

EFEITO DO OXYFLUORFEN, 2,4-D E GLYPHOSATE NA ATIVIDADE MICROBIANA DE SOLOS COM DIFERENTES TEXTURAS E CONTEÚDOS DE MATÉRIA ORGÂNICA¹

A.P. de SOUZA², E.G. LOURES³, J.F. da SILVA⁴, H.A. RUIZ³

RESUMO

Estudaram-se os efeitos dos herbicidas oxyfluorfen, 2,4-D e glyphosate na atividade microbiana de três solos com diferentes texturas e conteúdos de matéria orgânica, mediante ensaio respirométrico em laboratório. Os herbicidas foram aplicados isoladamente em cada substrato, num experimento em blocos casualizados, com três repetições. Os resultados apresentados

indicaram um incremento da atividade microbiana no solo com a aplicação dos herbicidas estudados. Observou-se, também, que o efeito dos herbicidas sobre a microbiota do solo é fortemente influenciado pelas características físicas do solo, principalmente sua textura.

Palavras chave: Respiração, ensaios biológicos, microbiota do solo.

ABSTRACT

Effect of oxyfluorfen, 2,4-D and glyphosate on the microbial activity in soils with different textures and organic matter contents

The effect of the herbicides oxyfluorfen, 2,4-D and glyphosate on the microbial activity of three soils with different textures and organic matter contents was studied in the laboratory, through respirometric assay. The herbicides were applied separately, to each soil medium, in a random

block experiment, with three replications. The results indicated an increase in microbial activity which was strongly influenced by the physical characteristics of the soil, mainly its texture.

Key words: Respiration, bioassays, microbial activity.

INTRODUÇÃO

O aumento do uso de herbicidas, observado durante os últimos anos, tem despertado interesse por parte dos pesquisadores, inicialmente voltado a determinar a eficiência destes produtos no

combate às plantas daninhas e, atualmente, para medir o impacto ambiental do seu uso. Em muitas situações, o solo passa a ser o último reservatório destes produtos no ambiente, dado o acúmulo proporcionado pelas aplicações constantes nas culturas.

1 Parte da Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, pelo primeiro autor. Recebido para publicação em 09/08/95 e na turma revisada em 03/06/96.

2 Estudante de Doutorado em Filotecnia na Universidade Federal de Viçosa. CEP 36570-000 Viçosa-MG. Bolsista do CNPq. 3 Professor do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa. CEP 36570-000 Viçosa-MG. 4 Pesquisador Titular da Universidade Estadual do Norte Fluminense - UFNF. CEP 28050-010 Campo de Goytacazes-RJ.

A degradação microbiana pode ser o fator de maior importância na persistência de alguns herbicidas no solo. Porém, existe uma grande variabilidade nos resultados, pois estes compostos variam muito em sua composição química e em relação aos microrganismos, há variação nas exigências nutricionais e nos sistemas enzimáticos. Quando um herbicida é aplicado no solo, há um processo de "enriquecimento" do meio com uma fonte de carbono. Na fase inicial, cujo período varia de acordo com os diferentes herbicidas, há uma pequena degradação. Esta fase parece corresponder a um período de adaptação dos microrganismos que produzem as enzimas essenciais para degradar o novo substrato. Estas enzimas podem estar presentes dentro dos microrganismos, ou podem ser excretadas para a solução do solo, onde entram em contato e reagem com a molécula do herbicida. Em seguida, a população microbiana aumenta, acelerando o processo de decomposição dos substratos.

Milhomme *et al.* (1989) estudando o comportamento de culturas puras de *Pseudomonas alcaligenes* e *Pseudomonas cepacia* verificaram que estes organismos eram capazes de degradar o herbicida chlorprophame no solo.

Em ambientes naturais, como o solo, diversos fatores químicos e físicos governam a atividade e o crescimento microbiano. Duah-Yentumi e Kuwatsuka (1982) ao estudarem a degradação dos herbicidas bentiocarb, MCPA e 2,4-D em solos com diferentes texturas, corrigidos com matéria orgânica e fertilizantes químicos, concluíram que as taxas de degradação dos herbicidas foram influenciadas pelas quantidades de P e de matéria orgânica aplicadas ao solo. Comportamento semelhante foi obtido por Heinomem-Tanski (1989) ao estudar o efeito da temperatura e da calagem na degradação do glyphosate em solos de floresta de clima temperado. Este autor observou que a máxima degradação do produto deu-se à temperatura de 15°C na presença de calagem.

