
FIGURA 06. FÓRMULA ESTRUTURAL DAS MOLÉCULAS DE 2,4-D, PICLORAM E HALOXYFOP-METHYL



2,4-D



PICLORAM



HALOXYFOP-METHYL

sentando aproximadamente em gramas de ingrediente ativo por hectare 1.200, 250 e 30 gramas para se verificar o efeito herbicida com a morte das plantas objetivo. Observa-se mesmo que para objetivos diferentes uma significativa evolução da atividade unitária das moléculas em questão (CAMARGO<sup>20</sup>, HERTWIG<sup>44</sup>; ALMEIDA & RODRIGUES<sup>2</sup>).

#### 4.2 SOBRE OS PARÂMETROS DE ANÁLISE E METODOLOGIA

Tendo o presente estudo como objetivo principal o estabelecimento de metodologias para a avaliação de parâmetros que identifiquem ou se relacionem com os efeitos dos herbicidas 2,4-D, picloram, haloxyfop-methyl e capina na atividade microbiana do solo, procurou-se inicialmente, mediante revisão bibliográfica, saber do envolvimento dos microrganismos do solo nas diferentes etapas de reações químicas, físicas e biológicas de repercussões múltiplas, quando um herbicida é aplicado num determinado organismo alvo e sua ação nos organismos não específico (GREAVES<sup>38</sup>; GOELLNER<sup>36</sup>; TRAPPE<sup>88</sup>; MCLAREN & PETERSON<sup>65</sup>; ANDERSON<sup>4</sup>).

Dentre os parâmetros possíveis, citam-se os de biomassa microbiana, respiração do solo, atividade enzimática, população microbiana, entre outros, por estarem diretamente envolvidos com a atividade microbiana do solo.

No entanto, os trabalhos existentes além de mostrarem estudos isolados dos diferentes parâmetros, nem sempre conduzem a resultados conclusivos sobre os efeitos dos herbicidas no ambiente (GREAVES et alii<sup>38</sup>; VUKHRER & KAPLUN<sup>92</sup>; AU<sup>6</sup>; entre outros).



Entre os possíveis parâmetros, optou-se por estudar alguns relacionados com a população microbiana total do solo e do ciclo do carbono.

Há uma variedade de métodos possíveis para as análises desses parâmetros, contudo optou-se pelos métodos de JENKINSON & POWLSON<sup>45</sup> para a biomassa microbiana e respiração do solo; de determinação de açúcares redutores; de ROSS<sup>77</sup> e de PANCHOLY & RICE<sup>71</sup> para as enzimas todos otimizados por CARVALHO<sup>21</sup>, e contagem em placa da população fúngica e bacteriana total respectivamente, nos meios de cultura de MARTIN e agar nutriente da MERCK.

#### 4.3 SOBRE ÁREA EXPERIMENTAL E PROCEDIMENTOS DE CAMPO

Dentre as áreas disponíveis, optou-se por realizar o presente trabalho na área escolhida por satisfazer as recomendações do Technical Report nº 59<sup>38</sup>, e ainda por apresentar a composição florística uniforme em todo o campo experimental caracterizando a homogeneidade do solo, podendo ser considerada representativa para as condições solo/planta desta região com possibilidades de extrapolação de dados, para áreas semelhantes.

Observou-se um período de repouso de 47 dias após o preparo do solo para a estabilização das funções microbianas e restabelecimento de nova população florística, sendo este período imprescindível para medidas ecológicas, considerando que o tempo necessário para a formação de células microbianas é maior para as condições de campo do que nas condições ótimas de laboratório, com uma estimativa realística cerca de 10 dias para laboratório e 20 dias para as condições de campo (DOMSCH<sup>38</sup>).

Decorrido o tempo mais que necessário para as condições acima citadas e estando a área apta para receber os tratamentos procedeu-se o levantamento da vegetação, composta aproximadamente com 70% gramíneas e 30% de folhas largas, identificadas segundo LORENZI<sup>55</sup>, e LEITÃO FILHO<sup>50</sup>, constante da Tabela 02 e visualizados na Figura 03.

Procedida a delimitação dos blocos e respectiva parcela, amostrou-se inicialmente todos os tratamentos como uma medida de controle para as condições do solo antes da aplicação. Aplicando-se, em seguida, os tratamentos herbicidas e capina. Foram realizadas coletas em épocas pré-determinadas ao longo do tempo, atribuindo-se a cada amostragem o mesmo procedimento dado na primeira coleta, realizando-se ainda para as épocas de amostragem, afaliações dos efeitos tratamentos na população florística, atribuindo-se notas para o efeito de controle das plantas de 0,0 a 10,0, para eficácia biológica, sendo 0,0 (zero) ausência de controle e 10,0 (dez) controle total das plantas (PURÍSSIMO<sup>73</sup>).

#### 4.4 PROCEDIMENTOS DE LABORATÓRIO E OTIMIZAÇÃO DOS MÉTODOS

Com as amostras trazidas para o laboratório procedeu-se a secagem das mesmas até possível peneiramento, uma vez que as épocas amostradas foram antecedidas por precipitações pluviométricas.

Os resultados obtidos nas análises dos diferentes parâmetros figuram apenas e tão somente os possíveis efeitos de cada tratamento em si, considerando a variabilidade do solo, os efeitos edafoclimáticos ou ainda da população florística.

TABELA 02. COMPOSIÇÃO FLORÍSTICA DA ÁREA EXPERIMENTAL NO MOMENTO DA APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS, CURITIBA, 1987

	ALTURA (cm)	Nº DE PLANTAS/m <sup>2</sup>
<u>Raphanus raphanistrum</u> L.	3-6	30
<u>Spergula arvensis</u> L.	2-8	50
<u>Richardia brasiliensis</u> Gomez	1-2	50
<u>Sonchus oleraceus</u> L.	1-2	10
<u>Taraxacum officinale</u> Weber	6-9	2
<u>Digitaria ciliaris</u> (Retz) Koel	1-4	200
<u>Lolium multiflorum</u> Lam.	3-6	15
<u>Brachiaria plantaginea</u> (Link) Hitch	2-5	20

Os resultados das análises químicas e físicas realizadas com o solo da primeira coleta estão apresentados na Tabela 08 do Apêndice, respectivamente, revelando ser de baixa fertilidade. A área experimental não sofreu qualquer tipo de fertilização ou correção, revelando os resultados apenas os efeitos do preparo do solo e da vegetação sob as condições descritas no momento da instalação do ensaio e antes das aplicações dos tratamentos. O solo apresentou ainda densidade real de  $2,30 \text{ g/cm}^3$  e curva característica de umidade (Figura 19 do Apêndice), para determinação do pF ideal para as análises de biomassa microbiana e respiração do solo.

Experimentos preliminares de testes de metodologias, foram inicialmente realizados com o objetivo de otimização dos métodos, domínio das práticas laboratoriais e estabelecimento das condições ótimas para análise e determinação de cada parâmetro selecionado.

Para análise da biomassa microbiana e respiração do solo apesar de algumas contradições referentes ao método de JENKINSON & POWLSON<sup>45</sup> não ser aplicável a todos os solos, contudo para o solo em questão o método se mostrou perfeitamente viável.

Testou-se inicialmente três quantidades de solo 20, 50 e 100 gramas que apresentaram valores de  $\text{CO}_2$  produzidos proporcionais entre si. Optando-se por trabalhar com a quantidade de 100 gramas de solo, pelos volumes maiores de titulação e minimização de erros, realizando-se todas as análises num pF 2,5 conforme OU<sup>70</sup>.

O método foi otimizado, por CARVALHO<sup>21</sup>, no sentido da

utilização do ácido sulfúrico entre as normalidades de 0,015 a 0,025 N, e um consumo na bureta entre 40-50 ml para titulação do branco, que além de minimizar os erros proporciona melhor reprodutibilidade e praticidade, fazendo-se curvas de calibração com carbonato de potássio no sentido de se verificar a estabilidade dos reagentes utilizados e a precisão das titulações aos 10 e 20 dias para cada conjunto analisado (Tabela 09 do Apêndice). A precisão das titulações pode ser observada (Figura 20 do Apêndice), para a curva de calibração do carbonato de potássio para a primeira coleta na titulação verificada aos 10 dias, no aspecto de sua linearidade, conferindo aos resultados e precisão nas análises realizadas.

A determinação da população microbiana total fez-se pelo método de contagens em placas, tendo-se previamente estabelecido as diluições  $10^{-3}$  para as populações fúngicas e  $10^{-5}$  para as populações bacterianas, utilizando-se dos meios de cultura de MARTIN e agar nutriente da MERCK respectivamente, que segundo DROZDOWICZ & KULINSKA<sup>28</sup> mostrou ser o meio de MARTIN com estrep-tomicina e rosa bengala independentemente de pH como o mais eficiente para a contagem de fungos, e por outro lado, optou-se por trabalhar com o meio de cultura da MERCK para contagem bacteriana pela facilidade de seu manuseio, por já vir preparado e ainda ser o mais usualmente utilizado para as contagens de populações bacterianas. Tomou-se o cuidado de conduzir todas as análises bacterianas do experimento com o mesmo lote do agar nutriente, e para todos os conjuntos de amostras determinadas tanto fúngica como bacteriana, fez-se o controle para se assegurar do efeito de contaminação mesmo trabalhando com câmara asséptica observando-se resultados negativos para este efeito.

Já as determinações enzimáticas da sacarase, amilase e celulase analisadas, segundo as metodologias citadas em capítulo anterior, todas otimizadas por CARVALHO<sup>21</sup>, no sentido da utilização  $\text{NaN}_3$  como agente anti-microbiano, determinando para cada enzima sua atividade no tempo, verificando-se linearidade no tempo para sacarase de 0 a 2 horas; amilase de 0 a 3 horas e celulase de 0 a 24 horas.

As enzimas sacarase e amilase apresentaram seu ótimo de atividade quando incubadas em banho maria à temperatura de 37°C como preconiza o método, e a celulase a 55°C conforme otimizado por CARVALHO<sup>21</sup>.

A cada período de trabalho foram feitas curvas padrão de glicose, para se assegurar das mesmas condições das análises para cada conjunto de amostras determinadas (Tabela 10 do Apêndice), verificando-se pelo coeficiente de determinação a precisão com que as amostras foram analisadas.

Os solos para as determinações tanto da população microbiana total como das enzimáticas se situaram entre os pH 2,0 e 3,0, condições estas mantidas em geladeira após o preparo das amostras trazidas do campo até o momento de análise de cada conjunto de determinação.

Porcedeu-se a homogeneização do solo entre as repetições de cada tratamento para as determinações enzimáticas e população microbiana total, por ser um procedimento normal para esse tipo de trabalho, considerando as citações de DOMSCH<sup>38</sup> que, variações de 50% ou mais das condições microambientais são consideradas como eventos normais.

#### 4.5 AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA BIOLÓGICA DOS TRATAMENTOS 2,4-D, PICLORAM, HALOXYFOP-METHYL E CAPINA

A performance dos tratamentos herbicidas e capina quando o objetivo é eliminar as plantas pode ser semelhante ou diferente entre si, variando entretanto no aspecto da seletividade (IAPAR<sup>59</sup>).

Observa-se na Tabela 03 a evolução da composição florística e respectivas médias de eficácia biológica para o herbicida 2,4-D e capina avaliados nas mesmas épocas de amostragem do solo para as análises microbiológicas. A partir dos 30 dias após a aplicação dos tratamentos, apareceram na testemunha as plantas *Solidago microglossa* DC. e *Tagetes minuta* L. na densidade de uma planta por metro quadrado para ambas as espécies em média.

O tratamento capina mostrou-se eficiente durante todo o período de condução do ensaio no campo, efetuando-se operações de capina a cada 30 dias, atribuindo-se nota máxima em todas as avaliações para este tratamento.

O tratamento testemunha apresentou controle natural das plantas *Raphanus raphanistrum*, *Spergula arvensis*, *Richardia brasiliensis* e *Sonchus oleraceus* após 30 dias, verificando-se controle progressivo, atingindo nota máxima ao final do ensaio, existindo exceção da *Richardia brasiliensis* que obteve nota 7,0 (sete). Este efeito para a testemunha se verificou possivelmente ou pela baixa fertilidade do solo, ou pela competição inter-específica, ou ainda por efeitos alelopáticos com favorecimento das gramíneas principalmente da *Digitaria ciliaris* a qual é favorecida neste tipo de solo conforme observações pessoais de experimentos anteriores ainda não publicados.

TABELA 03. EVOLUÇÃO DA COMPOSIÇÃO FLORÍSTICA E RESPECTIVAS MÉDIAS DO STATUS VEGETATIVO DAS PLANTAS AVALIADAS NAS ÉPOCAS DE AMOSTRAGEM DO SOLO, CURITIBA, 1987.

ÉPOCAS (DIAS) TRATAMENTOS		POPULAÇÃO FLORÍSTICA - EFICÁCIA BIOLÓGICA							
		<u>Raphanus</u>	<u>Spergula</u>	<u>Richardia</u>	<u>Sonchus</u>	<u>Taraxacum</u>	<u>Digitaria</u>	<u>Brachiaria</u>	<u>Lolium</u>
		<u>Raphanistrum</u>	<u>arvensis</u>	<u>brasiliensis</u>	<u>oleraceus</u>	<u>officinale</u>	<u>ciliaris</u>	<u>plantaginea</u>	<u>multiflorum</u>
		30 pl/m <sup>2</sup>	50 pl/m <sup>2</sup>	50 pl/m <sup>3</sup>	10 pl/m <sup>3</sup>	2 pl/m <sup>2</sup>	200 pl/m <sup>2</sup>	20 pl/m <sup>3</sup>	15 pl/m <sup>2</sup>
14	2,4-D 1,5 1	9,0	9,0	9,0	9,5	9,5	0,0	0,0	0,0
	2,4-D 15,0 1	9,0	9,0	9,0	9,5	9,5	3,0	3,0	3,0
	Capina	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
	Testemunha	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
30	2,4-D 1,5 1	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	0,0	0,0	0,0
	2,4-D 15,0 1	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	0,0	0,0	0,0
	Capina	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
	Testemunha	6,0	6,0	7,0	9,0	0,0	0,0	0,0	0,0
61	2,4-D 1,5 1	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	0,0	0,0	0,0
	2,4-D 15,0 1	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	0,0	0,0	0,0
	Capina	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
	Testemunha	9,0	9,5	7,0	9,5	0,0	0,0	0,0	0,0
105	2,4-D 1,5 1	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	0,0	0,0	0,0
	2,4-D 15,0 1	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	0,0	0,0	0,0
	Capina	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
	Testemunha	10,0	10,0	7,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
134	2,4-D 1,5 1	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	0,0	0,0	0,0
	2,4-D 15,0 1	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	0,0	0,0	0,0
	Capina	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
	Testemunha	10,0	10,0	7,0	10,0	0,0	0,0	0,0	0,0

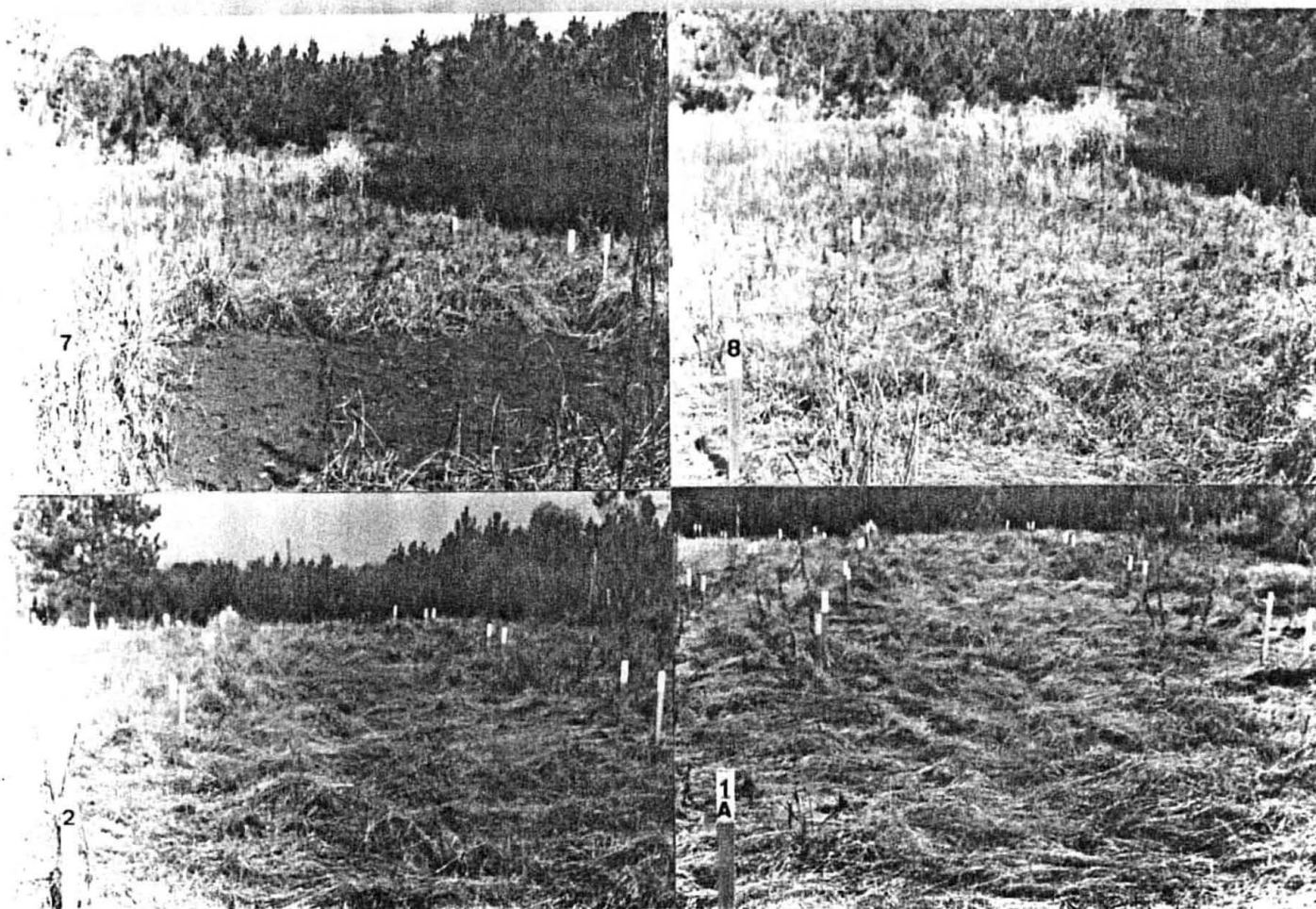


O 2,4-D em ambas as dosagens apresentou excelente controle das latifoliadas em todas as avaliações até o final do ensaio como se verifica na Figura 07. Na maior dosagem aos 30 dias, o 2,4-D apresentou também pequena ação sobre as gramíneas recém-germinadas, não se diferenciando após os 30 dias até o final do ensaio da testemunha.

