

**EFEITOS DO USO CONTÍNUO DE HERBICIDAS SOBRE FUNGOS MICORRÍZICOS  
VESÍCULO-ARBUSCULARES EM CITROS, E NA ATIVIDADE MICROBIANA DO SOLO**

**ADELINO PELISSARI**  
Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. RICARDO VICTÓRIA FILHO

Tese apresentada à Escola Superior de  
Agricultura "Luiz de Queiroz", da  
Universidade de São Paulo, para obtenção  
do título de Doutor em Agronomia, Área de  
Concentração: Solos e Nutrição de  
Plantas.

**PIRACICABA**  
Estado de São Paulo - Brasil  
Abril - 1992

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da  
Divisão de Biblioteca e Documentação - PCAP/USP

Pelissari, Adelino

P384e Efeitos do uso contínuo de herbicidas  
sobre fungos micorrízicos vesículo-arbusculares  
em citros, e na atividade microbiana do solo. Pi  
racicaba, 1992.  
147 p.

Tese - ESALQ

Bibliografia

1. Herbicida em laranja - Efeito residual 2. La  
ranja - Planta daninha - Controle 3. Micorriza - E  
feito do herbicida 4. Microbiologia do solo 5. Efei  
to do herbicida 5. Planta daninha - Controle I. Es  
cola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Pira  
cicaba

CDD 634.31

**Ofereço**

**A DEUS**

**Por ter-me usado como sua ferramenta.**

**Aos meus pais, meus primeiros MESTRES**

**Orlando e Maria Lourdes**

**Minha Homenagem**

**A minha esposa Isilda**

**Aos meus filhos Alan, Mônica, Carla e Leticia.**

**DEDICO.**

## **AGRADECIMENTOS**

Desejo expressar os meus sinceros agradecimentos a todos os que direta ou indiretamente colaboraram na realização do presente estudo, e em especial, às seguintes pessoas e instituições:

Ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia - Área de Concentração: Solos e Nutrição de Plantas, da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo, pelo acolhimento possibilitando a realização do presente trabalho;

Ao Professor Doutor Ricardo Victória Filho, pelo estímulo, amizade, confiança, dedicação e valorosa orientação, minha eterna gratidão;

Aos Pesquisadores Paulo Marcos da Silva, Roberto Bonetti e Rosângela Navarro do CENA - Centro de Energia Nuclear na Agricultura - Laboratório de Microbiologia do Solo, pela amizade e inestimável ajuda na realização da pesquisa;

Aos Professores Dr. Paulo Leonel Libardi do Departamento de Física e meteorologia e Dr. Durval Dourado Neto do Departamento de Agricultura pela amizade, colaboração e apoio;

Ao Professor Paulo Afonso Bracarense Costa do Departamento de Estatística da UFPR, pela amizade, dedicação e auxílios valiosos prestados;

A Professora Maria de Lourdes Pelissari Negreiros, pela colaboração e valioso auxílio na correção da linguagem;

Ao Professor Anibal de Moraes do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo pelas sugestões oportunas;

**Ao Professor Edilberto Possamai do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, pela amizade, e auxílios valiosos prestados;**

**A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão de Bolsa de Estudo;**

**A Fazenda Sete Lagoas Agrícola S.A., pelas facilidades concedidas à condução do ensaio de campo;**

**Aos funcionários do Setor de Horticultura na pessoa do Sr. Luiz Ferrari, pelo auxílio na coleta dos dados;**

**Ao Dr. Roberto Abia Fernandez, pela amizade e agradecida colaboração;**

**Aos amigos de Piracicaba nas pessoas dos Senhores Lino Di Piero, Murilo Melo, Miguel C. Carvalho, Paulo R. C. Castro e Luiz Campassi Junior, a minha eterna amizade e gratidão;**

**Ao Professor Miguel Antônio Loyola da Rocha, do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da UFPR pelo incentivo e ajuda incondicional;**

**Aos companheiros mais próximos de curso Robinson Osipe; Austrelino Silveira Filho; Jorge Luiz Sales; Márcio Bastos Gomide; Eduardo Bernardo Luchese e Elmar Luiz Floss pela amizade e alegria da nossa convivência.**

## ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS .....	viii
LISTA DE TABELAS .....	ix
RESUMO .....	xvi
SUMMARY .....	xvii
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>3</b>
2.1. Biologia das plantas daninhas .....	4
2.2. Matocompetição .....	6
2.3. Medidas de controle vs fungos micorrízicos vesículos-arbusculares .....	6
2.4. Efeito dos herbicidas no desenvolvimento das plantas de citros .....	10
2.5. Importância dos fungos MVA nas plantas .....	14
2.6. Fatores que influenciam as micorrizas .....	21
2.6.1. Disponibilidade de nutrientes .....	21
2.6.2. pH do solo .....	24
2.6.3. Características físicas do solo .....	26
2.6.4. Luz e Temperatura .....	27
2.6.5. Matéria orgânica .....	28
2.6.6. Microbiota e Fauna .....	29
2.6.7. Flutuação sazonal .....	30
2.7. Efeito dos herbicidas sobre os fungos MVA. ....	33
2.8. Efeito dos microrganismos sobre os herbicidas aplicados ao solo. ....	36
2.9. Efeitos dos herbicidas sobre os microrganismos do solo .....	41
2.9.1 Efeitos sobre bactérias, fungos e actinomicetos .....	41
2.9.2. Efeitos na amonificação e nitrificação .....	47
2.9.3. Efeitos na denitrificação .....	49
2.9.4. Efeitos nos fixadores de nitrogênio .....	50
2.9.5. Efeitos nas algas do solo .....	52
2.10. Efeito dos herbicidas na evolução do CO <sub>2</sub> do Solo .....	53
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>56</b>
3.1. Local do Experimento e Características Edafo-climáticas .....	56
3.2. Cultivar .....	57
3.3. Herbicidas utilizados .....	58
3.3.1. Terbacil .....	58
3.3.2. Simazine .....	59
3.3.3. Dichlobenil .....	60
3.3.4. Diuron .....	61
3.3.5. Bromacil .....	61

3.3.6. Bromacil + Diuron .....	62
3.4. Delineamento experimental .....	63
3.5. Instalação e condução dos experimentos de campo e laboratório .....	64
3.5.1. Aplicação dos herbicidas .....	64
3.5.2. Coletas de amostras .....	64
3.5.3. Preparo das amostras .....	65
3.6. Metodologia Analítica .....	66
3.6.1. Atividade da microflora heterotrófica do solo .....	66
3.6.2. Colonização micorrízica MVA .....	67
3.6.3. Quantificação da população de esporos MVA. ....	68
3.6.4. Teores de Fósforo. ....	69
3.7. Metodologia Estatística .....	69
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	72
4.1. Teores de fósforo .....	72
4.2. Colonização micorrízica MVA .....	75
4.3. Quantificação da população de esporos MVA .....	84
4.4. Atividade da microflora heterotrófica do solo .....	88
5. CONCLUSÕES .....	100
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	102
A P Ê N D I C E .....	133

**LISTA DE FIGURAS**

- Figura 1.** Frasco radiorespirométrico
- Figura 2.** Diagrama de Venn ilustrativo na diferenciação dos resultados ao nível de 5% de significância entre os tratamentos, para colonização micorrízica
- Figura 3.** Balanço hídrico mensal da Faz. Sete Lagoas - Conchal - SP

**LISTA DE TABELAS**

	<b>Pág.</b>
<b>Tabela 1.</b> Características químicas e físicas do solo Latossol Vermelho Amarelo - Faz. Sete Lagoas - Conchal - SP, 1977 e 1990.	<b>57</b>
<b>Tabela 2.</b> Tratamentos utilizados com as respectivas doses de ingrediente ativo (i.a.) e do produto comercial (p.c.) - Faz. Sete Lagoas - Conchal - SP, 1990.	<b>63</b>
<b>Tabela 3.</b> Épocas amostradas, material coletado e respectivas variáveis estudadas - Faz. Sete Lagoas - Conchal - SP, 1990.	<b>65</b>
<b>Tabela 4.</b> Teores de fósforo, em ppm, encontrados nos diferentes tratamentos para os tempos (1) e (2) - Fazenda Sete Lagoas - Conchal - SP, 1990.	<b>73</b>
<b>Tabela 5.</b> Quadro da análise de variância para os teores de fósforo, média geral e coeficientes de variação.	<b>74</b>
<b>Tabela 6.</b> Resultados da percentagem da colonização micorrízica MVA, por 10 seguimentos de raízes coradas com comprimento de 1 cm, colocadas sobre lâminas, atribuindo-se notas de 0 (zero) a 100 (cem) - Fazenda Sete Lagoas - Conchal - SP, 1990.	<b>75</b>
<b>Tabela 7.</b> Teste de TUKEY para as média de tratamentos, sem considerar o tempo para colonização micorrízica VA.	<b>77</b>

<b>Tabela 8.</b>	<b>Teste de TUKEY para as média de tratamento dentro do tempo 1 (antes da aplicação), para colonização micorrízica VA.</b>	<b>78</b>
<b>Tabela 9.</b>	<b>Teste de TUKEY para as média de tratamento dentro do tempo 2 (60 dias da aplicação), para colonização micorrízica VA.</b>	<b>78</b>
<b>Tabela 10.</b>	<b>Teste de TUKEY para as média de tratamento dentro do tempo 3 (120 dias após aplicação), para colonização micorrízica VA.</b>	<b>79</b>
<b>Tabela 11.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo, sem considerar os tratamentos para colonização micorrízica VA.</b>	<b>81</b>
<b>Tabela 12.</b>	<b>Grupos de respostas pelo teste de TUKEY a 5%, considerando-se o tempo dentro de cada tratamento para a colonização micorrízica VA.</b>	<b>82</b>
<b>Tabela 13.</b>	<b>Resultado do número de esporos MVA, na região de desenvolvimento das raízes de citros por 50 ml de solo.</b>	<b>85</b>
<b>Tabela 14.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo, sem considerar os tratamentos, para número de esporos micorrízicos VA.</b>	<b>86</b>
<b>Tabela 15.</b>	<b>Comparação de médias dos tratamentos nos tempos estudados, para número de esporos MVA.</b>	<b>87</b>

<b>Tabela 16.</b>	<b>Atividade microbiana heterotrófica do solo, medida através da radiorespirometria, pela evolução de CO<sub>2</sub> liberado pelo consumo de <math>\mu</math>mol glicose por grama de solo fresco por hora - Fazenda Sete Lagoas - Conchal - SP, 1990.</b>	<b>89</b>
<b>Tabela 17.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tratamentos dentro do tempo 1 (antes da aplicação), para atividade da microflora heterotrófica do solo.</b>	<b>90</b>
<b>Tabela 18.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tratamentos dentro do tempo 3 (30 dias após aplicação), para atividade da microflora heterotrófica do solo.</b>	<b>91</b>
<b>Tabela 19.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tratamentos dentro do tempo 5 (120 dias após aplicação), para atividade da microflora heterotrófica do solo.</b>	<b>91</b>
<b>Tabela 20.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tratamentos dentro do tempo 2 (2 dias após aplicação), para atividade da microflora heterotrófica do solo.</b>	<b>92</b>
<b>Tabela 21.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tratamentos dentro do tempo 4 (60 dias após aplicação), para atividade da microflora heterotrófica do solo.</b>	<b>94</b>
<b>Tabela 22.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo sem considerar os tratamentos para atividade da microflora heterotrófica do solo.</b>	<b>96</b>
<b>Tabela 23.</b>	<b>Grupos de respostas pelo teste de TUKEY a 5%, considerando-se o tempo dentro de cada tratamento para atividade da microflora heterotrófica do solo.</b>	<b>97</b>

<b>Tabela 24.</b>	<b>Quadro da análise de variância para colonização micorrízica VA, média geral e coeficientes de variação.</b>	<b>134</b>
<b>Tabela 25.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 1 do fator tratamento para colonização micorrízica.</b>	<b>134</b>
<b>Tabela 26.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 2 do fator tratamento para colonização micorrízica.</b>	<b>135</b>
<b>Tabela 27.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 3 do fator tratamento para colonização micorrízica.</b>	<b>135</b>
<b>Tabela 28.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 4 do fator tratamento para colonização micorrízica.</b>	<b>135</b>
<b>Tabela 29.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 5 do fator tratamento para colonização micorrízica.</b>	<b>136</b>
<b>Tabela 30.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 6 do fator tratamento para colonização micorrízica.</b>	<b>136</b>
<b>Tabela 31.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 7 do fator tratamento para colonização micorrízica.</b>	<b>136</b>
<b>Tabela 32.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 8 do fator tratamento para colonização micorrízica.</b>	<b>137</b>

<b>Tabela 33.</b>	<b>Quadro da análise de variância para número de esporos MVA, média geral e coeficientes de variação.</b>	<b>137</b>
<b>Tabela 34.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 1 do fator tratamento para número de esporos MVA.</b>	<b>138</b>
<b>Tabela 35.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 2 do fator tratamento para número de esporos MVA.</b>	<b>138</b>
<b>Tabela 36.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 3 do fator tratamento para número de esporos MVA.</b>	<b>138</b>
<b>Tabela 37.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 4 do fator tratamento para número de esporos MVA.</b>	<b>139</b>
<b>Tabela 38.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 5 do fator tratamento para número de esporos MVA.</b>	<b>139</b>
<b>Tabela 39.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 6 do fator tratamento para número de esporos MVA.</b>	<b>139</b>
<b>Tabela 40.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 7 do fator tratamento para número de esporos MVA.</b>	<b>140</b>
<b>Tabela 41.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 8 do fator tratamento para número de esporos MVA.</b>	<b>140</b>

<b>Tabela 42.</b>	<b>Quadro da análise de variância para atividade da microflora heterotrófica do solo, média geral e coeficientes de variação.</b>	<b>141</b>
<b>Tabela 43.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 1 do fator tratamento para atividade da microflora heterotrófica do solo.</b>	<b>142</b>
<b>Tabela 44.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 2 do fator tratamento para atividade da microflora heterotrófica do solo.</b>	<b>142</b>
<b>Tabela 45.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 3 do fator tratamento para atividade da microflora heterotrófica do solo.</b>	<b>143</b>
<b>Tabela 46.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 4 do fator tratamento para atividade da microflora heterotrófica do solo.</b>	<b>143</b>
<b>Tabela 47.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 5 do fator tratamento para atividade da microflora heterotrófica do solo.</b>	<b>144</b>
<b>Tabela 48.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 6 do fator tratamento para atividade da microflora heterotrófica do solo.</b>	<b>144</b>
<b>Tabela 49.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 7 do fator tratamento para atividade da microflora heterotrófica do solo.</b>	<b>145</b>
<b>Tabela 50.</b>	<b>Teste de TUKEY para médias de tempo dentro do tratamento 8 do fator tratamento para atividade da microflora heterotrófica do solo.</b>	<b>145</b>

**Tabela 51. Dados climáticos e balanço hídrico mensal, segundo THORNTHWAITE & MATHER (1955), da Faz. Sete lagoas - Conchal-SP, Ano: 10/89 - 9/90 (CAD: 167,4 mm).**

# **EFEITOS DO USO CONTÍNUO DE HERBICIDAS SOBRE FUNGOS MICORRÍZICOS VESÍCULO-ARBUSCULARES EM CITROS, E NA ATIVIDADE MICROBIANA DO SOLO**

**Autor: ADELINO PELISSARI**

**Orientador: PROF. DR. RICARDO VICTÓRIA FILHO**

## **RESUMO**

A micorriza vesículo-arbuscular (MVA) exerce influência marcante sobre a nutrição e desenvolvimento das plantas de citros. A atividade microbiana heterotrófica do solo, por sua vez, é responsável pelas transformações do material orgânico depositado sobre a superfície do solo ou incorporado ao mesmo, em diferentes frações que compõem a matéria orgânica.

Considerando-se a importância que assumem os herbicidas na citricultura brasileira, avaliou-se neste trabalho o impacto provocado sobre a colonização micorrízica das raízes de citros, população de esporos na região de desenvolvimento dessas raízes e na atividade microbiana heterotrófica do solo pelos herbicidas terbacil, simazine, dichlobenil, diuron, bromacil e bromacil + diuron.

Essas avaliações foram feitas após 13 anos de aplicações ininterruptas, com uma aplicação anual desses produtos, em pré-emergência, sempre no mesmo local.

O experimento foi conduzido num delineamento de blocos casualizados com três repetições, em Latossol Vermelho Amarelo no município de Conchal, SP, em laranjeira da cultivar Pera *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, enxertados sobre limão "Cravo" *Citrus limonia* Osbeck.

Os resultados obtidos permitiram concluir que: a) após 13 anos, de aplicação anual desses herbicidas, o impacto provocado na colonização das raízes e na população de esporos do solo foi semelhante ao da capina manual; b) o efeito da capina manual na atividade microbiana heterotrófica do solo, foi superior ao apresentado pelos herbicidas, no entanto, nas condições desse estudo, não ultrapassou o período de 30 dias; c) aplicações de NPK em ótimas condições de umidade, seguida de estiagem nos meses subsequentes, causaram a redução da colonização das raízes, bem como propiciaram o aumento do número de esporos do solo; d) os herbicidas desse estudo atuaram como agentes moderadores ou estabilizadores da atividade microbiana heterotrófica do solo, apresentando níveis de evolução de CO<sub>2</sub> semelhantes durante o período de estudo.

# **EFFECT OF REPEATED FIELD APPLICATIONS OF HERBICIDES UNDER MYCORRHIZAL FUNGI VAM AND SOIL MICROBIAL ACTIVITY IN CITRUS ORCHARD**

**Author: ADELINO PELISSARI**

**Advisor: PROF. DR. RICARDO VICTÓRIA FILHO**

## **SUMMARY**

The vesicular-arbuscular mycorrhizas (VAM) plays an important role over citrus plant nutrition and development. The soil heterotrophical microbial activity, by itself, is responsible for transformations of vegetable material present on the soil surface or incorporated to it, resulting in different fractions that forms the organic matter.

Considering the importance of the herbicides are assuming in the Brazilian citriculture, this study evaluated the impact over mycorrhizal colonization of citrus roots, spores population in the development region of it's roots and in the soil heterotrophical microbial activity caused by the herbicides terbacil, simazlna, dechlobenil, diuron, bromacil e bromacil + diuron.

These evaluations were done after 13 years of continuous service with one annual application of these molecules in pre-emergence, always at the same area.

The experiment was conducted with three replications in a randomized complete blocks, in a Red Yellow Latossol in Conchal country, SP, cultivated with Pear orange cultivar, implanted over "Cravo" lemon.

The results obtained permitted to conclude: a) after 13 years, with one annual application of those herbicides, the impact installed in the root colonizations and soil spores population were similar to the manual clean out treatment; b) the effect os the manual clean out over the heterotrophical microbial activity of the soil were much superior to that presented by the herbicides, however, in the conditions of this study, did not extended over 30 days; c) NPK application in optimum humidity conditions followed by drying in the following months caused a reduction of root colonizations, as well as propitiated an increase in the spores number in the soil; d) the herbicides used in this study acted as moderated agents or stabilizers of soil heterotrophical microbial activity, presenting similar levels of CO<sub>2</sub> evolution during the period studied.

## **1. INTRODUÇÃO**

No Brasil, mais propriamente no Estado de São Paulo, a citricultura ocupa um lugar importante na obtenção de divisas econômicas.

Dentre os produtos de origem agrícola que o país exporta, o suco concentrado de laranja e a própria fruta "*in natura*", ocasionaram na década passada, uma grande corrida para este setor da produção. Isto, devido aos bons preços recebidos pelos citricultores nas safras de 88/89 e 89/90 (NEVES, 1990).

Dada às boas cotações do suco de laranja brasileiro no mercado internacional e o ótimo preço da fruta no mercado interno, a citricultura ocupou na safra 88/89 o primeiro lugar no valor bruto da produção do Estado de São Paulo, superando produtos como a cana-de-açúcar, o café e a carne bovina (NEVES, 1989).

O conceito de cultura rentável tem sido o responsável pela expansão dos pomares de laranja na região centro-sul do país, sem contudo obedecer a um critério de crescimento planejado. Embora, diversos cientistas da área de economia agrícola têm alertado para o problema, as conseqüências deverão repercutir nos anos noventa, com perspectivas de superprodução, pelo menos durante a primeira metade desta década.

Diante de tal quadro, qual seria a alternativa? Este conceito de economia rentável, no entanto, deve ser embasado e suportado, pela pesquisa científica favorecendo a competência técnica no uso eficiente dos fatores de produção, e buscar no rendimento da cultura o suporte necessário à competitividade com os outros países produtores.

A utilização de herbicidas, constitui uma tecnologia usual nos pomares altamente tecnificados, como método de controle de plantas daninhas, evitando a

matocompetição com a cultura da laranja, não permitindo a redução da produção. Entretanto, esta prática exige um conhecimento suficiente seu comportamento no solo e na planta, para que não ocorram desequilíbrios ambientais (VICTÓRIA FILHO, 1983). Neste sentido, poucos são os trabalhos realizados que procuram estudar os efeitos desses agroquímicos, a longo prazo, aplicados na agricultura.

Através da microbiologia do solo, são possíveis avaliações que proporcionam uma melhor compreensão dos efeitos desses herbicidas sobre fungos e bactérias benéficos à agricultura, que vivem em simbiose com as culturas ou atuam na transformação do material orgânico depositado no solo (ALEXANDER, 1977; MACLAREN, 1978; SKUJINS, 1978 e ATLAS & BARTHA, 1981).

O presente trabalho tem por objetivo quantificar, através de variáveis microbiológicas, como: colonização de raízes por fungos MVA, número de esporos MVA na região de desenvolvimento radicial do citros e atividade da microflora heterotrófica do solo, o efeito do uso contínuo de herbicidas residuais, aplicados na condução de pomares cítricos a longo prazo num mesmo local.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

A partir de 1962, verificou-se uma vigorosa expansão na citricultura brasileira e em especial no Estado de São Paulo, (VICTÓRIA FILHO 1983), por ter início na mesma época, a fase de industrialização da fruta de laranja e a produção do suco concentrado congelado.

Esta prática industrial, somada à perspectiva de bons lucros, fez do Brasil o maior produtor de frutas cítricas da América do Sul e o segundo produtor mundial (CAMPOS, 1976).

Do entusiasmo verificado na última década, à previsão de tempos ruins para a década de 90, os pesquisadores das instituições: Instituto Agronômico de Campinas, Instituto Biológico de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - USP, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias- UNESP - Jaboticabal, Faculdade de Ciências Agrônomicas - UNESP - Botucatu e Estação Experimental de Citricultura de Bebedouro, que trabalham em citricultura, reunidos em 18 de outubro de 1990, na Estação Experimental Sylvio Moreira - Cordeirópolis - SP, analisaram as necessidades que tem essa atividade agrícola, para manter a grande importância que representa na economia brasileira.

Dessa reunião, elaborou-se um documento na forma de manifesto público, amplamente divulgado, o qual reúne os pontos importantes a serem enfrentados tanto pelo governo, como pelo produtor e indústria, como segue:

- a) Crescente necessidade de novas tecnologias para atender a grande expansão do setor citrícola.

- b) Aumento de problemas limitantes à citricultura e o não crescimento correspondente da ação de pesquisa.
- c) Necessidade de medidas de salvaguarda da citricultura face aos graves problemas fitossanitários existentes ou potenciais.
- d) Número insuficiente de pesquisadores atuando nas áreas citrícolas e falta de formação de novos pesquisadores ou equipes.
- e) Necessidade imperativa de geração de conhecimentos e materiais locais, antecipando soluções e não adaptando tecnologia importada.
- f) Escassez de recursos orçamentários alocados à pesquisa citrícolas decorrente de apoio insuficiente do governo e da iniciativa privada.

A situação acima agrava-se, uma vez que, a pesquisa não pode parar, ao contrário precisa ser intensificada para se evitar possível colapso do setor agroindustrial citrícola a médio prazo (MANIFESTO DOS PESQUISADORES EM CITRICULTURA DO ESTADO DE SÃO PAULO, 1990).<sup>1</sup>

Existem muitos pontos básicos que necessitam de respostas de trabalhos científicos, conduzidos em nossas condições em relação à competição, cultivo do solo, aplicação de herbicidas, absorção, translocação, mecanismo e modo de ação, locais de acúmulo dentro da planta, seus efeitos sobre os microrganismos do solo, degradação da molécula original e de seus metabólitos, além dos resíduos no solo e no fruto colhido.

No Brasil há, portanto, necessidade de maior número de pesquisas na área de manejo do mato em citricultura (VICTÓRIA FILHO, 1983).

## **2.1. Biologia das plantas daninhas**

Um dos pontos básicos para a utilização adequada de qualquer método de controle de plantas daninhas, é o conhecimento das mesmas com informações sobre

---

<sup>1</sup>Manifesto dos pesquisadores em citricultura do Estado de São Paulo, Estação Experimental Sylvio Moreira, Cordeirópolis, SP, 1990.

a biologia, época de ocorrência e danos produzidos às plantas de citros (VICTÓRIA FILHO, 1983).

A identificação das plantas daninhas no campo constitui-se numa tarefa difícil, requerendo-se do técnico um bom conhecimento prático de identificação das plantas daninhas, quando elas se encontram ainda no estágio juvenil ou de plântula, isto é, antes que a competição da planta daninha com a cultura tenha se iniciado.

A identificação das principais plantas daninhas e o período de sua máxima capacidade competitiva, constituem estudos de importância fundamental para um posterior emprego racional do controle do mato (DURIGAN, 1982).

Para as nossas condições, já existem alguns trabalhos relatando as principais plantas daninhas que ocorrem em pomares cítricos, onde a família *Gramineae* é tida como a mais importante, seguida das famílias *Compositae*, *Malvaceae* e *Euphorbiaceae* (RODRIGUEZ, 1969).

Num estudo mais detalhado por DONADIO *et alii* (1976), para identificação das principais espécies infestantes de pomares das três maiores regiões produtoras de cítricos do Estado de São Paulo, a saber; Limeira, Bebedouro e Pariquera-Açu em três épocas: primavera-verão (outubro a dezembro), outono (março a abril) e Inverno (julho, agosto) constatou-se que em regiões de clima semelhante há diferenças na flora infestante, acentuando-se quando muda o clima. Verificou-se nas regiões de Limeira e Bebedouro, a semelhança na ocorrência de algumas espécies de mato, ao passo que em Pariquera-Açu apareceram espécies que não foram encontradas nas outras regiões.

Neste trabalho, observou-se também, que as diferenças maiores entre as espécies foram notadas nas entre-linhas e sob as copas das plantas cítricas. Para Bebedouro e Limeira, o período do outono foi de grande infestação de mato e conseqüente competição. Por outro lado, Pariquera-Açu requer atenção no controle das plantas daninhas o ano todo.

Entre as comunidades de plantas daninhas das regiões estudadas, algumas populações de infestantes se caracterizaram por serem mais típicas em cada região, como se observou para o capim carrapicho *Cenchrus echinatus* L e poaia-branca *Richardia brasilienses* Gomez em Bebedouro; mentrasto *Ageratum conyzoides* L e

vernonia *Vernonia scorpioides* Lam. Pers. em Pariquera-Açu e a nabiça *Raphanus raphanistrum* L em Limeira.

## **2.2. Matocompetição**

As plantas daninhas interferem com as culturas por água, luz e nutrientes.

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, se considerada isoladamente, pode causar prejuízos acima de 80% chegando a anular completamente a produção (IAPAR, 1976).

Trabalhos brasileiros que tratam de competição das plantas daninhas em diversas culturas, permitem a elaboração de tabelas sobre as épocas em que ocorrem essa competição, ou seja, sobre o período de competição (BLANCO, 1982).