O estudo dos efeitos dos herbicidas na atividade biológica do solo é complexo, dado as

respostas imprevisíveis dos microrganismos na presença destes compostos. Uma das formas de se determinar tais efeitos é mediante a quantificação do CO₂ produzido pela população microbiana do solo. Este método tem sido usado por diversos pesquisadores, com diversas finalidades (Medina, 1969; Grisi, 1976; Santos, 1977; Cattelan & Vidor, 1990; Della Bruna *et al.*, 1991; Souza *et al.*, 1992).

O presente trabalho foi realizado, objetivando estudar a ação dos herbicidas oxyfluorfen, 2,4-D e glyphosate sobre a microbiota do solo, em amostras de um Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVd), um Podzólico Vermelho-Amarelo distrófico (PVd) e um Solo Aluvial eutrófico (Ae), na presença e na ausência de composto orgânico.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em laboratório, com materiais coletados em um Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVd), em um Podzólico Vermelho-Amarelo distrófico (PVd) e em um Aluvial eutrófico (Ae), provenientes de áreas de reflorestamento com eucalipto da Companhia Agriflorestal Belgo Mineira (CAF), no Município de Dionísio-MG. As amostras foram colhidas na camada superficial do solo (de 0 a 20 cm), secas ao ar e passadas em peneiras de 4 mm para os ensaios microbiológicos e de 2 mm para as caracterizações físicas, químicas e mineralógicas. Nesta última, utilizou-se difração de raios-x, com estimativa semiquantitativa dos principais minerais da fração argila (Tabela 1). Os herbicidas utilizados foram oxyfluorfen (2-cloro-1-(3-etoxi-4-nitrofenoxi)-4-(trifluorometil)benzeno); 2,4-D (Sal dimetilamina do ácido 2,4-Diclorofenoxiacético) e glyphosate (Sal de Isopropilamina de N-(Fosfometil)-Glicina). O material usado na adubação orgânica, proveniente da compostagem de casca de eucalipto mais 2,5% de cinza, apresentou a seguinte composição química: 0,96% N, 0,20% P, 1,08% K, 1,80% Ca, 0,72% Mg, 25,06% C e 26,1 de relação C/N.

Estimou-se a atividade microbiana do solo à temperatura ambiente pelo método de desprendimento de CO₂ (Curl e Rodriguez-Kabana, 1972). De cada material de solo foi retirada uma porção de 100 g, colocada em frasco erlenmeyer de 250 ml e acrescentado água destilada em quantidade suficiente para elevar a umidade até 80% da capacidade de campo. Em seguida, nos tratamentos correspondentes, foram feitas a adubação com composto orgânico (equivalente a 60 t/ha) e a aplicação do herbicida, pulverizado, superficialmente, sobre a amostra de solo com seringa hipodérmica, na dosagem recomendada pelo fabricante (3 L do produto comercial/ha). Após o preparo das amostras, os frascos foram conectados a um sistema de fluxo contínuo de ar livre de CO₂ em que o ar que passava pela amostra de solo era canalizado para um frasco erlenmeyer de 125 ml, contendo 100 ml de uma solução de NaOH a 0,5 M. Nesse frasco de 125 ml foi ajustado o fluxo de ar de 15 a 20 bolhas por minuto. As titulações foram realizadas, inicialmente, a intervalos de 48 horas, passando, em seguida, a intervalos de 72 horas até completar 30 dias. A cada titulação, os frascos erlenmeyers de 125 ml foram vedados e substituídos por novos, contendo a mesma solução. O NaOH que não reagiu foi titulado com solução de HCl 0,1 M, previamente padronizado com solução de carbonato de sódio (Na₂CO₃) 0,05 M.

A quantidade de CO₂, desprendida de cada amostra, foi calculada em meq de CO₂ por 100 g de solo, segundo a fórmula:

$$\text{meq-CO}_2/100 \text{ g de solo} = \frac{(B - T) \times N \times f \times V}{AT}$$

em que:

B = titulação do branco (ml);

T = titulação do tratamento (ml);

N = normalidade do HCl (eq-g/l);

f = 1,0204 (fator de correção do ácido);

V = volume de NaOH usado na captura do CO₂ (ml);

AT= alíquota a ser titulada (ml).