Verifica-se na Tabela 04 e Figura 08, semelhante controle para o picloram em relação aos 2,4-D em todas as dosagens. O picloram nas dosagens estudadas não apresentou nenhum efeito visual para o controle de gramíneas, verificando ao final do ensaio as parcelas totalmente cobertas pelas mesmas visualizando-se o final do ciclo das plantas. As observações citadas são concordantes com LORENZI<sup>56</sup>.

Nos tratamentos com haloxyfop a 0,125 l ha<sup>-1</sup> e 1,25 l ha<sup>-1</sup> ocorreram a incidência de *Solidago microglossa* e *Tagetes minuta* para ambas as espécies de uma planta por metro quadrado na menor dosagem, e para a maior dosagem 5 plantas por metro quadrado respectivamente. Ainda, se verifica na Tabela 05 que o tratamento com haloxyfop a 0,125 l ha<sup>-1</sup> controlou eficientemente as gramíneas até 30 dias, não oferecendo nenhum efeito de controle por ação residual do produto, a partir do qual ocorreu uma reinfestação pelas plantas *Digitaria ciliaris* e *Brachiaria plantaginea* e nas densidades de 50 plantas por metro quadrado e 10 plantas por metro quadrado respectivamente. Já o haloxyfop a 1,25 l ha<sup>-1</sup> além de oferecer controle pós-emergente total para as gramíneas controlou eficientemente em pré-emergência a *Digitaria ciliaris*, *Brachiaria plantaginea* e *Lolium multiflorum* ao nível 10,0 de eficácia biológica durante todo o período do ensaio no campo, visualizando-se na Figura 09 a variação da com-

FIGURA 07. VISTA DOS TRATAMENTOS 2,4-D NAS DUAS DOSAGENS ESTUDADAS COMPARADAS COM A CAPINA E TESTEMUNHA NO FINAL DO ENSAIO



Legenda

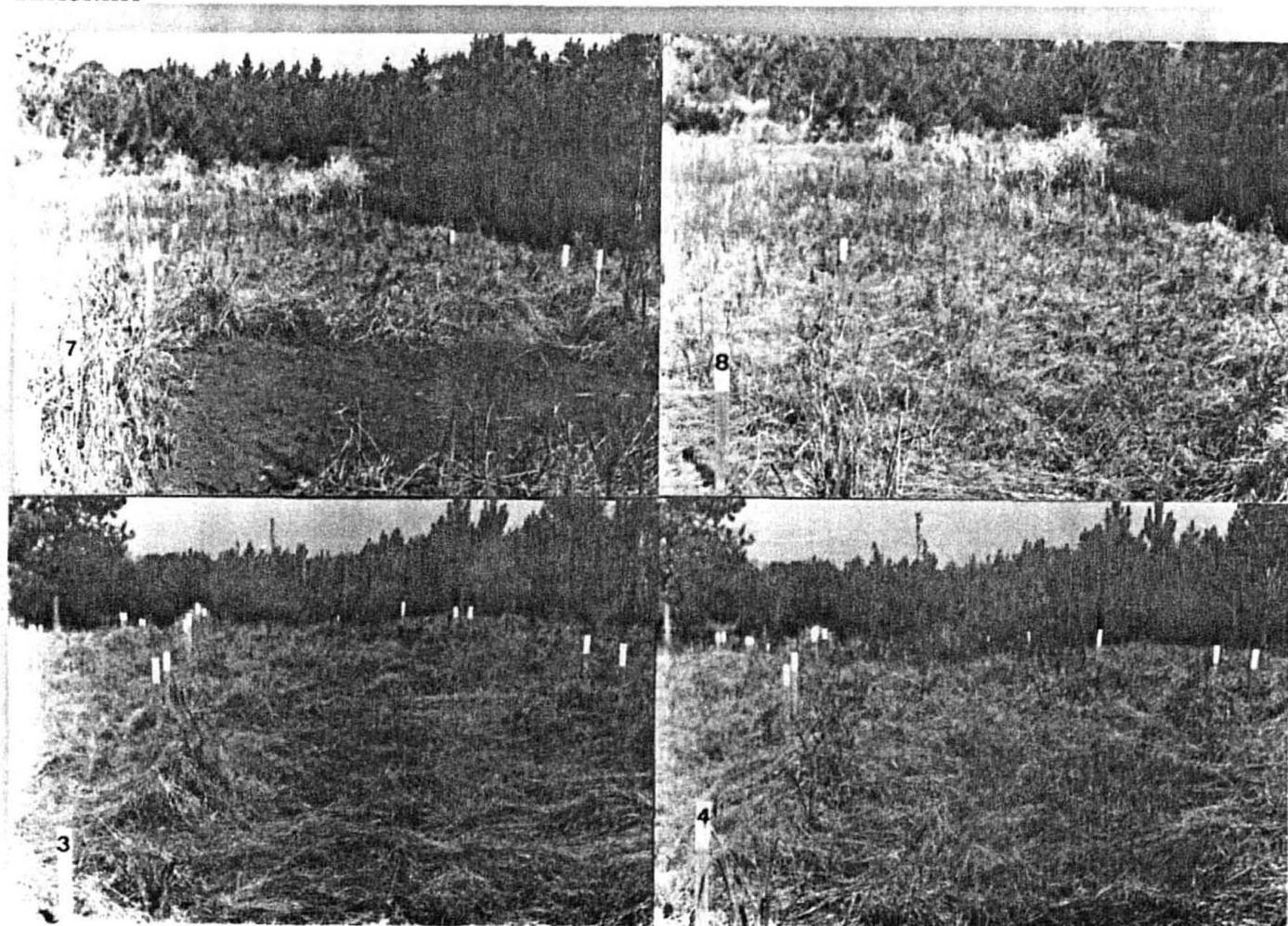
1A 2,4-D 1,5 l ha<sup>-1</sup>  
2 2,4-D 15,0 l ha<sup>-1</sup>

7 Capina  
8 Testemunha

TABELA 04. EVOLUÇÃO DA COMPOSIÇÃO FLORÍSTICA E RESPECTIVAS MÉDIAS DO STATUS VEGETATIVO DAS PLANTAS AVALIADAS NAS ÉPOCAS DE AMOSTRAGEM DO SOLO, CURITIBA, 1987

ÉPOCAS (DIAS)	TRATAMENTOS	POPULAÇÃO FLORÍSTICA - EFICÁCIA BIOLÓGICA							
		<u>Raphanus</u> <u>raphanistrum</u>	<u>Spergula</u> <u>arvensis</u>	<u>Richardia</u> <u>brasiliensis</u>	<u>Sonchus</u> <u>oleraceus</u>	<u>Taraxacum</u> <u>officinale</u>	<u>Digitaria</u> <u>ciliaris</u>	<u>Brachiaria</u> <u>plantaginea</u>	<u>Lolium</u> <u>multiflorum</u>
		30 p1/m <sup>2</sup>	50 p1/m <sup>2</sup>	50 p1/m <sup>2</sup>	10 p1/m <sup>2</sup>	2 p1/m <sup>2</sup>	200 p1/m <sup>2</sup>	20 p1/m <sup>2</sup>	15 p1/m <sup>2</sup>
14	Picloram 0,5 l	9,0	9,0	9,0	9,5	9,0	0,0	0,0	0,0
	Picloram 5,0 l	9,0	9,0	9,0	9,5	9,0	0,0	0,0	0,0
	Capina	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
	Testemunha	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
30	Picloram 0,5 l	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	0,0	0,0	0,0
	Picloram 5,0 l	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	0,0	0,0	0,0
	Capina	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
	Testemunha	6,0	6,0	7,0	9,0	0,0	0,0	0,0	0,0
61	Picloram 0,5 l	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	0,0	0,0	0,0
	Picloram 5,0 l	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	0,0	0,0	0,0
	Capina	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
	Testemunha	9,0	9,5	7,0	9,5	0,0	0,0	0,0	0,0
105	Picloram 0,5 l	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	0,0	0,0	0,0
	Picloram 5,0 l	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	0,0	0,0	0,0
	Capina	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
	Testemunha	10,0	10,0	7,0	10,0	0,0	0,0	0,0	0,0
134	Picloram 0,5 l	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	0,0
	Picloram 5,0 l	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	0,0	0,0	0,0
	Capina	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
	Testemunha	10,0	10,0	7,0	10,0	0,0	0,0	0,0	0,0

FIGURA 08. VISTA DOS TRATAMENTOS PICLORAM EM AMBAS DOSAGENS COMPARADAS COM A CAPINA E TESTEMUNHA



LEGENDA

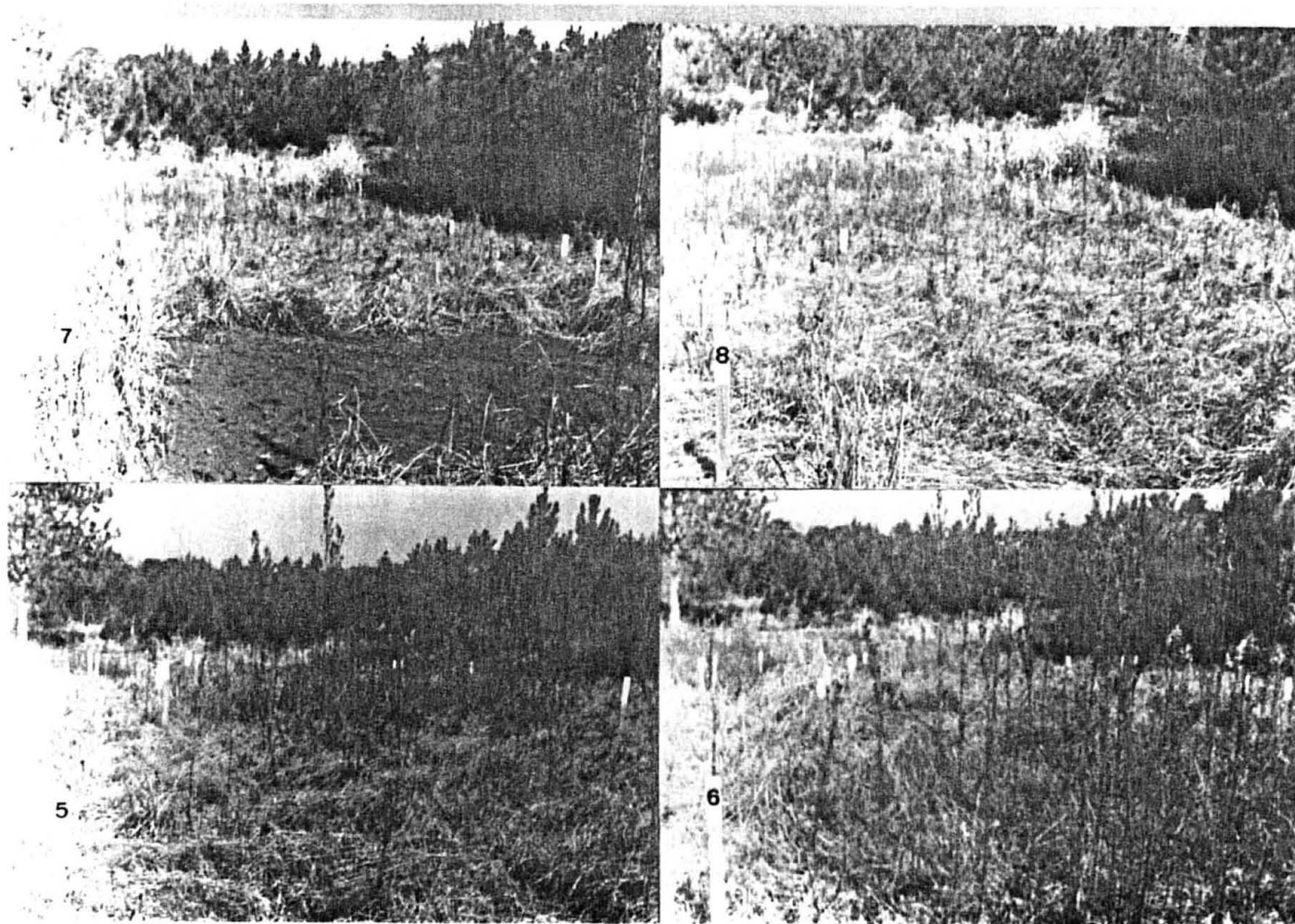
3 Picloram 0,5 l ha<sup>-1</sup>  
4 Picloram 5,0 l ha<sup>-1</sup>

7 Capina  
8 Testemunha

TABELA 05. EVOLUÇÃO DA COMPOSIÇÃO FLORÍSTICA E RESPECTIVAS MÉDIAS DO STATUS VEGETATIVO DAS PLANTAS AVALIADAS NAS ÉPOCAS DE AMOSTRAGEM DO SOLO, CURITIBA, 1987

ÉPOCAS (DIAS)	TRATAMENTOS	POPULAÇÃO FLORÍSTICA - EFICÁCIA BIOLÓGICA							
		<u>Raphanus</u>	<u>Spergula</u>	<u>Richardia</u>	<u>Sonchus</u>	<u>Traxacum</u>	<u>Digitaria</u>	<u>Brachiarica</u>	<u>Lolium</u>
		<u>raphanistrum</u>	<u>arvensis</u>	<u>brasiliensis</u>	<u>oleraceus</u>	<u>officinale</u>	<u>ciliaris</u>	<u>plantaginea</u>	<u>multiflorum</u>
		30 pl/m <sup>2</sup>	50 pl/m <sup>2</sup>	50 pl/m <sup>2</sup>	10 pl/m <sup>2</sup>	2 pl/m <sup>2</sup>	200 pl/m <sup>2</sup>	20 pl/m <sup>2</sup>	15 pl/m <sup>2</sup>
14	Haloxifop 0,125 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	9,5	9,5	9,0
	Haloxifop 1,25 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	10,0	10,0	10,0
	Capina	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
	Testemunha	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
30	Haloxifop 0,125 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	10,0	10,0	10,0
	Haloxifop 1,25 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	10,0	10,0	10,0
	Capina	10,0	10,0	10,0	10,0	10-0	10,0	10,0	10,0
	Testemunha	6,0	6,0	7,0	9,0	0,0	0,0	0,0	0,0
61	Haloxifop 0,125 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Haloxifop 1,25 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	10,0	10,0	10,0
	Capina	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
	Testemunha	9,5	9,5	7,0	9,5	0,0	0,0	0,0	0,0
105	Haloxifop 0,125 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Haloxifop 1,25 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	10,0	10,0	10,0
	Capina	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
	Testemunha	10,0	10,0	7,0	10,0	0,0	0,0	0,0	0,0
134	Haloxifop 0,125 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Haloxifop 1,25 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	10,0	10,0	10,0
	Capina	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
	Testemunha	10,0	10,0	7,0	10,0	0,0	0,0	0,0	0,0

FIGURA 9. VISTA DOS TRATAMENTOS COM HALOXYFOP NAS DUAS DOSAGENS ESTUDADAS COMPARADAS COM A CAPINA E TESTEMUNHA



LEGENDA

5 Haloxyfop methyl 0,125 l ha<sup>-1</sup>  
6 Haloxyfop methyl 1,25 l ha<sup>-1</sup>

7 Capina  
8 Testemunha

posição florística pelo efeito herbicida, sendo que os resultados são concordantes com os de ALMEIDA & RODRIGUES<sup>2</sup>.

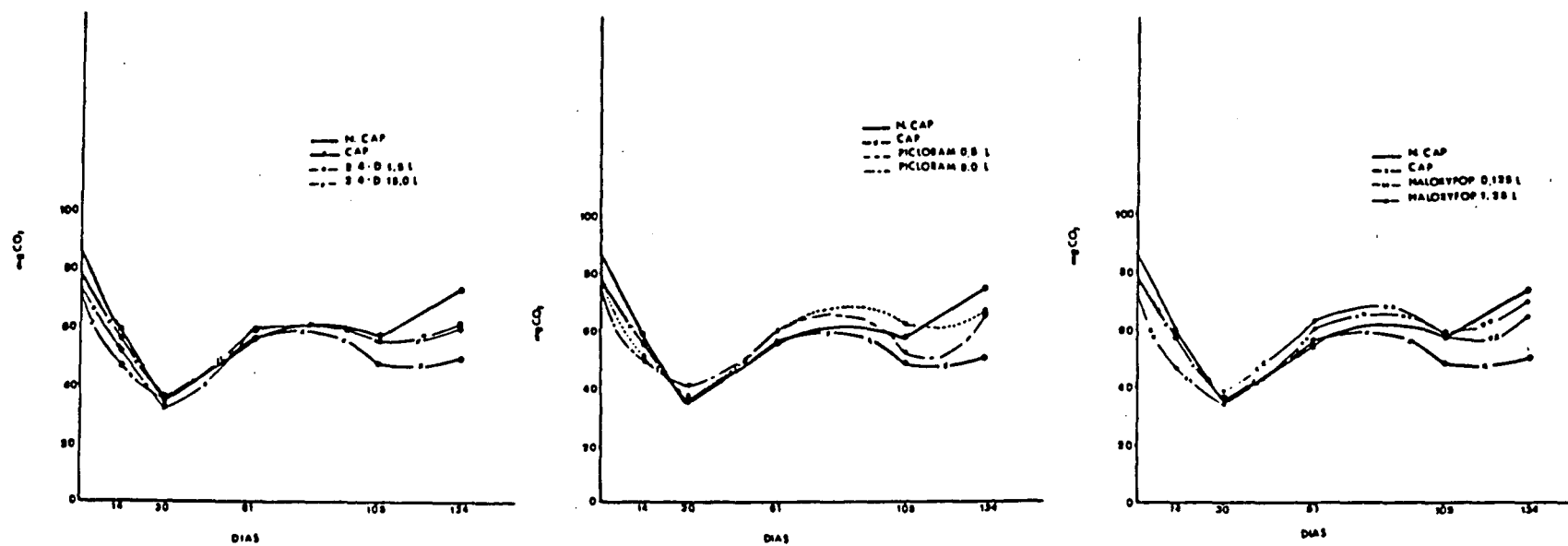
#### 4.6 RESPIRAÇÃO DO SOLO

Para os tratamentos herbicidas, capina e testemunha ocorreu certa tendência de variação nas quantidades de CO<sub>2</sub> produzido (Figura 10), verificando-se entre a primeira coleta até os 30 dias, decréscimo de 87 mg CO<sub>2</sub> para 47 mg CO<sub>2</sub> por 100 gramas de solo seco por 10 dias, aumentando após este período até o final do ensaio com pequenas oscilações entre as épocas amostradas, tendendo o equilíbrio aos 134 dias, retornando aos mesmos níveis verificados na primeira coleta.

A análise de variância (Tabela 11 do Apêndice) revelou que os fatores épocas referindo-se aos dias das amostragens e tratamentos não são independentes, não existindo diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, quando se consideram as épocas, contudo existem diferenças estatisticamente significativas entre as épocas tomadas isoladamente, sem considerar os tratamentos e as épocas para cada tratamento.