A cultura da laranja, pode apresentar perdas por interferência com as plantas daninhas em 40% no número de frutos, sendo este período de dezembro a março ou de agosto a novembro, período em que a cultura deve estar livre da interferência do mato (BLANCO, 1982). Todavia, próximo das plantas cultivadas o controle das plantas daninhas deve ser feito durante todo o ano (VICTÓRIA FILHO, 1983).

## **2.3. Medidas de controle vs fungos micorrízicos vesículos-arbusculares**

Os métodos de controle de plantas daninhas empregados na citricultura são os mais diversos.

A meta primária de qualquer sistema de manejo de plantas daninhas é a manutenção de um ambiente o mais inóspito possível ao mato através do emprego específico ou combinado de métodos biológicos, culturais, mecânicos e químicos, os quais devem frequentemente ser revistos e, se necessário, reformulados por se tratar de um processo extremamente dinâmico (PITELLI, 1982).

Segundo o mesmo autor, na atualidade, a integração das medidas de controle se intensificam entre os produtores, onde procura-se utilizar um conjunto de medidas que integradas apresentam grande efeito sobre a espécie ou as espécies daninhas,

cujo controle é desejado naquele momento. Esclarecendo, que este processo envolve todo um contexto em termos de planejamento global de utilização da área e da integração desta com outras áreas, dentro da propriedade agrícola ou mesmo da região na qual se insere, visando um equilíbrio com outras medidas de manejo de solos e demais práticas agrícolas e uma compatibilização ambiental e econômica.

Aproveitando da experiência de vários autores que trabalham no controle de plantas daninhas, DURIGAN (1982), propõe uma opção para o controle integrado do mato em pomares de citros:

- a) aplicação de um herbicida ao solo, com efeito residual e que seja seletivo às plantas de interesse econômico, em uma faixa de 1 a 2 metros de largura ao lado de cada fileira de plantas;
- b) plantio de leguminosas, nas entre linhas, no início das chuvas, não permitindo o desenvolvimento das plantas daninhas. Tais leguminosas poderão se constituir em refúgio de pragas e de predadores de pragas de citros; ou então,
- c) manter o espaço preenchido pelas plantas daninhas entre as faixas tratadas com herbicidas residuais sempre ceifado, no caso de não serem plantadas leguminosas, durante o período das águas;
- d) destruir mecânica ou quimicamente toda leguminosa ou plantas daninhas que ocorrem nas entre linhas, no final das águas e início da seca.

Uma série de considerações acerca do controle das plantas daninhas em fruticultura são apresentadas por diversos pesquisadores a respeito da necessidade de um maior número de trabalhos científicos na elucidação de um conjunto de problemas, sobre os efeitos que os diferentes métodos de controle exercem sobre o ambiente e nos processos fisiológicos da planta cultivada (SILVA & ROMAM, 1978; FORSTER, 1979).

Dentre as relações harmônicas que existem na natureza, uma que deve ser melhor entendida, é a simbiose entre as raízes dos citros e os fungos micorrízicos vesículo-arbusculares.

Os efeitos das micorrizas no crescimento e sobrevivência das plantas estão amplamente documentados, destacando-se a melhor nutrição principalmente de fósforo, que é provocada pela simbiose planta-fungo MVA, resultando no melhor desenvolvimento dos vegetais (GERDEMANN, 1968; MOSSE, 1973; TINKER, 1975; SIQUEIRA & FRANCO, 1988 e CARDOSO, 1990).

A intensidade de cultivo, práticas de adubação e calagem, monocultura, rotação de culturas, controle da erosão do solo e uso de defensivos agrícolas, são fatores de grande importância para a ecologia das micorrizas.

As arações pouco profundas e as adubações mais leves favorecem o estabelecimento das micorrizas, enquanto as adubações pesadas, monocultura com culturas anuais e o uso indiscriminado de defensivos, principalmente os fungicidas sistêmicos e fertilizantes, reduzem a incidência de micorrizas (SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

Citam os referidos autores que as preocupações crescentes com a qualidade do meio ambiente, a elevação nos custos dos insumos e a necessidade de se aumentar a produção de alimentos, fibras e madeira, têm despertado grande interesse dos cientistas, agricultores e setores do mercado de tecnologia, pelos fungos micorrízicos. Isso estimulou um grande volume de pesquisas, que, nas últimas três décadas, evidenciaram a natureza e magnitude desses efeitos, bem como as potencialidades para a exploração das micorrizas nos sistemas de produção, desde aqueles de subsistência, até os mais tecnificados do mundo.

Entretanto, o cultivo do solo com o objetivo de controlar as plantas daninhas através de capina manual, capina com tração animal ou tratorizada se constitui no método de controle mais utilizado entre os citricultores (IAPAR, 1976). Estes métodos ainda que eficientes para o controle das plantas daninhas são responsáveis por grandes prejuízos, tanto nas plantas de citros, por provocar ferimentos nos caules e cortes nos sistemas radiculares superficiais, constituindo-se em locais para a entrada de microrganismos patogênicos, como pela desestruturação dos agregados do solo favorecendo a erosão e a sua degradação.

Tanto que, 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, bem como num declínio da sua estrutura (MARTEL & PAUL, 1970).

Pouco se sabe, no entanto, sobre a influência do manejo do solo, na simbiose entre as raízes das plantas de citros com os fungos MVA.

Em solos cultivados com enxadas rotativas, o número de esporos tende a diminuir quando comparados com solos arados superficialmente ou até mesmo aqueles não cultivados (KRUCKELMANN, 1975).

KUCEY & PAUL (1983), verificaram que o cultivo do solo altera os parâmetros abióticos, que por sua vez afetam os componentes bióticos, tornando-se desta maneira fácil de compreender, segundo os autores, que toda prática que reduz a densidade e o potencial das raízes do hospedeiro, também, reduz o número de esporos encontrados no solo.

A utilização de herbicidas para o controle das plantas daninhas, é uma prática bastante difundida em diversas regiões citrícolas do mundo, como os Estados Unidos da América do Norte tratando de cerca de 50% de sua área total, (LANGE *et alii*, 1975), sendo que na califórnia, cerca de 75% da área de citros irrigada é tratada com herbicidas (KASASIAN, 1971).

Os trabalhos que discutem os efeitos dos herbicidas sobre a associação simbiótica MVA com plantas de citros são reduzidos. O controle de plantas daninhas com herbicidas é citado como a provável causa da ausência de *Gigaspora margarita* nos pomares da Califórnia. Entretanto, este fato não se verifica na Flórida, atribuindo-se a presença do fungo neste Estado, em parte, as plantas daninhas as quais são comuns em seus pomares, o que não ocorre nos pomares da califórnia (NEMEC *et alii*, 1981).

No Brasil, a utilização de herbicidas está condicionada às grandes empresas citrícolas e algumas melhores tecnificadas (VICTÓRIA FILHO, 1983). A área tratada não atinge mais que 5-10% da área plantada (PRATES, 1980 e CAETANO, 1980).

Nas condições do Estado de São Paulo, não se detectou diferenças significativas entre o tratamento controle e os tratamentos com herbicidas, para número de esporos por grama de solo e índice de colonização por fungo MVA em raízes de citros (SANTOS, 1989).

## **2.4. Efeito dos herbicidas no desenvolvimento das plantas de citros**

Os herbicidas contribuem sobremaneira para a manutenção da produção agrícola, liberando a cultura da interferência das plantas daninhas.

A ação desses herbicidas, não limita-se tão somente ao objetivo imediato de matar ou não permitir a germinação de uma determinada espécie de planta daninha. Tem-se relatado o efeito dos mesmos no desenvolvimento das culturas.

Esses efeitos são apresentados por muitos pesquisadores através de avaliações visuais de fitotoxicidade, não permitindo assim uma análise mais pormenorizada dos mesmos.

Poucos são os trabalhos na literatura que tratam com profundidade os efeitos de aplicações anuais repetidas no desenvolvimento das plantas de citros (VICTÓRIA FILHO, 1983).

Estudos básicos para se verificar os efeitos fisiológicos dos herbicidas nas plantas de citros, têm sido conduzidos. Assim, GOREM & MONSELISE (1966), em Israel, verificaram o efeito da simazine e atrazine nas doses de 0,90; 1,34 e 1,79 Kg i.a./ha em mistura com amitrole a 2,69; 3,58 e 4,48 Kg i.a./ha, em plantas de laranja "Shamouti", com um ano após plantio, tendo como porta-enxertos laranja "Doce" e laranja "Azeda". Nos solos pesados os sintomas de fitotoxicidade com atrazine apareceram cerca de 6 meses após um período quente e seco. As folhas tornaram-se bronzeadas e secas, o crescimento paralizou, o peso seco, a clorofila e a atividade da catalase das folhas diminuíram, e a atividade da peroxidase aumentou, quando comparado com a testemunha. No entanto, a simazine, ao contrário, aumentou o crescimento, nitrogênio total e proteico, e a clorofila nas folhas. Não afetou a peroxidase, catalase e Ácido ascórbico, porém, diminuiu levemente o peso seco.

Também, o fluometuron, em Israel, aplicado em doses de até 80 kg i.a./ha em plantas adultas de laranja "Pera", e de 16 kg i.a./ha em plantas jovens de laranja "Azeda", não teve influência na fotossíntese, respiração, peso seco e conteúdo de clorofila nas folhas. Os dados de laboratório mostraram que os citros podem ser considerados resistentes ao fluometuron, e que a falta de translocação das raízes para

a parte aérea, assim como a demetilação, são as causas da seletividade (GOREN, 1969).

No Brasil, dentre os trabalhos realizados com o objetivo de se verificar o efeito dos herbicidas no desenvolvimento das plantas de citros, está o conduzido por VICTÓRIA FILHO (1983). Nesse trabalho, com dois experimentos conduzidos a longo prazo, um em Jaboticabal-SP, utilizando-se plantas do cultivar Natal, e o outro em Conchal-SP com plantas do cultivar Pera, ambos cultivares enxertados sobre limão "Cravo", foram realizadas amostragens em doze épocas, por um período de 6 anos, sempre nos meses de março e outubro.

O experimento de Jaboticabal recebeu uma aplicação anual de herbicida sendo a primeira realizada quando o pomar já apresentava um certo desenvolvimento, isto é, com cerca de 4 anos após o plantio no campo. Os herbicidas utilizados neste experimento em kg i.a./ha foram: fluometuron 4,2; simazine 4,8; atrazine 4,8; bromacil 3,2; bromacil + diuron (Krovar I) 4,8; bromacil + diuron (Krovar II) 4,8; terbacil 3,2; oxadiazon 1,5; dichlobenil 3,0 e 6,0 kg i.a./ha.

O experimento de Conchal, recebeu também uma aplicação anual de herbicida, sendo que a primeira foi realizada estando o pomar com 2 anos de plantio no campo. Os herbicidas utilizados neste experimento em kg i.a./ha foram: terbacil 3,2; simazine 4,0; ametrine + sebumetone 4,5; dichlobenil 5,0; diuron 3,2; bromacil 3,2; bromacil+diuron 3,2; paraquat 0,6; glifosate 1,61 e MSMA 1,77 kg i.a./ha.

Para o experimento de Jaboticabal, observou o autor que o diâmetro perpendicular do caule, diâmetro paralelo do caule e altura de plantas não apresentou diferença estatística entre os tratamentos, bem como não se observou efeitos fitotóxicos a não ser alguma clorose foliar nos últimos anos em alguns tratamentos, porém, de difícil identificação, uma vez que também ocorreram em algumas parcelas da testemunha.

Semelhança se verificou na Califórnia, EUA, com doses altas desses herbicidas residuais em citros, sendo considerado difícil de ser distinguido de anormalidades devido a outras causas como: problemas de nutrição, doenças e problemas de água e solo (JORDAN *et alii*, 1969).

No experimento conduzido em Conchal, notou-se com relação ao diâmetro perpendicular do caule, diâmetro perpendicular da copa e diâmetro paralelo da copa, que não houve diferença estatística entre os diferentes tratamentos utilizados.

Por outro lado, o parâmetro diâmetro paralelo do caule, apresentou valores para o teste de F significativos ao nível de 5%, na 9ª e 11ª medições; todavia, quando se aplicou o teste de TUKEY, não foi notada diferença entre os tratamentos, devido estas diferenças terem provavelmente ocorrido muito próximos dos valores de significância. Ainda, a altura de plantas mostrou diferença entre os tratamentos na 4ª época quando o tratamento com simazine e apresentou-se com menor valor, e bromacil + diuron com maior valor. A explicação dada para este fato, segundo o autor foi que nos anos de 1977 e 1978, pelos dados de controle das plantas daninhas, verificou-se que o tratamento com simazine não apresentou um controle satisfatório das plantas daninhas, principalmente de gramíneas, naqueles anos, o que pode ter contribuído para um menor desenvolvimento daquelas plantas. Contudo, nos anos seguintes não se verificou diferenças estatísticas entre os tratamentos, muito embora o tratamento com simazine tenha permanecido com altura menor que os demais tratamentos.

Durante todo o transcorrer do ensaio de Conchal, não se verificou efeitos fitotóxicos visuais às plantas de citros.

Concordando com os resultados obtidos em Conchal, na Itália, tem-se observado que os herbicidas diuron, simazine, paraquat, diquat, bromacil e terbacil não apresentaram resíduos a ponto de afetar o crescimento ou mesmo de apresentar sintomas de fitotoxicidade às plantas de citros (TORRISI, 1969).

Trabalhos realizados em Cuba, por PEREZ (1976), com os herbicidas fluometuron, monuron, simazine e bromacil, e em Araras-SP por CRUZ *et alii* (1978), com secbumetone, ametrine + atrazine, secbumetone + ametrine, terbutilazine + terbumetone, bromacil, terbacil e simazine + ametrine num experimento conduzido por 4 anos, não se verificou influência no desenvolvimento e produção das plantas de citros.

Também, bons resultados tanto no crescimento da planta como na produção de citros, se observou na Flórida, EUA, e na Espanha. Atribuindo-se a estes bons resultados, um melhor controle das plantas daninhas e uma menor injúria às raízes da

cultura pelo uso de determinados herbicidas quando comparados ao sistema convencional de controle do mato (MILELLA & DEIDDA, 1973; RYAN, 1969). Por outro lado, em Cuba, PEREZ (1976) quando se aplicou atrazine na dose de 4,8 kg do i.a./ha por três vezes ao ano, em um pomar de laranja "Valência", apresentou efeito depressivo no diâmetro do tronco, cerca de 18% menor que a testemunha.

Com relação aos sintomas visuais de fitotoxicidade, diversos pesquisadores não encontraram efeitos em plantas de citros nas mais diversas condições ecológicas como é o caso de RODRIGUEZ (1960), com diuron; MOREIRA e DONADIO (1968 e 1969), com diuron, fluometuron e simazine; VIEIRA *et alii* (1973) com bromacil + diuron, diuron e simazine; PRATES *et alii* (1980) com MSMA e glifosate; GREGORY e ROESSING (1964), com bromacil e diuron; DONADIO *et alii* (1971), com terbacil e paraquat; ORTUÑO *et alii* (1973), com simazine, fluometuron, bromacil e bromacil + diuron; FONTES *et alii* (1979), com bromacil + diuron e diuron e POMPEU *et alii* (1980), com diuron, MSMA e bromacil + diuron.

Em países onde o controle das plantas daninhas com herbicidas é mais frequente, pequenas são as influências no desenvolvimento e produtividade das plantas de citros pelos principais herbicidas aplicados nesta cultura (JORDAN *et alii*, 1969; RYAN, 1969; GOREN & MONSELISE, 1969 e TORRISI, 1969. Ainda, há citação onde se mostra vantagens em termos de produção para o controle químico, atribuindo-se ao melhor controle das plantas daninhas, quando comparado com os diversos tipos de manejo do solo (HERBOLDT, 1969).

Quanto aos fatores da seletividade dos principais herbicidas residuais utilizados na citricultura, estes estão relacionados tanto ao posicionamento dos herbicidas no solo, bem como à tolerância fisiológica das plantas de citros aos herbicidas (JORDAN *et alii*, 1969).

Ainda, tem-se atribuído à rápida degradação dos herbicidas no solo, a provável ausência de fitotoxicidade para as plantas de citros, mesmo em aplicações repetidas (TUCKER & PHILLIPS, 1969; PARRA *et alii*, 1973 e TUCKER, 1978).

## **2.5. Importância dos fungos MVA nas plantas**

As associações entre raízes e determinados fungos do solo, denominadas micorrizas, ocorrem na maioria das espécies vegetais superiores.

O termo micorrizas foi inicialmente proposto pelo botânico alemão Albert Bernard Frank, em 1885, originando-se do grego, onde "mico" significa fungo e "riza", raízes (SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

Essas associações envolvem fungos simbiotróficos, sem estágio patogênico, que vivem e, se alimentam em simbioses, tornando essas associações mutualísticas, podendo ser agrupadas com base na anatomia das raízes colonizadas em ectomicorrizas, ectendomicorrizas e endomicorrizas.

Os agrupamentos micorrízicos se identificam por serem: a) as ectomicorrizas caracterizadas pelas penetrações intercelular do micélio fúngico, formação da rede de Hartig, no interior do córtex, e do manto, que se desenvolve ao redor dos segmentos das raízes colonizadas. Além destas características anatômicas, são ainda evidentes as modificações morfológicas nas mesmas raízes. b) as ectendomicorrizas geralmente são ectomicorrizas com penetração intracelular, havendo diferenças anatômicas em função da planta hospedeira, em sub-grupos das Pinaceales, e das Ericales do gênero **Arbustos e Monotropa**. c) as endomicorrizas caracterizadas pela penetração inter e intracelular, ausência de manto e de modificações morfológicas nas raízes. São de ocorrência muito generalizada e se subdividem em Ericóides, Orquidóides e Vesicular-Arbusculares (LOPES *et alii*, 1983 e SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

Do ponto de vista ecológico e sob considerações práticas, as ectomicorrizas e endomicorrizas MVA são as mais importantes. Apresentam as ectomicorrizas baixa diversidade de espécies para plantas hospedeiras, com cerca de 2.000 espécies, predominando nas Gimnospermas, e de ocorrência em poucas espécies de Angiospermas. Apresentam alta diversidade para os fungos simbiotes, sendo conhecidas em torno de 5.000 espécies (SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

Os mesmos autores apresentam ainda, uma lista parcial de famílias e gêneros de angiospermas e gimnospermas que formam ectomicorrizas.

Dentre as endomicorrizas destacam-se as do tipo Vesículo-arbusculares (MVA) que são aquelas formadas por fungos da família Endogonoceae (Subdivisão Zigomicotina) e a maioria das espécies vegetais superiores (MOSSE, 1981). As MVA ocorrem em 97% das plantas vasculares, pelo menos 300.000 espécies, sendo conhecidas em torno de 140 espécies de fungos. No Brasil, os principais gêneros encontrados são *Glomus*, *Acaulospora*, *Scutellospora*, *Gigaspora*, *Entrophospora* e *Sclerocystis* (SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

As MVA são de distribuição generalizada, no entanto, as famílias das Cruciferae, Chenopodiaceae, Cyperaceae, e famílias de plantas caracterizadas como plantas que formam ectomicorrizas, entre elas as Pinaceae, Betulaceae e Fagaceae não formam esta simbiose (GERDEMANN, 1975).

SIQUEIRA & FRANCO (1988) comentam que ao contrário das ectomicorrizas, nas MVA não se verificam modificações anatômicas resultantes da invasão das raízes pelo fungo, não sendo assim reconhecidas sem ajuda de aparelho ocular. E que as raízes de algumas plantas como cebola, milho e outras representantes da família Liliaceae, tornam-se amareladas quando micorrizadas. Ainda, observações microscópicas têm mostrado que os fungos penetram nas células corticais das raízes sem causar danos, o que os diferencia dos fungos patogênicos, fato também verificado nos outros tipos de micorrizas com penetração intracelular.

Citando que levantamentos realizados em várias regiões do mundo mostram que as MVA são bem mais abundantes que as ectomicorrizas, apresentando-se nos trópicos, cerca de 10 vezes mais ocorrência, estando presente na maioria das espécies vegetais. São encontrados em 97% das Fanerogamas, incluindo quase todas as espécies de interesse agrônômico, pastoril e várias florestais, além de serem importantes para a composição florística e a estabilidade dos ecossistemas naturais.

A fisiologia das micorrizas para esses autores, são de que o tipo e intensidade de micorrizas encontradas nas raízes, bem como o seu funcionamento, são determinados pelos genomas do fungo e da planta, modelados pelo ambiente, que é representado pelo solo e clima. A penetração e o crescimento do fungo nas raízes, resultam em modificações na fisiologia, bioquímica e nutrição da planta hospedeira, exercendo enorme efeito sobre seu comportamento. Estabelecida a simbiose, ambos

organismos são beneficiados. As hifas externas do fungo funcionam como extensões do sistema de absorção do hospedeiro, transportando nutrientes de zonas dentro e fora do alcance das raízes absorventes para as células corticais. Dentre os nutrientes, o fósforo é o mais importante do ponto de vista nutricional para o hospedeiro. O processo de absorção do fósforo pelas hifas é ativo, pois a concentração iônica deste elemento no solo é usualmente menor que 1ppm, e as hifas contém 3.000 ppm. Após absorvido, o fósforo é convertido em grânulos de polifosfato nos vacúolos e transportado, pela corrente citoplasmática, até as vesículas onde pode ser armazenado temporariamente, ou ir diretamente para os arbúsculos, onde é hidrolizado pelas fosfatases, em fosfatos inorgânicos que é transferido à célula vegetal, passando pela interface fungo-planta denominada matriz. O fosfato inorgânico transferido para a planta é transportado até o xilema e translocado para outras partes, principalmente para as folhas, onde desempenham papel de grande importância no controle da colonização radicular em benefício da associação. Simultaneamente e em sentido contrário, ocorre a transferência de carboidratos oriundos da fotossíntese, que atingem as raízes, via floema, na forma de sacarose. Nas raízes, a sacarose é hidrolizada pela invertase e os monômeros glicose e frutose, ou seus derivados, são transferidos para o fungo, via arbúsculos. Arbúsculos são estruturas semelhantes a haustórios, ou ainda hifas enoveladas, os chamados "pelotões", ou "tortil" (LOPES *et alii*, 1983). Estas estruturas atuam diretamente nos processos de transferência de nutrientes absorvido do solo pelo fungo e de fotossintatos da planta entre os simbioses (COX *et alii*, 1975). Os arbúsculos podem ser formados 2 a 3 dias após o estabelecimento da simbiose, permanecendo por um período aproximado de 1 a 3 semanas até serem degenerados (MOSSE, 1981).

As glicose e frutose são então metabolizadas para fornecerem energia ao sistema e sustentar o crescimento e a esporulação do fungo.

Portanto, a transferência de fotossintatos da planta para o fungo, e de nutrientes minerais absorvidos pelas hifas no solo, para a planta, representam as bases do funcionamento e dos efeitos desta simbiose.

Deve-se considerar ainda a idade e a fase de desenvolvimento da planta. Em geral, a taxa de colonização micorrizica e o número de esporos no solo são maiores

depois do período de máximo desenvolvimento das raízes, (HAYMAN, 1970), o que, provavelmente ocorre a partir do florescimento da planta, (SAIF & KHAN, 1975).

Os efeitos benéficos da simbiose MVA podem resultar de um ou mais mecanismos destacando-se: a) aumento na absorção e melhor conservação de nutrientes; b) aumento na nodulação e fixação do N<sub>2</sub> atmosférico; c) alteração na relação planta-patógeno; d) alteração na relação água-solo-planta; e) aumento na produção de fitohormônios; f) modificações anatômicas e fisiológicas do hospedeiro; g) melhor adaptabilidade de planta às condições adversas. Estes mecanismos geralmente, apresentam certa interdependência, o que dificulta sobremaneira sua caracterização e individualização (FERNANDES, 1987; ANTUNES, 1987; BALOTA, 1989 e FONTANEZZI, 1989).

Fatores de manejo do solo como a aplicação de fertilizantes e/ou corretivos ao solo provocam uma modificação nas suas condições físicas, químicas e biológicas e com isto os fungos MVA indígenas podem não se adaptar às novas condições, resultando em redução na colonização das raízes (MOSSE, 1981).

É sabido que os principais fertilizantes que afetam o desenvolvimento micorrízico são os nitrogenados e fosforados (HAYMAN, 1970). Com a aplicação de 45 Kg/ha de fósforo, KUCEY & PAUL (1983) verificaram que a colonização das raízes de fava *Vicia faba* caiu de 47% para 15% e o número de esporo foi reduzido à 50%.

Os fungos MVA respondem diferentemente quanto à adição de fertilizantes fosfatado no solo (FERNANDES, 1987).

Também, o modo e a época de aplicação dos fertilizantes fosfatados, podem ter importância marcante sobre a simbiose MVA. Os efeitos da aplicação de fertilizantes fosfatados sobre a porcentagem de colonização têm sido maior no primeiro ano e estes efeitos declinam no segundo ano, por causa da seletividade de desenvolvimento da simbiose (SPARLING & TINKER, 1978). Entretanto, a aplicação parcelada destes fertilizantes fosfatados, diminui sua ação detrimental sobre a simbiose (CHILVERS & DAFT, 1981).

Em solos com nível médio de fósforo SYLVIA & SCHENCK (1983), verificaram que a aplicação de superfosfato aumentou a eficiência de esporulação de *Gigaspora margarita* e *Gigaspora heterogama*, e diminuiu, significativamente, a eficiência de

esporulação de *Glomus etunicatum* e *Glomus macrocarpum*. Este aumento na eficiência de esporulação após a aplicação de superfosfato foi considerada pelos autores como sendo devido a uma melhora real na eficiência de produção de esporos ou ao aumento no comprimento das raízes, sobre as quais os esporos podem desenvolver-se.

Outro aspecto que deve-se considerar, é o efeito da monocultura sobre o desenvolvimento da simbiose MVA, por ser muito variável de espécie para espécie. Contudo, alguns tipos de monocultura podem diminuir a população fúngica (SCHENCK & KINLOCK, 1980).

Por outro lado, tem-se observado que após 16 anos de monocultura com trigo, as parcelas apresentaram 35 vezes mais esporos que as com batata, sendo que este fato pode estar relacionado com a maior ou menor susceptibilidade do hospedeiro em formar simbiose MVA (KRUCKELMANN, 1975).

Também, algumas espécies de plantas citadas como não micorrízicas, como é o caso de *Chenopodium album* L., podem até apresentar colonização quando em presença de plantas de citros micorrizadas (HIRREL *et alii*, 1978).

Em citros os benefícios das associações micorrízicas tornam-se evidentes principalmente em viveiros ou em situações de replantio onde os fungos MVA de ocorrência natural são destruídos pela fumigação do solo (KLEINSCHMIDT & GERDEMANN, 1972 e MENGE *et alii*, 1975).

Nos Estados Unidos da América do Norte a prática de fumigação do solo é muito difundida para eliminação de patógenos (MARTIN, 1948; MARTIN *et alii*, 1953 e 1963 e MENGE *et alii*, 1977). No entanto, tem-se verificado o aparecimento de plantas cítricas com crescimento limitado, vigor reduzido com sintomas de necrose e bronzeamento das folhas em sementeiras, viveiros, pomares e em casa de vegetação quando cultivadas em solo previamente fumigado (MARTIN *et alii*, 1963; KLEINSCHMIDT & GERDEMANN, 1972; SCHENCK & TUCKER, 1974; TIMMER & LEYDEN, 1976 e 1978). Tais sintomas, caracterizando deficiência de nutrientes e paralização do crescimento dessas plantas têm sido atribuído à morte dos fungos MVA por ocasião da fumigação (GERDEMANN, 1968; HATTINGH & GERDEMANN, 1975;

MENGE & JOHNSON, 1978 e MENGE *et alii*, 1977), e, não a uma Inadequada adubação fosfatada do solo (TIMMER & LEYDEN, 1978).