Cada herbicida foi estudado separadamente, num experimento em blocos casualizados com três repetições. Os tratamentos para cada material de solo corresponderam a um fatorial 2 x 2 com três repetições, correspondendo, o primeiro fator, à presença ou à ausência do herbicida e o segundo, à presença ou à ausência de composto orgânico. A ação dos herbicidas sobre a microbiota dos solos foi avaliada a partir de um gráfico, onde se representou o total de CO₂ desprendido nos vários intervalos de tempo utilizados. Os dados obtidos ao final de 30 dias, para cada material de solo, foi submetido a uma análise de variância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da estimativa da atividade microbiana, nos diferentes solos e respectivos tratamentos, medidos pela quantificação do CO₂ desprendido, estão apresentados nas Figuras 1, 2 e 3. Na Tabela 2, é apresentado o resumo da análise de variância da quantidade de CO₂ desprendido pelos solos estudados, ao final de 30 dias, após a aplicação do composto orgânico e dos herbicidas.

Pode-se observar que no ensaio com o herbicida oxyfluorfen a atividade microbiana foi maior em todos os solos, quando da aplicação do tratamento com composto orgânico (Figura 1). É fato corrente na literatura que a adição de alguns compostos orgânicos ao solo aumenta a atividade microbiana. Neste processo de decomposição, os microrganismos obtêm carbono e energia para o seu crescimento e funções celulares, aumentando suas populações no solo. Minhoni *et al.* (1990), estudando a decomposição de diferentes tipos de material orgânico em um Latossolo Vermelho-Amarelo, fase cerrado tropical, verificaram que os substratos orgânicos, incorporados ao solo, incrementaram a atividade de comunidades microbianas, avaliadas em termos de CO₂ liberados nos processos oxidativos, e que o estímulo é significativamente maior durante os primeiros dias de incubação. Tais resultados confirmam que a atividade biológica nos solos é altamente limitada pela quantidade de carbono,

TABELA 1 - Resultado das análises química, física e mineralógica dos materiais de solo.

DETERMINAÇÃO	Ae	PVd	LVd
pH em H ₂ O (1:2,5)	6,40	6,00	5,50
pH em KCl (1:2,5)	5,00	4,10	4,00
Ca(mmol(1/2 Ca ²⁺)/Kg)	31,60	5,60	8,70
Mg (mmol(1/2 Mg ²⁺)/kg)	7,20	2,50	6,00
K (mmol(K ⁺ /Kg)	0,10	1,60	2,60
H+Al (mmol(H ⁺ 1/3 Al ³⁺)/kg)	13,20	23,10	56,10
Al (mmol(1/3 Al ³⁺)/kg)	0,00	2,00	6,00
CTC efetiva (mmol(+)/kg)	52,00	34,80	79,40
P (mg/kg)	19,50	7,00	2,00
Matéria Orgânica (g/kg)	21,10	20,40	51,11
Areia grossa (%)	84	72	4
Areia fina (%)	4	8	20
Silte (%)	4	3	15
Argila (%)	8	17	61
Classe Textural	Areia Franca	Franco Arenoso	Muito Argiloso
Densidade (g/cm ³)			
Aparente	1,45	1,39	1,08
Real	2,69	2,32	2,18
Porosidade Total (%)	46	40	50
Capacidade de			
Campo (g H ₂ O/Kg Solo)	99	126	286
Composição Mineralógica (%)			
Gibbsita	0,00	0,00	0,00
Caulinita	5,00	17,00	63,00
Goethita	1,50	3,00	9,00
Anatásio	-	0,50	1,50
FeO*	0,30	0,30	0,30

* Ferro em formas não cristalinas essencialmente ligadas à matéria orgânica.

facilmente, mineralizável. Observa-se, ainda, que a presença do herbicida oxyfluorfen afetou, significativamente, a atividade da microbiota dos solos Ae e PVd. O efeito do herbicida oxyfluorfen foi mais expressivo no solo Ae, onde o herbicida incrementou em 14% a produção total de CO₂. Este incremento foi menor no solo PVd e chegando a valores mínimos no solo LVd (Figura 1). Provavelmente, este comportamento seja resultado da adsorção do herbicida à argila do solo, uma vez que o solo LVd, cujo percentual de argila é o mais elevado (Tabela 1), apresentou a menor diferença entre os tratamentos com e sem herbicida.