Nas condições em que foi desenvolvido o ensaio os herbicidas 2,4-D, picloram, haloxyfop methyl nas dosagens estudadas e capina pareceu não influenciar a respiração do solo, podendo ser observado na comparação entre as curvas dos tratamentos com a curva testemunha. A tendência de redução nas quantidades de CO<sub>2</sub> produzida que se verificou nos primeiros 30 dias foram iguais para todos os tratamentos, podendo ser atribuídas possivelmente ao efeito do preparo do solo, uma vez que não se verificou variações sig-

FIGURA 10. CURVAS DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS 2,4-D, PICLORAM, HALOXYFOP METHYL E CAPINA COMPARADOS COM A TESTEMUNHA, EVOLUÇÃO CO<sub>2</sub> DO SOLO





nificativas entre os tratamentos na mesma época amostrada tanto na primeira coleta, como nas coletas aos 14 e 30 dias.

Constatou-se aumentos progressivos nas quantidades de CO<sub>2</sub> produzidos entre os 30 e 134 dias, para todos os tratamentos, provavelmente pela germinação de novas sementes, crescimento da população florística e desenvolvimento gradual da população microbiana, pelo crescimento das rizosferas das plantas.

Para a respiração do solo nas condições deste estudo, não se observou relação direta entre a tendência das curvas dos tratamentos e testemunhas com os fatores climáticos, precipitação pluviométrica e temperatura a 10 cm de solo nu (Figura 11). Verificou-se (Figura 21 do Apêndice) a ocorrência de um ano normal para as precipitações pluviométricas medidas no período de condução do ensaio comparadas às precipitações pluviométricas dos últimos 20 anos (IAPAR<sup>60</sup>).

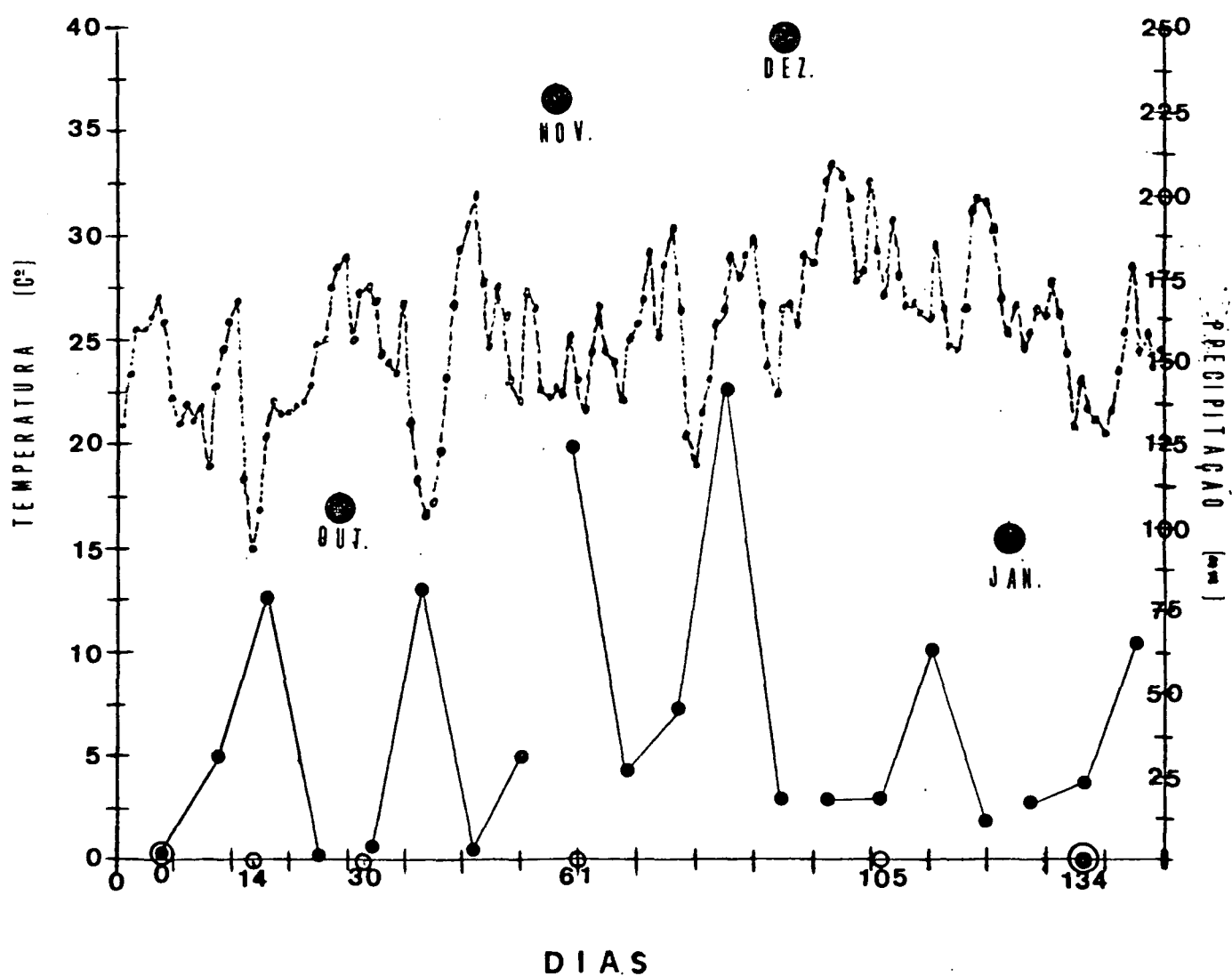
Os resultados obtidos estão de acordo com os observados por AU<sup>6</sup>; LEWIS et alii<sup>52</sup> estudando grupos diferentes de herbicidas.

#### 4.7 BIOMASSA MICROBIANA

As curvas (Figura 12) demonstram possivelmente os efeitos sazonais que pode sofrer a biomassa microbiana, quando solos nas condições deste estudo são tratados com os herbicidas 2,4-D, picloram, haloxyfop methyl e capina comparados à testemunha.

Notou-se para as análises da primeira coleta variação nos valores dos resultados obtidos de 7,5 mgC para 34,11 mgC por 100 gramas de solo seco por 10 dias, contudo os valores de

FIGURA 11. DADOS CLIMÁTICOS DE PRECIPITAÇÃO PLUVIOMÉTRICA E TEMPERATURA A 10 cm DE SOLO NU NO PERÍODO DO EN-  
SAIO A CAMPO, QUATRO BARRAS, 1987

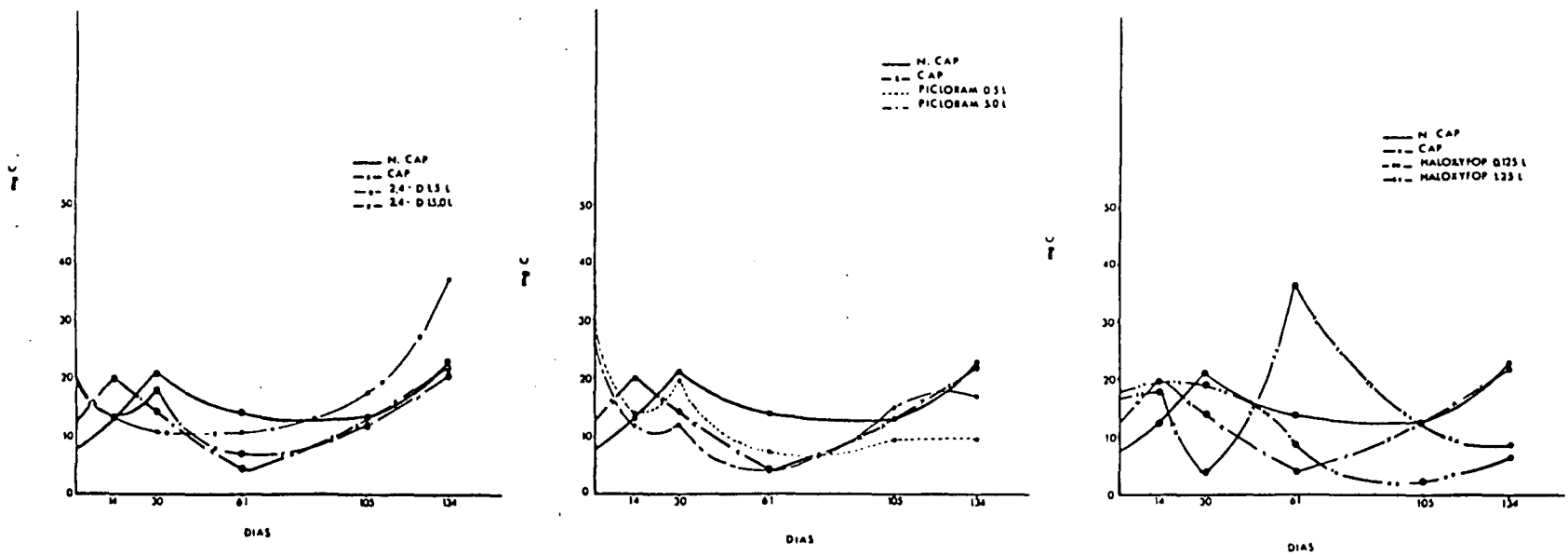


FONTE: IAPAR.

LEGENDA

- .....●..... Temperatura
- Precipitação semanal
- Precipitação mensal

FIGURA 12. CURVAS DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS 2,4-D, PICLORAM, HALOXYFOP E CA-PINA COMPARADOS COM A TESTEMUNHA NA BIOMASSA MICROBIANA DO SOLO



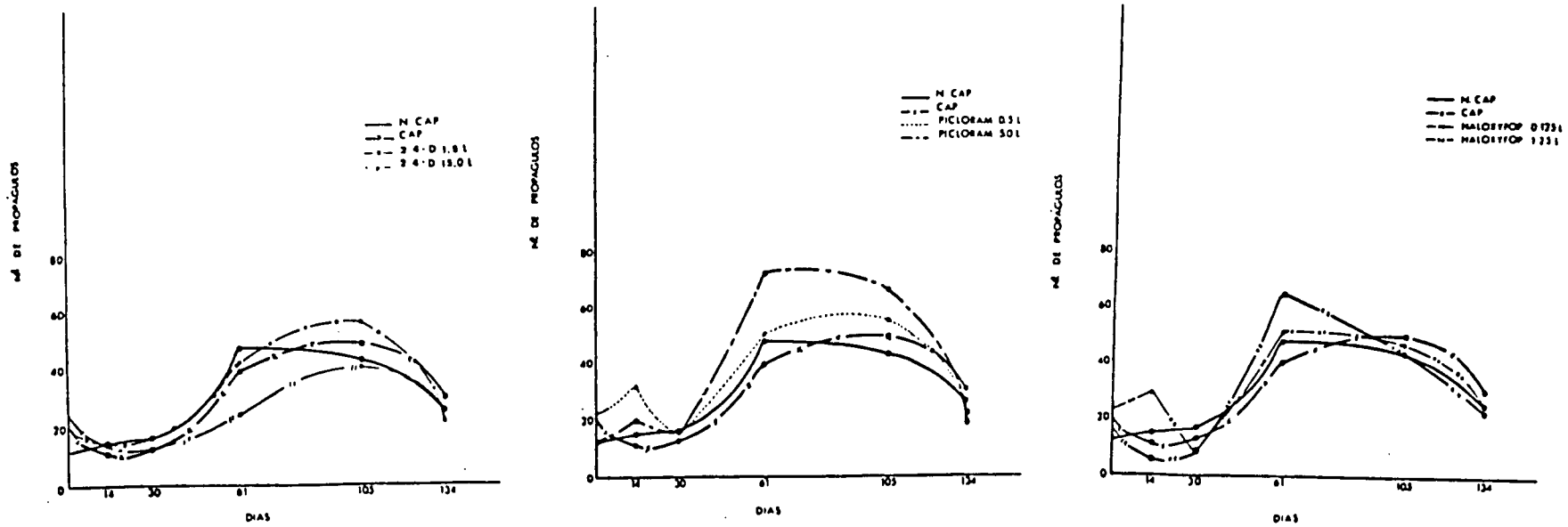
mgC encontrações para as diferentes épocas amostradas se encontram entre os intervalos inicialmente observados, com exceção verificada para haloxyfop e picloram aos 30 e 61 dias na maior dosagem respectivamente (Tabela 12 do Apêndice) capina aos 61 dias, ainda haloxyfop na menor dosagem aos 105 e 134 dias. Entretanto a análise de variância (Tabela 12 do Apêndice) revelou que os fatores tratamentos e épocas não são independentes, não existindo diferenças estatisticamente significativas a 5% entre os tratamentos independente de épocas, mas existem diferenças estatisticamente significativas entre as épocas, tomadas isoladamente ou dentro de cada tratamento. Essas diferenças contudo observadas entre as épocas e não entre os tratamentos, podem ser atribuídas possivelmente pela germinação e crescimento das plantas e desenvolvimento de atividades rizosféricas. Os resultados são concordantes com os observados por LEWIS et alii<sup>52</sup> CROSSBARD & MARSH<sup>40</sup>; TU & BOLLEN<sup>89</sup>; CALERO<sup>18</sup> entre outros, estudando grupos diferentes de herbicidas.

#### 4.8 POPULAÇÃO FÚNGICA TOTAL

A população fúngica total nas condições do experimento pareceu não ser influenciada pela aplicação dos tratamentos herbicidas 2,4-D, picloram, haloxyfop-methyl em ambas dosagens e capina comparados com a testemunha, uma vez que não mostrou existir possivelmente nenhuma diferença entre as tendências das curvas de todos os tratamentos (Figura 13).

Observou-se (Tabela 13 do Apêndice) oscilação entre os valores dos números de propágulos para a primeira coleta de de 11.500 a 24.800 propágulos. Já aos 14 dias o picloram e haloxyfop

FIGURA 13. CURVAS DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS 2,4-D, PICLORAM, HALOXYFOP E CAPINA COMPARADOS COM A TESTEMUNHA NA POPULAÇÃO FÚNGICA TOTAL DO SOLO



apresentaram valores superiores aos inicialmente observados no sentido da menor dosagem, e valores inferiores para haloxyfop na maior dosagem. Entretanto, para os demais tratamentos, os valores dos números de propágulos se situaram dentro do intervalo observado na primeira coleta, verificando-se a mesma tendência até os 30 dias.

As diferenças encontradas aos 14 dias nos tratamentos picloram e haloxyfop na menor dosagem para o aumento do número de propágulos, pode ser atribuída possivelmente à maior disponibilidade de alimento para a população fúngica em função da incorporação de material orgânico durante o preparo do solo o que não se verificou com haloxyfop na maior dosagem apresentando decréscimo no número de propágulos, devendo ser atribuído provavelmente ao efeito herbicida, uma vez que o mesmo não se verificou com os demais tratamentos.

A partir dos 30 dias todos os tratamentos não se diferenciaram entre si, a nível de significância para todas as curvas, com exceção do 2,4-D, picloram e haloxyfop que na maior dosagem apresentaram picos aos 61 dias de 1,9 vezes inferior para o 2,4-D e de 1,5 e 1,4 vezes superiores para o picloram e haloxyfop respectivamente em comparação com a testemunha, contudo tenderam ao equilíbrio no final do ensaio, retornando aos valores inicialmente observados na primeira coleta. A mesma tendência verificada após os 30 dias para todas as curvas deve ser atribuída possivelmente ao desenvolvimento vegetativo ou estágio fenológico das plantas influenciadas por suas rizosferas, ou ainda na oscilação do número de plantas por metro quadrado em cada tratamento. Entretanto, a diferença entre picos verificados para 2,4-D e picloram na maior dosagem pode ser atribuída provavel-

mente ao efeito herbicida, uma vez que ambos tratamentos apresentaram a mesma composição florística, com exceção do haloxyfop também na maior dosagem que apresentou apenas latifoliadas em suas parcelas, (Tabela 05).

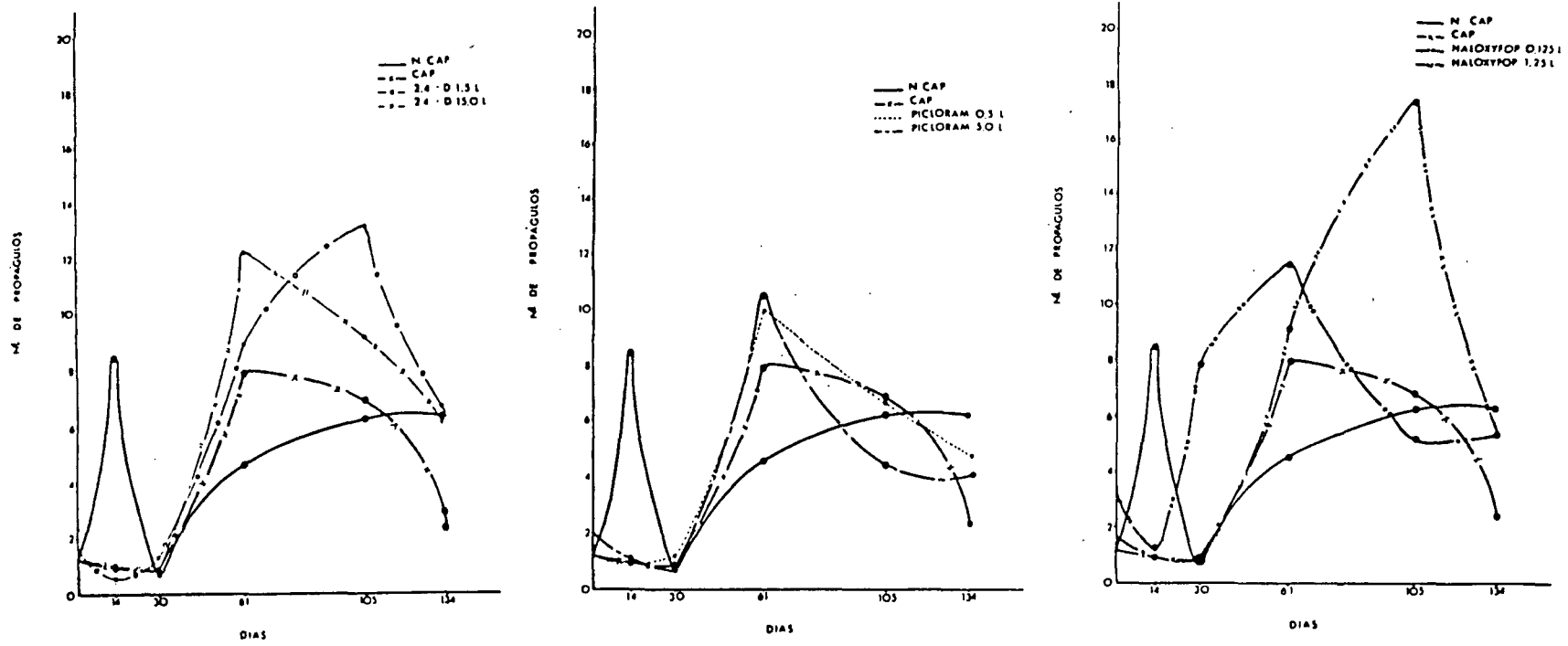
Os resultados verificados para a população fúngica total, estão de acordo com os apresentados por LEWIS et alii<sup>52</sup>, VUKHRER & KAPLUN<sup>92</sup>; BELLINCK & MAYAUDON<sup>10</sup>; CALERO et alii<sup>18</sup> entre outros, estudando grupos de herbicidas diferentes.