Assim, esses efeitos prejudiciais podem ser eliminados pela inoculação dessas plantas com determinados fungos micorrízicos (KLEINSCHMIDT & GERDEMANN, 1972 e SCHENCK & TUCKER, 1974). A introdução desses fungos MVA em solos fumigados, segundo MENGE *et alii* (1975) passa a ser um fator indispensável para a obtenção de um desenvolvimento ótimo das plantas cítricas, tendo-se obtido aumentos da ordem de 20 a 2600% no crescimento dessas plantas Inoculadas (MENGE *et alii*, 1977).

Entretanto, além dos fungos MVA estimularem o crescimento do citros, a micorriza pode reduzir significativamente aplicações de adubos fosfatados ao substrato (TIMMER & LEYDEN, 1979; GRAHAM & TIMMER, 1984 e CARDOSO *et alii*, 1986).

Assim, plantas cítricas micorrizadas podem atingir concentrações ótimas de fósforo com menores quantidades de fosfato adicionado (MENGE, 1983).

Ainda, se constatou que plantas cítricas não micorrizadas geralmente apresentam concentrações mais baixas de fósforo nos tecidos (KRIKUN & LEVY, 1980 e ZAMBOLIM & PINTO, 1985), com ocorrência de severa e freqüente deficiência de fósforo na ausência de fungos MVA (KLEINSCHMIDT & GERDEMANN, 1972).

As espécies de fungos MVA diferem quanto à efetividade na promoção do desenvolvimento das plantas cítricas (EDRISS *et alii*, 1984 e FONTANEZZI *et alii*, 1987). Contudo, como ocorre para outras espécies vegetais, a magnitude das respostas à inoculação com fungos MVA em citros, é função dos seguintes fatores: a) disponibilidade de fósforo no solo (MENGE *et alii*, 1978; HAYMAN, 1982 e ANTUNES & CARDOSO, 1987). b) Taxa de colonização micorrízicas nas raízes (McGRAW & SCHENCK, 1981). c) Expansão do micélio externo às raízes (GRAHAM *et alii*, 1982). d) e das espécies de citros e de fungos associados (MENGE *et alii*, 1977 e NEMEC, 1978; DANIELS & MENGE, 1981; CALDEIRA *et alii*, 1983 e EDRISS *et alii*, 1984).

Estudos realizados com as espécies de fungos MVA *Glomus clarum*, *Acaulospora morrowae* isoladamente e a mistura entre as espécies de *Glomus macrocarpum*, *Gigaspora margarita*, *Scutellospora heterogama*, *Glomus clarum* e *Acaulospora morrowae* mostraram-se mais efetivos na promoção do desenvolvimento de limoeiro "Cravo" quando comparados com tratamentos inoculados com *G.*

*macrocarpum*, *G. margarita* e *S. heterogama*, isoladamente (FONTANEZZI *et alii*, 1987). Já, *Gigaspora gilmorei* e *Glomus leptotichum* têm se mostrado eficientes para o limão "cravo", *Citrus volkameriana* e laranja "Caipira" (CARDOSO *et alii*, 1986).

Define-se dependência micorrízica, segundo GERDEMANN (1975), como o grau no qual a planta é dependente da condição micorrízica para produzir o máximo crescimento ou produção a um dado nível de fertilidade do solo. Assim, tem-se verificado que algumas espécies de citros são muito dependentes dos fungos MVA para a melhoria da eficiência de seus sistemas radiculares, sendo observado que esta dependência é mais pronunciada em condições de menor disponibilidade de fósforo no substrato (GRAHAM, 1986).

A inoculação de citros com fungos MVA, em casa-de-vegetação, pode ser feita a partir de esporos dos fungos, micélio e raízes de plantas hospedeiras colonizadas ou solo contendo todos esses componentes colocados próximos às sementes ou em contato direto com as raízes de citros (KLEINSCHMIDT & GERDEMANN, 1972; HATTINGH & GERDEMANN, 1975 e MENGE *et alii*, 1977). Ainda, inoculantes constituídos por mistura de esporos, micélio e raízes infectadas possui, geralmente, maior potencial de inoculação do que esporos purificados ou material de raízes. Entretanto, esse tipo de inoculante tem dificultado a quantificação e a precisão dos resultados (MENGE & TIMMER, 1982).

SIQUEIRA & FRANCO (1988) citam que se considerar as condições edafoclimáticas, as aptidões agroflorestal e pastoril e a escassez de recursos financeiros e materiais destinados à agricultura, existe no Brasil um enorme potencial para o uso dos fungos micorrízicos. E que a aplicação biotecnológica dos inoculantes ectomicorrízicos em larga escala, no setor de reflorestamento, seria facilitada se a tecnologia disponível no exterior fosse adaptada às condições climáticas e mercadológicas existentes no país.

Por outro lado, o uso dos fungos MVA se expandiria se espécies ou isolados com elevada efetividade/eficiência simbiótica e competitividade fossem selecionados e se tecnologias viáveis economicamente para produção, armazenamento e aplicação de inoculante, fossem desenvolvidas.

Assim, a utilização desses fungos despertará maiores interesses quando a oferta ou o custo dos fertilizantes, especialmente dos fosfatados, tornarem-se limitantes.

## **2.6. Fatores que influenciam as micorrizas**

As micorrizas são influenciadas por fatores inerentes à planta, ao fungo e edafo-climáticos, que atuando sobre os propágulos ou sobre as diferentes fases da simbiose, afetam a sua formação e o seu funcionamento, bem como as relações ecológicas ligadas a essas associações.

Neste item são discutidos os fatores edafo-climáticos, que atuam tanto na formação como no funcionamento e ocorrência da simbiose que são: disponibilidade de nutrientes, pH do solo, características físicas do solo, luz e temperatura, matéria orgânica, microbiota e fauna, e, flutuação sazonal.

### **2.6.1. Disponibilidade de nutrientes**

A micorrização é geralmente inibida em condições de elevada fertilidade, sendo verificado por diversos pesquisadores, que nestas condições a ocorrência e intensidade da simbiose MVA são significativamente menores (GIANINAZZI-PEARSON *et alii*, 1980; JENSEN & JAKOBSEN, 1980, MOSSE *et alii*, 1981 e SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

Dentre os nutrientes essenciais à planta, o fósforo e o nitrogênio são os que exercem efeitos mais acentuados na simbiose, sendo esses mais relatados nas MVA do que nas ectomicorrizas.

Inúmeros trabalhos têm mostrado que altos níveis de fósforo no solo diminuem a colonização micorrízica, bem como a resposta do hospedeiro à simbiose (COOPER, 1975; SMITH, 1978 e KUCEY & PAUL, 1983).

Dos efeitos do fósforo nas MVA, sabe-se que ele atua no estabelecimento e funcionamento da simbiose e na distribuição e composição das espécies. Tanto o fósforo quanto o nitrogênio não exercem efeitos fungistáticos ou fungicidas sobre os propágulos do fungo na rizosfera, pelo menos em concentrações próximas do ótimo requerido pela planta hospedeira (SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

Para SANDERS (1975) os efeitos do fósforo sobre a colonização das raízes são indiretos via planta. Segundo SIQUEIRA & FRANCO (1988), aumentando-se a disponibilidade deste elemento no solo, aumenta sua absorção pela planta e sua concentração na parte aérea, onde ele atua nos processos fisiológicos e/ou metabólicos relacionados à fotossíntese, crescimento, partição e distribuição de fotossintatos na planta, que atuam no estabelecimento e funcionamento da associação, agindo como um mecanismo de autoregulação da simbiose. Esse mecanismo, citam os autores, é diferente nos diferentes tipos de micorrizas, e até diferentes sistemas fungo-planta do mesmo tipo. Aplicações de pequenas quantidades de fertilizantes podem favorecer o desenvolvimento de micorrizas, em solos com alto grau de deficiência, mas quantidades mais elevadas inibem a colonização, estando esses efeitos relacionados com o estado nutricional da planta. Plantas de soja com mais de 0,13% de fósforo e 2,2% de nitrogênio na parte aérea, apresentam redução na colonização, e, para o milho verificou-se uma relação linear inversa entre o teor de fósforo na planta e a colonização das raízes.

O nível crítico de fósforo para o desenvolvimento da simbiose MVA é determinado pelo conteúdo de fósforo no solo e sua taxa de difusão, bem como, da espécie vegetal que desenvolve sobre ele (COOPER, 1975).

Algumas espécies de fungos, no entanto, parecem adaptar-se bem a diferentes níveis de fósforo no solo. Assim por exemplo, *Glomus intraradices* e *Glomus etunicatum* ocorreram em solos com teores de fósforo disponível variando entre 2,8 a 448 ppm (SCHENCK & SMITH, 1981).

Efeitos benéficos foram observados em mudas de cafeeiros inoculados com *Gigaspora margarita* por COLOZZI-FILHO & SIQUEIRA (1986), as quais apresentaram máximo desenvolvimento vegetativo e índice de colonização, quando desenvolvidos em substrato com nível de fósforo disponível de 24 ppm. Ainda, verificou-se que este efeito benéfico, foi ligeiramente diminuído em maiores níveis de fósforo disponível, atingindo efeito negativo a partir de 80 ppm. Nas condições daquele experimento os autores concluíram que, o máximo efeito benéfico para a simbiose e crescimento vegetativo, obtém-se com níveis de fósforo disponível no substrato em torno de 50-60 ppm.

Por outro lado, o nitrogênio em alguns casos tem sido considerado até mais depressivo que o fósforo (HAYMAN, 1970). Com a forma  $N-NH_4^+$  parecendo ser mais inibitória para a simbiose MVA do que a forma  $N-NO_3^-$  (BROWN *et alii*, 1981). Porém, a influência da interação nitrogênio x fósforo na simbiose MVA ainda não está bem esclarecida (FERNANDES, 1987). Contudo, sob condições controladas, HAYS *et alii* (1982), observaram que aparentemente, existe pouco efeito do fósforo tanto do tecido foliar como do solo sobre a colonização micorrízica, quando esta já está limitada pela disponibilidade de nitrogênio.

A elevação na disponibilidade de nutrientes no solo, especialmente de fósforo, além de reduzir a colonização das raízes, pode diminuir a esporulação e a diversidade de espécies fúngicas (SIQUEIRA & FRANCO, 1988). Citando ainda, que sobre a ocorrência de certas espécies de fungos MVA, com relação à influência do fósforo disponível no solo, têm-se observado em solos do Estado de Minas Gerais que enquanto *Acaulospora scrobiculata* e *Glomus etunicatum* são favorecidas por altos níveis de fósforo no solo, as demais são reduzidas.

Existem poucas informações acerca da influência de outros nutrientes sobre a simbiose MVA (FERNANDES, 1987). Entretanto, ao contrário do que ocorre com os macronutrientes nitrogênio e fósforo, os micronutrientes (Zn, Cu, Mn e Fe) e outros elementos, como o Al e metais pesados atuam diretamente sobre os propágulos, que apresentam elevada sensibilidade à toxicidade desses íons (SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

A adição de sulfato de zinco aumentou a colonização micorrízica da soja por *Glomus mosseae*, diminuindo nas doses superiores a 45 mg de zinco por quilo de solo (McILVEEN & COLE, 1978). Em solos que apresentaram toxicidade ao alumínio os esporos de MVA foram pouco frequentes e as árvores de macieira apresentaram baixa colonização micorrízica (TRAPPE *et alii*, 1973).

Esses efeitos diferenciados promovem modificações na capacidade do solo em formar micorrizas e, se esta for muito reduzida, pode favorecer o aparecimento de distúrbios nutricionais e/ou doenças do sistema radicular, aumentando o requerimento de nutrientes pelas culturas, reduzindo sua tolerância ao estresse hídrico e, conseqüentemente, sua sobrevivência e produtividade (SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

### 2.6.2. pH do solo

O pH do solo influencia qualitativa e quantitativamente os fungos MVA, sendo alguns mais eficientes em pH baixo, outros em pH alto, enquanto outros são moderadamente eficientes em uma larga faixa de pH (POWELL, 1977).

Num estudo comparativo, em alguns solos da Austrália, sobre a distribuição e abundância do fungo MVA, ABBOT & ROBSON (1977), verificaram que em solos com pH acima de 5,3 ocorreram somente esporos de *Glomus* e, em solos com pH abaixo de 4,6, apenas *Acaulospora* e naqueles com pH entre 4,6 a 5,3 ambos os gêneros. Contudo, esporos de *Acaulospora*, em outras localidades, ocorreram em pH menores que 5,4, sugerindo que outras propriedades do solo relacionada com o pH influencia sua ocorrência.

O fato de fungos MVA serem observados em solos com pH que variam desde 2,7 (DAFT *et alii*, 1975), a 9,2 (BOWEN, 1980), é uma evidência de sua alta capacidade de adaptação fisiológica. Tem-se verificado que populações de *Gigaspora* e *Acaulospora* apresentam maiores índices de germinação de esporos, colonização radicular e ocorrência natural em pH mais baixo, enquanto populações de *Glomus* apresentam níveis ótimos em pH mais alto, próximos ou superiores a 7,0 (SIQUEIRA *et alii*, 1986; LAMBAIS & CARDOSO, 1988). Entretanto, a colonização de raízes mostrou-se mais sensível à variação do pH que à germinação dos esporos (LAMBAIS & CARDOSO, 1988), sendo que em relação a colonização (HAYMAN & TAVARES, 1985), observaram diferentes espécies apresentando seus ótimos de desenvolvimento em relação ao pH.

Por estas observações, sugere-se que o pH isoladamente não se constitui no único fator de controle da colonização das raízes em solos ácidos e, que outros fatores como Al, Mn e outros metais podem atuar como agentes fungistáticos (SIQUEIRA *et alii*, 1984).

Outros trabalhos, no entanto, não encontraram influência do pH sobre o desenvolvimento micorrízico em condições naturais (READ *et alii*, 1976 e SPARLING & TINKER, 1978). Tal fato, vem reforçar a hipótese de que o desenvolvimento micorrízico

não é afetado tão somente pelo pH do solo, mas também, por modificações nas concentrações dos diversos íons do solo.

O mecanismo de ação do pH sobre os fungos MVA e sua simbiose é pouco conhecido, mas acredita-se que esses efeitos possam resultar da ação direta de íons  $H^+$ , ou de mudanças nas propriedades químicas do solo, atuando sobre o fungo, a planta ou a simbiose (SIQUEIRA *et alii*, 1986).

Em condições de campo é muito difícil de se avaliar o efeito do pH sobre o desenvolvimento da simbiose pois, várias propriedades do solo estão correlacionadas com este parâmetro (FERNANDES, 1987).

Também, tem se verificado que algumas espécies de fungos apresentam distribuição generalizada, como as espécies de *Glomus Intraradices* e *Glomus etunicatum* encontradas em solos ácidos e básicos de todo o estado da Flórida - EUA (SCHENCK & SMITH, 1981).

Em geral, a calagem dos solos minerais ácidos elimina os fatores fungistáticos e favorece o estabelecimento das MVA, especialmente daquelas formadas por espécies do gênero *Glomus*, que, com poucas exceções preferem solos com pH próximo do neutro a alcalino, ao contrário do que é observado para a maioria das espécies dos gêneros *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Scutellospora* e *Entrophospora*, que preferem pH na faixa ácida (SIQUEIRA & FRANCO, 1988). Ainda, para os mesmos autores a calagem dos solos minerais ácidos não cultivados pode, pelo menos temporariamente, reduzir a formação de micorrizas, pois a elevação do pH pode ter efeitos adversos sobre a infectividade dos fungos nativos, naturalmente adaptadas às condições ácidas.

Variações no pH interferem no índice de ocorrência das espécies e densidade de esporos na rizosfera do cafeeiro (FERNANDES, 1987). A elevação do pH para próximo da neutralidade, nos canteiros de formação de mudas de espécies florestais como o *Pinus*, constitui uma limitação para o bom desenvolvimento do *Pisolithus tinctorius* e *Cenococcum graniforme* nas raízes. Também, existem fungos ectomicorrízicos como espécies dos gêneros *Rhizopogon*, *Boletus* e *Tuber*, que não toleram os solos ácidos (SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

Entretanto, citam que os efeitos do pH sobre as condições químicas e biológicas do solo, como a solubilidade de certos elementos com ação fungistática (Al, Mn) em

condições ácidas, e o favorecimento de bactérias e actinomicetos antagonistas em pH neutro, que influenciam significativamente na formação das micorrizas, precisam ser melhor avaliados nos solos tropicais.

### 2.6.3. Características físicas do solo

O nível de umidade do solo, aeração, inundação e a textura influenciam as micorrizas. Solos com elevado teor de umidade ou sujeitos à inundação, portanto com aeração deficiente, são geralmente desprovidos de micorrizas, porque os fungos micorrízicos são aeróbicos obrigatórios (SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

Em plantas de *Ipomoea carnea* quando desenvolvidas temporariamente em solos alagados e barrentos, não se encontrou esporos, contudo, em plantas desenvolvidas em solos secos observou-se alta densidade de esporos (KHAN, 1971). Resultados semelhantes, RABATIN (1979) encontrou quando estudava colonização micorrízica em gramíneas. Plantas estressadas hidricamente também apresentaram maior colonização em relação as que receberam adequado suprimento de água (NELSEN & SAFIR, 1982).

Concordando, BOLGIANO *et alii* (1983), constataram um aumento na colonização com a redução na umidade, para os mesmos níveis de fósforo. Contudo, plantas crescidas em ambiente com alta umidade no solo, podem apresentar-se micorrizadas, porém, com baixo índice de colonização (READ *et alii*, 1976).

Em regiões com altos níveis de precipitação, MOSSE & BOWEN (1968) verificaram que a ocorrência de esporos pode diminuir, enquanto que a deficiência hídrica parece não influenciar acentuadamente a simbiose, sendo encontrado por SAITO *et alii* (1983), propágulos desses fungos em condições extremamente secas. No entanto, o desenvolvimento de micorrizas é favorecido por condições próximas à capacidade de campo (SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

A germinação de esporos de *Glomus epigaeum*, foram doze vezes maior em solos com 50% de umidade do que a 10% (DANIELS & TRAPPE, 1980), tendo-se o número de esporos correlacionado negativamente com a umidade do solo e positivamente com o crescimento da planta (ANDERSON *et alii*, 1983).

A alternância entre ciclos de umidade e secagem parece favorecer a esporulação dos fungos MVA, e os níveis elevados de umidade no solo favorecem o desenvolvimento de hiperparasitas de esporos micorrízicos, reduzindo a viabilidade dos mesmos como propágulos (SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

Outras condições do solo, como a textura, determinam a distribuição espacial do número de esporos. Em solos argilosos, ALLEN & ALLEN (1980), encontraram menor número de esporos, concordando com a sugestão de GRIFFIN (1972), de que em solos de textura fina, com pequenos poros, existe a possibilidade da produção de menor número de esporos. Assim, a variação espacial pode ocorrer devido às características físico-químicas do solo, aliadas às características de algumas espécies de fungos MVA esporularem em grupos ou agregados ou mesmo dentro de raízes, o que possibilita a ocorrência de maior número de esporos em microsítios com menor textura e/ou próximo às raízes (WALKER *et alii*, 1982 e ANDERSON *et alii*, 1983).

A partir destas considerações, para se avaliar população micorrízica associada a plantas perenes, é de extrema importância estudos para determinação da área amostrada com melhor representatividade, uma vez que a população de esporos, como visto pode ser influenciada pelo estágio de desenvolvimento da planta hospedeira e pela distribuição do seu sistema radicular.

#### **2.6.4. Luz e Temperatura**

A temperatura do solo é outro fator físico de grande importância para as micorrizas. Ela interfere na sobrevivência dos propágulos e no estabelecimento e funcionamento da simbiose, porém, tanto os fungos ectomicorrízicos, como os MVA, exibem elevada capacidade de ecoadaptação à temperatura (SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

Conhecimentos básicos dos efeitos da temperatura sobre a colonização da raiz, bem como a resposta da planta em crescimento e a esporulação dos fungos MVA, são de grande importância na perspectiva da aplicação prática destes fungos na agricultura (BALOTA, 1989).

Em condição de casa-de-vegetação, a luz e a temperatura podem afetar a colonização (HETRICK, 1985). Respostas diferentes são observadas para diferentes associações de fungo/hospedeiro, em relação às mudanças de luz e temperatura (FURLAN & FORTIN, 1973 e HAYMAN, 1974). O efeito da temperatura sobre a comunidade fúngica MVA, pode ser considerado como efeito direto sobre o fungo micorrízico e indireto sobre a planta (KOSKE, 1987).

A intensidade da luz e dias longos, aumenta o nível de colonização (JOHNSON *et alii*, 1982), onde se deduz que o menor desenvolvimento da colonização em condições de baixa luminosidade, ocorre por ser a luz um fator limitante à fotossíntese (HAYMAN, 1974).

Esta hipótese por sua vez é reforçada por BETHLENFALVAY & PACOVSKY (1982), em estudo realizado sob condições controladas em soja, no qual observaram uma relação positiva entre o aumento da luminosidade e da colonização micorrízica.

Foi também encontrado evidências sobre a influência da temperatura no estabelecimento e disseminação da colonização, bem como na reprodução de esporos, sendo nas condições de altas temperaturas os índices de colonização e de esporulação maiores (FURLAN & FORTIN, 1973 e HAYMAN, 1974). Algumas espécies possuem o seu máximo de colonização e de esporulação em temperaturas diferentes, enquanto outras possuem numa mesma temperatura (SCHENCK & SMITH, 1982).

### 2.6.5. Matéria orgânica

É de conhecimento geral que a matéria orgânica influencia a estrutura do solo, pH, capacidade de retenção de água e nutrientes, os quais podem influenciar direta ou indiretamente a simbiose, MVA (GIANINZZI - PEARSON & DIEM, 1982). A presença da simbiose MVA pode estar relacionada com o teor de matéria orgânica do solo (St. JOHN & MACHADO, 1978). Tanto assim que o número máximo de esporos ocorreu em solos com 1-2% de matéria orgânica, enquanto que em solos com menos de 0,5% de matéria orgânica apresentam poucos esporos (SHEIKH *et alii*, 1975).

Sob condições de campo, abundante colonização com arbúsculos e hifas foi observado em algodoeiro adubado com esterco (JOHNSTON, 1949), enquanto que a

adição de palhas em solos cultivados aumentou o número de esporos (KRUCKELMANN, 1975).

Camadas húmicas de solos florestais podem apresentar pedaços de raízes micorrizadas, (St. JOHN & COLEMAN, 1983), assim como sementes mortas, (HIRREL *et alii*, 1978) e sementes viáveis no solo, (TABER, 1982), podem conter pedaços de hifas e esporos.

Há relatos de que as hifas de fungos MVA podem exercer atividade saprofítica (WARNER, 1984). Com quanto, os estudos realizados até o momento dão conta que o fungo é um simbiote obrigatório, multiplicando-se apenas na presença do hospedeiro (SIQUEIRA *et alii*, 1985).

#### 2.6.6. Microbiota e Fauna

Certos componentes da microbiota do solo, como fungos, bactérias e actinomicetos, segundo SIQUEIRA & FRANCO (1988), podem atuar como parasitas, antagonistas e comensalistas, em relação aos fungos micorrízicos, citando que no primeiro caso, tem-se os hiperparasitas, como *Rhizidiomycopsis*, *Phlyctochytrium*, *Anquillospora* e *Humicola*, que parasitam esporos, tubo germinativo e micélio, inviabilizando os propágulos dos fungos MVA no solo. Também, o fungo *Stachybotrys chartarum* e actinomicetos do solo inibem a germinação de esporos, sendo que os últimos produzem substâncias voláteis, com elevado poder fungistático. Ainda, determinadas bactérias favorecem a germinação de esporos, e aquelas produtoras de enzimas pectolíticas favorecem o estabelecimento do fungo MVA nas raízes. Além dessas, relações de potenciação entre fungos MVA e rizóbio, bactérias solubilizadoras de fosfato ou *Azotobacter* parecem ocorrer. Por último, os fungos ectomicorrízicos parecem ter também relação de potenciação com as bactérias fixadoras de nitrogênio em vida livre, que se multiplicam abundantemente na micorrizosfera e podem ocorrer até mesmo nos bandiocarpos.

Os fungos formadores de simbiose MVA, são considerados como componentes da microflora do solo, por se desenvolverem em condições naturais na maioria das plantas (KHAN, 1971). Embora, se dê interações antagonísticas com certos organismos

do solo, é frequente a predação da hifa por nematóides e microartropodes (St. JOHN & COLEMAN, 1983). Também, patógenos de raízes e nematóides podem reduzir a colonização micorrízica, provavelmente devido a competição entre os dois organismos por espaço ativo e nutrientes (LOPES *et alii*, 1983).

A desinfecção do solo favorece o desenvolvimento dos fungos MVA, principalmente, por não haver a competição destes com os fungos nativos do solo. Tanto que, em solos não desinfectado a esporulação de *Glomus macrocarpum* e *Gigaspora gigante* é reduzida significativamente (ROSS, 1980).

A fauna do solo tem participação ativa sobre os fungos micorrízicos, atuando na dispersão de propágulos e alimentando-se de hifas e corpos de frutificação, através da micofagia (SIQUEIRA & FRANCO, 1988). Nematóides micófagos, como os do gênero *Aphelencoides sp.*, e *Colembolas* podem alimentar-se do micélio externo destes fungos (MOSSE *et alii*, 1981). Assim, os roedores, nematóides micófagos, colêmbolas e outros animais que atuam no solo são importantes componentes dos sistemas micorrízicos, especialmente nos ecossistemas naturais (SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

#### 2.6.7. Flutuação sazonal

Existe muita dificuldade em se fazer comparações dos diferentes trabalhos encontrados na literatura de estudo de sazonalidade para os fungos MVA, devido a diversidade de ambiente, como clima, solo, hospedeiro e espécies de fungos MVA encontrados. Entretanto, salienta-se a importância e a necessidade de estudos da influência da sazonalidade na variabilidade de propágulos e na produção de esporos (GOULD & LIBERTA, 1981).

Inúmeras observações de flutuações sazonais de fungos MVA, têm sido feitas em vegetação nativa, (BONONI & TRUFEM, 1983), em culturas anuais de interesse econômico, (HAYMAN, 1970; SUTTON & BARRON, 1972; BLACK & TINKER, 1979; HETRICK & BLOOM, 1983; TRUFEM & BONONI, 1985 e BONONI *et alii*, 1988), em culturas perenes, (ROLDAN - FAJARDO *et alii*, 1982 e NAPPI & JODICE, 1984), em plantas de dunas, (NICOLSON & JOHNSTON, 1979; GIOVANNETTI, 1985; SYLVIA, 1986

e GEMMA & KOSKE, 1988, em partagens com gramíneas, (SPARLING & TINKER, 1975 e RABATIN, 1979), e em samambaias (IQBAL *et alii*, 1981).

Trabalhos realizados em áreas de praderias e de trigo, em condições de campo em clima temperado, HETRICK & BLOOM (1983), detectaram grande influência da estação climática na abundância de esporos de fungos MVA, com maior número de esporos durante o verão. O mesmo foi observado em culturas de trigo, tomate, milho, morango, (SUTTON & BARRON, 1972), e em plantas de dunas o aumento no número de esporos ocorreu de abril/maio a agosto, no verão (SYLVIA, 1986), e o morangueiro apresentou alto número de esporos, permanecendo constante até o verão seguinte (SUTTON & BARRON, 1972).