No ensaio com o 2,4-D, constatou-se que a presença do herbicida no solo Ae resultou uma produção total de CO₂ 31% maior que o solo na ausência do herbicida (Figura 2). Verifica-se, também, que a partir do sexto dia de incubação, a atividade microbiana do solo foi estimulada pela presença do herbicida, que passou a atuar como fonte de carbono para o crescimento dos microrganismos. A presença do herbicida 2,4-D no ecossistema natural do solo pode estimular a proliferação da flora microbiana, incrementando sua taxa de decomposição. Duah-Yentumi e Kuwatsuka (1982), estudando a degradação do herbicida 2,4-D em solos, corrigidos com adubação orgânica e mineral, verificaram que os microrganismos degradaram, rapidamente, o herbicida 2,4-D. Concluíram, ainda, que diversos fatores contribuíram para a rápida degradação do 2,4-D, tais como textura do solo, nutrientes e concentração do próprio herbicida no solo. Bellwick *et al.* (1979), trabalhando com 2,4-D em diferentes concentrações no solo, após 56 dias, observaram que apenas 10% do herbicida eram degradados, quando aplicados no solo na concentração de 500 µg/g, enquanto 92% do produto foram degradados, quando empregados na dosagem de 10 µg/g.

Nos solos PVd e LVd, a atividade microbiana ao final de 30 dias não foi influenciada pela aplicação do herbicida. Observando a resposta dos microrganismos, pelo CO₂ desprendido do solo (Figura 2), verifica-se

que a produção de CO₂ foi maior no solo Ae no tratamento com herbicida e nos solos PVd e LVd no tratamento com composto orgânico. A resposta apresentada no solo Ae, na presença do 2,4-D, se justifica pela maior disponibilidade da molécula na solução do solo, nos solos PVd e LVd a molécula passaria a sofrer a atuação mais intensa de forças adsorptivas em razão dos maiores percentuais de argila desses solos (Tabela 1), reduzindo assim, a ação dos microrganismos sobre o composto.

O comportamento da atividade microbiana do solo, mediante os tratamentos com composto orgânico e glyphosate é mostrado na Figura 3. Observa-se, pelas curvas, que tanto o solo Ae quanto o solo PVd apresentam comportamentos bastante semelhantes, sendo que o solo Ae tratado com glyphosate apresentou uma produção de CO₂ significativamente superior aos demais tratamentos, onde as menores respostas foram constatadas na ausência do herbicida (Figura 3). Estes resultados demonstram que o glyphosate, quando aplicado ao solo, é degradado pelos microrganismos. A rápida degradação do glyphosate quando empregado no campo, tem sido constatada por diversos pesquisadores (Lõnsjö *et al.*, 1980; Newton *et al.*, 1984 e Heinonen-Tanski, 1989). Lõnsjö *et al.*, 1980 demonstraram que a degradação do glyphosate em diferentes solos está correlacionada, diretamente, com a taxa de respiração do solo. No solo PVd o desdobramento da interação indicou uma maior produção de CO₂ no tratamento com composto orgânico na ausência de herbicida (Tabela 2). Observa-se, ainda, que no solo LVd a resposta dos microrganismos aos diferentes tratamentos, foi o que apresentou as menores variações. O tratamento que apresentou uma tendência de maior atividade dos microrganismos, embora não diferindo estatisticamente dos demais tratamentos, foi o do solo na presença do composto orgânico. Os tratamentos na presença e na ausência de glyphosate praticamente tiveram o mesmo comportamento durante todo o tempo de incubação. A justificativa para esta pequena resposta da atividade dos microrganismos na presença do herbicida dá-se