#### 4.9 POPULAÇÃO BACTERIANA TOTAL

Para a população bacteriana total, as curvas dos tratamentos 2,4-D, picloram, haloxyfop methyl e capina comparados com a testemunha (Figura 14) demonstraram as mesmas tendências, havendo exceção da testemunha aos 14 dias, apresentando pico 9 vezes superior ao número de propágulos da média dos demais tratamentos acreditando ser real, tendo em vista o trabalho ser realizado em condições de campo, o número de repetições executadas no laboratório e a presença de controles. O resultado possivelmente pode ser atribuído a fatores climáticos, como temperatura e umidade se comparada a curva testemunha com os dados climáticos (Figura 11), ou ainda a interação entre estes fatores com a população florística existente nas parcelas, uma vez que o mesmo não ocorreu com a população fúngica total, contudo não foi possível observar reflexos na biomassa microbiana do solo.

Verificou-se não existir diferenças significativas para os dados da priméria coleta. Todos os tratamentos apresentaram ponto mínimo aos 30 dias, havendo exceção do haloxyfop na menor

FIGURA 14. CURVAS DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS 2,4-D, PICLORAM, HALOXYFOP E CAPI-  
 NA COMPARADOS COM A TESTEMUNHA NA POPULAÇÃO BACTERIANA TOTAL DO SOLO





dosagem que apresentou aos 14 dias, diferenciando-se dos demais tratamentos a partir desta época, até aos 61 dias quando alcançou pico máximo, i.é., 2,7 vezes a testemunha, voltando ao equilíbrio no final do experimento.

O picloram e 2,4-D em ambas dosagens, ainda haloxyfop na menor dosagem e capina; a partir dos 30 dias descreveram curvas com as mesmas tendências, apresentando o picloram e 2,4-D em ambas dosagens; haloxyfop methyl na menor dosagem e capina (Tabela 14 do Apêndice), valores aos 61 dias respectivamente 1,9; 2,6; 2,2; 2,3; 2,5 e 1,7 vezes maiores que a testemunha, ainda aos 105 dias para 2,4-D na menor dosagem e haloxyfop na maior dosagem picos 2,0 e 2,7 vezes respectivamente maiores que a testemunha, proporcionando estes tratamentos para a população bacteriana total do solo, em nossas condições aumento no número de propágulos.

A inversão dos picos máximo para o 2,4-D pode ser atribuída possivelmente, para a maior dosagem à presença de menor população florística com tendência semelhante à capina e para menor dosagem uma maior população florística, contudo para ambas as dosagens a população florística observada era composta apenas de gramíneas, ou ainda podendo ser atribuído a possível efeito fisiológico do herbicida na população bacteriana favorecendo a sua multiplicação ou atividade como cita CERVELLI et alli<sup>22</sup>. Entretanto todos os tratamentos tendem ao equilíbrio no final do ensaio, equiparando-se à testemunha, com exceção do tratamento capina que diferiu dos demais tratamentos e testemunha, porém apresentando números de propágulos semelhantes ao inicialmente observados na primeira coleta.

Para o haloxyfop methyl os picos podem ser explicados possivelmente pela interação do produto no controle das plantas e pelo seu efeito residual no solo. As oscilações observadas aos 14 dias para a menor dosagem do haloxyfop podem ser atribuídas provavelmente à ação do herbicida nas plantas. Com a morte das mesmas houve o favorecimento para os fungos com aumento de sua população, por serem os mesmos possivelmente mais ágeis e efetivos na decomposição das plantas mortas, verificando-se na Figura 13 a tendência das curvas comparadas com as curvas da figura anterior. Observou-se ainda, a partir deste período, aumento da população bacteriana total devendo ser este aumento atribuído à germinação de nova população de gramíneas e desenvolvimento vegetativo das latifoliadas presentes não controladas pelo herbicida, ou possivelmente pelo efeito das rizosferas de ambas. Para haloxyfop na maior dosagem verificou-se a mesma tendência da capina até os 61 dias não diferenciando-se entre si, mas sim da testemunha, este efeito deve ser possivelmente atribuído ao poder residual de haloxyfop no controle de gramíneas por ser semelhante a própria capina, diferenciando-se após este período em favor de uma maior população bacteriana total para haloxyfop, provavelmente por uma atividade mais intensa da rizosfera das latifoliadas.

As observações citadas são concordantes com a maioria dos pesquisadores citados, entre eles DOMSCH<sup>38</sup>; MCLAREN & PETERSON<sup>65</sup>; BELLINCK & MAYAUDON<sup>8</sup>; ANDERSON<sup>4</sup>; TU & BOLLEN<sup>89</sup>.

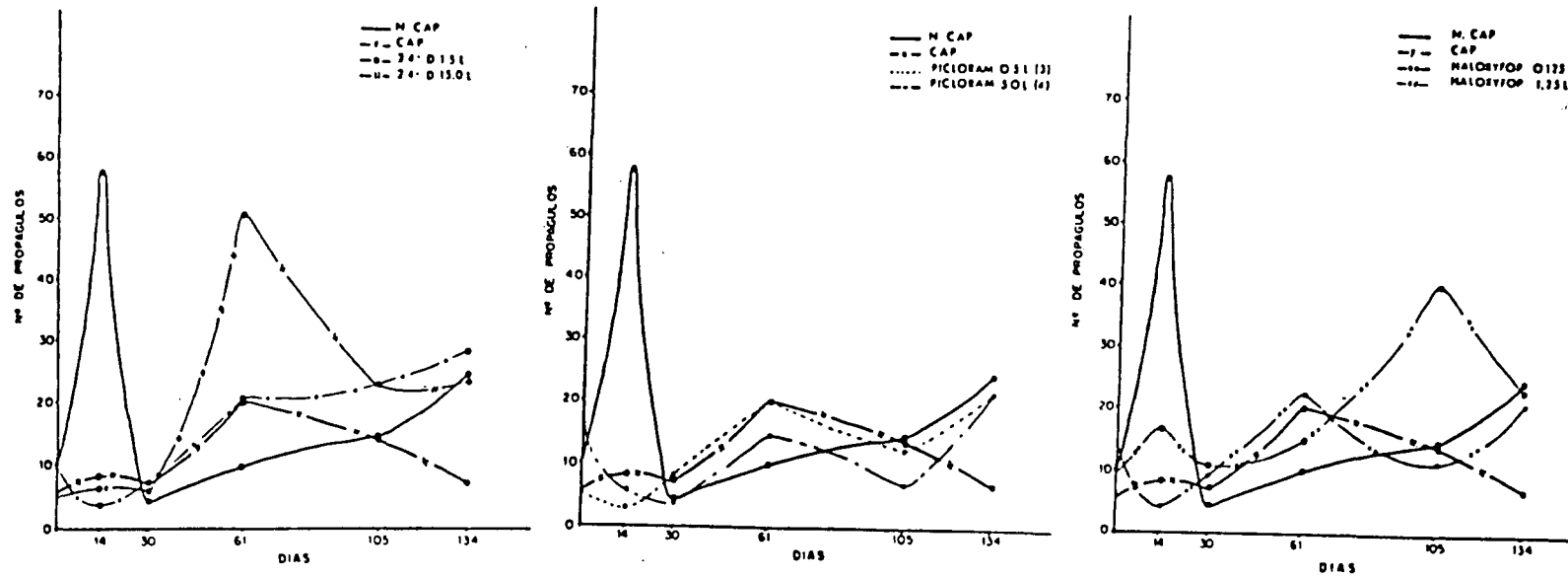
#### 4.10 RELAÇÃO POPULAÇÃO BACTERIANA TOTAL/POPULAÇÃO FÚNGICA TOTAL

Para o parâmetro relação população bacteriana total/população fúngica total constatou-se que os tratamentos apresentaram para a primeira coleta, oscilação de 48 a 141 como se observa na Tabela 15 do Apêndice.

O tratamento testemunha (Figura 15) apresentou pico aos 14 dias, 8,5 vezes maior do que a média dos demais tratamentos contudo os tratamentos 2,4-D, picloram, haloxyfop em todas as dosagens testadas e capina não diferenciaram-se entre si até os 30 dias. Entretanto a partir deste período verificou-se que todos os tratamentos apresentaram curvas com as mesmas tendências à testemunha até o final do ensaio, onde apresentaram nesta época valores superiores ao valor máximo inicialmente observado na primeira coleta, com exceção do tratamento capina que apresentou para esta época sentido de sua curva contrário aos demais tratamentos, todavia estando seu valor contido no intervalo inicialmente observado.

Os tratamentos 2,4-D na menor dosagem, picloram em ambas dosagens pareceu não diferenciarem-se da testemunha a partir dos 30 dias no traçado de suas curvas em nenhuma das épocas amostradas, já os tratamentos 2,4-D e haloxyfop na maior dosagem aos 61 para o primeiro e aos 105 dias para o segundo, picos 6,2 e 2,7 vezes respectivamente superior à testemunha, podendo ser atribuído ao pico apresentado pelo 2,4-D provavelmente ao efeito herbicida, uma vez que o mesmo não ocorreu para o picloram que apresentou em suas parcelas a mesma composição florística apresentada pelo 2,4-D.

FIGURA 15. CURVAS DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS 2,4-D, PICLORAM, HALOXYFOP E CAPINA COMPARADOS COM A TESTEMUNHA NA RELAÇÃO POPULAÇÃO BACTERIANA TOTAL/POPULAÇÃO FÚNCIA TOTAL



Já o pico verificado para o haloxyfop pode ser atribuído possivelmente ao produto químico, ou ainda por uma atividade mais intensa de rizosfera das plantas latifoliadas presentes nas parcelas, mediante o controle das gramíneas provenientes do efeito residual proporcionado pelo haloxyfop.

Os dados revelam concordância com as citações de DOMSCH<sup>38</sup>; CERVELLI et alli<sup>22</sup> entre outros.

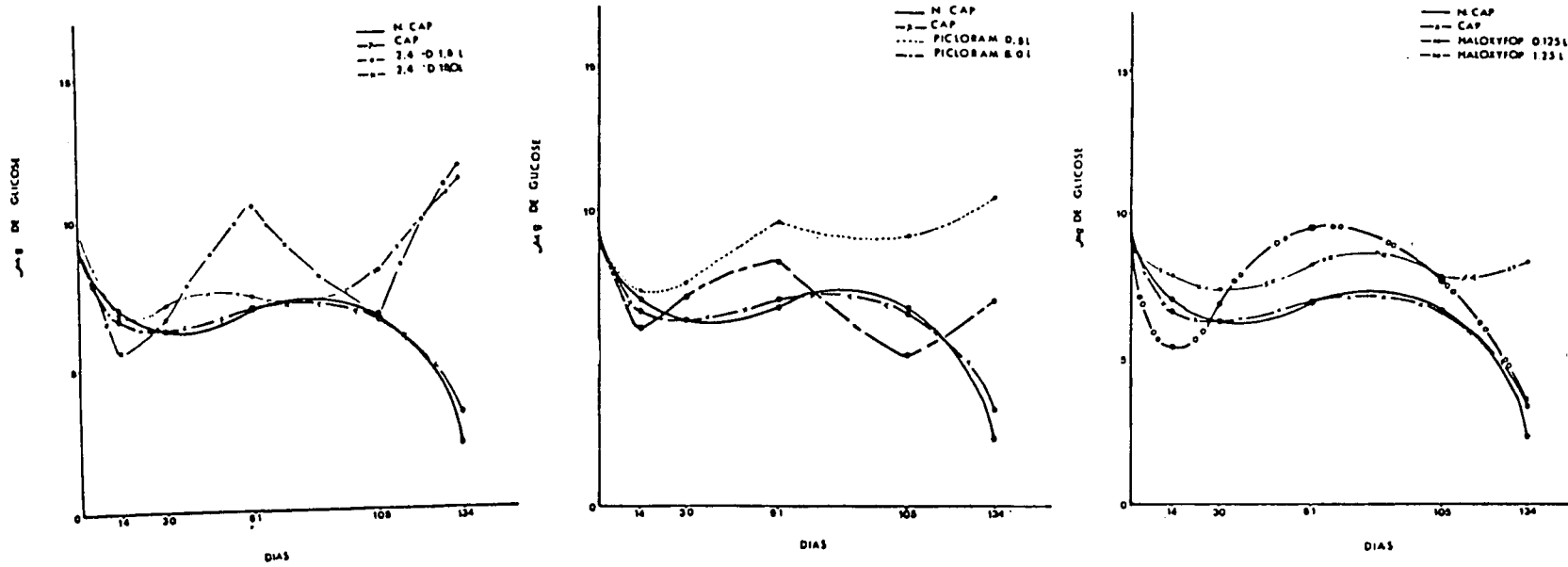
#### 4.11 ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA SACARASE DO SOLO

A metodologia utilizada para a determinação da atividade enzimática da sacarase do solo, se demonstrou altamente reprodutível e precisa durante os testes experimentais para o estabelecimento das condições ótimas do ensaio, podendo assegurar confiabilidade nos resultados obtidos em nossas condições, que para a sacarase do solo não apresentou diferenças entre os tratamentos para os dados da primeira coleta (Tabela 16 do Apêndice).

Para a sacarase (Figura 16) observou-se no período entre a primeira coleta até os 30 dias tendência de redução na sua atividade enzimática, que pode ser atribuída possivelmente à ação dos microorganismos decompositores, consumirem mais rapidamente os açúcares contidos nas células e tecidos vegetais incorporados ao solo no momento do seu preparo.

Verificou-se tendência à variação do padrão das curvas dos tratamentos herbicidas comparados entre si, entretanto, todos os tratamentos apresentaram tendências semelhantes até os 105 dias. A partir desta época os tratamentos testemunha, capina e haloxyfop na menor dosagem tenderam a equilibrar-se aos

FIGURA 16. CURVAS DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS 2,4-D, PICLORAM, HALOXYFOP E CAPINA COMPARADOS COM A TESTEMUNHA NA ATIVIDADE DA SACARASE DO SOLO



134 dias, contudo apresentaram um decréscimo de 3,4 vezes em média, a média da atividade inicialmente observada e, os demais tratamentos apresentaram a partir dos 105 dias sentido das curvas contrárias aos tratamentos capina, haloxyfop na menor dosagem e testemunha com tendências de retornarem ao nível da atividade enzimática observada na primeira coleta.

O tratamento capina apresentou a sua curva semelhante a da testemunha, não diferenciando-se significativamente entre si em nenhuma das épocas amostradas e, até os 14 dias com os tratamentos 2,4-D na maior dosagem e picloram na menor.

Observou-se semelhantes tendências com pequenas oscilações no padrão das curvas comparadas às curvas da respiração do solo, populações fúngicas e bacterianas totais, relação população bacteriana total/população fúngica total e biomassa microbiana para os tratamentos 2,4-D, picloram em ambas as dosagens e haloxyfop na maior dosagem, com tendência provavelmente de retornar aos mesmos valores observados inicialmente na primeira coleta, com exceção para a testemunha, capina e haloxyfop na menor dosagem após os 105 dias. As tendências de semelhanças verificadas entre as curvas dos parâmetros acima citados, para as curvas da sacarase do solo podem estar possivelmente correlacionadas com estágios fenológicos das plantas que segundo PANCHOLY & RICE \* citado por LADD<sup>49</sup> a sacarase do solo diminuiu em estágios sucessivos de gramíneas, já que o ciclo das plantas anuais variam de 80 a 120 dias (LEITÃO FILHO<sup>50</sup>), ou na variação das concentrações do carbono orgânico que segundo DICK<sup>26</sup> há uma maior atividade biológica estabelecida próximo à superfície do solo, ou com efeitos fisiológicos dos tratamentos nos organismos, segundo CERVELLI et alii<sup>22</sup>. Contudo a

\*PANCHOLY & RICE. Op. cit., p. 17.

tendência que se verificou aos 134 dias de separação entre as curvas dos tratamentos testemunha, capina e haloxyfop methyl na menor dosagem, com as curvas dos demais tratamentos pode indicar provavelmente uma variação qualitativa da população microbiana do solo, ou diferenças na matéria orgânica incorporada no solo através de exudados da vegetação nesses tratamentos.

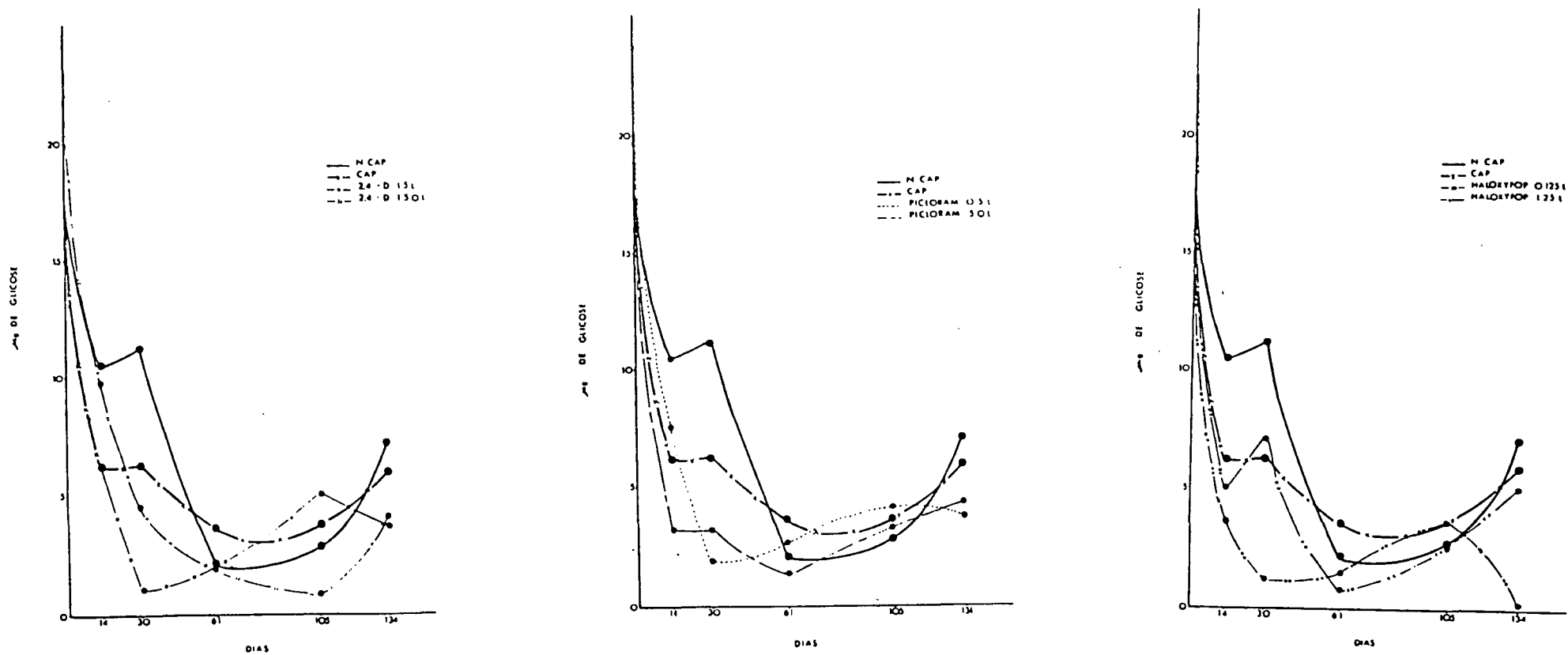
#### 4.12 ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA AMILASE DO SOLO

A atividade enzimática da amilase do solo analisada através das curvas dos tratamentos herbicidas, capina e testemunha (Figura 17) demonstrou provavelmente não haver nenhuma diferença significativa entre as curvas, uma vez que apresentou tendências semelhantes. Os resultados estão de acordo com os verificados por MERESHKO\*, citado por KISS et alii<sup>47</sup> que concluiu não existir efeito significativo na atividade da amilase do solo para diferentes herbicidas, em solos cultivados como não cultivados. Contudo verificou-se oscilações significativas (Tabela 17 do Apêndice) entre os valores da primeira coleta, possivelmente ou pela diferença entre as quantidades de frações leves e pesadas na pesagem do solo para as análises, que segundo LADD<sup>49</sup> as frações leves de um solo apresentam para a amilase atividade cerca de 18 vezes maior do que das frações pesadas, ou por variabilidade do solo estudado, ou por problemas de amostragens. Entretanto para as nossas condições, trabalhos deverão ser realizados com o objetivo de esclarecer melhor este aspecto.