Em condições de clima tropical, estudos realizados com plantas nativas do cerrado e em oito culturas de interesse econômico em áreas de cerrado, mostraram que ocorreu maior número de esporos em época mais quente e úmida (primavera/verão), evidenciando qualitativa e quantitativamente a influência da sazonalidade (BONONI & TRUFEM, 1983 e TRUFEM & BONONI, 1985). Contudo, o hospedeiro apresenta grande influência da sazonalidade no padrão de esporulação, sendo observado diferenciação de esporulação para diferentes hospedeiros, indicando que as diferentes espécies de fungos com capacidades próprias de esporulação, são influenciados diferentemente por fatores tanto dos hospedeiros como dos ambientes (SUTTON & BARRON, 1972; BONONI & TRUFEM, 1983 e SYLVIA, 1986).

Tem-se encontrado em inúmeros casos, um maior número de esporos após o crescimento radicular, maturação ou senescência do hospedeiro, podendo estar correlacionada a produção de esporos com o estágio de desenvolvimento do hospedeiro (HAYMAN, 1970; SUTTON & BARRON, 1972; NICOLSON & JOHNSTON, 1979; IQBAL *et alii*, 1981; GIOVANNETTI, 1985; SYLVIA, 1986; KOSKE, 1987; e BONONI *et alii*, 1988).

No entanto, existe grande dificuldade em distinguir o efeito da sazonalidade de outros efeitos, como estágio do desenvolvimento da planta na formação da associação micorrízica e, principalmente, na produção de esporos, (MOSSE, 1973 e IQBAL *et alii*, 1981). A proporção de raízes micorrizadas e não micorrizadas em plantas anuais se mantém constante durante o florescimento e a formação do fruto, quando fotossintatos

são desviados para processos consumidores de energia, (ROLDAN - FAJARDO *et alii*, 1982)

Para plantas perenes, tem sido sugerido comportamentos distintos dos verificados em plantas anuais com os fungos MVA, (GEMMA & KOSKE, 1988), sendo nas condições de clima temperado o crescimento radicular mais ou menos contínuo, observando-se que poucos esporos são produzidos, apesar do alto nível de colonização radicial, (BAYLIS, 1969). Isso indica que talvez nestas condições não exista um estímulo para a produção de esporos, uma vez que o crescimento radicial não é intermitente, concordando com SPARLING & TINKER (1975).

Ainda, trabalhos conduzidos pelos mesmos autores com gramíneas em pastagens apresentaram baixa esporulação durante o ano todo, mesmo com nível de colonização radicial alto, sendo maior no verão e em torno de 40% menor, no outono, inverno e primavera.

Em solos com deficiência de fósforo, a colonização de *Glomus tuneis* em gramíneas, apresentou-se maior na primavera em áreas de baixa umidade, e no fim do verão ou estação de crescimento, nas áreas de alta umidade (RABATIN, 1979). Este fator, umidade, e sua influência na colonização foi estudado por diversos pesquisadores, dentre eles BOLGIANO *et alii* (1983), verificaram aumento da colonização com a redução da umidade, nas mesmas condições de teores de fósforo.

Na cultura da macieira foi observado que o número de esporos decresceu e o índice de infecção aumentou do verão para o outono, (NAPPI & JODICE, 1984), e em árvores de amêndoas, ROLDAN - FAJARDO *et alii* (1982), constataram que a colonização aumentou durante o inverno e primavera até o verão, quando começou a decrescer. Por outro lado, o número de esporos apresentou aumento crescente na primavera com pico no outono e decréscimo significativo no inverno. Contrário a estas observações, GIOVANNETTI (1985), encontrou em plantas de dunas porcentagem constante de colonização micorrízica durante o outono, com pequeno aumento de janeiro a junho, porém, decrescendo durante o verão.

Estudos realizados em condições de clima tropical, SAIF (1986), constatou que o número de esporos em população de fungo MVA associado a espécies forrageiras, aumentou de abril a junho (outono), mantendo-se constante até novembro (meados da

primavera), com maior colonização no início da estação chuvosa e menor na estação seca.

Devido a diversidade de ambiente, fatores bióticos e abióticos, importância agrônômica dos fungos MVA, fica claro a necessidade de estudos que aumente o conhecimento do comportamento destes fungos e suas inter-relações no processo produtivo agrosilvipastoril.

## **2.7. Efeito dos herbicidas sobre os fungos MVA.**

A capacidade das micorrizas em aumentar o crescimento e a sobrevivência das plantas com significativos ganhos na produção, tem despertado o interesse de pesquisadores, de áreas afins, em estudar a influência dos defensivos agrícolas sobre esta relação simbiótica.

Dentre os defensivos agrícolas, destacam-se os herbicidas aplicados tanto no solo (pré-emergentes), ou sobre as plantas (pós-emergentes), que para GREAVES & MALKOMES (1980) os efeitos dos mesmos sobre a infecção micorrízica de plantas cultivadas e nas populações destes fungos no solo devem ser estudados.

Esses fungos sendo benéficos às plantas, portanto, torna-se necessário desenvolver manejo adequado de práticas agrícolas, no sentido de que estes organismos não sejam afetados. Sendo relatado por TZEAN & HUANG (1980), que em várias localidades da China, verificou-se baixa taxa de infecção micorrízica em raízes de citros, devido a aplicações pesadas de defensivos agrícolas. A ação dos herbicidas sobre os fungos micorrízicos é variável e diferentes espécies variam em sua sensibilidade, podendo em alguns casos suas formações serem estimuladas, porém, este mecanismo deve ser melhor estudado, no entanto, provavelmente o processo esteja relacionado com o efeito dos produtos químicos e organismos antagonísticos sobre o fungo micorrízico (SPOKES *et alii*, 1981).

Aplicações de simazine em doses normais, segundo SMITH & FERRY (1979), não inibiu o desenvolvimento do fungo micorrízico em *Pinus sylvestris* e *Pinus nigra* e, algumas vezes, aumentou a formação micorrízica. O mesmo verificou-se com

plântulas envasadas. Para os autores a resposta à simazine é também influenciada tanto pelos fatores climáticos como pelo tipo de solo.

Estudos realizados com o herbicida cianazine por GARCIA - ROMERA *et alii* (1988), sobre a infecção micorrízica em *Pisum sativum* mostraram que o efeito depressivo do herbicida ocorreu, quando se aplicou alta dose (0,1 mg/ml), porém, os autores consideraram este efeito mais em virtude da influência do herbicida no metabolismo da planta, do que uma ação direta sobre o fungo.

Trabalho conduzido por OCAMPO & HAYMAN (1980), com o herbicida chlortoluron em cevada, na dose de 2 Kg.i.a/ha, não observaram efeito do produto no número de esporos e nem na porcentagem de infecção micorrízica.

Utilizando os herbicidas flampropisopropyl, metoxuron e trifluralin e estudando os seus efeitos sobre a germinação de esporos endomicorrízicos, TOMMERUP & BRIGGS (1981), observaram que a germinação dos esporos e o crescimento da hifa de *Acaulospora laevis*, *Glomus coledonius* e *Glomus monosporus* não foram alterados por trifluralin em doses 10 vezes acima da normal. Concluíram os autores que se estes herbicidas forem aplicados nas doses que não interferem no crescimento das plantas hospedeiras então, provavelmente, não afetarão nenhum dos estágios do ciclo de vida do fungo micorrízico.

Ainda, SMITH *et alii* (1981), estudando o efeito de alguns herbicidas aplicados nas doses de 0,5 a 32 vezes a dose recomendada, verificaram que o diallate em altas doses, diminuiu a intensidade de infecção de raízes de trigo por fungos micorrízicos. Entretanto, esses autores concluíram que em aplicações com doses normais, provavelmente a formação e função da simbiose não serão afetadas.

Também, o herbicida paraquat foi estudado por POPES & HOLT (1981) na dose de 2Kg.i.a/ha (5 vezes a dose usual), sendo verificado redução significativa na infecção de plântulas de *Fraxinus americana* L. inoculados com *Glomus fasciculatus*, observando-se ainda, redução do total de hifas micorrízicas e número de vesículas. Na dose de 0,5Kg.i.a/ha, verificou-se tendência a favorecer o desenvolvimento de hifas, porém, não foi significativamente diferente do controle inoculado.

Este mesmo herbicida, estudado por SYLVIA & SCHENCK (1982), na dose de 69g.i.a/ha, aumentou o número de esporos de *Glomus mosseae* e *Gigaspora*

*margarita* em 24% em *Paspalum notatum* Flügge, cultivado em solo com pH 6,5, sob condições de casa de vegetação. Mas, *Glomus clarum*, em solo com pH 4,5, foi suprimido pelo paraquat.

Baixos níveis na formação de micorrizas do tipo vesículo-arbuscular foram observados por SCHWAB *et alii* (1982), em plantas de *Chenopodium quinona* WILLD após aplicação de simazine em doses sub-letais, no entanto, atribuem os autores aos baixos níveis de formação devido o aumento de exsudatos radiculares como açúcares e aminoácidos, concordando com a hipótese de SIQUEIRA (1983).

NEMEC & TUCKER (1983), estudando os efeitos dos herbicidas bromacil, diuron, simazine, trifluralin, paraquat e lactofen em citros sob condições de casa de vegetação, verificaram que tanto o fungo *Glomus etunicatus* quanto o crescimento da planta, foram afetados adversamente pelos herbicidas paraquat, lactofen e simazine. Ainda, os mesmos autores estudando, só que em experimentos realizados nas condições de campo, a mistura comercial de bromacil + diuron por um período de onze anos e simazine + paraquat por cinco anos, observaram uma ligeira redução na infecção micorrízica apenas para o tratamento simazine + paraquat, sugerindo que este efeito esteja mais relacionado à ação do paraquat sobre o fungo.

Por outro lado, SANTOS (1989) estudando os efeitos dos herbicidas terbacil, simazine, ametrine + secbumetone, dichlobenil, diuron, bromacil, bromacil + diuron, paraquat, glifosato e MSMA num trabalho conduzido por onze anos, nas condições de campo, não detectou diferenças significativas entre o controle e os tratamentos com estes herbicidas, tanto para o número de esporos como infecção micorrízica, discordando, em parte, dos resultados encontrados pelos autores citados anteriormente, com relação à molécula de paraquat.

Ainda, NEMEC & TUCKER (1983), procurando identificar os herbicidas que poderiam ser utilizados com eficiência para o controle de determinadas plantas daninhas em citros, sem que no entanto apresentassem efeito inibitório sobre os fungos micorrízicos do tipo vesicular-arbuscular, encontraram o alachlor, diphenamid, napropamide, dichlofop e atrazina.

Após também, uma criteriosa revisão realizada por TRAPPE *et alii* (1984), sobre as reações dos fungos endomicorrízicos e de suas formações na presença de

defensivos agrícolas, dentre várias conclusões tiradas, citam que se torna difícil traçar um perfil ideal para este tipo de estudo, por existir uma grande diversidade de culturas, diferentes condições climáticas e grande número de produtos defensivos utilizados. Assim, sugerem que os pesquisadores envolvidos com trabalhos relacionados aos fungos micorrízicos, deveriam atuar em conjunto com especialistas em química orgânica, defensivos agrícolas e fisiologia de planta para que juntos, encontrem fundamento que direcionem a atividade desses químicos de utilização agrícola na natureza.

## **2.8. Efeito dos microrganismos sobre os herbicidas aplicados ao solo.**

Na aplicação de agroquímicos, mais propriamente os herbicidas, objetiva-se o controle do mato que interferindo com as diferentes culturas reduz a produção agropecuária.

Com o uso intensivo destes produtos, surge a preocupação do homem em estudar o comportamento e destino final dos defensivos no solo, onde existe uma comunidade microbiana atuando sobre os mesmos, além de outros fatores ambientais.

No passado, em função do pouco conhecimento nas diferentes áreas da ciência, mais propriamente a microbiologia do solo, atribuía-se que toda a degradação de produtos químicos no solo era originada por microrganismos.

Estudos básicos permitiram um melhor entendimento das complexas reações que ali ocorrem. Com o passar do tempo, este conceito foi sendo mudado, pois fatores físicos e químicos do solo, condições climáticas e práticas agrícolas interferem e modificam o comportamento destes químicos no solo.

Quando se aplica um herbicida à superfície do solo, sabe-se que um ou mais dos seguintes fatores podem ocorrer: perdas por volatilização; degradação fotoquímica; degradação química; degradação por microrganismos; adsorção por colóides do solo, biologicamente ativos ou inativos; precipitação ou quelação como complexos não disponíveis; perdas por lixiviação; absorção e degradação por plantas resistentes (Von HERTWIG *et alii*, 1974 e SOUZA, 1982).

Dentre os fatores citados, a degradação de um defensivo pela ação dos microrganismos do solo é a mais significativa.

O grau de intensidade com que um defensivo é ativado ou inativado, móvel ou imóvel, pouco persistente ou muito persistente, absorvido pela planta, adsorvido pelos colóides do solo dependerá basicamente do metabolismo dos microrganismos do solo. Desta forma, quando se estuda o comportamento de um defensivo no solo é imperativo que se leve em consideração a comunidade microbiana do solo..

Este aspecto é considerado por vários pesquisadores que confirmam a importância da decomposição microbiana dos defensivos no solo, afetando o comportamento e a degradação dos mesmos de uma maneira muito intensa (ALEXANDER, 1965 e 1977; UPCHURCH, 1966 e KAUFMAN & KEARNEY, 1976).

Os microrganismos do solo podem agir sobre os defensivos de diversas formas. Um mecanismo pode envolver degradação com posterior destoxicação e ou metabolização do defensivo, enquanto que outro mecanismo pode envolver a transformação de uma molécula tóxica em produto que exerça alguma influência benéfica sobre plantas superiores, fauna do solo ou microrganismos (KAUFMAN & KEARNEY, 1970).

As populações microbianas do solo são influenciadas pelo teor de matéria orgânica, conteúdo de umidade, temperatura, pH, CTC, aeração e outros inúmeros parâmetros do solo. Parâmetros esses ,também envolvidos nos processos físicos e químicos de degradação dos herbicidas, o que muitas vezes dificultam na diferenciação entre os processos que estejam atuando na degradação do defensivo no solo, quer seja químico, físico ou biológico (KAUFMAN & KEARNEY, 1976).

Para que ocorra uma rápida decomposição dos herbicidas aplicados ao solo, alguns fatores devem dar condições ótimas para um bom desenvolvimento da população microbiana do solo tais como: umidade do solo entre 50 a 100% da capacidade de campo, solo bem aerado, temperatura entre 27 a 32°C, pH de 6,5 a 8,0 e altos teores de matéria orgânica (ALEXANDER, 1965 e 1977; Von HERTWIG *et alii*, 1974).

Ainda, segundo os mesmos autores a decomposição microbiana dos herbicidas ocorre predominantemente na camada dos 30 cm superficiais do solo.

Os efeitos da umidade do solo sobre os microrganismos e sua influência na degradação de herbicidas foram observadas por OU (1984), realizando um trabalho onde constatou que a tensão de água no solo, ou o conteúdo de água e a temperatura do solo influenciaram a atividade microbiológica e, em contrapartida influenciando a taxa de degradação dos defensivos nos solos. Neste trabalho, encontrou também que a degradação microbiana do 2.4-D foi rápida quando o solo foi submetido a uma tensão de umidade de 1/3 atm e lenta quando seco (15 atm).

A aplicação de um herbicida no solo resulta em um ajustamento da população microbiana no solo. Este ajustamento é conhecido como "fase lag", e se dá possivelmente, de uma a duas semanas após a aplicação, onde a concentração do herbicida não é afetada significativamente. Entretanto, dependendo das características físico-químicas do solo e do herbicida uma pequena quantidade do mesmo é removida através da adsorção pelos colóides do solo, (ALEXANDER, 1965 e KAUFMAN & KEARNEY, 1976).

A extensão da "fase lag" é influenciada principalmente pela natureza química do herbicida, mas pode também ser influenciada por outros fatores como concentração do produto e tipo de solo. Durante esta fase, há um pequeno ou quase nulo crescimento dos microrganismos, porém, chegando-se ao final da mesma, os microrganismos começam a crescer em número, e se proliferam em abundância. Portanto, o período em que os microrganismos se proliferam na taxa máxima, aumentando sua população em progressão geométrica é conhecida como fase logarítmica ou fase de crescimento, ocorrendo durante esta fase a utilização mais rápida do herbicida (KAUFMAN & KEARNEY, 1976).

Ainda, citam os autores que dependendo da disponibilidade do substrato, ou que o espaço físico se torne limitante ou que as substâncias tóxicas se acumulem, os microrganismos param de se multiplicar numa razão geométrica e a taxa de divisão celular diminui. Finalmente, o número de células em divisão se igualam ao número de células que morrem, e a população microbiana entra numa fase estacionária ou de repouso. Quando se adiciona uma nova quantidade de substrato nesta fase os microrganismos irão se proliferar, não ocorrendo uma nova "fase-lag" ou sendo esta fase muito reduzida.

As mudanças fisiológicas e bioquímicas que ocorrem na população microbiana durante a "fase lag", na presença de herbicidas levanta dúvidas entre os pesquisadores, segundo AUDUS<sup>2</sup>, citado por KAUFMAN & KEARNEY (1976) que propõe duas hipóteses. A primeira é a de que ocorrem mudanças genéticas nos microrganismos tornando-os aptos a degradar os herbicidas, teoria esta seguida por ANDERSON (1977).

A segunda hipótese é a da formação de enzimas induzidas. Essas enzimas são consideradas, induzidas, pois não foram encontradas em células dos microrganismos em culturas na ausência de herbicidas.

Aplicações repetidas de 2,4-D e MCPA resultaram numa diminuição do tempo de degradação que passou de 10 semanas para o 2,4-D e 20 semanas para o MCPA após uma aplicação, para 4 e 7 semanas, respectivamente, após 19 anos de aplicações anuais. Verificou-se ainda, que apesar do aumento da capacidade da microflora do solo em degradar esses herbicidas, não houve mudança no número de microrganismos presentes no solo (TORSTENSSON *et alii*, 1974).

Alguns herbicidas como o 2,4,5-T tem uma biodegradação muito lenta e não apresentam uma "fase lag" muito clara (ALEXANDER, 1965).

Diversos microrganismos são envolvidos no processo de degradação dos defensivos no solo. A degradação causada por bactérias ocorre principalmente com herbicidas que tem um maior grau de solubilidade em água e que não estejam fortemente adsorvidos, enquanto que os fungos metabolizam justamente os herbicidas menos solúveis em água e os mais adsorvidos. A razão disso é que a forma de reprodução por fissão binária das bactérias permite que elas compitam mais sucessivamente por substrato prontamente utilizável, enquanto que o crescimento dos micélios dos fungos permitem que as partículas do solo sejam encapsuladas e penetradas, entrando então em contato com o herbicida ali adsorvido (KAUFMAN & KEARNEY, 1976).

Diversos estudos têm relacionado os microrganismos ativos com a habilidade em degradar os herbicidas. Numa revisão dos mesmos autores citados anteriormente

---

<sup>2</sup>AUDUS, L.J. Herbicides and the soil. Oxford, Blackwell, p.1-19,1960

e, em outra realizada por ALEXANDER (1965), os seguintes herbicidas e respectivos organismos ativos, são citados como agentes decompositores dos mesmos: 2,4-D (*Arthrobacter globiforme*; *Achromobacter*; *Flavobacterium*; *Pseudomonas*; *Corynebacterium* e *Mycoplana*); dalapon (*Alternaria sp*; *Nocardia*; *Pseudomonas*; *Streptomyces aureofaciens*; *Pseudomonas dehalogenans*; *Arthrobacter*; *Agrobacterium*; *Bacillus*; *Penicillium* e *Corynebacterium spp*); 2,4-DB (*Flavobacterium* e *Nocardia opaca*); MCPA (*Achromobacter*; *Pseudomonas*; *Corynebacterium* e *Mycoplana*); MCPB (*Nocardia opaca*); Monuron (*Pseudomonas spp*); TCA (*Micromonospora*; *Pseudomonas*; *Agrobacterium* e *Arthrobacter*); 2,4,5-T (*Achromobacter*; *Corynebacterium* e *Flavobacterium*); DNOC (*Corynebacterium*); IPC (*Corynebacterium*); CIPC (*Corynebacterium*); 2,3,6-TBA (*Pseudomonas*) e DNBP (*Corynebacterium*; *Pseudomonas*).

Também CHAHAL *et alii* (1976) estudando a degradação do alachlor, isolaram um *Penicillium sp* e um *Trichoderma sp* em solo previamente tratado com esse herbicida, observaram a presença desses fungos degradando o alachlor.

Investigações de MOORE *et alii* (1983) demonstraram que o glifosato é completamente degradado pelos microrganismos do solo. Usaram neste trabalho uma raça de bactéria que utiliza rápida e eficientemente o herbicida como fonte de fósforo num meio sintético.

Diz KAUFMAN (1974) que a detecção de pequenas quantias de  $^{14}\text{CO}_2$  liberadas do carbonil  $^{14}\text{C}$ -lábil do solo tratado com picloram poderiam ser considerados indicativo de descarboxilação como uma possível reação de degradação.

Em relação ao aumento do número de microrganismos do solo, FOURNIER (1981) afirma que o tratamento do solo com 2,4-D resultou num leve aumento no número de microrganismos metabolizadores. Também, FOURNIER *et alii* (1982) 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.

BELLINCK *et alii* (1979) observaram que a mineralização do 2,4-D aplicado a 10 ppm foi iniciada imediatamente após a sua aplicação no solo. Às 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 500ppm 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*.

A suscetibilidade à decomposição microbiana dos herbicidas com anéis fenílicos na sua estrutura, segundo ANDERSON (1977) é diminuída conforme se aumenta o número de átomos de halogênios (F, Cl, Br, I) ligados ao anel fenílico.

UPCHURCH (1966) afirma que dentro de uma classe de compostos a configuração molecular pode exercer uma influência dominante na capacidade dos microrganismos de degradar um produto químico específico. A halogenização dos ácidos fenoxialifáticos ou dos diclorofenóis da posição meta ao grupo oxi aumenta a resistência a biodegradação. Também adicionando-se um radical fenoxi ao ácido-alifático através do átomo de carbono alfa, tem-se uma influência semelhante.

Concluindo, ALEXANDER (1965) cita duas características associadas à resistência dos compostos fenólicos à biodegradação: o tipo de ligação do ácido-alifático no anel e a posição dos cloros no anel. Os compostos que possuem o cloro na posição meta do anel não são metabolizados com tanta eficiência.

## **2.9. Efeitos dos herbicidas sobre os microrganismos do solo**

### **2.9.1 Efeitos sobre bactérias, fungos e actinomicetos**

É de conhecimento geral, que os herbicidas contribuem sobremaneira para a manutenção da produção agrícola, deixando a cultura livre da concorrência das plantas daninhas.

A ação destes herbicidas, entretanto, não se limitou ao objetivo imediato de matar, ou não permitir a germinação de uma determinada espécie de planta daninha. Tem sido relatado por AUDUS<sup>3</sup>, citado por CHAHAL *et alii* (1976) constituir-se numa

---

<sup>3</sup>AUDUS, L.J. The Physiology and Biochemistry of Herbicides. New York and London, Academic Press, p. 163-206. 1964.

séria ameaça ao equilíbrio dinâmico da população do solo e ainda na fertilidade do mesmo.

Os trabalhos de FRYER & KIRKLAND (1970) em experimento de campo com MCPA, triallate, simazine e linuron, amostrados regularmente de 1964-67, para análises químicas do solo, mostraram que as maiores alterações foram causadas pelos herbicidas nos níveis de potássio disponível, nitrato, amônio, fósforo disponível e pH.

Estudando os efeitos de alguns herbicidas na atividade microbiana do solo, LEWIS *et alii* (1978) sugeriram que os herbicidas nas doses utilizadas na agricultura não afetam a atividade microbiana da microflora do solo, e GROSSBARD & MARSH (1974) estudando os efeitos de sete herbicidas do grupo das uréias substituídas na microflora também observou que algumas uréias substituídas podem exercer influência na população e atividade da microflora do solo, mas somente a altas concentrações, constatando VUKHRER & KAPLUN (1981) que o fluometuron e a trifluralina não afetaram os microrganismos aeróbicos, porém o dalapon inibiu o crescimento de todos os grupos, especialmente anaeróbicos.

Trabalhando com terbacil sobre a biomassa microbiana do solo e de laboratório, ROSLYCKY (1981) observou em concentrações de até 700mg/g de substrato, pouco efeito na população bacteriana tanto sob condições de campo como em laboratório, não se verificando efeitos no crescimento "*in vitro*" de cento e onze estirpes de microrganismos de importância agrícola incluindo bactérias.

Também, HUGE (1981/2) analisando o efeito do methabenzthiazuron sobre os microrganismos de três tipos de solo, após um período de cinco e oito anos, observou que o número de bactérias não foi afetado significativamente. No entanto, COLE (1976) estudando o efeito da aplicação de atrazina por um período de 9 anos em solo cultivado com milho, observou pequeno efeito desse herbicida sobre os microrganismos, porém, mesmo tendo havido uma inibição parcial no crescimento bacteriano durante a primeira semana, após a primeira aplicação, o número de bactérias viáveis não foi prejudicado depois de repetidas aplicações.

Efeitos variáveis, incluindo aumentos e decréscimos transitórios no número de bactérias, foram observados por MUDD *et alii* (1985) estudando o isoproturon na dose

de 2,5 Kg.i.a./ha, na rizosfera de trigo. Entretanto, em laboratório, o herbicida não afetou culturas puras de bactérias em concentrações de 1-60 mg.i.a/ml.

Trabalhando com a molécula de paraquat, TU & BOLLEN (1968) constataram que a mesma diminuiu a camada vegetal total como as populações bacterianas em solo areno-siltoso, contudo não apresentou nenhuma influência significativa na atividade microbiana de importância para a fertilidade do solo. BELLINCK & MAYAUDON (1978) observaram que o phenmedipham e seus derivados aplicados a uma concentração de 10 ppm teve pequena influência na flora bacteriana, no entanto, causou aumento no número de actinomicetos e fungos.

Procurando-se ainda verificar a ação dos herbicidas no meio ambiente AU (1968) estudando 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 apresentou 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 em solos arenosos.

Estudando-se o efeito de 25 herbicidas e combinações de herbicidas em doses comparáveis às usadas na agricultura, LEWIS *et alii* (1978) observaram que os herbicidas não afetam a respiração e que o dinoseb reduziu a população de algas do solo arenoso em mais de 90%, a trifluralina, linuron e metribuzin não as reduziu.

Utilizando-se as formulações comerciais de avadex e avadex BW misturados com carbonil C dialate e alil-2C-trialate, respectivamente, ANDERSON (1984) constatou que nos solos estudados para ambos herbicidas, as taxas de degradação relacionaram-se à biomassa e que a adição de nutrientes e celulose aos solos causou aumento imediato da biomassa microbiana e, em solos não corrigidos esta diminuiu com o tempo.

Estudando as interações entre solo-microrganismo e paraquat, TU & BOLLEN (1968) observaram que na concentração de 10 ppm o paraquat atuou como fonte só de carbono, e em concentrações superiores o herbicida foi aparentemente tóxico. O paraquat serviu como única fonte de nitrogênio para certas bactérias.

Sabe-se que muitos fungos do solo exibem um alto grau de tolerância a herbicidas, mas isto não implica que eles sejam inafetados totalmente.

TRAPPE *et alii* (1984) observaram 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 segundo os mesmos autores, foram consideravelmente maiores do que as recomendadas, verificando-se para a atrazina e 2,4-D redução na formação de ectomicorriza.

Comenta ANDERSON (1978) 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 *Parcllomyces varioti*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus tamaraii* 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 tamaraii*. Afirma também, que se verificou ao adicionar 220 ppm de 2,4-D, aumento na síntese de ácido nucleico em 140%.

Ainda, o mesmo autor estudou os efeitos de 2,4-D e paraquat 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.