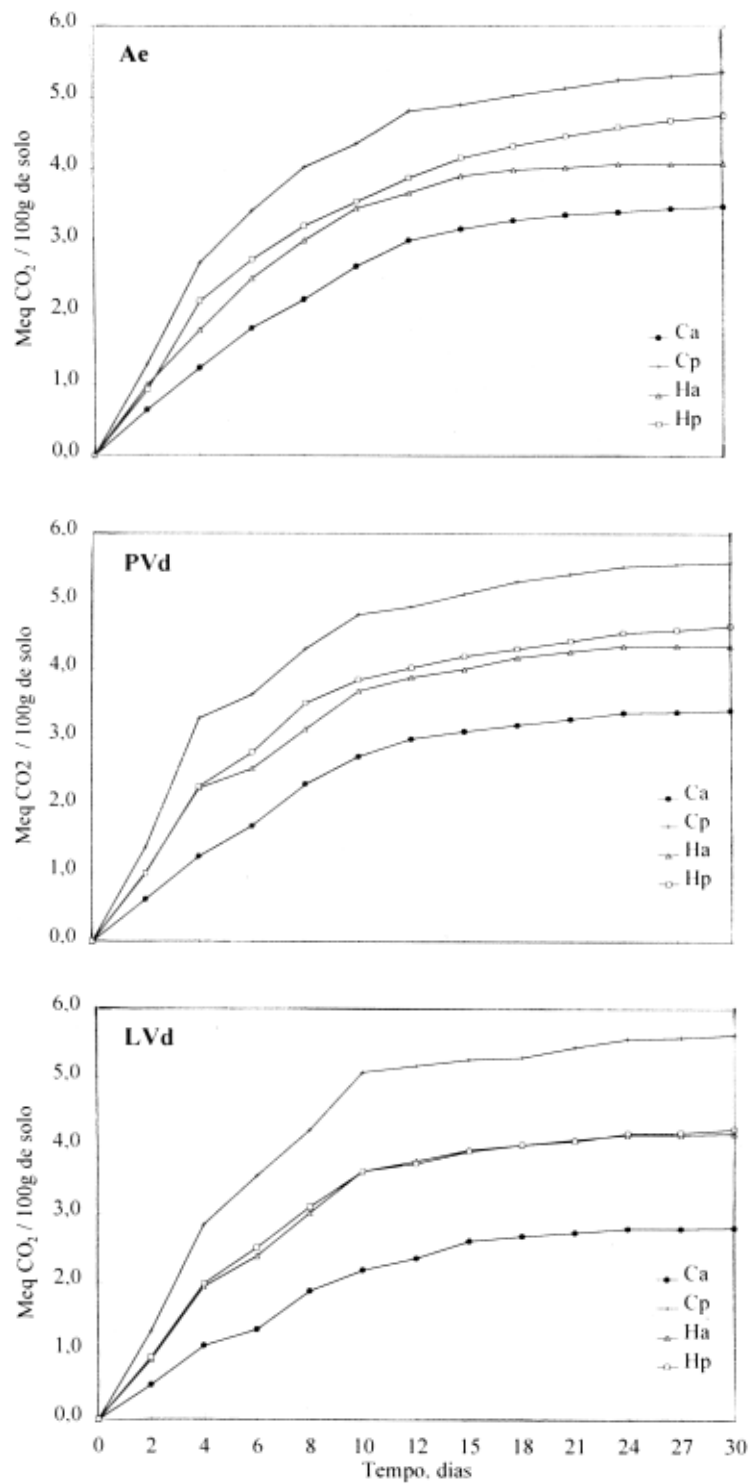


FIGURA 1 - CO₂ liberado pela atividade microbiana em material coletado em três classes de solos (Ae, PVd e LVd), na presença (p) e na ausência (a) de composto orgânico (C) e de herbicida oxyfluorfen (H).