\* MERESHKO, M.Y. Effect of herbicides on the biological activity of microflora in chernozemic soils. Mikrobiol. Zh., Kiev, 31: 525-529, 1969.



FIGURA 17. CURVAS DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS 2,4-D, PICLORAM, HALOXYFOP E CAPINA COMPARADOS COM A TESTEMUNHA NA ATIVIDADE DA AMILASE DO SOLO



#### 4.13 ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA CELULASE DO SOLO

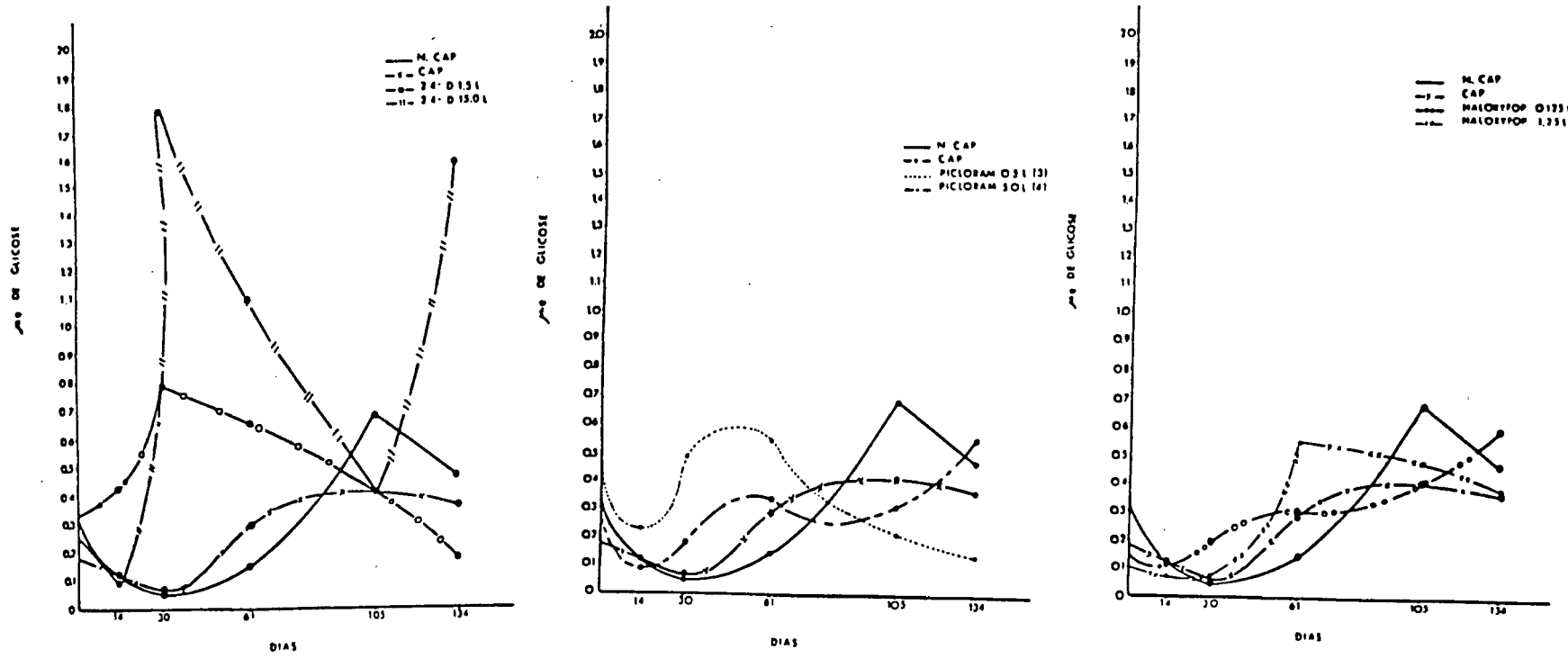
Os resultados obtidos da atividade enzimática da celulase do solo (Tabela 18 do Apêndice), mostrou possivelmente não existir nenhuma diferença significativa entre os valores observados na primeira coleta. Entretanto, os valores oscilaram entre 0,11 e 0,43 microgramas de glicose por 100 grams de solo seco por minuto.

Verificou-se pelas curvas extraídas (Figura 18) dos tratamentos 2,4-D na maior dosagem, picloram e haloxyfop nas duas dosagens estudadas, capina e testemunha tendência de redução da atividade da celulase até os 14 dias, com exceção para o 2,4-D na menor dosagem que apresentou tendência de aumento da atividade enzimática a partir da primeira coleta, alcançando pico máximo aos 30 dias, decrescendo sucessivamente após este período, tendendo retornar ao final do ensaio apresentando valor, entre os valores inicialmente verificados na primeira coleta.

Para os tratamentos capina, picloram na maior dosagem, haloxyfop em ambas dosagens e testemunha verificou-se as mesmas tendências entre as curvas, alternando-se entre si. Contudo, não houve diferenças entre os tratamentos para a mesma época, os quais tenderam ao equilíbrio aos 134 dias, exceção feita ao haloxyfop na maior dosagem aos 61 dias, que diferenciou da testemunha se comparando com o intervalo inicial observado entre os tratamentos da primeira coleta.

Os tratamentos picloram na menor dosagem e o 2,4-D nas duas dosagens estudadas apresentaram tendências de variação no padrão das curvas, comparadas às curvas dos demais tratamentos, que apresentaram picos aos 30 dias, 10, 19 e 37 vezes superior-

FIGURA 18. CURVAS DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS 2,4-D, PICLORAM, HALOXYFOP E CA-PINA COMPARADOS COM A TESTEMUNHA NA ATIVIDADE DA CELULASE DO SOLO



res, respectivamente à testemunha, ainda aos 134 dias na maior dosagem 3,4 vezes superior à mesma. Acredita-se que essas tendências existem e se verificaram possivelmente por efeitos diretos dos tratamentos ou por viabilidade do solo da área experimental, ou ainda por problemas de amostragens o que não se verificou na primeira coleta e nem na tendência das demais curvas, podendo ser consideradas reais, devido a reprodutibilidade e precisão do método. A partir dos resultados observados, possivelmente a atividade da celulase do solo pode variar com o grupo de herbicida estudado, podendo sua atividade em nossas condições provavelmente não ser afetada pelo haloxyfop ou altamente afetada tanto pelo 2,4-D como pelo picloram, concordando com as citações reportadas por NAMDEO & DUBE<sup>68</sup>; CERVELLI et alli<sup>22</sup>; EL-NAWAWY et alli<sup>29</sup>; BELLINCK & MAYAUDON<sup>9</sup> entre outros estudando diferentes grupos de herbicidas.

#### 4.14 EFEITO DOS HERBICIDAS 2,4-D, PICLORAM, HALOXYFOP METHYL E CAPINA NOS DIFERENTES PARÂMETROS ANALISADOS EM RELAÇÃO AO TEMPO

Para as curvas do tratamento capina comparadas com as curvas do tratamento testemunha, verificou-se que as mesmas não variam entre si para os parâmetros respiração do solo, biomassa microbiana do solo, população fúngica total do solo, sacarose do solo, amilase e celulase do solo como se observa nas figuras 10, 12, 13, 16, 17 e 18.

Entretanto variaram para a população bacteriana total do solo e relação população bacteriana total do solo/população fúngica total do solo, (Figuras 14 e 15) observando-se diferenças

significativas entre as curvas para esses parâmetros, com picos aos 14 dias de 9,4 e 6,9 vezes inferiores à testemunha respectivamente, atribuindo-se possivelmente a fatores climáticos, voltando a equiparar-se aos 30 dias, contudo aos 61 dias as curvas mostraram-se superiores tendendo, no final do experimento, i.é., aos 134 dias retornar aos mesmos valores observados na primeira coleta, apresentando a testemunha para a relação população bacteriana total/população fúngica total sentido da curva contrário ao da capina e para a população bacteriana total o mesmo sentido, com valores superiores para ambas parâmetros aos inicialmente encontrados. As tendências observadas após os 30 dias se verificaram, possivelmente, pelo incremento de material vegetal oriundo do próprio tratamento através de germinações de camadas sucessivas de plantas e incorporadas ao solo, ocorrendo redução no número de sementes disponíveis e viáveis pelas várias operações de capina realizadas obviamente levando a uma menor oferta da quantidade de resíduos a ser incorporada no solo, verificando-se as tendências das curvas para capina e testemunha anteriormente descrita para o final do ensaio.

Visualmente analisando-se em conjunto as curvas que caracterizam o herbicida 2,4-D, com as curvas dos demais tratamentos nos diferentes parâmetros analisados, observa-se que 2,4-D na maior dosagem em primeiro lugar, haloxyfop na maior dosagem em segundo e novamente o 2,4-D na menor dosagem em terceiro, foram os que mais alteraram o equilíbrio microbiano.

A respiração do solo e a biomassa microbiana do solo tratadas nas curvas da Figura 10 e 12 não foram alteradas, contudo a população bacteriana total do solo, relação população bacteriana total do solo/população fúngica total do solo, saca

rase do solo e celulase do solo (Figuras 14, 15, 16 e 18) foram significativamente alteradas pelo 2,4-D em ambas as dosagens, há exceção da população fúngica total do solo para as duas dosagens estudadas e relação população bacteriana total/população fúngica total na menor dosagem (Figura 13 e 14), foram pouco afetadas.

Entretanto o 2,4-D nas dosagens estudadas para todos os parâmetros tendeu aos 134 dias se equilibrar à testemunha, com exceção para os parâmetros sacarase e celulase em ambas as dosagens apresentaram efeitos considerados quantitativos, possivelmente atribuídos ao herbicida, e ainda para a celulase na menor dosagem apresentou pequeno efeito. De igual maneira com que foi analisado o 2,4-D, o picloram também o foi, que por sua vez não afetou a respiração do solo e biomassa microbiana do solo (Figuras 10 e 12).

Para a população bacteriana total do solo e relação população bacteriana total/população fúngica total verificou-se que o picloram em ambas as dosagens apresentou o desenho de suas curvas semelhantes a capina (Figura 14 e 15), influenciando medianamente estes parâmetros.

Já para a população fúngica total do solo, sacarase do solo e celulase do solo (Figuras 13, 16 e 18), o picloram em ambas as dosagens possivelmente apresentou efeitos que variaram de leve a moderado, afetando o equilíbrio microbiano do solo.

O picloram na maior dosagem para a população bacteriana total do solo, em ambas as dosagens para a sacarase do solo e na menor dosagem para a celulase do solo (Figuras 14, 16 e 18) apresentou diferença significativa entre essas curvas, compa-

radas com as curvas testemunha aos 134 dias.

Foi citado anteriormente, que através da análise visual das curvas dos tratamentos de cada parâmetro estudado, que o haloxyfop methyl na maior dosagem apresentou ser o segundo tratamento que mais afetou o equilíbrio microbiano. Uma vez que foi observado pelas tendências das curvas efeitos significativos em relação aos parâmetros população bacteriana total, relação população bacteriana total/população fúngica total e sacarase (Figuras 14, 15 e 16).

Para a população bacteriana total aos 61 dias e 105 dias verificou-se valores para menor e maior dosagem respectivamente de 2,5 e 2,7 vezes superiores à testemunha, tendendo aos 134 dias se equilibrar com a mesma. No parâmetro relação população bacteriana total/população fúngica total, observou-se a mesma tendência verificada para o parâmetro população bacteriana total, com alternância da curva apenas para a maior dosagem, apresentando pico aos 14 dias. Um possível efeito do haloxyfop também foi visualizado nas curvas da atividade da sacarase do solo (Figura 16), que por sua vez apresentou para a menor dosagem ponto mínimo aos 14 dias e, ponto máximo aos 61 dias tendendo aos 134 dias equilibrar-se com o tratamento testemunha, e para maior dosagem a curva mostrou tendência semelhante até os 105 dias quando comparada à testemunha, contudo diferenciou-se da mesma a partir desta época até aos 134 dias, apresentando sentido contrário da curva descrita pela testemunha, com valores semelhantes aos observados na avaliação da primeira coleta.

O haloxyfop em ambas as dosagens não afetou a respiração

do solo, como também na menor dosagem não afetou a biomassa microbiana (Figura 10 e 12), afetou pouco na maior dosagem a biomassa microbiana do solo e a celulase do solo e, em ambas as dosagens a população fúngica total do solo, tendendo se aproximar da testemunha aos 134 dias (Figura 12, 18 e 13).

#### 4.15 AVALIAÇÃO QUALITATIVA DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS HERBICIDAS E CAPINAS COM OS PARÂMETROS ESTUDADOS

A partir dos resultados até aqui observados, julgou-se oportuno e necessário uma síntese mais clara e abrangente das avaliações dos efeitos dos tratamentos herbicidas e capina verificados nos parâmetros estudados.

Idealizou-se duas tabelas de avaliações onde constassem os parâmetros estabelecidos neste estudo e as tendências das curvas dos tratamentos, atribuiu-se valores arbitrários para cada curva comparados às curvas testemunhas.

Assim na Tabela 06 observa-se os valores relativos atribuídos aos diferentes traçados das curvas, verificados para cada tratamento em relação à testemunha, e na Tabela 07 os resultados observados das avaliações aos 134 dias e as tendências das curvas nesta época em se afastar ou se aproximar das curvas testemunhas. Os valores atribuídos arbitrariamente obederam notas de 0,0 a 7,0 onde 0,0 (Zero) significa nenhum efeito, tendo como padrão as curvas do tratamento testemunha e 7,0 (sete) o efeito máximo observado, citando como exemplo o efeito desenhado pela curva do 2,4-D na maior dosagem para o parâmetro celulase.

A partir da Tabela 06, verificou-se que o conjunto de pa



TABELA 06. AVALIAÇÃO QUALITATIVA DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS HERBICIDAS E CAPINA COM OS PARÂMETROS ESTUDADOS, CURITIBA, 1987

TRATAMENTOS	RESPIRAÇÃO DO SOLO	BIOMASSA MICROBIANA	POPULAÇÃO FÚNGICA TOTAL	POPULAÇÃO BACTERIANA TOTAL	RELAÇÃO POP.BACT/POP.FÚNG.	ENZIMA SACARASE	ENZIMA CELULASE	ENZIMA AMILASE	MÉDIA
2,4-D 1,5 l/ha	0,0	0,0	1,0	4,0	2,0	5,0	4,0	0,0	2,00
2,4-D 15,0 l/ha	0,0	0,0	2,0	5,0	6,0	4,0	7,0	0,0	3,00
Picloram 0,5 l/ha	0,0	0,0	1,0	3,0	2,0	5,0	3,0	0,0	1,75
Picloram 5,0 l/ha	0,0	0,0	3,0	3,0	3,0	4,0	2,0	0,0	1,87
Haloxifop 0,125 l/ha	0,0	0,0	1,0	4,0	3,0	3,0	3,0	0,0	1,37
Haloxifop 1,25 l/ha	0,0	2,0	2,0	7,0	5,0	4,0	2,0	0,0	2,75
Capina	0,0	0,0	0,0	2,0	3,0	0,0	0,0	0,0	0,62

TABELA 07. AVALIAÇÃO QUALITATIVA DAS TENDÊNCIAS DE EQUILÍBRIO AOS 134 DIAS DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS HERBICIDAS E CAPINA COM OS PARÂMETROS ESTUDADOS, CURITIBA, 1987

TRATAMENTOS	RESPIRAÇÃO DO SOLO	BIOMASSA MICROBIANA	POPULAÇÃO FÚNGICA TOTAL	POPULAÇÃO BACTERIANA TOTAL	RELAÇÃO POP. BACT/POP. FÚNG.	ENZIMA SACARASE	ENZIMA CELULASE	ENZIMA AMILASE	MÉDIA
2,4-D 1,5 l/ha	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	7,0	2,0	0,0	1,12
2,4-D 15,0 l/ha	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	7,0	7,0	0,0	1,75
Picloram 0,5 l h/a	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	6,0	3,0	0,0	1,12
Picloram 5,0 l/ha	0,0	0,0	0,0	3,0	0,0	4,0	0,0	0,0	0,87
Haloxifop 0,125 l/ha	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Haloxifop 1,25 l/ha	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,0	0,0	0,0	0,62
Cápina	0,0	0,0	0,0	4,0	3,0	0,0	0,0	0,0	0,87

râmetros população fúngica total do solo, população bacteriana total do solo, relação população bacteriana total/população fúngica total, sacarase e celulase do solo demonstraram ser afetadas por todos os tratamentos, com exceção da capina que afetou apenas os parâmetros população bacteriana total e relação população bacteriana total/população fúngica total.

Analisando-se as médias dos tratamentos da mesma tabela deduz-se uma equação geral para todos os tratamentos como segue: Observando-se da esquerda para a direita efeitos decrescentes dos tratamentos, com maior aproximação da testemunha, mostrando haver neste sentido um menor desequilíbrio microbiano do solo.

2,4-D 15,0 l > H.M. 1,25 l > 2,4-D 1,5 l > PIC. 5,0 l > PIC. 0,5 l > H.M. 0,125 l > CAP.

Desta equação pode-se tirar a equação para as doses normais dos herbicidas e capina, escrevendo:

2,4-D > PIC > H.M. > CAP

Para o 2,4-D atribui-se possivelmente um maior desequilíbrio microbiano do solo, contudo nas condições deste ensaio parece haver uma tendência na redução deste efeito com a evolução da molécula. Entretanto este desequilíbrio microbiano observado para a maioria dos tratamentos nos respectivos parâmetros, verificou-se no sentido de um aumento da população microbiana do solo, há exceção do 2,4-D na maior dosagem para a população fúngica total do solo, que apresentou em todas as épocas avaliadas possivelmente uma redução desta população, verificando-se ainda a mesma tendência e semelhança de sua curva a curva testemunha, concordando com os dados de SHARMA &

SAXENA <sup>82</sup>, que constataram que aumentando a concentração do 2,4-D até o nível de 4,5 ppm houve aumento no número dos fungos, azotobacter, e bactérias total até o segundo, décimo quarto e trigésimo dia após o tratamento respectivamente. Enquanto que para o mesmo tratamento diminui-se a quantia de actinomicetos em todos os níveis de aplicação no vigésimo dia do tratamento. Entretanto a aplicação de 2,4-D acima de 4,5ppm demonstrou toxicidade para fungo, azotobacter e bactéria total.