Nos trabalhos de DESHMUKH & SHRIKHANDE (1974) usando-se os herbicidas 2,4-D, T.C.A., simazine, atrazine e cianazine observaram 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 na aplicação em pré-emergencia, como em pós-emergencia, diminuíram a população fúngica nos primeiros dez dias, com exceção do 2,4-D, mas posteriormente estes organismos cresceram normalmente.

Comparando-se a contagem de propágulos fúngicos total no solo, estes são menos frequentes que bactérias e actinomicetos. Segundo GROSSBARD (1976), a estimulação dos fungos, especialmente em cultura pura, pode ser devido a utilização

do herbicida pelo fungo, como uma fonte de nutriente. Nesses casos a composição do meio de cultura, pode também afetar grandemente o grau de toxicidade.

Estudando o efeito do propyzamide sobre a colonização de um substrato por *Trichoderma harzianum* em presença de outros fungos do solo, DAVET (1981) observou que o desenvolvimento desse microrganismo foi raramente modificado pelo herbicida.

Populações de fungos mostraram-se bem resistentes ao bentazon nas concentrações de 10 a 100 ppm em dois tipos de solos. Essa resistência foi maior notadamente em solo com um alto teor de matéria orgânica (MARSH *et alii*, 1978).

BREAZEALE & CAMPER (1970) observaram que o número de colônias de fungos em amostras de solos que receberam repetidas aplicações do herbicida trifluralin durante o ano, foi menor que na amostra controle. Entretanto, o herbicida 2,4-D não afetou o número de microrganismos.

Os efeitos do simazine sobre o fungo *Aspergillus niger* na solubilização do fósforo em solos calcáreos, foi estudado por ORTUNO *et alii* (1978) sendo constatado que o herbicida autoregulou o crescimento do fungo, inibindo-o ou estimulando-o, obedecendo uma equação de regressão.

A esporulação de determinados fungos em presença dos herbicidas prometryne, diuron, fluometuron e MSMA nas concentrações de 0,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  e  $10^{-4}$ M foi estudada por DAVIS *et alii* (1976), os quais observaram para a concentração  $10^{-4}$ M desses herbicidas que aumentou o número de esporos do fungo *Trichoderma viride*, na ordem de 20, 30, 35 e 50% respectivamente. Verificou-se também, semelhante tendência para o fungo *Aspergillus terreus*.

Num estudo quantitativo com fungos, isolados de solo cultivado com três níveis de atrazine, crescidos em meio de cultura, WACHA & TIFFANY (1979) procedendo a contagem em placas, observaram que os gêneros mais frequentes eram *Trichoderma*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Gliocadium* e *Rhizopus*.

Trabalhando com os herbicidas bentazon, fluchloralin, prometryne, terbutrine, alachlor, linuron, oxidiazon, terbacil, pendimethalin, methabenzthiazuron, 2,4-D, diuron, benthocarb, atrazine e simazine associados a três fungos *Rhizoctonia bataticola*, *Sclerotium rolfsii* e *Fusarium oxysporum*, VERMA *et alii* (1979) observaram

considerável redução no crescimento das hifas, particularmente pelo benthocarb, methabenzthiazuron e linuron. Por sua vez, a atrazine impediu a formação de esclerócio pelo *Sclerotium rolfsii*.

DUAH-YENTUMI & JOHNSON (1986) estudando os efeitos de repetidas aplicações de herbicidas em solos, observaram que a simazina não apresentou nenhum efeito sensível sobre a microflora, entretanto o paraquat diminuiu significativamente a massa microbiana, principalmente a biomassa fúngica.

Ainda, com relação aos fungos, vários herbicidas, entre eles o terbacil, 2,4-D, bentazon, não tiveram efeitos adversos sobre a população de fungos, contudo, herbicidas como o paraquat, em fungos celulolíticos estimulou o crescimento no solo, mas quando aplicados à celulose, contribuiu para uma diminuição; o mesmo ocorrendo para outros fungos (SMITH & FERRY (1979)).

Os actinomicetos têm sido investigados numa extensão relativamente pequena considerando sua contribuição importante no equilíbrio das espécies, relações antagônicas e na degradação da matéria orgânica do solo (GROSSBARD, 1976).

Revedo trabalhos de contagens de propágulos de actinomicetos no solo, o mesmo autor cita que doses de 8 e 10 kg/ha de atrazine estimularam actinomicetos celulolíticos após uma inibição inicial.

ROSLYCKY (1981) verificou que a respiração da biomassa microbiana total do solo foi afetada por altas concentrações de terbacil, entretanto até 500  $\mu\text{g/ml}$  mostrou um estímulo na respiração de actinomicetos, e que a 600  $\mu\text{g/ml}$  a inibição foi parcial.

Em alguns casos os resultados obtidos por pesquisadores independentes, são conflitantes.

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. Segundo ANDERSON (1978) este avanço assumiu um aspecto consideravelmente significativo, nos últimos anos, referente aos efeitos da evolução molecular nos organismos alvos e que ainda não se estenderam aos microrganismos, os quais podem ser afetados positiva ou negativamente.

Os fatores para esse autor que influenciam os efeitos dos defensivos 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 plantas 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 em 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 de solo, práticas agrônômicas e populações de plantas presentes na área devem ser importantes na determinação da população da biomassa microbiana; c) formulação dos defensivos: a forma em que o defensivo é aplicado ao solo é especialmente importante. Usando-se a formulação comercial, o investigador nunca pode estar certo, se os aditivos da formulação são responsáveis por algumas das trocas na atividade microbiana ou não. Os chamados ingredientes, como a caolinita pura, devem afetar os microrganismos do solo; d) tipo de defensivo e método de aplicação: a diferença entre os defensivos sistêmicos e não sistêmicos devem ser de importância considerável no êxito da determinação das investigações nos seus efeitos nos microrganismos do solo.

Nas aplicações em pós-emergência, 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 ao solo, mas mudanças significativas devem ocorrer na química neste interim.

### **2.9.2. Efeitos na amonificação e nitrificação**

O processo de nitrificação ou amonificação consiste na conversão pelos microrganismos heterotróficos do nitrogênio orgânico a amônia. A amônia sofrendo transformações adicionais na presença de íons hidrogênios e microrganismos

quimiautotróficos, em ambiente aeróbico, passa a nitrato, processo este conhecido como nitrificação, ambos processos diretamente relacionados às atividades agronômicas.

Para ANDERSON (1978) a amonificação tem um papel importante a ser observado. Sem a amonificação, a nitrificação seria severamente limitada aos íons de  $\text{NO}_2^-$ ; entretanto, segundo o autor em muitos casos a amonificação é estimulada por aplicações de 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. Citando ainda que somente a altas concentrações de herbicidas inibiu a amonificação e concentrações de 100-250 ppm não apresentou nenhum efeito, com exceção do linuron que foi tóxico a baixas concentrações.

TU & BOLLEN (1968) estudando a influência do paraquat na atividade microbiana de quatro tipos de solo, observaram que a amonificação foi levemente retardada. Mas, citam que se o herbicida for utilizado de acordo com as instruções recomendadas, não afetará as atividades dos microrganismos do solo.

Uma pesquisa interessante para estudar os efeitos dos herbicidas na nitrificação do solo foi realizada por DOMSCH & PAUL (1974). Testando os efeitos de 35 herbicidas por meio de modelos experimentais e matemáticos, concluíram que a maioria dos herbicidas tinham um efeito negligenciável às 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  $\text{NH}_3$  para  $\text{NO}_2^-$ .

RODES *et alii* (1980) discutindo o efeito da hexazinone nas populações bacterianas, fúngicas e nitrificantes do solo, concluíram que a adição de 10 ppm de hexazinone nos três solos agrícolas estudados, não reduziu a população dos fungos ou bactérias durante 8 semanas do período de teste e que a adição de 5 e 20 ppm de hexazinone não teve efeito no processo de nitrificação durante o período de teste de 5 semanas.

Examinando os efeitos dos defensivos agrícolas sobre o *Nitrobacter agilis*, WINELY & CLEMENTE SAN (1970) verificaram que a bactéria foi inibida pelo CIPC a 10  $\mu\text{g/ml}$ , porém, não foi pela simazine.

Os herbicidas dalapon, pyrazon e trifluralin, na concentração de 100 ppm, não apresentaram efeitos adversos à mineralização do nitrogênio em dois tipos de solos. No entanto, em um deles, a nitrificação foi inibida nas três primeiras semanas pelo dalapon e pyrazon (DAVIES & MARSH, 1977).

Solos incubados com o herbicida dalapon-sódio e analisados periodicamente para  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$ ; mostraram um retardamento nos processos de nitrificação (oito semanas) e desnitrificação (doze semanas) (WEERARATNA, 1980).

Estudando por um período de 7-8 anos os efeitos de aplicações anuais dos herbicidas MCPA, triallate, simazine e linuron sobre a nitrificação do solo, GROSSBARD (1971) observou que os efeitos negativos causados pelo linuron e simazine relacionavam-se à diferença na quantidade de matéria orgânica mais prontamente degradável.

Os herbicidas CIPC, monuron e seus efeitos sobre a nitrificação foram estudados por HALE *et alii* (1957), verificando-se que na concentração de 8 ppm o CIPC inibiu completamente o crescimento dos microrganismos nitrificantes. Com o monuron, este fato não ocorreu até a concentração de 40 ppm.

Trabalhando em laboratório com os herbicidas chloroxuron, metobromuron e fluometuron, nas concentrações de 0, 0.25, 0.5, 1 e 2 ppm, AMAKIRI (1977) observou que os efeitos foram variáveis sobre a população de *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*. Verificou-se ainda que o chloroxuron diminuiu o crescimento inicial com novo estímulo de crescimento no sétimo dia, enquanto que o metobromuron diminuiu o crescimento após o sétimo dia. Contudo o fluometuron apresentou efeitos alternados de crescimento e redução populacional.

### 2.9.3. 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*, 1974), constituindo-se no processo pelo qual o nitrogênio fixado do ar por via industrial ou biológica, é devolvido a atmosfera.

Os trabalhos de HART & LARSON (1966) estudando o efeito do 2,4-D de 0,221 a 1,105 ppm, no desenvolvimento de 3 bactérias denitrificantes perceberam que o crescimento aeróbico foi menos afetado 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 descanso das células de *Pseudomonas denitrificans* mostrou que quando o  $\text{NO}_3^-$  agiu como receptor de elétron a taxa de formação do gás foi diminuída de 50 e 100% nas concentrações de 0,77 e 1,56 ppm de 2,4-D, respectivamente. Porém, quando o  $\text{NO}_2^-$  foi usado como receptor de elétron, a produção de gás ocorreu na concentração de 2,3 ppm de 2,4-D, mas a taxa de produção foi diminuída. Os dados demonstraram também que diferentes bactérias apresentam variações sensíveis para este herbicida e que alguma correlação existe entre a resposta do 2,4-D e do conteúdo de enzima e fisiologia dos microrganismos.

#### 2.9.4. Efeitos nos fixadores de nitrogênio

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 existentes.

Afirma ANDERSON (1978) que o *Rhizobium leguminosarum* 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 *Bradyrhizobium japonicum*. Alguns tipos de *Rhizobium* 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.

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

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

Também, LENHARD (1959) 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, e em concentrações superiores a 500 ppm as colônias de bactérias perderam sua estrutura normal, observando-se que a fixação de nitrogênio pelo *azotobacter* diminuiu rapidamente.

DEUBER & FORSTER (1978) estudando a influência do EPTC na nodulação natural do feijão *Phaseolus vulgaris* L. em três experimentos conduzidos no campo, não verificaram diferenças significativas no número e peso de nódulos para todas as doses aplicadas. Também, na soja plantada 1, 7 e 90 dias após aplicação de dalapon, não se verificou redução da nodulação, mesmo em doses altas (WORSHAM & GIDDENS, 1957).

Posteriormente, trabalhando com a mesma cultura citada acima, nas condições de campo, com os herbicidas linuron, alachlor, napropamide, trifluralin e vernolate MASSARIOL & LAM-SANCHEZ (1974) não encontraram efeitos prejudiciais desses herbicidas sobre a nodulação.

Estudando a influência de diferentes doses de amitrole sobre *Rhizobium leguminosarum*, *Rhizobium lupinii* e *Rhizobium meliloti*, RODRIGUEZ & MATE (1980) observaram que essas espécies toleraram 1000 ppm do herbicida, e que o crescimento começou a diminuir na concentração de 5000 ppm. Nessa concentração o *Rhizobium lupinii* foi quem demonstrou menor alteração.

Os herbicidas dinoseb, trifluralin, nitralin, dinitramine e linuron aplicados em pré-emergência na cultura da soja, foram estudados por ALAA-ELDIN *et alii* (1981). Os autores constataram que o dinoseb na dose recomendada e trifluralin na dose 5 vezes a recomendada, estimularam a nodulação e a atividade da nitrogenase, enquanto o nitralin, dinoseb e linuron em altas doses inibiram a formação de nódulos. Onde se conclui que nas doses recomendadas, esses herbicidas não interferem na formação de nódulos na cultura da soja.

Ainda, GIARDINI *et alii* (1979) estudando o efeito dos herbicidas trifluralin, vernolate, alachlor e duas doses de nitrogênio, na nodulação da soja, CV Santa Rosa, por dois anos consecutivos, verificaram que esses herbicidas não influenciaram a nodulação aos 35, 58 e 98 dias após o plantio. Também, LORENZI & ARAUJO (1974),

estudando o efeito de vários herbicidas na nodulação da soja, CV Davis, observaram que trifluralin e alachlor não influenciaram a nodulação causada pela estirpe inoculada à semente, porém o trifluralin afetou a nodulação causada por bactérias nativas do solo.

### 2.9.5. Efeitos nas algas do solo

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

Essa sensibilidade, contudo é menos marcante no solo que em meio líquido. De comum a outros grupos microbianos, as respostas das algas do solo variam com o tipo de solo. As algas também podem adquirir resistência aos herbicidas (GROSSBARD, 1976).

ANDERSON (1978) comenta que o amitrole, atrazina, monuron e diuron a 18 e 55 ppm inibiu a alga do solo mais prontamente em cultura do que no solo, e que somente altas doses de simazine inibiram culturas de algas isoladas da rizosfera do milho, tendo a propazine efeito variável em várias raças de algas do solo. Por outro lado, cita 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 rompimento no sistema cloroplasto lamelar.

Utilizando os herbicidas 2,4-D, trifluralin, MCPA e TCA, aplicados em dois níveis de concentração, CULLIMORE & McCANN (1977) observaram que dos 31 gêneros identificados, apenas as algas *Chlamydomonas*, *Chlorococcum*, *Hormidium*, *Palmella* e *Uluthrix* apresentaram alta sensibilidade a esses herbicidas. As mais resistentes foram *Chlorella*, *Lyngbya*, *Nostoc* e *Hantzschia*.

O fluometuron suprimiu o crescimento autotrófico de *Chlorella pyrenoidosa* e *Euglena gracilis*, deixando de existir o efeito inibitório quando a alga cresceu heterotróficamente (SIKKA & PRAMER, 1968). O herbicida não afetou a respiração das algas, mas afetou o despreendimento de oxigênio fotossintético. A conclusão a que chegaram os autores, é de que esse herbicida é tóxico para uma ou mais reações controladas pela luz, entretanto, o seu efeito é seletivo para as reações no escuro, que precederem a fase clara da fotossíntese.

DAVIS *et alii* (1976) estudando o efeito dos herbicidas prometrine, diuron, fluometuron e MSMA em *Chlorella pyrenoidosa* observaram que após 35 gerações, as concentrações mínimas para os herbicidas causarem um decréscimo nessa alga foram de  $10^{-4}$ M de diuron,  $10^{-7}$ M de prometrine e  $10^{-4}$ M de fluometuron. O MSMA não teve nenhum efeito.

Quanto a fotossíntese, os mesmos autores verificaram que ela foi inibida por uma exposição a luz de duas horas em concentrações de  $5 \cdot 10^{-4}$ M de prometrine ou diuron e de  $5 \cdot 10^{-4}$ M de fluometuron.

A literatura apresenta efeitos de inibição de algas por herbicidas, particularmente nas doses altas dos produtos, entretanto, em baixas concentrações, como no caso do 2,4-D, verifica-se até um estímulo na síntese de clorofila. Contudo, verifica-se que as respostas apresentadas pelos organismos estudados, estão ligadas à quantidade do herbicida aplicado, seu comportamento no solo e na planta e o mecanismo de ação. De maneira geral, nas doses normais de uso agrícola, os desequilíbrios quando observados são pequenos e de curta duração.

## **2.10. Efeito dos herbicidas na evolução do CO<sub>2</sub> do Solo**

A atividade microbiana do solo resulta da somatória da atividade das células individuais, que pode ser estimada através de medições do metabolismo global do solo ou da quantificação por processos específicos. A descoberta de métodos alternativos indiretos para se estimar a biomassa e sua atividade, trouxe grandes avanços para a microbiologia do solo (SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

É importante lembrar, segundo GRISI (1984) que embora alguns aspectos permaneçam desconhecidos quando da avaliação da biomassa, tais como a taxa de crescimento e a contribuição relativa dos diferentes componentes vivos do solo, as medições da atividade microbiana do solo fornecem dados úteis sobre o papel dos microrganismos na estrutura e função dos ecossistemas.

Dentre os métodos existentes, a taxa de respiração ou respiração edáfica, que é medida pela liberação de CO<sub>2</sub> ou consumo de O<sub>2</sub> oriunda da atividade microbiana heterotrófica do solo, fornece informações úteis sobre as transformações das

populações microbianas, decorrentes de práticas agrícolas, como por exemplo, os efeitos de fertilizantes, defensivos em geral, manejo do solo e uso de biofertilizantes, assim como os efeitos dos diferentes sistemas de cultivo.

Por outro lado, sabe-se que as flutuações naturais que ocorrem no solo da evolução de  $\text{CO}_2$  e da absorção de  $\text{O}_2$  são grandes, contudo esta variável é freqüentemente usada para a avaliação da influência dos herbicidas sobre a atividade dos microrganismos do solo.

Segundo GROSSBARD (1976), as flutuações naturais no solo da evolução do  $\text{CO}_2$  e da absorção de  $\text{O}_2$  num determinado tempo são tão pronunciadas, que um herbicida deverá exercer um efeito muito poderoso na microflora, para poder influenciar essa variabilidade natural no sistema. Porém, é mais provável que estes efeitos ocorram em altas doses. No entanto, diversos cientistas obtiveram resultados do efeito dos herbicidas na evolução do  $\text{CO}_2$  e absorção de  $\text{O}_2$  em doses normais de aplicação.

Para ANDERSON (1978) desde que os herbicidas matem a vegetação, tratamentos com esses produtos resultam num aumento da matéria orgânica, tanto na superfície como no perfil do solo, e mudanças na respiração do mesmo têm-se verificado.

É de conhecimento, que algumas moléculas de herbicidas, mesmo em baixas concentrações, podem inibir a atividade microbiana, entretanto, de maneira muito menos freqüente que nas altas. Os possíveis efeitos no caso das doses menores são transitórios e rápidos, sendo muitas vezes confundidos com as variações naturais que ocorrem com a adição de matéria orgânica no solo. Observa-se que as doses baixas podem trazer inibição desde que repetidas a curtos períodos, não sendo este prazo suficiente para a degradação dos herbicidas e/ou adaptação dos microrganismos do solo à molécula aplicada (GROSSBARD & DAVIES, 1976).

ANDERSON (1978) estudando o efeito do 2,4-D sobre a atividade respiratória da *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes* e *Micrococcus lysodeiketikun* verificou inibição para a concentração de 2,21 ppm, enquanto que a *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus* requereram 3,31 e 0,33 ppm, respectivamente. Concluindo que os herbicidas em geral não tem demonstrado efeito inibitório na atividade respiratória do solo, ou quando muito um leve efeito.

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-VIADÉ (1972) constataram um efeito inibitório significativo no oxigênio pela adição de 2,4-D e trifluralina nos solos Coto e Fraternidade.

Entretanto, BARBOSA (1981) estudando os efeitos dos herbicidas fluometuron, simazine, atrazine, 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.

No entanto, a atrazine nas doses normais estimulou o crescimento e a respiração dos microrganismos do solo, no período de 15-30 dias após a aplicação na cultura do milho, enquanto o alachlor inibiu-os temporariamente. A fertilização com nitrato de amônio e superfosfato, acelerou a degradação da atrazine e suprimiu os efeitos do herbicida nos microrganismos do solo (BAKALIVANOV & LALOVA, 1979).

Finalizando, GROSSBARD (1976) revendo diversos trabalhos, comenta que ocorrem grandes divergências nos resultados obtidos para os mesmos herbicidas. Como exemplo, a simazine não afetou a evolução de CO<sub>2</sub> na concentração de 8000 ppm em um trabalho, mas inibiu essa evolução na concentração de 5 ppm em outro trabalho, enfocando que essas diferenças devem ser devidas às diferenças de solo, principalmente. Ainda, nesta mesma revisão o autor encontrou poucos herbicidas não causando efeitos nas doses elevadas e, que muitos herbicidas não causaram efeitos na respiração do solo, até mesmo a estimulou quando aplicados em doses de campo.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Local do Experimento e Características Edafo-climáticas**

O experimento de campo vinha sendo conduzido desde 1977, na Fazenda Sete Lagoas, município de Conchal-SP, a 22°12'30" de latitude sul, a 47°10'40" de longitude oeste de Greenwich (W.Gr.) e a 588m de altitude. O clima da região é o Cwa, segundo a classificação de Köppen, ou seja, é clima mesotérmico de inverno seco, com temperatura média do mês mais quente superior a 22°C, e a do mês mais frio inferior a 18°C.

Os dados climáticos e o balanço hídrico mensal, segundo Thornthwaite e Mather (1955), citado por PESSOA (1985) são apresentados na Tabela 51 (apêndice), e o gráfico representativo do balanço hídrico na figura 3 (apêndice).

O solo foi classificado ao nível de Grande Grupo, como Latossol Vermelho Amarelo (BRASIL, 1960), e segundo o SNLCS (Sistema Nacional de Levantamentos e Classificação de Solo), como Latossol Vermelho Amarelo, Unidade São Lucas (Quartzosamment Haplortox) com A moderado e textura média. O relevo do local é plano, e a declividade da área experimental é de 0,5%. As características físicas e químicas do solo de acordo com análises realizadas em 1977 pelo Centro de Estudos de Solos da ESALQ-USP, e repetidas em 1990 pelo Laboratório de Química e Física do Solo do S.C.A.-UFPR, encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Características químicas e físicas do solo Latossol Vermelho Amarelo - Fazenda Sete Lagoas - Conchal-SP, 1977 e 1990.

Determinações	Valores Observados	
	1977	1990
Acidez pH (água)	4,90	4,80
Matéria Orgânica (%)	1,75	2,21
Fósforo Solúvel ( $\text{PO}^-$ m.eq./100 ml de T.F.S.A.)	0,04	0,05
Potássio Solúvel ( $\text{K}^+$ m.eq./100 ml de T.F.S.A.)	0,20	0,15
Cálcio ( $\text{Ca}^{++}$ m.eq./100 ml de T.F.S.A.)	1,07	1,90
Magnésio ( $\text{Mg}^{++}$ m.eq./100 ml de T.F.S.A.)	0,80	1,00
Alumínio trocável ( $\text{Al}^{+++}$ m.eq./100 ml de T.F.S.A.)	0,56	0,20
Argila %	41,2	41,2
Limo %	16,0	16,0
Areia Fina %	30,5	30,5
Areia Grossa %	12,3	12,3

### 3.2. Cultivar

Foram utilizadas plantas do cultivar Pera *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, enxertados sobre limão 'Cravo' *Citrus limonia* Osbeck, plantadas em maio de 1975.

### 3.3. Herbicidas utilizados\*

Dos herbicidas utilizados no presente trabalho, as principais características aqui relatadas, estão baseadas nos livros Guia de Herbicidas 2 ed. (1988) e Herbicide Handbook, da Weed Science Society of America (1989), assim como nos boletins técnicos das companhias produtoras.

#### 3.3.1. Terbacil

Formulação comercial utilizada: Simbar\*\*

Ingrediente ativo: 3-tert-butil-5-cloro-6-metiluracil.

Classe toxicológica: formulação 800 g/Kg - classe III - pouco tóxico (faixa azul)

Características principais: foi utilizada a formulação pó-molhável contendo 80% do ingrediente ativo (terbacil). A solubilidade em água é de 710 ppm a 25°C. e a pressão de vapor a 29,5°C é de  $4,7 \times 10^{-7}$  mm de Hg. É um herbicida de translocação predominantemente apoplástica, pertencente ao grupo dos inibidores de fotossíntese, controlando plantas daninhas monocotiledôneas e dicotiledôneas anuais, e algumas perenes. É recomendado para aplicação em pré ou em pós-emergência do mato. Na planta é metabolizado a 3-tert-butil-5-cloro-hidroximetiluracil e, em seguida conjugado para formar um  $\beta$ -glucosídeo muito persistente; quando em alfa, encontrou-se 12% do terbacil e seus metabolitos 6 a 8 meses após a aplicação. Apresenta-se moderadamente adsorvido pelos colóides do solo; lixiviável, principalmente em solos arenosos. O principal mecanismo de degradação é o microbiano e secundariamente por reações químicas com os ácidos orgânicos da solução do solo.

---

\*As citações de nomes ou marcas comerciais de herbicidas ou quaisquer outros produtos neste trabalho, não implicam em quaisquer preferências, mas apenas e unicamente na propriedade de conterem os ingredientes ativos aqui testados.

\*\*Produto comercial da Du Pont do Brasil S.A.

É resistente à fotodecomposição; as perdas por volatilização são desprezíveis. Sua persistência média no solo às doses recomendadas é de meia-vida de 5 a 6 meses; a DL<sub>50</sub> oral aguda, para ratos, é de 5000 a 7500 mg (i.a.)/kg de peso vivo.

### 3.3.2. Simazine

Formulação comercial utilizada: Gesatop\*

Ingrediente ativo: 2-cloro-4,6-bis (etilamino)-s-triazina.

Classe toxicológica: formulações 800 g/Kg - classe III - pouco tóxico (faixa azul)

Características principais: as formulações comerciais utilizadas foram a pó-molhável com 80% de ingrediente ativo (simazine) ou a suspensão concentrada (flowable) contendo 50% do ingrediente ativo. A solubilidade em água do simazine é 5ppm a 20°C e a pressão de vapor a 20°C é  $6,1 \times 10^{-9}$  mm de Hg. É um herbicida de translocação predominantemente apoplástica, com pouca ação foliar, controlando plantas daninhas monocotiledôneas e dicotiledôneas através da inibição da fotossíntese. É recomendado para aplicação em pré-emergência do mato. Seu metabolismo nas plantas tolerantes, numa primeira etapa é degradado enzimaticamente a hidroxisimazine e aminoácidos conjugados, posteriormente metabolizado também por reações enzimáticas de dealquilação e hidrólise. É adsorvido em solos com alto teor de argila e/ou matéria orgânica, e por essa razão e também pela sua baixa solubilidade apresenta lixiviação limitada, mantendo-se nos solos agrícolas, em geral, nos primeiros 5 cm superficiais. A degradação no solo é essencialmente microbiana, por via química ocorre hidrólise com formação de hidroxisimazine e dealquilação dos grupos aminos, pressupondo em seguida ruptura do anel. As perdas por fotodecomposição e volatilização são consideradas insignificantes, com persistência média no solo às dose recomendadas de 5 a 7 meses, dependendo do solo e do clima. A sua DL<sub>50</sub> oral aguda, para ratos, é 5000 (i.a.) mg/kg de peso vivo.

---

\*Produto Comercial da Ciba-Geigy Química S.A.

### 3.3.3. Dichlobenil

Formulação comercial utilizada: Casoron<sup>®</sup>

Ingrediente ativo: 2,6-diclorobenzonitrila

Classe toxicológica: formulação 67,5 g/Kg - classe III - pouco tóxico (faixa azul).