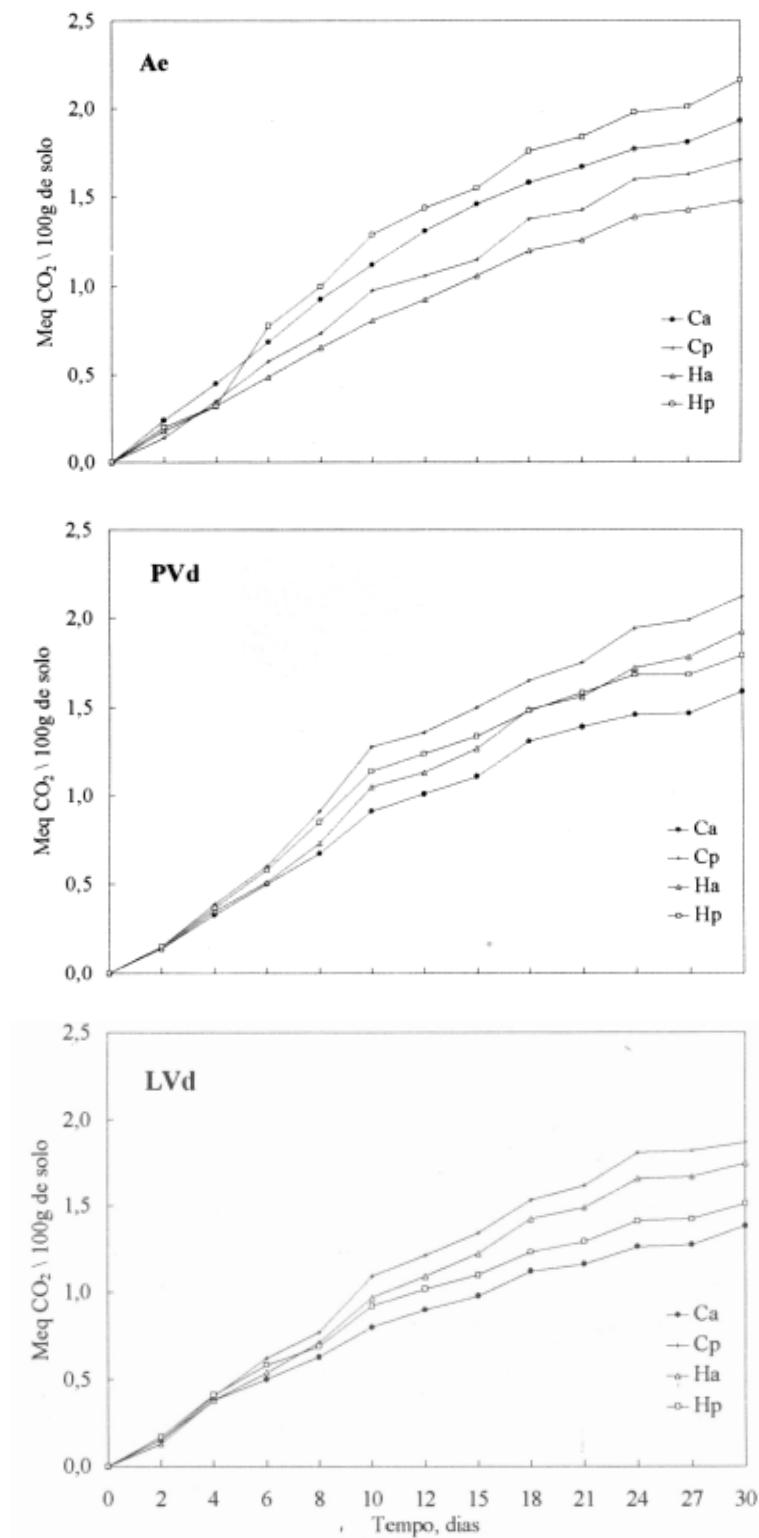


FIGURA 2 - CO₂ liberado pela atividade microbiana em material coletado em três classes de solos (Ae, PVd e LVd), na presença (p) e na ausência (a) de composto orgânico (C) e de herbicida 2,4-D (H).