Uma outra equação pode ainda ser deduzida da equação geral, se quisermos observar a tendência das curvas para as doses superiores, assim:

$$2,4-D > H.M. > PIC$$

A partir desta equação, observa-se uma inversão entre as moléculas de haloxyfop e picloram, indicando que erros de dosagens superiores às normais utilizadas no campo podem possivelmente alterar o comportamento dos herbicidas e seus efeitos na natureza.

Por outro lado, analisando-se os mesmos componentes da tabela anterior, verificou-se na Tabela 07, o efeito dos diferentes tratamentos nos parâmetros estudados demonstrando a tendência de equilíbrio ou não aos 134 dias.

Os parâmetros afetados neste sentido foram a sacarase e celulase do solo nas duas dosagens de 2,4-D, população bacteriana total na maior dosagem de picloram ainda sacarase do solo em ambas as dosagens e celulase na menor dosagem, o haloxyfop na maior dosagem para sacarase e por último a capina que afetou tanto a população bacteriana total do solo como também a relação população bacteriana total do solo/população fúngi-

ca total do solo. Contudo o efeito mais evidente, considerado efeito máximo, foi observado para o herbicida 2,4-D em ambas as dosagens na sacarase do solo e na maior dosagem para a celulase do solo.

Nas condições do ensaio as enzimas sacarase e celulase mostraram perfeitamente viáveis suas utilizações para medidas dos efeitos dos herbicidas, dada a grande reprodutibilidade apresentada pelos métodos estudados, e das condições específicas do ensaio bem como da avaliação conjuntamente com outros parâmetros tais quais respiração do solo, biomassa microbiana, população fúngica total, população bacteriana total e relação população bacteriana total/população fúngica total; vindo em parte discordar dos comentários de DOMSCH<sup>38</sup>, que visa a não utilização de enzimas do solo para a avaliação do efeito de herbicidas, referente ao encontro realizado em 1979 na Inglaterra de que testes com estas enzimas são inoportunos.

Uma das hipóteses que norteou o presente estudo, foi a de verificar a possibilidade de utilização de vários parâmetros bioquímicos e microbiológicos, para diagnosticar a magnitude dos efeitos dos produtos químicos de utilização agrônômica, mais propriamente os herbicidas na microbiologia do solo, que puderam ser resumidos nas tabelas 06 e 07.

Apesar das afirmações na literatura, que colocam obstáculos para a utilização de testes com enzimas e demais fatores, para análise, foi possível concluir que a utilização de parâmetros isolados estão sujeitos à discussão, verificando-se que diversas pesquisas tem demonstrado para diferentes grupos químicos de herbicidas e tipos de culturas e de manejo

do solo resultados diferentes, explicando assim as observações conflitantes verificadas na literatura.

Concluindo-se que quando se dispõe de poucos parâmetros para a interpretação dos efeitos dos herbicidas no solo, estes podem não explicar a magnitude dos mesmos e as divergências encontradas na literatura (CHAHAL et alii<sup>23</sup>; TRAPPE et alii<sup>88</sup>; FRYER & KIRKLAND<sup>35</sup>; LEWIS et alii<sup>58</sup>; VUKHRER & KAPLUN<sup>92</sup>; AU<sup>6</sup>; DICK<sup>26</sup>; GREAVES et alii<sup>38</sup>, etc...).

As divergências entre os diferentes pesquisadores podem estar possivelmente relacionados ou com a escolha dos parâmetros a serem analisados, ou com o grau que os diferentes compostos químicos estudados afetam a microbiologia do solo.

Embora o direcionamento da pesquisa na área de microbiologia e enzimologia do solo para o tipo de informação, obtida no presente trabalho seja relativamente mais intensa nas regiões de clima temperado, é contudo incipiente nessas regiões e praticamente inexistente nas de clima tropical e subtropical. Há dúvidas sobre a utilização dos parâmetros do ciclo do carbono na avaliação e interpretação desses efeitos (GREAVES et alii<sup>38</sup>). No entanto este ciclo está intimamente ligado ao processo de transformação da matéria orgânica, bem como da degradação dos solos nos climas tropicais, e que esse tipo de análise ainda, pode fornecer informações importantes sobre esses processos de degradação do solo, ou do comportamento do mesmo em diferentes manejo.

Os comentários de SOUZA<sup>86</sup>, são de que depois de 35 anos de pesquisa se conclui que os herbicidas atualmente utilizados, quando aplicados em doses normais no campo apresentam pouco ou nenhum efeito sobre os microrganismos do solo, a

não ser em algas do solo, e que somente nas aplicações de doses acima daquelas normalmente usadas no campo, produzem efeitos sobre estes microrganismos, sendo que resultados semelhantes também foram encontrados no presente trabalho.

Desta forma e pelos dados obtidos acreditamos que se justificam as recomendações da Weed Research Organization Technical Report nº 59<sup>38</sup> sobre a utilização de 10 vezes a dose usualmente recomendada no campo para este trabalho, com o objetivo de se observar o efeito máximo produzido, uma vez que nas condições de campo só mesmo por acidentes tal aplicação ocorreria, ou quando for necessário sucessivas aplicações de doses normais de um mesmo produto, num relativo curto espaço de tempo numa mesma área para se eliminar plantas consideradas problemas como é por exemplo a *Cyperus rotundus*, após dominar uma determinada área agrícola (LORENZI<sup>56</sup>).

Assim sendo, ao propor-se os modelos apresentados nas Tabelas 06 e 07 como uma forma de avaliação ecológica microbiana do solo, foi possível verificar experimentalmente não só a necessidade do uso de vários parâmetros para se diagnosticar os efeitos dos diferentes produtos químicos na natureza, bem como a importância de parâmetros que contemplem o ciclo do carbono no aspecto da degradação do solo, ficando a descoberto a necessidade de se achar produtos químicos referência ou padrão para diferentes condições de manejo do solo, existe ainda possibilidade de ser necessária a atribuição de pesos a determinados parâmetros que evidenciam de forma mais ou menos significativa os efeitos dos agroquímicos no equilíbrio microbiano do solo, devido as diferenças de intensidade de ação e produção que os diferentes parâmetros analisados possuem.

É de conhecimento que intensos cultivos somados às altas temperaturas e umidade em climas tropicais, favorecem a atividade microbiana do solo resultando numa alta degradação da matéria orgânica do mesmo e conseqüentemente declínio da sua estrutura (MARTEL<sup>61</sup>). Sabe-se que uma atividade microbiana no solo, de lenta a moderada favorece a humificação (MARTIN<sup>62</sup>), o que seria desejável para as condições de clima tropical e subtropical.

Assim, uma das hipóteses enunciadas foi a de observar, se os herbicidas produzindo efeitos diferentes na atividade microbiana do solo, pudessem esses efeitos para as nossas condições acontecerem no sentido de uma redução da atividade microbiana do solo para lenta a moderada, proporcionando melhores condições para a conservação da matéria orgânica do solo. Essa hipótese não foi verificada, inclusive sendo observado que o tratamento capina proporciona melhores condições para esses parâmetros.

A partir das considerações formuladas verifica-se que existem outros fatores que devem ser considerado, porém a análise microbiana do solo e enzimática podem levar a informação altamente úteis, por exemplo, que interpretações como apesar do herbicida 2,4-D não ter afetado a biomassa microbiana e respiração do solo foi o que causou maior desequilíbrio na microbiologia do solo como um todo e, quando outros parâmetros foram analisados, ou seja, o herbicida 2,4-D, nas condições deste trabalho, afetou significativamente o equilíbrio microbiano do solo quando avaliados pelas enzimas do solo sacarase e celulase, no sentido de um aumento da atividade enzimática do solo e possivelmente o aumento da população



microbiana do mesmo, fato este que não ocorreu com o tratamento capina o qual apresentou melhores condições microbiológicas para o solo, quando avaliados pelos parâmetros do ciclo do carbono. É interessante lembrar que muitos microbiologistas consideram o efeito capina, como altamente danoso ao equilíbrio microbiano do solo.

Assim sendo pode-se citar que conjuntos de fatores tais quais ou similares aos utilizados no presente trabalho podem fornecer informações de grande valor para análise do efeito de produtos químicos de uso agrônômico, além de permitir avaliar os diferentes tipos de manejo do solo, com possibilidades de inclusão de parâmetros da macro e mesofauna do solo como por exemplo: ácaros e colembolos do solo.

## 5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitiram as seguintes conclusões:

Os herbicidas 2,4-D e picloram nas dosagens aplicadas e capina não afetaram a respiração do solo e biomassa microbiana, sendo que o haloxyfop na menor dosagem também não afetou a respiração do solo entretanto a biomassa microbiana foi afetada.

Os parâmetros população fúngica total, população bacteriana total, relação população bacteriana total/população fúngica total, sacarase e celulase foram afetados em maior ou menor proporção por todos os tratamentos herbicidas e em todas as dosagens, com exceção da celulase do solo, que não foi afetada pelo haloxyfop methyl na menor dosagem, bem como a população bacteriana total do solo e a relação população bacteriana total do solo/população fúngica total do solo pela capina.

Através das análises de comparação de curvas, foi possível constatar desequilíbrio na população microbiana do solo no sentido de um aumento para a mesma, observados na população fúngica total do solo e da população bacteriana total do solo para todos os tratamentos, com exceção para o 2,4-D na maior dosagem para a população fúngica total do solo uma possível redução, entre as épocas de 30 aos 105 dias da condução do experimento no campo, contudo não diferenciou-se da testemunha no final do ensaio.

Por meio das combinações dos fatores população fúngica total, população bacteriana total, relação população bacteriana total/população fúngica total, sacarase e celulase foi possível avaliar os efeitos dos tratamentos 2,4-D, picloram e ha

loxyfop na microbiologia do solo, podendo ser indicados como uma das medidas de análise microbiológica para estas moléculas. No conjunto os oito parâmetros estudados avaliam melhor os efeitos dos tratamentos, possibilitando determinar com maior segurança o efeito dos mesmos. Ao contrário, se fossem apenas estudados os parâmetros da respiração do solo, biomassa microbiana do solo e amilase do solo, poder-se-ia concluir que os resultados dos tratamentos 2,4-D, picloram, haloxyfop e capina não alteraram o equilíbrio microbiano do solo, o que não condiz com as conclusões citadas.

As seqüências dos efeitos observados na microbiologia do solo pela análise do conjunto de parâmetros podem ser atribuídas à geração de herbicidas, mostrando que a partir do 2,4-D ao haloxyfop, existe uma tendência de redução dos efeitos nos microrganismos do solo para as dosagens normais, podendo ainda variar com as dosagens observando-se entre o haloxyfop e picloram, na maior dosagem inversão de efeitos, o que leva a deduzir que erros de dosagens superiores às normais podem evidenciar desequilíbrio microbiano mais acentuado, como se verificou nas condições do experimento, estabelecendo-se para as dosagens normais e superiores as equações dos efeitos dos tratamentos, e que da esquerda para direita os mesmos são decrescente, sendo para as doses normais  $2,4-D > PIC > H.M > CAP$  e 10 vezes as doses normais  $2,4-D > H.M. > PIC$ .

Contudo, posteriores estudos deverão ser efetuados utilizando o mesmo conjunto de parâmetros para a avaliação de novos grupos químicos, sugerindo-se ainda a introdução de novos parâmetros para estudos como: determinação dos grupos funcionais

tais como celulolíticos, amilolíticos, ligninulolíticos, hemi-celulolíticos entre outros, incluindo-se também novas enzimas do solo.

## SUMMARY

The main goal of the present work was to investigate methodology in order to evaluate the effects of herbicides on soil microbiology. An experimental area with a "Latossolo Vermelho-amarelo álico", unthouched for four years, was used and mobilized forty seven days before the applications of the different herbicides. The new spontaneous floristic composition was subjected to the following treatments: 2,4-D, 1,5 l and 15,0 l ha<sup>-1</sup> (2,4-D), picloram 0,5 l and 5,0 l ha<sup>-1</sup> (PIC.), haloxyfop-methyl 0,125 l and 1,25 l ha<sup>-1</sup> (H.M.), weeding (CAP.) and expontaneous vegetation. The following parameters were estimated: soil respiration, microbial biomass, total fungal population and total bacterial population, bacterial population/fungal population ratio, activity of soil sucrose, amylase and cellulase. The results indicates that: (a) The analysis of isolated parameters do not permit to evaluate the effect of herbicide on the soil microbiology; (b) The utilization of a combination of several parameters permitted the understanding and interpretation these effects in the conditions of the present work; (c) It was observed a crescent soil microbial umbalance, in the normal doses of the herbicides compared with the weeding, as follows: CAP < H.M < PIC < 2,4-D; (d) There was an inversion between the treatments haloxyfop-methyl and picloram in the upper dosage establishing the following crescent order of umbalance effects: PIC < H.M < 2,4-D; (e) The used parameters permitted to evaluate the effects of these herbicides in the soil, suggesting the possibility to developed future studies to standardize and chouse the parameters to evaluate the herbicides effects on soil microbiology.

**A P Ê N D I C E**

TABELA 08. RESULTADOS DAS ANÁLISES QUÍMICAS E FÍSICAS DO SOLO EM ESTUDO SOB CONDIÇÃO DE VEGETAÇÃO EXPONTÂNEA

pH CaCl <sub>2</sub> 0,01M	meq/100 cm <sup>3</sup> de solo								Granulometria		
	Al <sup>+3</sup>	H+Al	Ca <sup>+2</sup> + Mg <sup>+2</sup>	Ca <sup>+2</sup>	Mg <sup>+2</sup>	K <sup>+</sup>	P	C	% Areia	% Silte	% Argila
5,1	0,4	6,7	11,2	7,0	4,2	0,24	4	5,1	13,0	35,0	52,0

TABELA 09. RESULTADO DO AJUSTE DAS CURVAS DO CARBONATO DE POTÁSSIO DAS TITULAÇÕES DE 10 E 20 DIAS PARA RESPIRAÇÃO DO SOLO E BIOMASSA MICROBIANA

ÉPOCA	10 D A T			20 D A T		
	$b_0$	$b_1$	$R_2$	$b_0$	$b_1$	$R_2$
ANTES DA APLICAÇÃO	46,2937	308,9667	0,99981	47,0512	306,8484	0,99989
14 DIAS	46,6611	296,1186	0,99938	48,1317	305,7411	0,99966
30 DIAS	48,5024	318,6969	0,99959	47,8347	305,9704	0,99986
61 DIAS	49,6676	332,7265	0,99971	45,7623	292,1337	0,99928
105 DIAS	44,3201	294,3065	0,99423	40,9562	291,6751	0,99979
134 DIAS	43,1384	299,3988	0,98084	47,6199	327,2567	0,99979

MODELO AJUSTADO :  $Y = b_0 + b_1 X$

$b_0$  e  $b_1$  : Coeficientes encontrados

$R_2$  : Coeficiente de determinação



TABELA 10 . RESULTADOS DO AJUSTE DAS CURVAS PADRÃO DA GLICOSE  
PARA CADA ENZIMA

GLICOSE	CURVA PADRÃO	$\bar{Y} = d(x)$			$R^2$	COEFICIENTES	
		x = 25	x = 50	x = 100		A	B
SACARASE	1	0,132	0,267	0,513	0,9995	0,0041969	0,0051212
	2	0,054	0,086	0,175	0,9977	0,0043989	0,0017052
AMILASE	1	0,075	0,121	0,142	0,9995	0,019960	0,43373
	2	0,135	0,249	0,511	0,9997	0,0021969	0,0050697
	3	0,033	0,072	0,135	0,9992	0,0019919	0,0013497
CELULASE	1	0,064	0,117	0,231	0,9997	0,0033987	0,0022823
	2	0,033	0,066	0,101	0,9929	0,013630	0,38361

MODELO AJUSTADO :  $Y = A + (BX)$

A e B : Coeficientes encontrados

$R^2$  : Coeficiente de determinação

TABELA 11. ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA RESPIRAÇÃO (mg CO<sub>2</sub>/100 g SOLO SECO)

FATOR DE VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.	C.V.
BLOCOS	3	519,019	173,006	2,32 <sup>NS</sup>	
TRATAMENTOS	7	1047,455	149,636	2,01 <sup>NS</sup>	
ERRO (a)	21	1566,508	74,596	-	14,86%
ÉPOCAS	5	32094,240	6418,848	243,75 <sup>**</sup>	
TRATM X ÉPOCAS	35	2303,487	65,814	2,50 <sup>**</sup>	
ERRO (b)	120	3160,135	26,334	-	8,83%

TOTAL 191 40690,844 - - -

NS - Não significativo

\* - Significativo a 5%

\*\* - Significativo a 1%

	A. APLI- CAÇÃO	É P O C A S					TRATA- MENTOS	
		14 DIAS	30 DIAS	61 DIAS	105 DIAS	134 DIAS		
T	1,5	74,21 A a	51,21 A b	33,42 A c	60,24 A ab	55,45 A a	61,80 A B ab	56,34 A
	15,0	76,41 A a	48,13 A b	35,18 A c	59,11 A b	56,25 A b	61,39 A B b	56,08 A
A	0,5	78,43 A a	51,02 A cd	37,17 A d	59,81 A bc	61,61 A bc	67,56 A ab	59,27 A
	5,0	81,97 A a	49,76 A cd	40,84 A d	61,12 A bc	51,89 A bcd	65,74 A b	58,55 A
M	0,125	79,78 A a	47,59 A cd	34,14 A d	59,81 A bc	59,13 A bc	69,69 A ab	58,36 A
	1,25	80,45 A a	58,ç4 A b	39,49 A c	63,21 A b	58,04 A b	64,93 A B b	60,71 A
O	CAP	77,92 A a	55,98 A b	35,74 A c	56,32 A b	48,51 A bc	49,86 B bc	54,05 A
	TEST	87,03 A a	60,22 A bc	35,18 A d	55,18 A c	57,24 A c	74,24 A ab	61,51 A
ÉPOCAS		79,53 a	52,84 d	36,39 e	59,35 bc	56,14 cd	64,40 b	58,11

- Médias seguidas pela mesma letra minúscula na horizontal não diferem estatisticamente pelo teste de TUKEY a 5% de probabilidade.

- Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na vertical não diferem estatisticamente pelo teste de TUKEY a 5% de probabilidade.