Características principais: foram utilizadas formulações granuladas contendo 7,5% e 5% do ingrediente ativo (dichlobenil). A solubilidade em água é de 18 ppm a 20°C, e a pressão de vapor a 20°C é  $5,5 \times 10^{-4}$  mm de Hg. É um herbicida de translocação predominante apoplástica, controlando plantas daninhas monocotiledôneas e dicotiledôneas, sendo um inibidor de divisão celular, atuando nas regiões de crescimento. Normalmente é recomendado para aplicação em pré-emergência, e quando incorporado, tem apresentado melhores resultados devido à volatilidade que apresenta. O mecanismo de degradação na planta é enzimático, ocorrendo a hidroxilação no núcleo benzeno, predominantemente na posição 3 e, em menor intensidade na posição 4, seguida de conjugação.

É fortemente adsorvido pelos colóides orgânicos e em menor intensidade pelos colóides de argila, o deslocamento vertical na água do solo é extremamente baixo, ocorrendo transporte, por difusão, na fase gasosa. A degradação no solo se dá pelos microrganismos, o dichlobenil é decomposto a 2,6-diclorobenzamida (BAM), que possui ação herbicida. As perdas por fotodecomposição e volatilização são muito intensa, a molécula é muito volátil, principalmente quando se encontra sobre solo úmido, sujeito a altas temperaturas e baixa umidade relativa. A persistência média no solo às doses recomendadas é de 2 a 6 meses, dependendo da dose aplicada, teor de matéria orgânica do solo e condições climáticas. A  $DL_{50}$  oral aguda, para ratos, é de 3160 mg (i.a.)/kg de peso vivo.

### 3.3.4. Diuron

Formulação comercial utilizada: Karmex<sup>\*</sup>

Ingrediente ativo: 3-(3,4-diclorofenil)-1,1-dimetiluréia.

Classe toxicológica: formulação 500 g/l e 600 g/l - classe II - medianamente tóxico (faixa amarela); formulação 800 g/Kg - classe III - pouco tóxico (faixa azul).

Características principais: foi utilizada a formulação pó-molhável contendo 80% do ingrediente ativo (diuron). A solubilidade em água é de 42 ppm a 25°C, e a pressão de vapor a 50°C é de  $0,31 \times 10^{-5}$  mm de Hg. É um herbicida de translocação predominantemente apoplástica, pertencente ao grupo dos inibidores de fotossíntese, controlando plantas daninhas dicotiledôneas e monocotiledôneas anuais. É recomendado para aplicação em pré-emergência, ou em pós-emergência com a adição de um surfatante à calda. O metabolismo de destoxificação nas espécies resistentes envolve demetilação e hidroxilação da molécula. O diuron é adsorvido pelos colóides de argila e matéria orgânica do solo, sendo pouco lixiviável em solos argilosos mas lixiviável nos arenosos. A principal via de degradação da molécula no solo é a microbiana. As perdas por fotodecomposição e volatilização são moderadas, quando exposto na superfície do terreno por vários dias, sob condições de temperatura alta e baixa umidade. Apresenta persistência média no solo às doses recomendadas de 4 a 8 meses, dependendo do tipo de solo e das condições climáticas. A DL<sub>50</sub> oral aguda, para ratos, é 3400 mg (i.a.)/kg de peso vivo.

### 3.3.5. Bromacil

Formulação comercial utilizada: Hyvar X<sup>\*\*</sup>

Ingrediente ativo: 5-bromo-3 sec-butil-6-metiluracil.

Classe toxicológica: formulação 800 g/Kg - classe III - pouco tóxico (faixa azul).

---

<sup>\*</sup>Produto Comercial da Du Pont do Brasil S.A.

<sup>\*\*</sup>Produto Comercial da Du Pont do Brasil S.A.

Características principais: foi utilizada a formulação pó-molhável contendo 80% do ingrediente ativo (bromacil). A solubilidade em água é de 815 ppm a 25°C. É um herbicida de translocação predominantemente apoplástica, controlando plantas daninhas monocotiledôneas e dicotiledôneas, assim como algumas plantas arbustivas, sendo um potente inibidor fotossintético. É recomendado para aplicação em pré-emergência, podendo ser utilizada em pós-emergência com a adição à calda de um sulfatante. É metabolizado a 5-bromo-3-sec-butil-6-hidroximetiluracil pelas plantas tolerantes como forma de destoxificação. A adsorção da molécula no solo se dá pelos colóides de argila e matéria orgânica, apresentando nessas condições moderada lixiviação. A degradação do bromacil no solo é essencialmente microbiana, sendo favorecida em condições de solo úmido e quente. As perdas por fotodecomposição e volatilização são consideradas insignificantes. Sua persistência média no solo às doses recomendadas com meia-vida de 5 a 6 meses para culturas recomendadas e superior a 1 ano em áreas industriais. A DL<sub>50</sub> oral aguda, para ratos, é de 5200 mg (i.a.)/kg de peso vivo.

### 3.3.6. Bromacil + Diuron

Formulação comercial utilizada: Krovar I e Krovar II

Ingrediente ativo: descritos nos ítems 3.3.4 e 3.3.5.

Classe toxicológica: formulação 400 + 400 g/Kg - classe III - pouco tóxico (faixa azul).

Características principais: descritos os ítems 3.3.4 e 3.3.5. Com alteração na toxicologia, que para a formulação Bromacil + Diuron a 400 + 400g.i.a/kg apresentou DL<sub>50</sub> oral aguda, para ratos, igual a 5980 mg (i.a.)/kg de peso vivo.

Foram utilizadas as formulações comerciais pós-molháveis, contendo 80% do ingrediente ativo (bromacil + diuron). A formulação comercial Krovar I contém 40% de bromacil e 40% de diuron, e a Krovar II contém 53,3% de bromacil e 26,7% de diuron.

### 3.4. Delineamento experimental

O delineamento experimental adotado para o experimento de campo, foi o de blocos casualizado, com 8 tratamentos e 3 repetições. As unidades experimentais constituíram-se de 4 plantas espaçadas de 4,5 m, e o tamanho de cada parcela de 3,0 x 18,0 m, com uma área total de 54 m<sup>2</sup>.

Os tratamentos utilizados com as respectivas doses do ingrediente ativo (i.a.) e do produto comercial (p.c.), encontram-se na tabela 2.

Tabela 2 - Tratamentos utilizados com as respectivas doses dos ingredientes ativos (i.a.) e dos produtos comerciais (p.c.) Fazenda Sete Lagoas- Conchal-SP, 1990.

TRATAMENTOS	PRODUTO COMERCIAL	DOSES - Kg/ha	
		i.a.	p.c.
1. Testemunha <sup>*</sup>	-----	-----	-----
2. Testemunha Capinada <sup>**</sup>	-----	-----	-----
3. Terbacil	Simbar	3,2	4,0
4. Simazine	Gesatop	4,0	5,0
5. Dichlobenil	Casoron	5,0	100,0
6. Diuron	Karmex	3,2	4,0
7. Bromacil	Hyvar X	3,2	4,0
8. Bromacil + Diuron	Krovar II	3,2	4,0

<sup>\*</sup> testemunha recebia uma capina anual por ocasião da aplicação dos herbicidas.

<sup>\*\*</sup> era sempre capinada por ocasião da aplicação dos herbicidas e quando atingia 25% da cobertura pelas plantas daninhas.

### **3.5. Instalação e condução dos experimentos de campo e laboratório**

#### **3.5.1. Aplicação dos herbicidas**

As aplicações foram realizadas anualmente, tendo seu início em outubro de 1977, através de pulverizador Jacto manual, com capacidade de 20 litros, e munido de uma barra de aplicação contendo três bicos Teejet 80.02. Inicialmente, antes de cada aplicação todas as parcelas foram capinadas homoganeamente e, retirado do local da capina todo e qualquer resíduo vegetal, ficando o solo totalmente nu. As aplicações foram realizadas com um consumo de calda de 300 l/ha. A partir do ano de 1980, devido à dificuldade de aplicação com barra, as aplicações passaram a ser realizadas com apenas 1 bico polijet azul, também com um consumo de calda de 300 l/ha. As aplicações eram realizadas em faixa de 1,5m de cada lado da planta, ressaltando que a mesma sempre foi realizada inclusive sob a copa das plantas.

#### **3.5.2. Coletas de amostras**

As amostragens de solo e raiz para estudo de laboratório, foram realizadas nas unidades experimentais com o seguinte procedimento: o solo foi amostrado utilizando-se trado de caneca com 9cm de diametro por 14cm de altura, fazendo-se 2 furos um de cada lado da planta num total de 8 furos por unidade experimental, na profundidade de 0-10cm. As mesmas foram acondicionadas em sacos plásticos e transportadas em caixas de isopor fechadas até o laboratório. No mesmo local onde se fez os furos para as amostragens do solo, com o auxílio de um enxadão coletou-se o sistema radicial das plantas de citros assegurando desta forma que as raízes a serem estudadas fossem realmente as dos citros, e não fossem confundidas com raízes de outras plantas do local. As raízes coletadas, foram acondicionadas em sacos plásticos e também conduzidas ao laboratório em caixas de isopor fechadas.

Este procedimento foi adotado para todas as épocas coletadas de acordo com as variáveis deste estudo conforme a Tabela 3.

**Tabela 3 - Épocas amostradas, material coletado e respectivas variáveis estudadas  
Fazenda Sete Lagoas - Conchal- SP,1990.**

<b>ÉPOCA DE AMOSTRAGEM</b>	<b>MATERIAL COLETADO</b>	<b>VARIÁVEIS ESTUDADAS</b>
Antes da aplicação anual dos tratamentos (16/01/1990)	solo raiz	- Atividade da microflora heterotrófica do solo - População de esporos MVA - Colonização por fungos MVA - Teor de fósforo disponível
Dois dias após a aplicação anual dos tratamentos (18/01/1990)	solo	- Atividade da microflora heterotrófica do solo
Trinta dias após a aplicação anual dos tratamentos (15/02/1990)	solo	- Atividade da microflora heterotrófica do solo
Sessenta dias após a aplicação anual dos tratamentos (20/03/1990)	solo raiz	- Atividade da microflora heterotrófica do solo - População de esporos MVA - Colonização por fungos MVA - Teor de fósforo disponível
Cento e vinte dias após a aplicação anual dos tratamentos (22/05/1990)	solo raiz	- Atividade da microflora heterotrófica do solo - População de esporos MVA - Colonização por fungos MVA

### **3.5.3. Preparo das amostras**

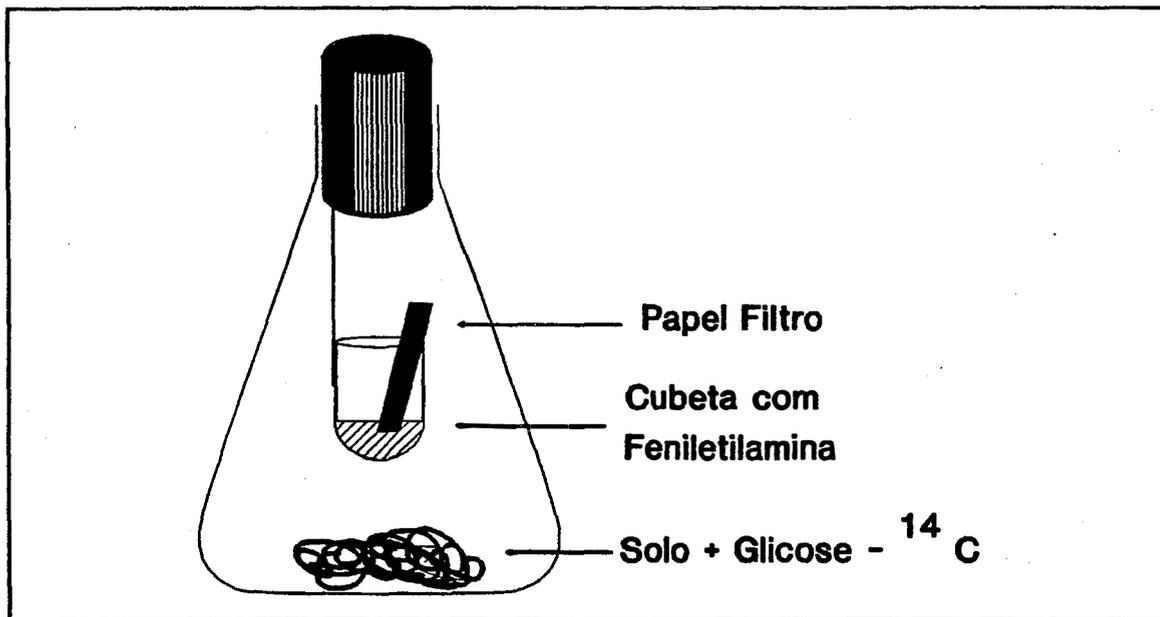
O solo procedente dos 8 furos de cada unidade experimental, foi homogeneizado e quarteado fazendo-se amostra composta, da qual se retirou material para os respectivos estudos, conforme tabela 3. Da mesma forma, as amostras de raízes foram reunidas em amostras compostas, para cada unidade experimental, foram lavadas e acondicionadas em frascos contendo F.A.A. (formol, ácido acético e etanol 50% na relação de 2,6:1:40), para preservá-las até o momento oportuno para a avaliação da colonização por fungos MVA.

### 3.6. Metodologia Analítica

#### 3.6.1. Atividade da microflora heterotrófica do solo

Para analisar o efeito dos diferentes herbicidas na atividade da microflora heterotrófica do solo, foi utilizado o método radiorespirométrico, utilizando como substrato a glicose marcada com  $^{14}\text{C}$  (FREITAS *et alii*, 1979).

Após a coleta das amostras no campo, 1,0g de solo fresco foi separado, em triplicata para cada tratamento, e distribuídos em erlenmeyers de 75ml. Sobre este solo foi adicionado 0,5ml de uma solução de glicose -  $^{14}\text{C}$  2  $\mu\text{mol/ml}$  com atividade de 0,05  $\mu\text{Ci/ml}$ . Posteriormente, os frascos foram fechados e deixados à temperatura ambiente. No interior dos erlenmeyers, foram colocados cubetas contendo 0,25ml de feniletilamina, para absorver o  $\text{CO}_2$  resultante da metabolização da glicose radiomarcada, e para aumentar a superfície de contato entre o  $\text{CO}_2$  e a feniletilamina utilizou-se de pequenas tiras de papel de filtro, de igual tamanho (Figura 1).



**Figura 1 - Frasco Rádiorespirométrico**

Após 1,0 hora de incubação, a reação foi paralisada pela adição de 2ml de HCL 1N sobre o solo, e, o papel de filtro juntamente com a feniletilamina foram transferidos para frascos de cintilação contendo 15ml de solução cintiladora (PATTERSON &

GREENE, 1965). Como padrão, 0,5 ml da solução de glicose -  $^{14}\text{C}$ , também, foi transferida para frascos de cintilação, e as contagens do  $^{14}\text{C}$  das amostras, como da glicose do padrão, foram realizadas em um cintilador líquido BECKMAN L5-230, pertencente à Seção de Radioisótopos do CENA.

A quantidade de glicose consumida pelos microrganismos do solo, é proporcional à contagem por minuto (cpm), dado pelo cintilador líquido, através da leitura do isótopo radioativo ( $^{14}\text{C}$ ). Essa quantidade de glicose consumida, expressa em  $\mu\text{mol}$  de glicose/g solo x hora, foi obtida pela seguinte equação:

$$X = \frac{a}{a_0} \times \frac{C}{M} \times \frac{V}{T}$$

onde,

X= quantidade de glicose consumida  $\text{g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ;

a= contagem por minuto da amostra;

$a_0$ = contagem por minuto do padrão;

C= concentração da solução de glicose -  $^{14}\text{C}$  ( $\mu\text{mol/ml}$ )

M= massa de solo (g);

V= volume de solução glicose -  $^{14}\text{C}$  (ml) adicionada ao solo e

T= tempo de incubação das amostras (hora).

### 3.6.2. Colonização micorrízica MVA

A colonização micorrízica foi avaliada, utilizando-se de partes de raízes preservadas em F.A.A. O clareamento e coloração foram feitos seguindo-se a técnica de PHILLIPS & HAYMAN (1970), em que consiste colocar 0,5g de raiz em um frasco contendo 20 ml de uma solução de KOH 10% e aquecê-lo a  $90^\circ\text{C}$  em banho-maria por 60 minutos. Em seguida o material foi lavado com água corrente em abundância e colocado em  $\text{H}_2\text{O}_2$  10 volumes (preparando na hora do uso) por 60 minutos a frio.

Após o material foi novamente lavado com água corrente em abundância e mergulhado em HCl 2% por 3 minutos. Procedeu-se então a coloração das amostras, colocando-as em uma solução de 20ml com "*trypan blue*" em lactoglicerol 0,05% e aquecida por 5 minutos a 90°C.

Posteriormente, preparou-se as lâminas para avaliação em microscopia óptica 400 x, da porcentagem de colonização de acordo com BIERMANN & LINDERMAN (1981), tomando-se ao acaso, 10 (dez) segmentos de raízes coradas com comprimento de 1 cm e colocadas sobre lâminas com uma gota de lactoglicerol incolor e recobertas com lamínulas.

A avaliação foi subjetiva e visual, e foi realizada observando-se cada segmento sob microscopia óptica com aumento de 400 x atribuindo-se notas de 0 a 100 (onde a nota 0 (zero) representava ausência de colonização e a nota 100 (cem) representava que o segmento radicular estava totalmente colonizado) para a colonização em cada segmento. Após atribuídas as notas de porcentagens de colonização para cada segmento, somou-se as notas dos 10 segmentos e extraiu-se a média aritmética, constituindo-se esta média a nota de colonização para aquela lâmina.

### **3.6.3. Quantificação da população de esporos MVA.**

A separação dos esporos de fungos MVA do solo, foi feita através do peneiramento úmido e decantação segundo GERDEMANN & NICOLSON (1963). Alíquotas de 50ml de solo foram suspendidas em 1000 ml de água através de uma agitação vigorosa, para que um maior número de partículas ficassem em suspensão. A solução foi então passada por um conjunto de peneiras com malhas de abertura entre 250 a 50 micra. Esse processo foi repetido por duas vezes. Em seguida, foi realizada a centrifugação (2500g) do material retido na peneira de 50 micra de abertura de malha, após suspensão em solução de sacarose 40% (OHMS, 1957), para que fossem eliminadas as partículas mais densas que os esporos. A quantificação dos esporos foi realizada em placa nematológica com anéis concêntricos, utilizando-se de microscopia óptica com aumentos de 40 a 120 x.

### 3.6.4. Teores de Fósforo.

Analisadas pelo Laboratório de Química do Solo do Departamento de Solo do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, sendo o fósforo determinado colorimetricamente utilizando reagente de molibdato de amônio (EMBRAPA, 1979).

### 3.7. Metodologia Estatística

As observações sucessivas foram realizadas numa mesma parcela, em períodos diferentes. Para a variável atividade da microflora heterotrófica do solo foram feitas observações em 5 períodos, para as variáveis população de esporos MVA e colonização por fungos MVA em 3 períodos e para a variável teores de fósforo disponível em 2 períodos. Os níveis desta causa de variação (o tempo) foram considerados como tratamentos secundários. Nas diferentes parcelas foram aplicados os 8 tratamentos principais descritos, e foram realizadas 3 repetições.

Desta forma ficou caracterizado um delineamento em parcelas subdivididas no tempo, onde as parcelas são os 8 tratamentos principais e as subparcelas os diferentes períodos.

O quadro da Análise de Variância para o esquema exposto é o que segue:

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GRAUS DE LIBERDADE	QUADRADOS MÉDIOS
Blocos	2	
Tratamentos (Tr)	7	QMTr
Resíduo (a)	14	QMR (a)
(Parcelas)	23	
Tempo (Te)	t - 1	QMTe
Interação Tr x Te	7 (t - 1)	QMTr x Te
Resíduo (b)	16 (t - 1)	QMR (b)
Subparcelas	n - 1	

$t$  = o número de períodos (5,3,3 e 2) para as variáveis atividade da microflora heterotrófica do solo, população de esporos MVA, colonização por fungos MVA e teores de fósforo disponível;

$n$  = o número total de observações para cada uma das variáveis, respectivamente 120, 72, 72 e 48.

A significância estatística das diferenças entre as respostas nos tratamentos, nos diferentes tempos e nas interações entre tratamentos e tempos foi analisada através do teste F (a razão entre os quadrados médios dos fatores e os respectivos quadrados médios residuais. Esta significância é dada pela probabilidade "p" - o nível de significância do teste).

As hipóteses formuladas são as que se seguem:

Para a variável atividade microflora heterotrófica do solo:

P/ os tratamentos:  $H_0: TR_1 = TR_2 = \dots TR_8$

$H_1$ : Pelo menos um trat. é diferente dos outros.

P/ os tempos:  $H_0: TE_1 = TE_2 = \dots TE_5$

$H_1$ : Existe pelo menos um tempo diferente.

P/ as interações:  $H_0: TR_1 \times TE_1 = TR_1 \times TE_2 = \dots TR_1 \times TE_5 = \dots TR_8 \times TE_5$

$H_1$ : Pelo menos uma interação é diferente.

Para as variáveis percentual de colonização e número de esporos

P/ tratamentos:  $H_0: TR_1 = TR_2 = \dots TR_8$

$H_1$ : Pelo menos um trat. é diferente dos outros.

P/ tempos:  $H_0: TE_1 = TE_2 = TE_3$

$H_1$ : Existe pelo menos um tempo diferente.

P/ interações:  $H_0: TR_1 \times TE_1 = TR_1 \times TE_2 = TR_1 \times TE_3 = \dots TR_8 \times TE_3$

$H_1$ : Ao menos uma interação difere.

Para a variável teor de fósforo

P/ tratamentos:  $H_0: TR_1 = TR_2 = \dots = TR_8$

$H_1$ : Pelo menos um trat. é diferente dos outros.

P/ tempos:  $H_0: TE_1 = TE_2$

$H_1$ : Existe pelo menos um tempo diferente.

P/ interações:  $H_0: TR_1 \times TE_1 = TR_1 \times TE_2 = \dots = TR_8 \times TE_2$

**H1: Ao menos uma interação difere.**

As hipótese para efeitos principais, secundários e das interações foram testadas através da análise de variância. Nos casos em que os testes eram estatisticamente significativos foi realizado o teste de comparações múltiplas (teste de TUKEY) para localizar as diferenças. No caso de interações significativas foram realizados testes de comparações de efeitos principais e secundários dentro de cada nível dos efeitos secundários e principais respectivamente.

Todas as observações da terceira repetição do oitavo tratamento foram perdidas. Para a consecução da análise, elas foram estimadas de maneira a tornar mínima a Soma de Quadrados dos Resíduos (PIMENTEL GOMES, 1987).

Os valores estimados foram substituídos pelos valores perdidos e a análise foi feita como a anterior, com um grau de liberdade a menos para os Resíduos. O quadrado médio relativo ao resíduo está corretamente estimado, e o correspondente a tratamentos está ligeiramente maior. Tanto a correção dos graus de liberdade do resíduo como a correção da soma de quadrados dos tratamentos conduziram aos mesmos resultados obtidos sem estas correções. Ainda, testou-se a necessidade de transformação dos dados para todas as variáveis estudadas, mostrando não ser necessário. Os autores consultados para a análise desse estudo foram SNEDECOR & COCHRAN (1967); MEAD & CURNOW (1983) e PIMENTEL GOMES (1987).

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1. Teores de fósforo**

Para o estudo da influência dos herbicidas na micorrização simbiótica um fator importante que deve ser considerado, trata-se da disponibilidade de nutrientes no solo.

A micorrização é geralmente inibida em condições de elevada fertilidade, sendo verificado por diversos autores que nessas condições a ocorrência e intensidade da simbiose MVA são significativamente menores, como observado nos trabalhos de JENSEN & JAKOBSEN, 1980; MOSS *et alii*, 1981 e SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

Dentre os nutrientes essenciais que compõem a fertilidade do solo, inúmeros trabalhos têm mostrado a importância do fósforo no processo da micorrização, concordando que altos níveis de fósforo no solo diminuem a colonização micorrízica MVA, bem como a resposta do hospedeiro à simbiose (GERDERMANN, 1968; MOSSE, 1973; TINKER, 1975; COOPER, 1975; SMITH, 1978; KUCEY & PAUL, 1983; SIQUEIRA & FRANCO, 1988 e CARDOSO, 1990).

A importância que assume esse elemento, em especial, no processo de micorrização, inicialmente estudou-se a homogeneidade dos teores de fósforo dos diferentes tratamentos para se assegurar que os efeitos observados na colonização das raízes dos citros e esporulação sejam devidos aos tratamentos e não ao efeito desse nutriente. Os dados originais dos teores de fósforo, encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4 - Teores de fósforo, em ppm, encontrados nos diferentes tratamentos para os tempos (1) e (2) - Fazenda Sete Lagoas - Conchal - SP, 1990.

Tratamentos	Antes da aplicação dos tratamentos (1)	60 dias após aplicação dos tratamentos (2)
1. Testemunha	7	5
	8	13
	20	20
2. Testemunha capinada	13	26
	13	10
	13	26
3. Terbacil	17	20
	12	13
	18	13
4. Simazine	15	17
	5	16
	15	9
5. Dichlobenil	26	11
	11	34
	20	13
6. Diuron	20	19
	19	17
	7	16
7. Bromacil	26	26
	11	12
	8	17
8. Bromacil + Diuron	28	16
	17	16

Processados os dados estatisticamente, a análise de variância mostrou que não houve diferentes respostas nos teores de fósforo para os diferentes tratamentos. O mesmo se verificou para os tempos estabelecidos e as interações entre tempo e tratamento, como mostra a Tabela 5.

Tabela 5 - Quadro da análise de variância para os teores de fósforo, média geral e coeficientes de variação.

Causas da Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
BLOCO	2	135,7916667			
TRATAMENTO	7	260,1458333	37,1636905	0,8278	0,58178
RESÍDUO (A)	14	628,5416667	44,8958333		
PARCELAS	23	1024,4791667			
TEMPO	1	15,1875000	15,1875000	0,3558	0,56538
TRAXTEM	7	186,3125000	26,6160714	0,6235	0,73081
RESÍDUO (B)	16	683,0000000	42,6875000		
TOTAL	47	1908,9791667			

MÉDIA GERAL = 16,020834

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (A) = 29,574 %

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (B) = 40,782 %

Esses resultados foram então interpretados segundo a ROLAS (Rede Oficial de Laboratórios de Análises de Solos), que considera teor alto para esse nutriente, valor maior que 12 ppm segundo as características físicas do solo estudado. Encontrando-se para os diferentes tratamentos nas duas avaliações valor médio de 16.02 ppm (Tabela 5).

#### 4.2. Colonização micorrízica MVA

Os efeitos benéficos da simbiose MVA, a capacidade das mesmas em aumentar o crescimento e a sobrevivência das plantas com significativos ganhos na produção, em razão de condições ambientais adversas, têm sido amplamente documentados (KLEINSCHMIDT & GERDERMANN, 1972; SCHENK & TUCKER, 1974; MENGE *et alii*, 1975, 1977 e 1978; TIMMER & LEYDEN, 1979; HAYMANN, 1982; MENGE, 1983; GRAHAM & TIMMER, 1984; CARDOSO *et alii*, 1986; FONTANEZZI *et alii*, 1987; ANTUNES & CARDOSO, 1987; SIQUEIRA & FRANCO, 1988 entre outros).