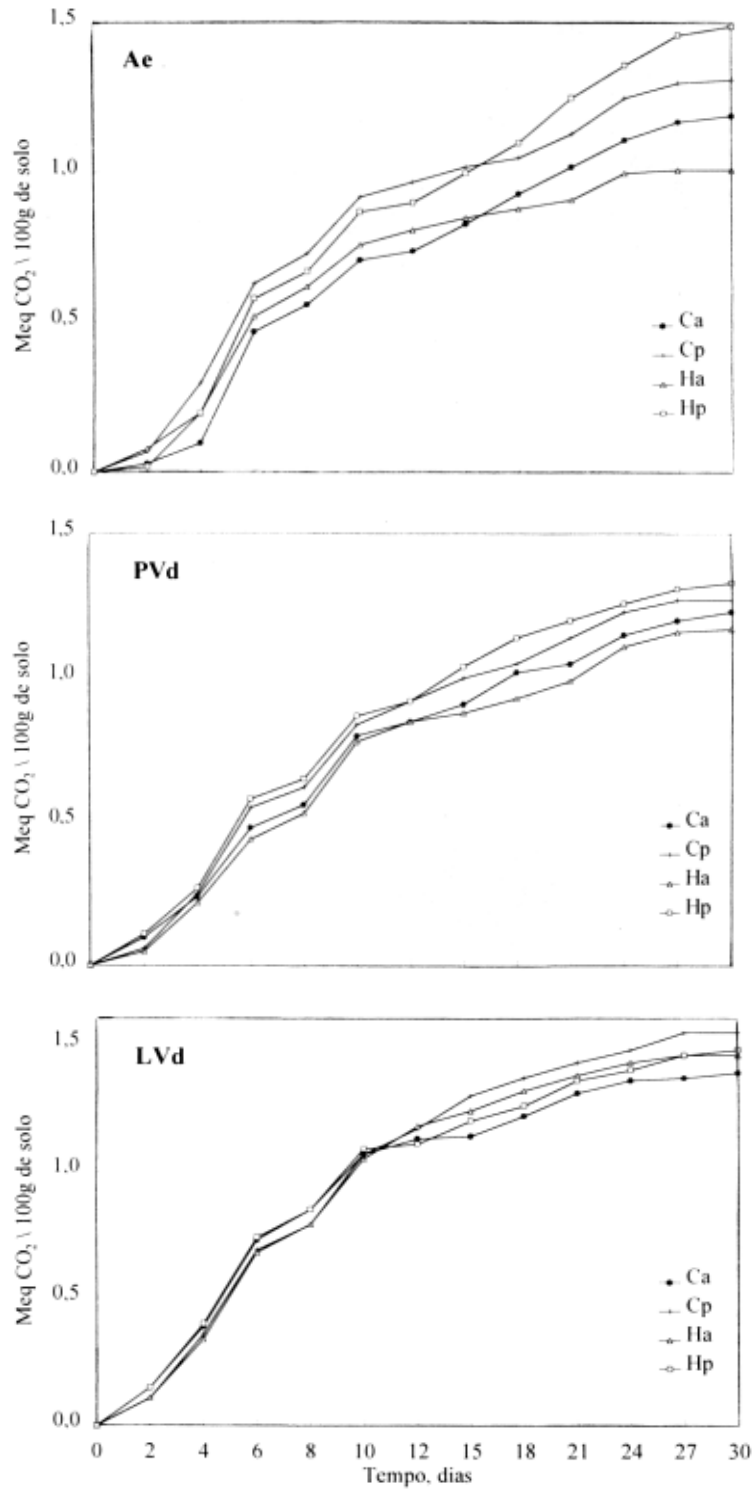


FIGURA 3 - CO₂ liberado pela atividade microbiana em material coletado em três classes de solos (Ae, PVd e LVd), na presença (p) e na ausência (a) de composto orgânico (C) e de herbicida glyphosate (H).

TABELA 2 - Resumo dos resultados da análise de variância dos valores de CO₂ desprendidos em amostras de três classes de solos (Ae, PVd e LVd), na presença de composto orgânico (C) e de herbicidas (H), ao final de 30 dias de incubação

Herbicida	Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio		
			Ae	PVd	LVd
oxyfluorfen	Bloco	2	0,3963 ^{ns}	0,0291 ^{ns}	0,2110 ^{ns}
	C	1	10,6032**	14,0184**	23,8854**
	H	1	1,3333*	0,2670 ^o	0,0102 ^{ns}
	C x H	2	0,2640 ^{ns}	0,0002 ^{ns}	0,0271 ^{ns}
	Resíduo	6	0,2032	0,0647	0,1206
2,4-D	Bloco	2	0,4053 ^{ns}	0,3197 ^o	0,0474 ^{ns}
	C	1	0,1323 ^{ns}	0,7203*	0,7154*
	H	1	1,4145 ^o	0,0225 ^{ns}	0,1752 ^{ns}
	C x H	2	0,0675 ^{ns}	0,0021 ^{ns}	0,0420 ^{ns}
	Resíduo	6	0,3123	0,0916	0,0715
glyphosate	Bloco	2	0,1400 ^{ns}	0,2476**	0,1756 ^{ns}
	C	1	0,0468 ^{ns}	(0,0056 ^{ns})	0,0768 ^{ns}
	H	1	0,6674 ^o	(0,0800 ^{ns})	0,0005 ^{ns}
	C x H	2	0,0396 ^{ns}	(0,1541*)	0,0008 ^{ns}
	C d/ Ha	1	-	0,2282*	-
	C d/ Hp	1	-	0,0060 ^{ns}	-
	H d/ Ca	1	-	0,1093 ^{ns}	-
	H d/ Cp	1	-	0,0504 ^{ns}	-
Resíduo	6	0,1363	0,2171	0,0751	

^{ns}: Não-significativo em 10% pelo teste F.

^o: Significativo em 10% pelo teste F.

*: Significativo em 5% pelo teste F.

** : Significativo em 1% pelo teste F.

pela elevada adsorção do glyphosate pela argila do solo, o que impediria os microrganismos de atuarem em cima deste substrato. McConnell e Hossner (1985), utilizando cromatografia de alta "performance" demonstraram que o glyphosate é altamente adsorvido pelos cátions que saturam as argilas.