TABELA 12. ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA BIOMASSA (mg C/100 g SOLO SECO)

FATOR DE VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.	C.V.
BLOCOS	3	7,192	2,387	0,02 <sup>NS</sup>	
TRATAMENTOS	7	431,520	61,646	0,49 <sup>NS</sup>	
ERRO (a)	21	3256,622	155,077	-	81,07%
ÉPOCAS	5	1637,055	327,411	3,15 <sup>*</sup>	
TRTAT. X ÉPOCAS	35	8566,358	244,753	2,36 <sup>**</sup>	
ERRO (b)	112	11626,465	103,808	-	66,33%

TOTAL 183 25525,212 - -

NS - Não significativo

\* - Significativo a 5%

\*\* - Significativo a 1%

		É P O C A S					TRATA-
A. APLI-		14 DIAS	30 DIAS	61 DIAS	105 DIAS	134 DIAS	MENTOS
CAÇÃO							
1,5	20,61 A a	13,05 A a	11,39 A a	11,00 AB a	17,53 A a	37,36 A a	18,49 A a
15,0	19,87 A a	13,85 A a	18,04 A a	7,40 AB a	11,61 A a	20,68 A a	15,12 A a
0,5	34,11 A a	14,24 A a	19,94 A a	7,62 AB a	9,56 A a	9,50 A a	15,83 A a
5,0	27,36 A a	11,87 A a	11,93 A a	4,23 B a	15,25 A a	17,10 A a	14,62 A a
0,125	17,99 A a	19,78 A a	19,04 A a	9,10 AB a	2,43 A a	6,54 A a	12,92 A a
1,25	16,49 A ab	17,80 A ab	4,81 A b	36,39 A a	12,06 A ab	8,87 A ab	16,07 A
CAP	12,49 A a	20,18 A a	14,77 A a	4,02 B a	13,05 A a	22,16 A a	14,60 A
TEST	7,50 A a	12,86 A a	21,00 A a	13,96 AB a	13,05 A a	23,22 A a	14,97 A
ÉPOCAS	20,19 a	15,45 a	15,02 a	11,71 a	12,06 a	17,84 a	15,36 a

- Médias seguidas pela mesma letra minúscula na horizontal não diferem estatisticamente pelo teste de TUKEY a 5% de probabilidade.

- Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na vertical não diferem estatisticamente pelo teste de TUKEY a 5% de probabilidade.

TABELA 13. MÉDIAS DOS RESULTADOS DA POPULAÇÃO FÚNGICA TOTAL DO SOLO OBTIDOS NAS DIFERENTES ÉPOCAS AVALIADAS (  $10^{-3}$  )

TRATAMENTOS	É P O C A S						MÉDIAS
	A. APLI- CAÇÃO	14 DIAS	30 DIAS	61 DIAS	105 DIAS	134 DIAS	
2,4-D 1,5 1	19,00	14,90	16,50	42,70	56,60	22,20	28,70
2,4-D 15,0 1	24,80	13,60	13,60	23,90	40,50	24,80	23,50
Picloram 0,5 1	21,90	31,00	14,80	49,60	54,70	21,60	32,30
Picloram 5,0 1	12,10	19,80	14,70	71,70	65,60	18,40	33,70
Haloxifop 0,125 1	22,50	29,80	9,10	50,90	46,30	25,40	30,70
Haloxifop 1,25 1	17,30	5,60	7,40	64,10	43,10	22,90	26,70
Capina	21,30	11,20	11,90	39,60	48,90	29,90	27,10
Testemunha	11,50	14,90	16,50	47,10	43,10	25,40	26,40
ÉPOCAS	14,80	17,00	13,00	48,70	49,90	23,80	28,60

TABELA 14. MÉDIAS DOS RESULTADOS DA POPULAÇÃO BACTERIANA TOTAL DO SOLO OBTIDOS NAS DIFERENTES ÉPOCAS AVALIADAS (  $10^{-6}$  )

TRATAMENTOS			É P O C A S						
			A. APLI- CAÇÃO	14 DIAS	30 DIAS	61 DIAS	105 DIAS	134 DIAS	
2,4-D	1,5	1	1,80	0,60	1,20	8,90	13,10	6,40	5,40
2,4-D	15,0	1	1,20	0,90	0,80	12,00	9,10	5,90	5,00
Picloram	0,5	1	1,20	0,90	1,20	10,00	6,90	4,80	4,20
Picloram	5,0	1	2,10	1,10	0,60	10,50	4,50	4,10	3,80
Haloxifop	0,125	1	3,20	1,20	0,80	11,50	5,10	5,30	4,50
Haloxifop	1,25	1	1,60	0,90	0,80	9,30	17,40	5,30	5,90
Capina			1,20	0,90	0,90	8,00	6,90	2,20	3,30
Testemunha			1,10	6,60	0,70	4,60	6,30	6,30	4,60
ÉPOCAS			1,70	1,90	0,90	9,40	8,70	5,00	4,60

TABELA 15. RELAÇÃO ENTRE AS MÉDIAS DA POPULAÇÃO BACTERIANA TOTAL DO SOLO PELAS MÉDIAS DA POPULAÇÃO FÚNGICA DO SOLO

TRATA- MENTOS	É P O C A S					
	A. APLIC.	14 DIAS	30 DIAS	61 DIAS	105 DIAS	134 DIAS
2,4-D 1,5 l	96,96	37,49	75,86	207,35	232,96	288,57
2,4-D 15,0 l	48,83	63,63	58,33	505,28	225,39	238,47
Picloram 0,5 l	55,26	28,00	80,77	202,53	125,88	220,59
Picloram 5,0 l	171,42	56,30	38,46	146,49	68,63	221,65
Haloxifop 0,125 l	141,02	41,67	87,50	225,93	111,11	210,00
Haloxifop 1,25 l	93,33	166,66	107,69	145,10	402,90	230,55
Capina	56,76	83,33	71,43	201,59	142,11	72,34
Test.	100,00	575,01	41,38	97,33	146,27	247,50

TABELA 16. RESULTADOS DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA SACARASE NAS DIFERENTES ÉPOCAS AMOSTRADAS EM MICROGRAMA DE GLICOSE POR 100 GRAMAS DE SOLO SECO POR MINUTO

EN- ZI- MA	TRATAMENTOS	É P O C A S					
		0	14	30	61	105	134
S A	2,4-D 1,5 1	9,17	5,50	6,67	10,46	6,69	11,80
	2,4-D 15,0 1	9,48	6,78	7,17	7,45	8,20	11,38
C A	Picloram 0,5 1	9,08	7,30	7,55	9,64	9,14	10,49
R A	Picloram 5,0 1	9,00	5,97	7,10	8,31	5,13	6,96
S E	Haloxypop 0,125 1	9,43	5,41	6,77	9,60	7,69	3,64
	Haloxypop 1,25 1	8,77	7,99	7,44	8,18	7,89	8,44
	Capina	9,38	6,58	6,29	7,03	6,56	3,35
	Testemunha	9,14	7,06	6,24	6,87	6,71	2,33

TABELA 17. RESULTADOS DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA AMILASE NAS DIFERENTES ÉPOCAS AMOSTRADAS EM MICROGRAMA DE GLICOSE POR 100 GRAMAS DE SOLO SECO POR MINUTO

EN- ZI- MA	TRATAMENTOS	É P O C A S					
		0	14	30	61	105	134
A	2,4-D 1,5 1	15,33	8,60	1,05	2,05	4,99	3,80
	2,4-D 15,0 1	23,10	9,39	4,43	1,93	0,80	4,07
M	Picloram 0,5 1	23,87	7,51	1,95	2,70	4,21	3,80
	Picloram 5,0 1	20,23	3,31	3,35	1,44	3,42	4,36
I	Haloxifop 0,125 1	22,50	3,64	1,23	1,47	3,66	0,24
	Haloxifop 1,25 1	16,97	4,98	7,11	0,73	2,75	5,11
L	Capina	17,33	6,18	6,33	3,56	3,72	5,89
	Testemunha	17,38	10,50	11,17	2,09	2,77	7,11



TABELA 18. RESULTADOS DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA CELULASE NAS DIFERENTES ÉPOCAS AMOSTRADAS EM MICROGRAMA DE GLICOSE POR 100 GRAMAS DE SOLO SECO POR MINUTO

EN- ZI- MA	TRATAMENTOS	É P O C A S					
		0	14	30	61	105	134
C	2,4-D 1,5 l	0,33	0,42	0,77	0,63	0,41	0,18
E	2,4-D 15,0 l	0,25	0,09	1,78	1,08	0,41	1,59
L	Picloram 0,5 l	0,44	0,23	0,49	0,55	0,21	0,14
U	Picloram 5,0 l	0,32	0,09	0,18	0,34	0,31	0,53
L	Haloxypop 0,125 l	0,14	0,10	0,19	0,30	0,40	0,60
A	Haloxypop 1,25 l	0,11	0,07	0,06	0,55	0,48	0,39
S	Capina	0,18	0,12	0,06	0,29	0,41	0,37
E	Testemunha	0,33	0,12	0,05	0,14	0,68	0,47

FIGURA 19. CURVA CARACTERÍSTICA DA UMIDADE DO SOLO NOS PRIMEIROS 10 cm SUPERFICIAIS COM AMOSTRAS DEFORMADAS

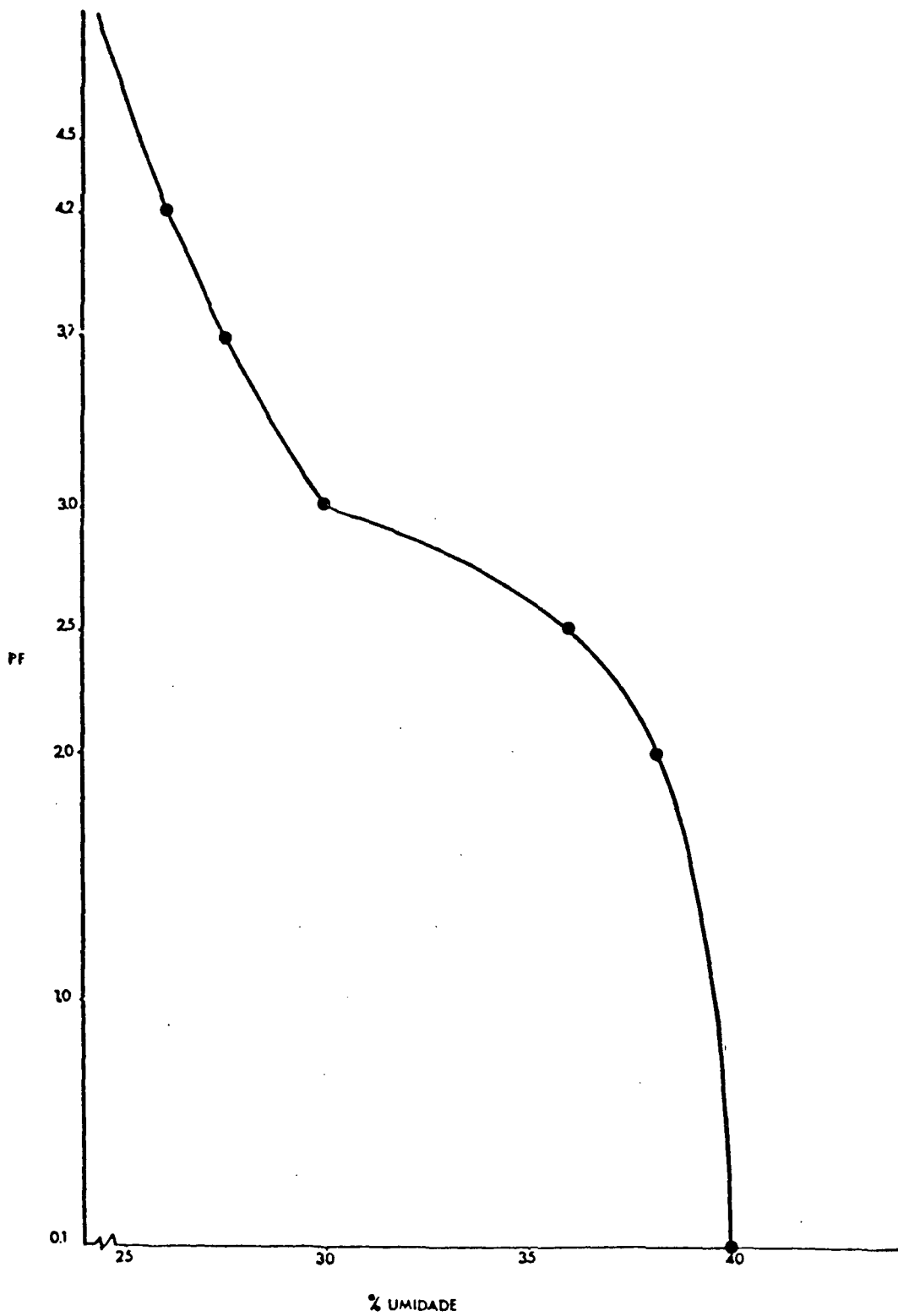


FIGURA 20. CURVA DE CALIBRAÇÃO DO CARBONATO DE POTÁSSIO PARA RESPIRAÇÃO DO SOLO E BIOMASSA MICROBIANA DA TITULAÇÃO AOS 10 DIAS PARA A PRIMEIRA COLETA

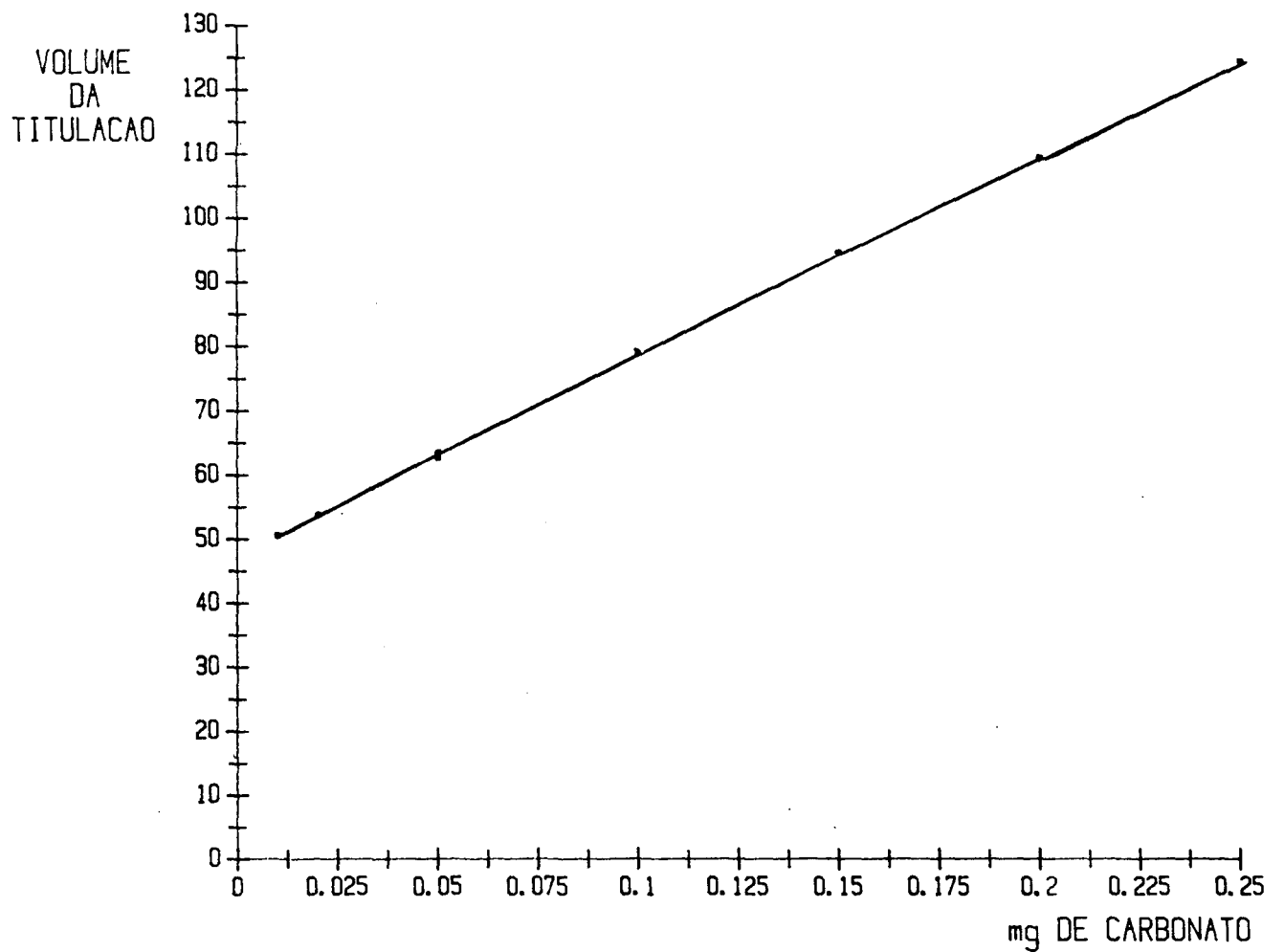
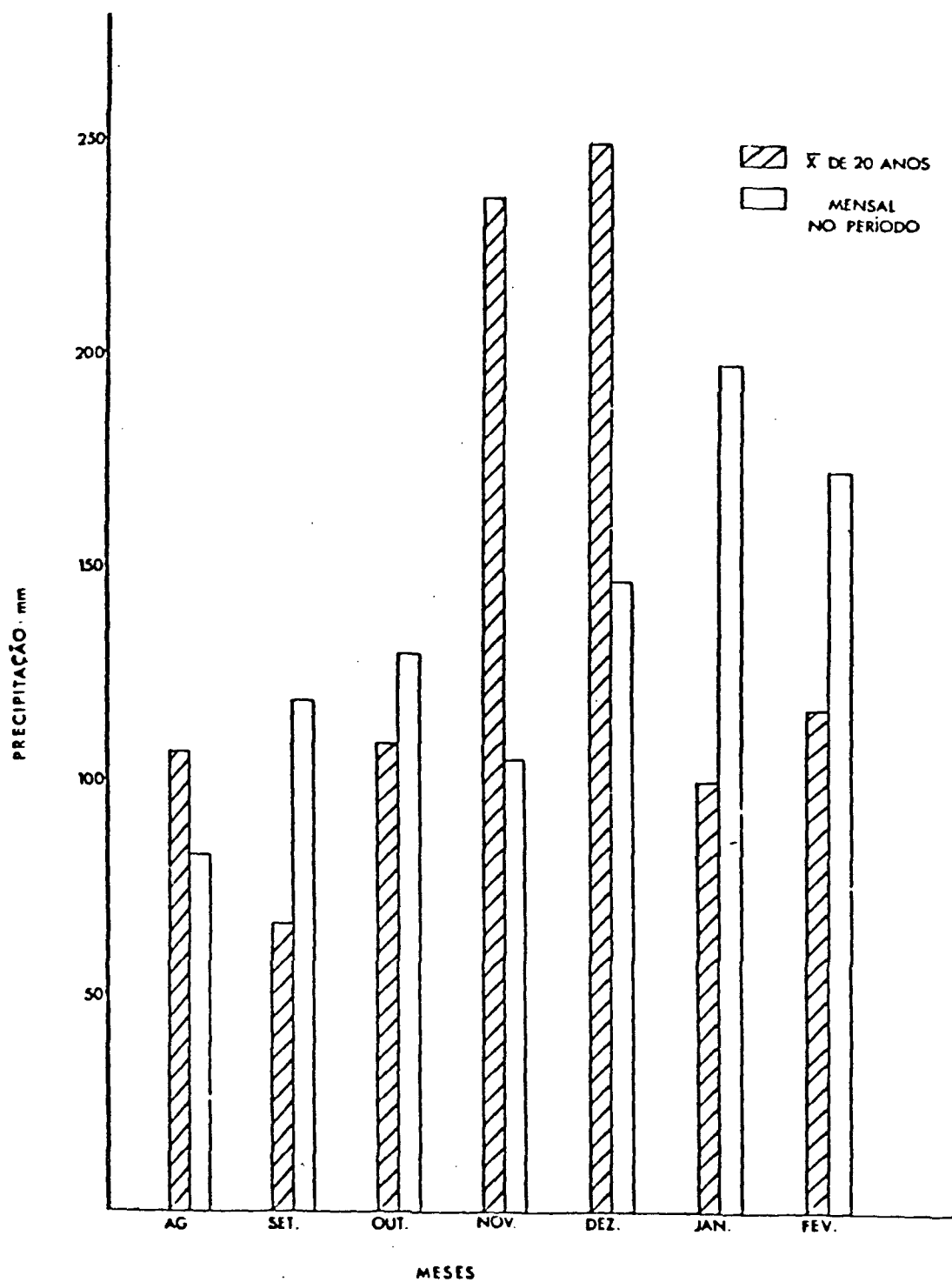