Dada a importância que assumem esses fungos micorrízicos em determinados processos produtivos, torna-se necessário identificar dentro de um sistema de produção agrícola, onde a contribuição da simbiose MVA é relevante. Como por exemplo em citros, deve-se estudar o efeito detrimental dos diferentes manejos culturais e fitossanitários (GREAVES & MALKOMES, 1980).

Os efeitos dos tratamentos herbicidas na colonização micorrízica MVA encontra-se na Tabela 6.

Tabela 6 - Percentagem de colonização micorrízica VA, por 10 seguimentos de raízes coradas com comprimento de 1 cm, colocados sobre lâminas, atribuindo-se notas de 0 (zero) a 100 (cem) - Fazenda Sete Lagoas - Conchal - SP, 1990.

Tratamentos	Amostras	Dias após aplicação dos tratamentos		
		Antes de Aplicar	60	120
1. Testemunha sem capina	1a	31,0	12,0	3,0
	1b	18,0	18,0	2,0
	1c	19,0	15,0	8,3
2. Testemunha com capinada	2a	28,0	1,8	0,0
	2b	17,0	3,4	7,6
	2c	18,0	18,2	1,2

**Tabela 6 - Percentagem de colonização micorrízica VA, por 10 seguimentos de raízes coradas com comprimento de 1 cm, colocados sobre lâminas, atribuindo-se notas de 0 (zero) a 100 (cem) - Fazenda Sete Lagoas - Conchal - SP, 1990.**

3. Terbacil	3a	17,0	0,9	0,0
	3b	15,0	3,1	0,8
	3c	11,0	6,6	1,2
4. Simazine	4a	32,0	1,6	0,7
	4b	11,0	8,5	0,1
	4c	28,0	7,5	2,5
5. Dichlobenil	5a	19,0	8,9	0,9
	5b	15,0	8,3	3,0
	5c	26,0	15,0	4,5
6. Diuron	6a	39,0	11,0	2,0
	6b	30,0	6,3	1,2
	6c	25,0	2,4	6,0
7. Bromacil	7a	7,0	17,0	0,2
	7b	9,0	5,0	1,0
	7c	9,0	16,5	0,0
8. Bromacil + Diuron	8a	8,0	10,0	2,0
	8b	12,0	13,6	0,3

\* Avaliação visual, onde 0 (zero) representa ausência de infecção micorrízica e, 100 (cem) representa raízes totalmente micorrizadas.

A análise estatística mostrou que a diferença entre os oito tratamentos foi significativa com  $p=0.00321$ , indicando existir pelo menos um tratamento diferente dos demais, da mesma forma que as interações entre tratamentos e tempos, com  $p=0.00479$  (Tabela 24, em apêndice).

Se forem considerados as diferenças entre tratamentos sem se considerar as respostas nos diferentes tempos, o teste de TUKEY a 5% para as médias dos tratamentos mostrou a existência de dois grupos de respostas em ordem decrescente, (i) trat.1, trat.6, trat.5, trat.2, trat.4 e trat.8 e (ii) trat.5, trat.2, trat.4, trat.8, trat.7 e trat.3, como mostra a Tabela 7.

Tabela 7 - Teste de TUKEY para as médias de tratamentos, sem considerar o tempo para colonização micorrízica VA.

TRATAMENTOS	MÉDIAS	5%	1%
1. Testemunha sem capina	14,033333	a	A
6. Diuron	13,655556	a	AB
5. Dichlobenil	11,177778	ab	AB
2. Testemunha com capina	10,577778	ab	AB
4. Simazine	10,211111	ab	AB
8. Bromacil + Diuron	8,166667	ab	AB
7. Bromacil	7,188889	b	AB
3. Terbacil	6,177778	b	B

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado. D.M.S. 5% = 5,97365 - D.M.S. 1% = 7,49400

As duas maiores médias são para os tratamentos 1 e 6, compreendidos como testemunha com uma capina anual e diuron respectivamente. As duas menores são para os tratamentos 7 (bromacil) e 3 (terbacil), pertencentes ao mesmo grupo químico de herbicida.

Quando se considerou os tempos, verifica-se que a diferença entre os dois grupos descritos era devida ao alto valor das respostas no tempo 1, como pode ser visto na Tabela 8.

Os resultados do teste de TUKEY para as diferenças entre os tratamentos dentro dos tempos estudados, são mostrados nas Tabelas 8, 9 e 10.

Tabela 8 - Teste de TUKEY para as médias de tratamentos dentro do tempo 1 (antes da aplicação), para colonização micorrízica VA.

TRATAMENTOS	MÉDIAS	5%	1%
6. Diuron	31,333333	a	A
4. Simazine	23,666667	ab	AB
1. Testemunha sem capina	22,666667	ab	ABC
2. Testemunha com capina	21,000000	abc	ABC
5. Dichlobenil	20,000000	abcd	ABC
3. Terbacil	14,333333	bcd	BC
8. Bromacil + Diuron	9,633333	cd	BC
7. Bromacil	8,333333	d	C

Tabela 9 - Teste de TUKEY para as médias de tratamentos dentro do tempo 2 (60 dias após aplicação), para colonização micorrízica VA.

TRATAMENTOS	MÉDIAS	5%	1%
1. Testemunha sem capina	15,000000	a	A
8. Bromacil + Diuron	13,133334	a	A
7. Bromacil	12,833333	a	A
5. Dichlobenil	10,733333	a	A
2. Testemunha com capina	7,800000	a	A
6. Diuron	6,566667	a	A
4. Simazine	5,866667	a	A
3. Terbacil	3,533333	a	A

Tabela 10 - Teste de TUKEY para as médias de tratamentos dentro do tempo 3 (120 dias após aplicação), para colonização micorrízica VA.

TRATAMENTOS	MÉDIAS	5%	1%
1. Testemunha sem capina	4,433333	a	A
6. Diuron	3,066667	a	A
2. Testemunha com capina	2,933333	a	A
5. Dichlobenil	2,800000	a	A
8. Bromacil + Diuron	1,733333	a	A
4. Simazine	1,100000	a	A
3. Terbacil	0,666667	a	A
7. Bromacil	0,400000	a	A

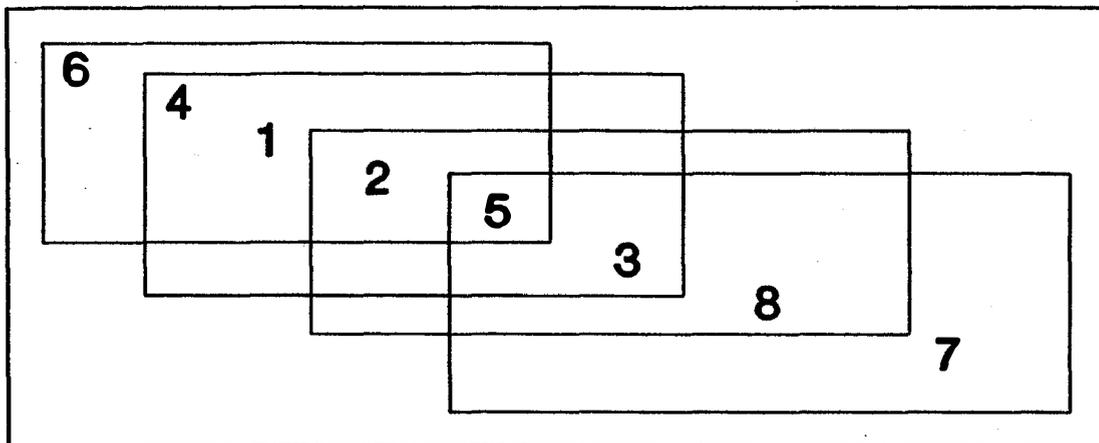
Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.  
D.M.S. 5% = 12,17790 - D.M.S. 1% = 14,50381

O tempo 1, corresponde à primeira amostragem realizada um ano depois da última aplicação. O tempo 2 e 3 correspondem respectivamente, a 60 e 120 dias após a aplicação dos tratamentos do mesmo ano.

O percentual de colonização micorrízica antes da aplicação apresentou a maior média para o tratamento 6 (diuron) e a menor média para o tratamento 7 (bromacil) (Tabela 8).

Alguns pesquisadores têm reportado sobre os efeitos estimulatórios provocados pelos herbicidas na colonização micorrízica (SMITH & FERRY, 1979; SPOKES *et alii*, 1981 e SYLVIA & SCHENK, 1982). Embora não diferindo estatisticamente dos tratamentos controles, o diuron e a simazine apresentaram maiores médias do que aqueles, indicando um possível efeito nesse sentido. Verificou-se também que os tratamentos 6 (diuron), 4 (simazine) e 1 (testemunha com uma capina anual) diferiram significativamente dos tratamentos 8 (bromacil + diuron) e 7 (bromacil). A figura 2

representada pelo diagrama de VENN ilustra os resultados, antes da aplicação ao nível de 5% de significância.



**Figura 2** - Diagrama de Venn ilustrativo na diferenciação dos resultados entre os tratamentos, para colonização micorrízica VA.

Apesar de ter havido a existência de 4 grupos de médias antes da aplicação para, como mostra a Tabela 8, e a existência de diferenças significativas entre os tratamentos 6, 4 e 1 dos tratamentos 8 e 7, os resultados apresentados dentro de cada grupo de tratamentos e entre grupos de tratamentos, com exceção do tratamento 7 (bromacil), mostra que o impacto provocado na colonização micorrízica VA em citros, pelos herbicidas terbacil, simazine, dichlobenil, diuron e diuron + bromacil, parece ser semelhante ao provocado pela capina manual normal, realizada para o controle de plantas daninhas na cultura do citros.

Verificou-se ainda que o impacto causado pelo bromacil na redução da colonização micorrízica dos citros foi significativamente superior ao apresentado pela capina manual normal. Para esse herbicida, o resultado foi diferente do obtido por SANTOS (1989), o qual não encontrou efeito do mesmo sobre a colonização micorrízica dos citros, quando comparado com o tratamento controle.

Entretanto, de maneira geral, a exceção do bromacil, os resultados são concordantes com os da maioria dos pesquisadores, os quais não observaram efeitos depressivos significativos sobre a colonização micorrízica MVA, em presença de

herbicida. Porém, quando encontrados, os efeitos estão mais diretamente relacionados a cada molécula em particular. Sendo que muitas vezes só foram verificadas nas doses muito acima das normalmente usadas nas condições de campo (SMITH & FERRY, 1979; OCAMPO & HAYMAN, 1980 e 1985; SPOKES *et alii*, 1981; TOMMERUP & BRIGGS, 1981; POPES & HOLT, 1981; NEMEC & TUCKER, 1983; GARCIA - ROMERA *et alii*, 1988).

Para esse tipo de trabalho, as sugestões de TRAPPE *et alii* (1984) são pertinentes e necessárias tal como a condução de trabalhos multidisciplinares nesta área.

Como visto, foi devido principalmente as respostas no tempo 1, as diferenças entre os tratamentos. Entretanto analisando-se somente as respostas nos 3 tempos sem considerar os tratamentos, o teste de TUKEY aos níveis de 5 e 1% agrupou as respostas médias por tempo conforme Tabela 11.

Tabela 11 - Teste de TUKEY para as médias de tempo, sem considerar os tratamentos para colonização micorrízica VA.

TEMPOS	MÉDIAS	5%	1%
TE1. Antes da aplicação	18,870833	a	A
TE2. 60 dias após aplicação	9,433333	b	B
TE3. 120 dias após aplicação	2,141667	c	C

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

D.M.S. 5% = 3,64916 - D.M.S. 1% = 4,65793

Discutindo-se as médias, verifica-se que a média do tempo 1 mostrou-se 2 vezes superior a do tempo 2 e 8,82 vezes a do tempo 3.

Os resultados para as diferenças de respostas no tempo dentro de cada tratamento, encontram-se nas Tabelas 25 a 32 no apêndice, podendo-se agrupar as respostas conforme Tabela 12.

Tabela 12 - Grupos de respostas pelo teste de TUKEY a 5%, considerando-se o tempo para cada tratamento para colonização micorrízica VA.

TRATAMENTOS	DIFERENÇAS NOS TEMPOS
1. Testemunha sem capina	TE1 - TE2 TE3
2. Testemunha com capina	TE1 TE2=TE3
3. Terbacil	TE1 TE2=TE3
4. Simazine	TE1 TE2=TE3
5. Dichlobenil	TE1=TE2 TE2=TE3
6. Diuron	TE1 TE2=TE3
7. Bromacil	TE2=TE1 TE1=TE3
8. Bromacil + Diuron	TE2=TE1 TE1=TE3

TE1 = Antes da aplicação; TE2 = 60 dias após aplicação; TE3 = 120 dias após aplicação.

Pode-se observar pela Tabela, que para os tratamentos 1, 2, 3, 4, 5 e 6 as maiores médias foram obtidas no tempo 1. No entanto, estas respostas foram significativas somente para os tratamentos 2, 3, 4 e 6, isto é, para os tratamentos 2 (testemunha capinada), 3 (terbacil), 4 (simazine) e 6 (diuron) existe diferença entre as respostas obtidas no tempo 1 em relação às respostas obtidas nos tempos 2 e 3.

Para o tratamento 5 só houve diferença significativa entre as respostas no tempo 1 e no tempo 3. E para o tratamento 1 as respostas obtidas no tempo 1 e 2 não diferiram entre si, mas são diferentes das obtidas no tempo 3.

Para os tratamentos 7 e 8 as maiores respostas foram obtidas no tempo 2, embora não sejam estatisticamente diferentes das respostas obtidas no tempo 1. Entretanto, observou-se que as respostas no tempo 2 para esses tratamentos foram significativamente diferentes daquelas obtidas no tempo 3.

A questão, no entanto, está em analisar a magnitude do impacto provocado pelo herbicida bromacil, como discutido anteriormente. Assim, confrontando-se o valor da média de colonização dentro do tratamento 7 (bromacil) de 12.83 no tempo 2 (Tabela 31, em apêndice), com as médias de colonização dentro do tratamento 1 (testemunha com uma capina anual) de 15.00 e 4.43 nos tempos 2 e 3 respectivamente (Tabela 25, em apêndice), e as médias de colonização dentro do tratamento 2 (testemunha capinada) de 7.80 e 2.93 também nos tempos 2 e 3 respectivamente (Tabela 26, em apêndice), verifica-se que o impacto que pode provocar o bromacil, mostrado no tempo 1, frente aos dados obtidos no tempo 2 em comparação com os dados das testemunhas nos tempos 2 e 3, possivelmente deve ser um impacto de pouca importância para a produção do citros e simbiose MVA, considerando-se que as respostas da colonização micorrízica no tempo são lentas.

Um outro fator que deve ser analisado nessa discussão, trata-se da umidade do solo e da adubação NPK realizada no campo experimental no período desse estudo.

Através do balanço hídrico, como mostra a Figura 3, no apêndice, verificou-se deficiência hídrica nos meses de março, abril, maio, junho e julho de 1990, coincidindo com os tempos 2 (20/3/1990) e 3 (22/5/1990), desse trabalho. Já no tempo 1 (16/1/1990) as condições de umidade foram favoráveis apresentando excedente hídrico.

A colonização micorrízica foi seriamente reduzida nos tempos 2 e 3 em relação ao tempo 1, cujas médias mostraram-se 2 e 8.82 vezes inferiores a do tempo 1, respectivamente (Tabela 11). No entanto, mesmo sendo favorecido o desenvolvimento micorrízico em condições próximas a capacidade de campo (SIQUEIRA & FRANCO, 1988), plantas estressadas hidricamente apresentaram maior colonização como mostra os trabalhos de KHAN (1971); RABATIN (1979); NELSEN & SAFIR (1982); BOLGIANO *et alii* (1983) e SAITO *et alii* (1983), indicando que a falta de umidade possivelmente não tenha sido a causa principal da redução micorrízica verificado nos tempos 2 e 3.

Porém, analisando-se a adubação NPK realizada no campo experimental, utilizando-se a fórmula 12-6-12, na dose de 5 Kg por pé, aplicados parceladamente 3 vezes ao ano, nos meses de julho/agosto, novembro/dezembro e fevereiro/março, e ainda considerando as próprias condições de alto teor de fósforo do solo no local do ensaio, verifica-se que essas condições, somadas ao excedente hídrico observado nos meses de novembro, dezembro, janeiro e fevereiro, ofereceram condições para um bom desenvolvimento dos citros, mas desfavorável a simbiose devido ao teor de fósforo. Possivelmente tenham sido as causas da redução na colonização micorrízica observada nos tempos 2 e 3 em relação ao tempo 1. Como mostram os tratamentos controles nos três tempos estudados verificando-se médias para o tratamento 1 respectivamente 22.66; 15.00 e 4.43, diferindo nesse caso significativamente apenas no tempo 3. Para o tratamento 2 as médias foram 21.00; 7.80 e 2.93, sendo estatisticamente diferentes os tempos 2 e 3 do tempo 1, os quais não diferiram entre si (Tabela 25 e 26, em apêndice). Evidencia-se dessa forma, como discutido anteriormente, que o impacto apresentado pelo herbicida bromacil deve ser inferior ao provocado pela interação adubação, e teor de umidade do solo.

#### **4.3. Quantificação da população de esporos MVA**

Os esporos, como é de conhecimento geral, são estruturas de repouso pelas quais os fungos sobrevivem a diferentes tipos de estresses ambientais.

Um solo com abundância de esporos micorrízicos e, as condições ambientais estando favoráveis ao desenvolvimento da simbiose, as plantas de citros poderão se apresentar micorrizadas e serão favorecidas pelos efeitos benéficos dessa associação.

Vários fatores podem afetar diferentemente o número de esporos micorrízicos da região de desenvolvimento das raízes do citros. Discute-se nesse trabalho, o efeito de diferentes herbicidas aplicados a longo prazo, isto é, o mesmo produto aplicado anualmente sempre no mesmo local. Os resultados dessa variável em questão (Tabela 13), indicou pela análise de variância (Tabela 33, em apêndice) que a diferença entre os oito tratamentos foi significativa com  $p=0.075$ , existindo a esse nível pelo menos um tratamento diferente dos demais. Se for considerado o nível de significância tradicional

$\alpha=0.05$ , não se verificam diferenças significativas entre os tratamentos. Para os tempos, os resultados obtidos foram significativos com  $p=0.00001$ , no entanto as interações entre tratamento e tempo não foram significativas, com  $p=0.11$ , como mostra a Tabela 33, em apêndice.

Tabela 13 - Resultados do número de esporos MVA, na região de desenvolvimento das raízes de citros por 50 ml de solo - Fazenda Sete Lagoas - Conchal - SP, 1990.

Tratamentos	Amostras	Dias após aplicação dos tratamentos		
		Antes de Aplicar	60	120
1. Testemunha sem capina	1a	620	669	432
	1b	431	862	579
	1c	414	1114	809
2. Testemunha com capinada	2a	430	904	816
	2b	342	1400	817
	2c	542	808	853
3. Terbacil	3a	792	1137	1226
	3b	604	1250	827
	3c	546	878	824
4. Simazine	4a	911	1078	956
	4b	502	1164	666
	4c	650	776	624
5. Dichlobenil	5a	586	1116	683
	5b	776	1362	487
	5c	456	396	444
6. Diuron	6a	896	890	779
	6b	720	740	490
	6c	628	772	379
7. Bromacil	7a	706	1316	1258
	7b	600	1620	529
	7c	688	1137	415
8. Bromacil + Diuron	8a	666	717	400
	8b	688	973	506

Por essas respostas, considerando-se  $\alpha=0.05$ , o impacto provocado pelos tratamentos herbicidas no número de esporos na região de desenvolvimento das raízes de citros não diferiram significativamente dos tratamentos controles, concordando com os trabalhos de OCAMPO & HAYMANN (1980) e SANTOS (1989).

Através do teste de TUKEY, buscou-se então localizar as diferenças entre as respostas nos tempos, conforme Tabela 14 abaixo.

Tabela 14 - Teste de TUKEY para as médias de tempo, sem considerar os tratamentos, para número de esporos micorrízicos VA.

TEMPOS	MÉDIAS	5%	1%
TE2. 60 dias após aplicação	985,666667	a	A
TE3. 120 dias após aplicação	671,666667	b	B
TE1. Antes da aplicação	616,458333	b	B

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

D.M.S. 5 % = 134,94848 - D.M.S. 1 % = 172,25320

Verificou-se portanto que as diferenças entre os tempos foram devidas ao alto valor das respostas no tempo 2, não havendo entretanto, diferenças significativas entre as respostas nos tempos 3 e 1, indicando que o impacto sofrido pela colonização micorrízica, conforme referido anteriormente, em função da adubação, umidade e secagem de alguma forma favoreceu a esporulação.

Este fato se mostra mais evidente quando se compara os valores das médias do número de esporos dentro dos tratamentos 1 e 2 (controles), como se observa na Tabela 15, construída a partir do teste de TUKEY para médias de número de esporos dentro de cada tratamento do fator tratamento, contidos nas Tabelas de 34 à 41, em apêndice.

Tabela 15 - Comparação de médias dos tratamentos nos tempos estudados, para número de esporos MVA.

TRATAMENTOS	TEMPOS		
	TE1	TE2	TE3
1. Testemunha sem capina.	488,33	881,67	606,67
2. Testemunha com capina.	438,00	1037,33	828,67
3. Terbacil	647,33	1088,33	959,00
4. Simazine	687,67	1006,00	748,67
5. Dichlobenil	606,00	958,00	538,00
6. Diuron	748,00	800,67	549,33
7. Bromacil	664,67	1357,67	734,00
8. Bromacil + Diuron	651,67	755,67	409,00

TE1 = Antes da aplicação; TE2 = 60 dias após aplicação; TE3 = 120 dias após aplicação.

KUCEY & PAUL (1983) afirmam que toda prática que reduz a densidade e o potencial das raízes do hospedeiro, também reduz o número de esporos encontrados no solo, tal como ocorre, inevitavelmente, com a capina manual na eliminação das plantas daninhas, onde o potencial de raízes do hospedeiro, tanto das plantas de citros como das próprias plantas daninhas hospedeiras são reduzidos. Através da Tabela 15 verifica-se para a maioria dos tratamentos um aumento real nas médias do número de esporos, no tempo 2 e decréscimo no tempo 3, porém ambos superiores ao tempo 1, verificados, especialmente, nos tratamentos 1 e 2 (controles). Esses tratamentos (TE1 e TE2), que representam as condições propostas pelos autores citados acima, diferiram significativamente no tempo 2 dos tempos 1 e 3 e foram no tempo 2 em relação ao tempo 1, 1.8 e 2.4 vezes superiores respectivamente. Entretanto, para os tempos 1 e 3, o número de esporos não diferiram entre si, no entanto as médias dos citados tratamentos foram 1.2 e 1.9 vezes superiores no tempo 3 em relação ao tempo 1.

Nesta discussão, desconsiderando-se os efeitos dos herbicidas, avalia-se o efeito das condições ambientais, umidade + adubação NPK seguida de secagem no número de esporos MVA do citros, efeito este caracterizado pelo aumento do número de esporos nos tratamentos controles, como mostra a Tabela 15.

Para solos com nível médio de fósforo SYLVIA & SCHENK (1983), verificaram que a aplicação de adubo fosfatado aumentou a eficiência de esporulação de *Gigaspora margarita* e *Gigaspora heterogama*, no entanto, diminuiu significativamente a eficiência de esporulação de *Glomus etunicatum* e *Glomus macrocarpum*, indicando respostas diferentes da adubação fosfatada para diferentes gêneros. Em condições de seca KHAN (1971) observou *Ipomoea carnea* alta densidade de esporos, sendo que o número de esporos correlacionou-se negativamente com a umidade do solo e ocorre, inte com o crescimento da planta (ANDERSON *et alii*, 1983). Concluindo, SIQUEIRA & FRANCO (1988) afirmam que alternância entre ciclos de umidade e secagem parece favorecer a esporulação dos fungos MVA.

Nas condições desse estudo, os resultados obtidos se assemelham aos verificados pelos autores citados acima, caracterizado pelo aumento no número de esporos da região de desenvolvimento das raízes do citros, em função da interação umidade + adubação fosfatada seguida de secagem.

Isolados e classificados os esporos, sugere-se estudos de germinação e capacidade infectiva dos mesmos, em raízes de citros, procurando-se quantificar e qualificar possíveis efeitos desses herbicidas sobre os mesmos.

No estudo da relação entre percentagem de colonização micorrízica nas raízes e o número de esporos MVA do citros não se verificou correlação significativa, com coeficiente de correlação igual a  $r = -0,129698$ .

#### **4.4. Atividade da microflora heterotrófica do solo**

A atividade microbiana do solo resulta da somatória da atividade das células individuais, que pode ser estimada através de medições do metabolismo global do solo ou da quantificação por processos específicos (SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

Dentre os métodos existentes, a taxa de respiração ou respiração edáfica, que é medida pela liberação de CO<sub>2</sub> ou consumo de O<sub>2</sub> oriunda da atividade microbiana heterotrófica do solo, fornece informações úteis sobre as transformações das populações microbianas, decorrentes de práticas agrícolas, como os efeitos de aplicações de herbicidas.

Os dados originais são apresentados na Tabela 16.

Tabela 16 - Atividade microbiana heterotrófica do solo, medida através da radiorespirometria, pela evolução do CO<sub>2</sub> liberado pelo consumo de  $\mu$ mol glicose por grama de solo fresco por hora - Fazenda Sete Lagoas - Conchal - SP, 1990.

Tratamentos	Amostras	Dias após aplicação dos tratamentos				
		Antes de Aplicar	2	30	60	120
1. Testemunha sem capina	1a	65,2	112,2	46,0	46,4	38,5
	1b	66,7	89,1	47,8	34,4	36,0
	1c	48,7	111,8	40,4	42,6	29,3
2. Testemunha com capinada	2a	52,5	137,6	44,2	22,4	28,0
	2b	61,1	102,8	34,2	32,4	31,9
	2c	49,7	128,3	33,2	40,6	36,3
3. Terbacil	3a	81,1	62,6	61,8	41,2	34,8
	3b	57,4	63,7	53,2	42,7	31,2
	3c	49,5	95,9	49,0	38,2	27,6
4. Simazine	4a	56,0	53,8	46,4	39,8	30,4
	4b	51,1	63,8	42,4	56,2	27,7
	4c	54,2	73,5	44,6	42,9	37,8
5. Dichlobenil	5a	47,1	58,5	31,8	58,5	39,6
	5b	52,4	68,8	43,4	54,9	36,8
	5c	47,2	68,9	50,0	48,4	35,3
6. Diuron	6a	84,2	70,7	58,0	48,0	36,9
	6b	61,0	69,2	36,4	47,4	35,4
	6c	44,5	80,1	43,2	37,1	40,8
7. Bromacil	7a	51,4	77,3	43,2	30,6	41,2
	7b	56,5	69,4	39,0	44,7	35,0
	7c	49,9	74,0	35,6	51,3	38,9
8. Bromacil + Diuron	8a	42,3	55,8	43,8	46,0	53,9
	8b	43,4	54,4	42,6	48,0	48,1

Nas condições em que foi desenvolvido o ensaio, a análise de variância indicou que a diferença entre os oito tratamentos foi significativa com  $p=0.029$ , indicando que existiu pelo menos um tratamento diferente dos demais. Também os resultados obtidos nos diferentes tempos foram significativos com  $p=0.00001$ , da mesma forma que as interações entre tratamentos e tempos, como mostra a Tabela 42 do quadro de análise de variância, em apêndice.

Pelo confronto das médias, através do teste de TUKEY verificou-se que estas eram devidas aos altos valores das respostas no tempo 2.

A atividade da microflora heterotrófica do solo teve a mesma resposta para todos os tratamentos nos tempos 1, 3 e 5 (Tabelas 17, 18 e 19).

Tabela 17 - Teste de TUKEY para as médias de tratamentos dentro do tempo 1 (antes da aplicação), para atividade da microflora heterotrófica do solo.