Nas condições em que os experimentos foram conduzidos, foi possível concluir que as

aplicações dos herbicidas oxyfluorfen, 2,4-D e glyphosate incrementaram a atividade microbiana dos solos estudados; nos diferentes solos estudados, a presença do composto orgânico não afetou a degradação dos herbicidas pelos microrganismos; o efeito dos herbicidas sobre a microbiota está fortemente influenciada pelas características físicas do solo, principalmente sua textura.

LITERATURA CITADA

- BELLWICK, C., BATISTIC, L., MAYAUDON, J. Degradation de l'acide 2,4-dichlorophenoxyacetique dans les sols. **Rev. Ecol. Biol. Sol.**, v.16, p.161-168, 1979.
- CATTELAN, A.J., VIDOR, C. Flutuações na biomassa, atividade e população microbiana do solo, em função de variações ambientais. **Rev. bras. Ci. Solo**, v.14, p.133-142, 1990.
- CURL, E.A., RODRIGUEZ-KABANA, R. Microbial interactions. In: R.E. WILKINSON. **Research methods in weed science**. Atlanta, Southern Weed Science Society, 1972. p.162-194
- DELLA BRUNA, E., BORGES, A.C., FERNANDES, B., BARROS, N.F., MUCHOVEJ, R.M.C. Atividade da microbiota de solos adicionados de serrapilheira de eucalipto e de nutrientes. **Rev. bras. Ci. Solo**, v.15, p.15-20, 1991.
- DUAH-YENTUMI, S., KUWATSUKA, S. Microbial degradation of benthicard, MCPA and 2,4-D herbicides in perfused soils amended with organic matter and chemical fertilizer. **Soil Sci. Plant Nut.**, v.28, p.19-26, 1982.
- GRISI, B.M. Biodinâmica de solo cultivado com cacauzeiros sombreados a ao sol. **Rev. theobr.**, v.6, p.87-99, 1976.
- HEINONEN-TANSKI, H. The effect of temperature and liming on the degradation of glyphosate in two arctic forest soil. **Soil Biol. Biochem.**, v.21, p.313-317, 1989.
- LÖNSJÖ, H., STARK, J., TORSTENSSON, L., WESSEN, B. Glyphosate: decomposition and effects on biological processes in soil. In: WEEDS AND WEED CONTROL SWEDISH WEED CONFERENCE, 21. s.l. 1980.
- Proceedings... s.l.**, s. ed., 1980, p.140-146.
- MEDINA, E. Respiración edifica de algunas comunidades tropicales. **Bol. Sociedade Venezolana Cien. Naturales**, v.28, p.211-230, 1969.
- McCONNELL, J.S., HOSSNER, L.R. pH - dependent adsorption isotherms of glyphosate. **J. Agric. Food Chem.**, v.33, p.1075-1078, 1985.
- MILHOMME, H., VEGA, D., MARTY, J., BASTIDE, J. Degradation de l'herbicide chlorprophame dans un sol: Role de l'introduction de *Pseudomonas alcaligenes* et de *Pseudomonas cepacia*. **Soil Biol. Biochem.**, v.21, p.307-311, 1989.
- MINHONI, M.T.A., EIRA, A.F., CARDOSO, E.J.B.N. Efeito da adição de N e P sobre a decomposição de diferentes tipos de material orgânico no solo. **R. bras. Ci. Solo**, v.14, p.297-304, 1990.
- NEWTON, M., HOWARD, K.M., KELPAS, B.R., DANHAUS, R., LOTTMAN, C.M., DUBELMAN, S. Fate of Glyphosate in an Oregon forest ecosystem. **J. Agric. Food Chem.**, v.32, p.1144-1151, 1984.
- SANTOS, O.M. **Biodinâmica de um ecossistema de solo de "tabuleiro" da região sul do Estado da Bahia**. Salvador, Universidade Federal da Bahia, 1977. 87p. (Tese de Mestrado)
- SOUZA, A.P. de. LOURES, E.G., RUIZ, H.A., LANI, J.L., MUCHEVEJ, R.M.C. Determinação da atividade microbiana em um LVd húmico sob manejo agrícola. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE MANEJO E CONSERVAÇÃO DO SOLO E DA ÁGUA, 9. Jaboticabal, 1992. **Programas e Resumos**. Jaboticabal, UNESP, 1992. p.173.