FIGURA 21 . DADOS DE PRECIPITAÇÃO PLUVIOMÉTRICA COM MÉDIAS DOS ÚLTIMOS 20 ANOS, COMPARADOS ÀS PRECIPITAÇÕES OCORRIDAS NO PERÍODO DE CONDUÇÃO DO ENSAIO A CAMPO



FONTE : IAPAR

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ALEXANDRE, M. Introduction to Soil Microbiology. 2. ed. New York, John Wiley & Sons, 1977. 467 p.
02. ALMEIDA, F.S. de & RODRIGUES, B.N. Guia de herbicidas. Londrina, 1985. 468 p.
03. ANDERSON, J.P.E. Herbicide Degradation in soil: Influence of Microbial Biomass. Soil Biol. Biochem, 16(5) : 483-489, 1984.
04. ANDERSON, J.R. Pesticide effects on non-target soil microorganisms. Pest Microbiol: 313-533, 1978.
05. ATLAS, R.M. & BARTHA, R. Microbial ecology: fundamentals and applications. Reading, Mass., Addison-Wesley, 1981. 559 p.
06. AU, F.H.F. Effect of Endothal and Certain other selective herbicide on microbial activity in six different soils. Diss. Abst. B, 28(9): 3795-6, 1968.
07. BARBOSA, V. Efeitos de alguns herbicidas sobre propriedades de um latossol vermelho escuro fase arenosa, série Santa Teresa. Jaboticabal, SP, 1981. 57 p. Trabalho. Graduação. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias "Campus" de Jaboticabal.
08. BELLINCK, C.; BATISTIC, L.; MAYAUDON, J. Degradation de l'acide 2,4-dichlorophenoxyacetique dans les sols. Rev. Écol. Biol. Sol 16(2): 161-8, 1979.
09. BELLINCK, C. & MAYAUDON, J. Influence du Phenmediphame et dérivés sur la microflore et les activités biologiques et enzymatiques d'un sol frais. Rev. Écol. Biol. Sol. 17(1): 1-6, 1980.
10. BELLINCK, C. & MAYAUDON, J. Influence du phenmediphane et dérivés sur l'activité biologique et le nombre de microorganismes des sols frais. Rev. Ecol. Biol. Sol. 15(4): 435-444, 1978.
11. BIGARELLA, J.J. Folha Geológica de Piraquara. XXIV-8. Curitiba, CODEPAR/UFPR., 1967 - Escala 1:50:000 (Base Cartográfica Folha S.G. 22 -K - 11-4 do Serviço Geográfico do Exército).
12. BIGARELLA, J.J. & SALAMUNI, R. Caracteres texturais dos sedimentos da bacia de Curitiba. Contribuição a Geologia regional. Bol. da Univ. do Paraná, Geologia, nº 7, 1962. p. 164.
13. BOLETIM TÉCNICO - Verdict herbicida, Dow Produtos Químicos. s.n.t.

14. BROOKES, P.C.; POWLSON, D.S.; JENKINSON, D.S. Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. Soil Biol Biochem 14:319-29, 1982.
15. BUCKMAN, H.O. & BRADY, B. Natureza e propriedade dos solos. Rio de Janeiro, Freitas Bastos, 1974. 594 p.
16. BURGESS, A. RAW, F. Biologia del suelo. Barcelona, Omega, 1971. 596 p.
17. BURNS, R. G. Enzyme activity in soil location and a possible role in microbial ecology. Soil Biol. Biochem. 14:423-27, 1982.
18. CALERO, B.J.; ARCIA, F.J.; CHANG, I. Efecto de la atrazina y la ametrina sobre la microflora de un suelo Oscuro Plastico gleyzoso. Ciencia de la Agricultura, 14: 101-109, 1983.
19. CALERO, B.J.; ARCIA, F.J.; CHANG, I. Herbicidas y actividad enzimática de suelos. Ciencias de la Agricultura, 18:115-21, 1984.
20. CAMARGO, P.N. de. Herbicidas orgânicos - fundamentos químicos estruturais. São Paulo, Editora Manole, 1986. 275 p.
21. CARVALHO, F.J.P.C. Resultados não publicados, 1983.
22. CERVELLI, S.; NANNIPIERI; SEQUI, P. Interactions Between Agrochemicals and Soil Enzymes. Soil Enzymes, 251-293, Academic Press, London, 1978.
23. CHAHAL, D.S.; BANDS, I.S. & CHOPRA, S.L. Degradation of Alachlor (2-cloro-N-(methoxymetil)-2'6'-diethylacetanilide) by soil fungi. Plant and Soil 45:689-92, 1976. (short Communication).
24. DAVIES, H.A. & GREAVES, M.P. Effects of some herbicides on soil enzyme activities. Weed Research; 21:205-209, 1981.
25. DESHMUKH, V.A. & SHRIKHANDE, J.G. Effect of pre and Post-Emergence treatment of herbicides on soil microflora and two microbial process. J.Indian Soc. Soil Sci. 22(1):36-42, 1974.
26. DICK, W.A. Influence of long-term tillage and crop rotation combination on soil enzyme activities. Soil Sci. Am. J., 48: 569-74, 1984.
27. DOMSCH, K.H. & PAUL, W. Simulation and experimental analysis of the influence of herbicides of soil nitrification. Arch. Mikrobiol., 97: 283-301, 1974.
28. DROZDOWICZ, A. & KULINSKA, D. Técnicas de levantamento da micro-flora telúrica e de isolamento de fungos saprofitos do solo. 1980. Monografia.

29. EL-NAWAWY, A.S.; EL-DIN, A.T.; KOMEIL, A.M.; KHALIFA, M.A. S.; EL-DEEB, S.T.; ABOUDONIA, S.; KADOUS, F.A. Effect of several pesticides on the activity of soil enzymes. Medelelingen van de Facultei Land bouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent 42(2, part1):901-9. In: Soils and Fertilizers, 41(1-12):272, 1978. n° 2553.
30. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solo, Rio de Janeiro Manual de Métodos de análise de solo. Rio de Janeiro, SNLCS, 1979. 1.V.
31. FLECK, NILSON, G. Herbicidologia. UFRS. Faculdade de Agronomia-Departamento de Fitotecnia, 1981. 141 p.
32. FOURNIER, J.C. Enumeration of the soil microorganisms able to degrade 2,4-D by metabolism or cometabolism. Chemosphere 9(3): 169-174, 1980. IN: soils and Fertilizers 44(11): 1073 n° 9997, 1981.
33. FOURNIER, J.C.; CODACCIONI, P.; SOULAS, G. Soil, adaption to 2,4-D degradation in relation to the application rates and the metabolic behaviour of the degrading microflora. Chemosphere 10(8):977-84, 1981. IN: soils and Fertilizers 45(5):446, 1982.
34. FRANKENBERGER, JR., W.T. & JOHANSON, J.B. Effect of pH on Enzyme Stability in soils. Soil Biol. Biochem. 14:433-37. 1982.
35. FREYER, J.D. & KIRKLAND, K. Field Experiments to investigate Longterm effects of repeated applications of MCPA, TRIALLIATE, Simazine and linuron: Report after 6 years. Weed Research, 10:133-58, 1970.
36. GOELINER, C.I. Impacto ambiental dos herbicidas. Passo Fundo, 1986, Trabalho não publicado.
37. GREAVES, M.P. A review of long-term effects of herbicides. Long-term effects of herbicide on soil microorganisms. Annals of Applied Biology, 91(1):129-132. 1972.
38. GREAVES, M.P.; POOLE, N.J.; DOMSCH, K.H.; JAGNON, G.; VERS-TRAETE, W. Recomende tests for assessing the side effects of pesticides on the soil microflora. Technical report agricultural research council weed research organization, (59):1-15. 1980.
39. GRISI, B.M. & GRAY, T.R.G. Comparação dos métodos de fumação, taxa de respiração em resposta à adição de glicose e conteúdo de ATP para estimar a biomassa microbiana dos solos. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 10:109-15, 1986.
40. GROSSBRARD, E. & MARSH, J.A.P. The effect of seven substituted urea herbicides on the soil microflora. Pestic. Sci., 5:609-23, 1974.

41. HART, L.T. & LARSON, A.D. Effect of 2,4-dichlorophexony-acetic acid on different metabolic types of bacteria. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1: 108-120, 1966.
42. HELENE, C.G. & RUEGG, E.F. Sorção de 2,4-D em solos relacionada à inibição do crescimento de agrião. R.Bras.Ci.Solo, 6(3):171-76, 1982.
43. HELENE, C.G.; CAINELLI, V.C.B. & RUEGG, E.F. Sorção dos herbicidas metribuzin e trifluralina em solos brasileiros Rev.Bras.Ci. Solo, 7(2):209-12, 1983.
44. HERTWIG, K.V. Manual de herbicidas desfolhantes, dessecantes e fitoreguladores. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres, 1977. 480 p.
45. JENKINSON, D.S. & POWLSON, D.S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. Soil Biol. And Biochem.8:209, 1976.
46. KAUFMAN, D.D. Degradation of Pesticides by soil microorganisms. Pesticides in Soil & Water, 133-202, 1974.
47. KISS, S.; DRAGAN-BULARD, M. & RADULESCU, D. Soil polysaccharidases: Activity and agricultural importance. Soil Enzymes, 117-147, Academic Press, London, 1978.
48. KISS, S.; DRAGAN-BULARDA, M. & RADULESCU, D. Biological significance of enzymes accumulated in soil. Advanc. Agronomy, 27:25-87, 1975.
49. LADD, J.N. Origin and range of enzymes in soil. In: Soil Enzymes, London, Academic Press, 1978, p. 51-96.
50. LEITÃO FILHO, H.F. de; ARANHA, C.; BACCHI, O. Plantas invasoras de cultura no Estado de São Paulo. São Paulo, HUCITEC, 1972. 84. 3V.
51. LENHARD, G. The effects of 2,4-D on certain physiological aspects fo soil micro-organisms. South African Journal of Agricultural Science, 2(4): 487-97, 1959.
52. LEWIS, J.A.; PAPAVIDAS, G.C. & HORA, T.S. Effect of some herbicides on microbial activity in soil. Bul. Biochem., 10:137-41, 1978.
53. LIU, L.C. & CIBES-VIADÉ, H.R. Effect of various herbicides on the respiration of soil microorganisms. J.Agriculture of University of Puerto Rico, 56(4):417-25, 1972.
54. LIU, L.C. & CIBES-VIADÉ, H.R. Adsorption of Fluometuron, Prometryne, Sencor and 2,4-D by soils. The J. of Agriculture of the University of Puerto Rico, 57(4):286-93, 1973.
55. LORENZI, H. Plantas daninhas do Brasil. São Paulo, s.ed., 1982, 425 p.
56. LORENZI, H. Manual de identificação e controle de plantas daninhas: plantio direto e convencional. 2.ed. Nova Odesa, 1966. 220 p.



57. LOWE, L.E. Carbohydrates in Soil. In: SCHNITZER, M. & KHAN, S.U. Soil Organic Matter. Elsevier Scientific Publ., 1978. p. 65-94.
58. MALAVOLTA, E.; HAAG, H.P.; MELLO, F.A.F.; BRASIL SOBRº, M. O.C. Nutrição mineral e adubação de plantas cultivadas. São Paulo, Livraria Pioneira Editora, 1974. 727 p.
59. MANUAL AGROPECUARIO PARA O PARANÁ. IAPAR, Londrina, 1976, 387 p.
60. MANUAL AGROPECUÁRIO PARA O PARANÁ. IAPAR, Londrina, 1978, 742 p.
61. MARTEL, Y.A. and PAUL, E.A. An example of a process model the carbon turnover for use in ecosystem studies in grasslands Reviews Of research, 1970. p.179-189.
62. MARTIN, J.P. Decomposition and binding action of polysaccharides in soil. Soil Biol. Biochem, 3:33-41, 1971.
63. MARTIN, J.P. & HAIDER, K. Soil Sci., 111:54, 1971.
64. MCLAREN, A.D. Kinetics and consecutive reactions of soil enzymes. In: Soil Enzymes, London, Academic Press, 1978. p. 97-116.
65. MCLAREN, A.D. & PETERSON, G.H. Biochemistry of herbicide decomposition in soils. In: Soil Biochemistry. New York, Maral Dekkor, 1967. 509 p.
66. MELO, W.J.; PIZAURO, J.M.; SARTORI, S.L.; KANESIRO, M.A.B.: Amilase em solos do município de Jaboticabal (SP). Rev.Bras.Ci.Solo, 7:213-15, 1983.
67. MOORE, J.K.; BRAYMER, H.D. & LARSON, A.D. Isolation of a pseudomonas sp which utilizes the phosphonate herbicide glyphosate. Applied and Environmental microbiology, 46(2): 316-20, 1983.
68. NAMDEO, K.N. & DUBE, J.N. Residual effect of urea and herbicides on hexosamine content and urease and proteinase activities in a grassland soil. Soil Biol. Biochem. 5(6): 855-59, 1973, In: Soils and Fertilizers, 39:209-1976.
69. OU, L.T. Degradation and 2,4-D degrading microorganisms in soils. Soil Sci. 137(2): 100-107, 1984.
70. OU, L.T.; DAVIDSON, J.M. & ROTHWELL, D.F. Response of soil microflora to high 2,4-A applications. Soil Bio.Biochem. 10(5): 443-45, 1978. In: Soils and Fertilizers, 42:149, 1979.
71. PANCHOLY, S.K. & RICE, E.L. Soil enzymes in relation to old field succession: amylase, cellulase, invertase, dehydrogenase, and urease. Soil Sci.Soc.Am.Proc, 37:47-50, 1973.

72. POCHON, J. & THARDIEUX, P. Techniques d'Analyse en Microbiologie du Sol. Seine, Editions de la Tourelle, 1962, 111 p.
73. PURISSIMO, C. Controle químico de plantas daninhas no plantio direto do feijão da seca (Phaseolus vulgaris L.), em sucessão à cultura do arroz. Viçosa, MG, 1982. 49 p. Dissertação. Mestrado. Univ.Fed. Viçosa.
74. QUAGGIO, J.A. & RAIJ, B.Van. Comparação de métodos rápidos para a determinação da matéria orgânica em solos. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 3:184-187, 1979.
75. RAIJ, B. Van & QUAGGIO, J.A. Métodos de Análise de Solo para fins de fertilidade. Boletim Técnico do Instituto Agrônômico, Campinas, nº 81.
76. ROBERGE, M.R. Methodology of Soil Enzyme Measurement and Extraction. In: Soil Enzyme. London, Academic Press, 1978, p. 341-70.
77. ROSS, D.J. A seasonal study of oxygen uptake of some pasture soils and activities of enzymes hydrolysing sucrose and starch. J.Soil Sci., 16:73, 1965.
78. RODES, R. C.; KRAUSE, R.L. & WILLIAMS, M.H. Microbial activity in soils treated with hexazione. Soil Sci. 129(5) 311-14, 1980.
79. RUSSEL, J. & RUSSEL, E.W. Las condiciones del suelo y el crecimiento de las plantas, Madrid, Aguilar 1968. 801 p.
80. SANCHES, P.A. Properties and management of soils in the tropics. New York, John Wiley & Sons, 1976, 618 p.
81. SCHNITZER, M. & KHAN, S.U. Soil Organic Matter. S.L. Elsevier, 1978. 319 p.
82. SHARMA, L.N. & SAXENA, S.N. Influence of 2,4-D on soil microorganisms with special reference to Azotobacter. J. Indian Soc. Soil. Sci., 22(2):168-71, 1974.
83. SHARON, M. S. & STEPHENSON, G.R. Behavior and fate of metribuzin in eight Ontario soils. Weed Sci. 24(1):153-60, 1976.
84. SKUJINS, J. History of Abiotic Soil Enzyme Research. In: Soil Enzymes. London, Academic Press, 1978, p. 1-49.
85. SMITH, A.E. Breakdown of the herbicide dicamba and its degradation product 3,6-dichlorosalicylic acid in prairie soil. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 22(4): 601-605, 1974. In: Soil and Fertilizers Abstracts, 38(6): 1975.
86. SOUZA, I.F. de. Comportamento dos herbicidas no solo. Inf. Agropec. Belo Horizonte, 8(87): 38-43, 1982.

87. STRYCKERS, J.; VAN HIMME, M.; VULCKE, R. & BUGGENHOOT, P. The results of long-term repeated applications of herbicides to a crop rotation. Gevolgen van durig Lerhaalde Herbiciden-toedieningen in een vruchtwisselingssy steen. Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent 41(2, part 2): 1179-1193. In: Soils and Fertilizers, 41(1-12): 145, 1978. N<sup>o</sup> 1344.
88. TRAPPE, J.M.; MOLINA, R. & CASTELLANO, M. Reactions of mycorrhizal fungi and mycorrhiza formation to pesticides. Ann. Rev. Phytopathol, 22:331-59, 1984.
89. TU, C. M. & BOLLEN, W.B. Interaction between paraquat and microbes in soils. Weed Res. 8: 38-45, 1968
90. TU, C.M. & BOLLEN, W.B. Effect of Paraquat on microbial activities in soils. Weed Red. 8:28-37, 1968.
91. UZIAK, S. & LEONIZK-STEINGRICH, K. Enzymatic activity of soils treated with herbicides. Polisch Journal of soil Sci., 9(2):123-29, 1976. In: Soils and Fertilizers, 41(1-12):663, 1978. N<sup>o</sup> 6415.
92. VUKHRER, E.G. & KAPLUN, S.A. The influence of herbicides on the microflora of a typical grey soil. Uzbekskii Biologicheskii Zhurnal, 22(4):40-42. In: Soils and Fertilizers 44:742, 1981. N<sup>o</sup> 6703.
93. WHITESIDE, J. S. & ALEZANDER, M. Measurement of Microbiological effects of herbicides. Weeds 8 (2):204-13, 1960.