TRATAMENTOS	MÉDIAS	5%	1%
6. Diuron	63,233332	a	A
3. Terbacil	62,666667	a	A
1. Testemunha sem capina	60,199998	a	A
2. Testemunha com capina	54,433333	a	A
4. Simazine	53,766666	a	A
7. Bromacil	52,600001	a	A
5. Dichlobenil	48,900000	a	A
8. Bromacil + Diuron	44,833333	a	A

Tabela 18 - Teste de TUKEY para as médias de tratamentos dentro do tempo 3 (30 dias após aplicação), para atividade da microflora heterotrófica do solo.

TRATAMENTOS	MÉDIAS	5%	1%
3. Terbacil	54,666667	a	A
6. Diuron	45,866667	a	A
1. Testemunha sem capina	44,733334	a	A
4. Simazine	44,466667	a	A
8. Bromacil + Diuron	42,333332	a	A
5. Dichlobenil	41,733334	a	A
7. Bromacil	39,266666	a	A
2. Testemunha com capina	37,200001	a	A

Tabela 19 - Teste de TUKEY para as médias de tratamentos dentro do tempo 5 (120 dias após aplicação), para atividade da microflora heterotrófica do solo.

TRATAMENTOS	MÉDIAS	5%	1%
8. Bromacil + Diuron	51,199999	a	A
7. Bromacil	38,366667	a	A
6. Diuron	37,700001	a	A
5. Dichlobenil	37,233332	a	A
1. Testemunha sem capina	34,600000	a	A
2. Testemunha com capina	32,066666	a	A
4. Simazine	31,966667	a	A
3. Terbacil	31,200000	a	A

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

D.M.S. 5% = 20,99542 - D.M.S. 1% = 24,75396

No tempo 2 (Tabela 20), os tratamentos 1 e 2 (controles) foram os que apresentaram maior atividade média, diferenciando-se significativamente aos níveis de 5 e 1% dos demais, os quais não mostraram diferenças significativas entre si.

Tabela 20 - Teste de TUKEY para as médias de tratamentos dentro do tempo 2 (2 dias após aplicação dos tratamentos), para atividade da microflora heterotrófica do solo.

TRATAMENTOS	MÉDIAS	5%	1%
2. Testemunha com capina	122,900004	a	A
1. Testemunha sem capina	104,366666	a	A
3. Terbacil	74,066667	b	B
7. Bromacil	73,566668	b	B
6. Diuron	73,333331	b	B
5. Dichlobenil	65,400002	b	B
4. Simazine	63,699999	b	B
8. Bromacil + Diuron	59,033334	b	B

Analisando-se as médias antes da aplicação sem se considerar a inexistência de significância entre os tratamentos, como se observa na Tabela 17, verifica-se que a maior média foi para o tratamento 6 (diuron) 63.23, a menor para o tratamento 8 (bromacil + diuron) 44.83, e os tratamentos 1 e 2 (controles) apresentaram médias de 60.20 e 54.43 respectivamente. Esses valores devem representar o estado de equilíbrio microbiológico do solo, após 1 ano da última aplicação dos tratamentos, em função do impacto provocado por ocasião da aplicação dos mesmos.

Para a respiração do solo nas condições desta época estudada (tempo 1), não se observou relação direta de influência entre os dados observados com os fatores climáticos, como mostra o balanço hídrico (figura 3, em apêndice), podendo-se

considerar a ocorrência de um ano normal, no mês dessa avaliação, comparado aos anos anteriores no mesmo período.

Os dados permitem afirmar, nas condições desse ensaio, que após um ano da última aplicação desses herbicidas estudados precedidos de uma aplicação anual por doze anos ininterruptos, os mesmos apresentam efeitos semelhantes aos tratamentos controles para atividade heterotrófica do solo.

Realizada a avaliação do tempo 1, como se sabe, o experimento foi totalmente capinado manualmente, e o resíduo da capina retirado do local, de tal forma que o solo ficou completamente sem vegetação. Nessas condições, os tratamentos do ano desse estudo foram aplicados, imediatamente após a limpeza do ensaio.

Dois dias após a aplicação dos tratamentos procedeu-se então a avaliação do tempo 2 (Tabela 20).

Nesse tempo, como descrito anteriormente, os tratamentos 1 e 2 (controles) foram os que apresentaram maior atividade heterotrófica, suas médias foram respectivamente 122.90 e 104.37, as quais, como visto, diferiram significativamente das demais, inclusive ao nível de significância de 1% (Tabela 20).

Para os tratamentos herbicidas a maior média foi para o tratamento 3 (terbacil) 74.06 e a menor média para o tratamento 8 (bromacil + diuron) 59.03. Os valores dos tratamentos controles evidenciam uma alta atividade microbiana para os mesmos, ao passo que os tratamentos herbicidas foram significativamente inferiores a esses. Contudo, mostraram-se levemente superiores a si e aos controles, quando comparadas suas médias no tempo 2 com as médias obtidas no tempo 1, como mostram as Tabelas 17 e 20.

A explicação encontrada para esse fenômeno verificado no tempo 2 nos tratamentos 1 e 2 (controles), possivelmente, tenha sido devido a incorporação de material orgânico oriundo dos sistemas radiculares das plantas daninhas, os quais não foram retirados com o cultivo manual e limpeza do ensaio. Constituindo-se em material prontamente disponível para determinados grupos de microrganismos heterotróficos decompositores.

Confrontando-se esses dados com os da literatura revisada, esse aumento da atividade microbiana provocado pelo cultivo do solo nos tratamentos 1 e 2 pode ser

preocupante, pois MARTEL (1970) atribuiu a degradação do solo principalmente em climas tropicais ao cultivo, que somada às altas temperaturas e umidade favorecem a intensa atividade microbiana o que resulta numa alta degradação da matéria orgânica, bem como num declínio da sua estrutura do solo.

Este fato também se verificou com os tratamentos herbicidas, porém em pequena intensidade, talvez, devido ao ajustamento da população microbiana no solo, que se dá após a aplicação de um herbicida. Ajustamento este, conhecido como "fase lag", ocorrendo possivelmente, de uma a duas semanas após a aplicação do herbicida, onde a concentração do produto no solo não é afetada significativamente como afirmam ALEXANDER (1965) e KAUFMAN & KEARNEY (1976).

Por este raciocínio, se detecta um possível efeito benéfico dos herbicidas estudados, ou seja, o de atuarem como agentes moderadores da atividade microbiana heterotrófica do solo. Porém, isso precisa ser melhor qualificado, sugerindo-se estudos nas frações da matéria orgânica do solo.

No tempo 4, o teste de TUKEY a 5% de significância mostrou a existência de dois grupos de respostas, com um grande número de coincidências nos dois grupos, como mostra a Tabela 21. Foram diferentes o tratamento 5 (dichlobenil) com alta média de resposta e o tratamento 2 (testemunha capinada) com baixa média de respostas.

Tabela 21 - Teste de TUKEY para as médias de tratamentos dentro do tempo 4 (60 dias após aplicação), para atividade da microflora heterotrófica do solo.

TRATAMENTOS	MÉDIAS	5%	1%
5. Dichlobenil	53,933334	a	A
8. Bromacil + Diuron	48,166667	ab	A
4. Simazine	46,300001	ab	A
6. Diuron	44,166667	ab	A
7. Bromacil	42,200000	ab	A
1. Testemunha sem capina	41,133334	ab	A
3. Terbacil	40,700001	ab	A
2. Testemunha com capina	31,800000	b	A

Observando-se os dados coletados no campo pode-se verificar que as respostas obtidas para o tratamento 5 (dichlobenil) neste tempo foram, para 2 das 3 repetições muito superiores a todas as respostas obtidas, com exceção de uma resposta do tratamento 4.

O oposto ocorreu para uma resposta do tratamento 2 (testemunha capinada) na primeira repetição. Estes três pontos podem ser considerados pontos discrepantes. Não há, teoricamente, nenhuma razão para que estes valores se diferenciassem do conjunto de resposta (Tabela 16). De qualquer forma, suas médias de respostas foram 53.93 e 31.80 respectivamente, mostrando que a atividade da microflora heterotrófica do solo, para esse tempo estudado, foi próxima da atividade obtida no tempo 1. Possivelmente, a maior contribuição no sentido de uma menor atividade heterotrófica, seja atribuído as condições de falta de umidade no solo.

Os resultados observados da atividade heterotrófica do solo nesse estudo, estão de acordo com os obtidos pela maioria dos pesquisadores, onde, um herbicida poderá exercer um efeito na microflora heterotrófica do solo, influenciando a variabilidade natural do sistema, considerando-se o cultivo do solo como um impacto normal e natural num sistema agrícola (AU, 1968; LIU & CIBES - VIADÉ, 1972; DESHMUKH & SHRIKHANDE, 1974; GROSSBARD & MARSH, 1974; GROSSBARD, 1976; COLE, 1976; GROSSBARD & DAVIES, 1976; LEWIS *et alii*, 1978; ANDERSON, 1978; DAVET, 1981 e DUAH - YENTUMI & JOHNSON, 1986).

Por outro lado, quando se comparou somente os tempos sem se considerar os tratamentos, o teste TUKEY, revelou a 5% de significância, a existência de 4 grupos de resposta: (i) tempo 2, (ii) tempo 1, (iii) tempos 3 e 4 (iv) tempos 4 e 5, como mostra a Tabela 22.

Tabela 22 - Teste de TUKEY para as médias de tempo sem considerar os tratamentos para atividade da microflora heterotrófica do solo.

TRATAMENTOS	MÉDIAS	5%	1%
TE2. 2 dias após aplicação	79,545834	a	A
TE1. Antes da aplicação	55,079166	b	B
TE3. 30 dias após aplicação	43,783333	c	C
TE4. 60 dias após aplicação	43,550000	cd	C
TE5. 120 dias após aplicação	36,791667	d	C

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado  
D.M.S. 5% = 6,89767 - D.M.S. 1% = 8,34698

De fato, a maior atividade microbiana se deu no tempo 2 (2 dias após aplicação), diferindo significativamente das respostas nos demais tempos. A seguinte maior resposta que se distinguiu significativamente dos demais tempos foi encontrada no tempo 1. Não se encontrou diferença significativa entre as respostas nos tempos 3 e 4, como também não houve tal diferença entre os tempos 4 e 5. O tempo 5 foi o que apresentou a menor média de atividade microbiana.

Porém, quando comparados os tempos dentro de cada tratamento, verifica-se através do teste de TUKEY a 5% de significância, as diferenças mostradas na Tabela 23.

Tabela 23 - Grupos de respostas pelo teste de TUKEY a 5%, considerando-se o tempo dentro de cada tratamento para atividade da microflora heterotrófica do solo.

TRATAMENTOS	DIFERENÇAS
1. Testemunha sem capina	TE2 TE1=TE3=TE4 TE3=TE4=TE5
2. Testemunha com capina	TE2 TE1=TE3 TE3=TE5=TE4
3. Terbacil	TE2=TE1=TE3 TE3=TE4 TE4=TE5
4. Simazine	TE2=TE1=TE4=TE3 TE4=TE3=TE5
5. Dichlobenil	TE2=TE4=TE1 TE4=TE1=TE3=TE5
6. Diuron	TE2=TE1 TE1=TE3=TE4 TE3=TE4=TE5
7. Bromacil	TE2 TE1=TE4=TE3=TE5
8. Bromacil + Diuron	Não há

TE1 = Antes da aplicação; TE2 = 2 dias após aplicação; TE3 = 30 dias após aplicação; TE4 = 60 dias após aplicação; TE5 = 120 dias após aplicação.

Para todos os tratamentos a maior atividade da microflora heterotrófica de solo foi no tempo 2, sendo significativamente diferentes dos demais tempos para os tratamentos 1, 2 e 7 (controles e bromacil), respectivamente.

As menores respostas observadas foram no tempo 5, com exceção dos tratamentos 2 e 8, respectivamente, testemunha capinada e bromacil + diuron.

Para todos os tratamentos não houveram diferenças significativas entre os tempos 4 e 5. O mesmo se verificou para todos os tratamentos nos tempos 3 e 4.

Para todos os tratamentos as respostas no tempo 1 foram iguais às do tempo 3, indicando que o desequilíbrio provocado pelo efeito de cultivo do solo nas condições desse ensaio, como discutido anteriormente, não foi superior a 30 dias, uma vez que o tempo 3 representa justamente o período de dias entre a limpeza do experimento com imediata aplicação dos tratamentos e sua avaliação. Pode-se também observar através da Figura 3, que neste período as condições climáticas foram favoráveis, com o solo apresentando excedente hídrico.

Com exceção dos tratamentos 2 e 3, respectivamente, testemunha capinada e terbacil, a atividade da microflora foi igual nos tempos 1, 3 e 4. Também com exceção do tratamento 3 (terbacil) as respostas dos tratamentos nos tempos 3, 4 e 5 foram iguais.

Os valores obtidos para os tratamentos 2 e 3 nos tempos 1, 3, 4 e 5 foram, respectivamente 54.43, 37.20, 31.80 e 32.07 para o tratamento 2 e 62.67, 54.67, 40.70 e 31.20 para o tratamento 3. Nesses mesmos tempos, os valores verificados para o tratamento 1 (testemunha com um capina anual) foram, respectivamente, 60.20, 44.73, 41.13 e 34.60, mostrando valores muito semelhantes dentro de cada tempo, entre os tratamentos 1 e 3 (Tabelas 43, 44 e 45, em apêndice).

Verificou-se também que os demais tratamentos herbicidas, componentes desse estudo, não contrastaram dessas médias de respostas.

Esses dados além de suportarem as discussões anteriores, confirmam que esses herbicidas podem atuar como produtos estabilizadores ou reguladores da atividade microbiana heterotrófica do solo, como se mostra evidente, quando se compara as médias de respostas desses herbicidas nos diferentes tempos, contra as médias de respostas dos tratamentos controles no tempo 2.

Para os tratamentos 3, 4, 5, 6 e 8 respectivamente, terbacil, simazine, dichlobenil, diuron e bromacil + diuron, os tempos 1 e 2 não apresentaram diferenças significativas.

Essas diferenças podem ser confirmadas pelas Tabelas 43 à 50, em apêndice, que mostram essas respostas através de suas médias pelo teste de TUKEY para médias de tempo dentro de cada tratamento do fator tratamento.

Dada a importância que assumem os defensivos agrícolas no processo produtivo, sugere-se estudos quantitativos e qualitativos do fracionamento da matéria

orgânica do solo, para se verificar em verticalidade, possíveis efeitos não detectados pela variável evolução de  $\text{CO}_2$ , da atividade microbiana heterotrófica do solo, bem como estudos enzimáticos.

## **5. CONCLUSÕES**

A partir das análises e interpretações dos resultados obtidos, considerando-se as condições edafo-climáticas próprias do local onde o experimento foi conduzido, são permitidas as seguintes conclusões:

- 1 - Após 13 anos de aplicações anuais dos herbicidas terbacil, simazine, dichlobenil, diuron, bromacil e bromacil + diuron, o impacto provocado por esses produtos parece ser semelhante ao provocado por capinas manuais normais à cultura de citros, objetivando o controle de plantas daninhas.
- 2 - As aplicações de adubos NPK, normais à condução da cultura, realizadas no campo experimental em ótimas condições de umidade, seguida de estiagem nos meses subsequentes, foram as causas da redução da colonização micorrízica das raízes de citros no tempo, uma vez que, nenhuma outra razão tenha se apresentado como promotora desse efeito.
- 3 - O impacto mostrado no número de esporos MVA da região de desenvolvimento das raízes do citros, pelos tratamentos herbicidas terbacil, simazine, dichlobenil, diuron, bromacil e bromacil + diuron, pode ser considerado semelhante ao apresentado pelo sistema de capina manual utilizado na condução da cultura.
- 4 - O efeito da adubação NPK em ótimas condições de umidade seguida de estiagem, de alguma forma, favoreceu a esporulação dos fungos micorrízicos,

verificado através do aumento do número de esporos aos 60 dias após aplicação em relação à primeira amostragem.

- 5 - Os herbicidas terbacil, simazine, dichlobenil, diuron, bromacil e bromacil + diuron, atuaram como agentes moderadores ou estabilizadores da atividade microbiana heterotrófica do solo. Os níveis de evolução de  $\text{CO}_2$  foram semelhantes para os herbicidas durante todos os tempos estudados.
- 6 - Os efeitos apresentados pelos herbicidas estudados, podem ser considerados como não prejudiciais para a colonização micorrízica, população de esporos micorrízicos e atividade da microflora heterotrófica do solo, sendo que para esta última variável pode inclusive ser considerado benéfico, uma vez que manteve a sua atividade, aparentemente estável, isto é, em estado de equilíbrio.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOT, L.K. & ROBSON, A.D. The distribution and abundance of vesicular-arbuscular endophytes in some western Australian soils. Australian Journal of Botany, Melbourne, 25:515-22. 1977.
- ALAA-ELDIN, M.N.; MAHMOUD, S.A.Z.; MAKAWI, A.; ABDEL-NASSER, M. & HERZALLAH, N.A. Effect of pre-emergence application of some herbicides on nodulation, nitrogen fixation and growth of soybean. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, 16(6):833-839, 1981.
- ALEXANDER, M. Introduction to Soil Microbiology. 2.ed. New York, John Wiley & Sons, 1977. 467 p.
- ALEXANDER, M. Persistence and biological reactions of pesticides in soils. Soil Science of America Proceeding. 29(1):1-7, 1965.
- ALLEN, E.B. & ALLEN, M.F. Natural re-establishment of vesicular-arbuscular mycorrhize following stripmine reclamation in Wyoming. Journal of Applied Ecology, London, 17:139-47, 1980.
- AMAKIRI, M.A. Effect of herbicides on microbial populations and activities in soils under teak (Tectona grandis L.f.) plantation. East African Agricultural and Forestry Journal. 42(4):420-426, 1977.

- ANDERSON, J.P.E. Herbicide degradation in soil: Influence of microbial Biomass. Soil Biol. Biochem., 16(5):483-489, 1984.
- ANDERSON, P.W. Weed Science: principles. New York, West Publishing, Co., 1977. 598 p.
- ANDERSON, J.R. Pesticide effects on non-target soil microorganisms. Pest. microbiol.:313-533, 1978.
- ANDERSON, R.C.; LIBERTA, A.E.; DICKMAN, L.A.; KATZ, A.J. Spatial variation vesicular-arbuscular mycorrhiza spore density. Bulletin of the Torrey Botanical Club, New York, 110:519-25, 1983.
- ANTUNES, V. Crescimento do Limão Cravo (Citrus limonia Osbeck) sob influência da inoculação com fungo micorrízico vesículo-arbuscular e da aplicação de fósforo. Piracicaba, 1987. 99 p. (Tese de Mestrado-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- ANTUNES, V. e CARDOSO, E.J.B.N. Influência de diferentes fontes de fósforo na eficiência de associação micorrízica vesico-arbuscular em porta-enxerto de citros. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZA, 2, São Paulo, 1987. Programa e resumos... São Paulo, USP, 1987. p. 34.
- ATLAS, R.M. & BARTHA, R. Microbial ecology: fundamentals and applications. Reading, Mass., Addivon-Wesley, 1981. 559 p.
- AU, F.H.F. Effect of ethanol and certain other selective herbicide son microbial activity in six different soils. Diss. Abst. B., 28(9):3795-6, 1968.
- AUDUS, L.J. Herbicides and the soil. Oxford, Blackwell, p.1-19, 1960.

- AUDUS, L.J. The Physiology and Biochemistry of herbicides. New York and London, Academic Press, p. 163-206. 1964.
- BAKALIVANOV, D. & LALOVA, M. Effect of herbicides alachlor and atrazine on soil microflora of chernozem-smolnitza soils. Pochvozn Agrokhim. Bulgaria, 14(1), 82-8, 1979. (Abstract)
- BALOTA, E.L. Flutuação Sazonal de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares no cafeeiro (Coffea arabica L.). Piracicaba, 1989. 145 p. (Tese de Mestrado Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- BARBOSA, V. Efeitos de alguns herbicidas sobre propriedades de um Latossol Vermelho Escuro fase arenosa, série Santa Teresa. Jaboticabal, 1981. 57 p. (Trabalho de Graduação-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal).
- BAYLIS, G.T.S. Host treatment and spore production by Endogone. New Zealand Journal of Botany, Wellington, 7:173-4, 1969.
- BELLINCK, C.; BATISTIC, L.; MAYAUDON, J. Degradation de l'acid 2,4-dichlorophenoxyacetique dans les sols. Rev. Ecol. Biol. Sol., 16(2):161-8, 1979.
- 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):435-44, 1978.
- BENTHLENFALVAY, G.J. & PACOSVSKY, R.S. Light effects in mycorrhizal soybeans. Plant Physiology, Lancaster, 73:969-72, 1982.
- BIERMANN, B. & LINDERMAN, R.G. Quantifying vesicular-arbuscular mycorrhizal: a proposes method to wards standardization. New phytol., 88:63-67, 1981

- BLACK, R. & TINKER, P.B. The development of endomycorrhizal root systems. II- Effect of agronomic factors and soil conditions on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in barley and the endophyte spore density. New Phytologist, Oxford, **83**:401-13, 1979.
- BLANCO, H.G. Biologia das plantas daninhas - Competição de plantas daninhas brasileiras. In: Controle Integrado de Plantas Daninhas, São Paulo, CREA, 1982. 148 p.
- BLANCO, H.G. & OLIVEIRA, D.A. Estudos dos efeitos da época de controle do mato sobre a produção de citros e a composição da flora daninha. Arquivo Instituto de Biologia. **45**:25-36, 1978.
- BOLGIANO, N.C.; SAFIR, G.R.; WARNCKE, D.D. Mycorrhizal infection and growth of onion in the field in relation to phosphorus and water availability. Journal of the América Society Horticulture Science, New York, **108**:819-25, 1983.
- BONONI, V.L.R. & TRUFEM, S.F.B. Endomicorrizas vesículo-arbusculares do cerrado da reserva biológica de Moji-Guaçu, SP. Brasil. Rickia, São Paulo, **10**:55-84, 1983.
- BONONI, V.L.R.; BARBOSA, L.M.; VIRIATO, A. Micorrizas vesículo-arbusculares em amendoim e em plantas invasoras da cultura. Hoehnea, São Paulo, **15**:1-9, 1988.
- BOWEN, G.D. Mycorrhizal roles in tropical plants and ecosystems. In: MIKOLA, P. ed. Tropical Mycorrhiza Research, Oxford, Oxford University Press, 1980. cap.21. p. 165-90.
- BREAZEALE, F.H. & CAMPER, N.D. Bacterial, fungal and actinomycete population in soils receiving repeated application of 2,4 Dichlorophenoxyacetic acid and trifluralin. Appl. Microbiol., **19**:399, 1970.

- BROWN, R.W.; SCHULTZ, R.C. & NORMANIK, P.P. Response of vesicular-arbuscular endomycorrhizal sweetgum seedling to three nitrogen fertilizers. Forest Science, Washington, 27(2):413-20, 1981.
- CAETANO, A.A. Herbicidas em Citros. In: RODRIGUEZ, O. & VIÉGAS, F. Citricultura Brasileira, Campinas, 1980. vol. II. p. 447. Fundação Cargill.
- CALDEIRA, S.F.; CHAVES, M.G. e ZAMBOLIN, L. Associação de micorriza vesicular-arbuscular com café. limão-rosa e capim gordura. Pesquisa Agropecuária brasileira, Brasília, 18(3):223-8, 1983.
- CAMPOS, J.S. Cultura dos Citros. Campinas, CATI - Coordenadoria de Assistência Técnica Integral, 1976. 100 p.
- CARDOSO, E.J.B.N. Biotecnologia do solo; as micorrizas. Notícias da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 3(14):5, 1990.
- CARDOSO, E.J.B.N.; ANTUNES, V.; SILVEIRA, A.P.D. e OLIVEIRA, M.H.A. Eficiência de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em porta-enxertos de citros. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 10(1):25-30, 1986.
- 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).
- CHILVERS, M.T. e DAFT, M.F.J. Mycorrhizas of the liliiflorae. II Mycorrhiza formation and incidence of root hairs in field grow Narcissus L., Tulipa L. and Crocus L. cultivars. The New Phytologist, London, 89:247-61, 1981.
- COLE, M.A. Effect of long-term atrazine application on soil microbial activity. Weed Science 24(5):473-476, 1976.

- COLOZZI-FILHO, A. & SIQUEIRA, J.O. Micorrizas vesículo-arbusculares em mudas de cafeeiro. I. Efeitos de Gigaspora margarita e adubação fosfatada no crescimento e nutrição. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 10(3):199-205, 1986.
- COOPER, K.M. Growth responses to the formation of endotrophic mycorrhizas in *Solanum*, *Leptospermum*, and New Zeland Ferns. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B. & STINKER, P.B. Endomycorrhizas, London, Academic Press, 1975. p. 391-407.
- COX, G.; SANDERS, F.E.; TINKER, P.B. e WILD, J.A. Ultrastructural evidence relating to host endophyte transfer in a vesicular-arbuscular mycorrhiza. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B. e TINKER, P.B. Endomycorrhizas, London, Academic Press, 1975. p.297-306.
- CULLIMORE, D.R. & McCANN, A.E. Influence of four herbicides on the algal flora of a prairie soil. Plant and Soil, 46(3):499-510, 1977.
- CRUZ, L.S.P.; LEIDERMAN, L. e von HERTWIG, K. Estudo da ação de algumas diazinas e tetrazinas no controle de plantas daninhas em pomar de laranjeiras "Natal", durante quatro anos. In: XII Seminário Brasileiro de Herbicidas e Ervas Daninhas, Fortaleza, Ceará. Resumos, 1978. p. 19-20.
- DAFT, M.J.; HACSKAYLO, E.; NICOLSON, T.H. Arbuscular mycorrhizas in plants colonising coal spoils in Scotland and Pennsylvania. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TONKER, P.B. eds., Endomycorrhizas, London, Academic press, 1975. p. 561-80.
- DANIELS, B.A. & TRAPPE, J.M. Factors affecting spore germination of the VAM fungus, Glomus epigaeus. Mycologia, New York, 72:456-71, 1980.

- DANIELS, B.A. e MENGE, J.A. Evaluation of the commercial potencial of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, Glomus epigaeus. The new Phytologist, London, 87:345-54, 1981.
- DAVET, P. Effects de quelques pesticides sur la colonisation d'un substrat par le Trichoderma harzianum rifai en presence des autres champignons du sol. Soil Biol. Biochem., 13(6):513-517, 1981.
- DAVIES, H.A. & MARSH, J.A.P. The effect of herbicides on respiration and transformation of nitrogen in two soils. II. Dalapon, pyrazone and trifluralin. Weed Research, 17:373-378, 1977.
- DAVIS, D.E.; PILLAI, C.G.P. & TRUELOVE, B. Effects of prometryn, diuron, fluometuron and MSMA on Chlorella and two fungi. Weed Science, 24(6):587-593, nov. 1976.
- DESHMUKH, V.A. & SHRIKHANDE, J.G. Effect of pre and post-emergence treatment of herbicides on soil microflora and tow microbial processe. J. Indian Soc. Soil Sci., 22(1):36-42, 1974.
- DEUBER, R. & FORSTER, R. Influência do EPTC na nodulação natural de feijão (Phaseolus vulgaris L.). Planta Daninha, 1(2):38-43, 1978.
- DOMSCH, K.H. & PAUL, W. Simulation and experimental analysis of the influence of herbicides on soil nitrification. Arch, Mikrobiol., 97:283-301, 1974.
- DONADIO, L.C.; LEITÃO FILHO, H.F. & ARANHA, C. Resultados preliminares do coroamento de plantas cítricas com herbicidas em solo arenoso. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, I, Campinas - SP. Anais, 1971. p. 305-312.