

# EVOLUÇÃO DE CO<sub>2</sub> E ATIVIDADES ENZIMÁTICAS EM AMOSTRAS DE SOLO TRATADO COM HERBICIDAS<sup>1</sup>

*CO<sub>2</sub> Evolution and Enzymatic Activities in Herbicide-treated Soil Samples*

FERNANDEZ, G.<sup>2</sup>, PITELLI, R.A.<sup>3</sup> e CADENAZZI, M.<sup>4</sup>

**RESUMO** - Os efeitos dos herbicidas bentazon, metolachlor, trifluralin, imazethapyr, imazethapyr+lactofen, haloxyfop-methyl, glyphosate e chlorimuron-ethyl, testados em duas concentrações (duas e dez vezes a dose média recomendada por hectare), sobre a atividade microbiana foram estudados em amostras de solo que nunca haviam recebido tratamento com pesticidas. Como bioindicadores, utilizou-se a respiração microbiana, quantificando a emissão de CO<sub>2</sub> aos 2, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 dias após incubação, a atividade da enzima desidrogenase e a hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA), aos 8 e 28 dias. Bentazon e a mistura de imazethapyr+lactofen na maior concentração e o haloxyfop-methyl nas duas concentrações apresentaram efeitos inibitórios na respiração edáfica, embora diferentes em época e duração do efeito. Nenhum dos tratamentos herbicidas afetou a hidrólise da FDA. A atividade da desidrogenase foi inibida, o que foi verificado em análise realizada aos oito dias, nas amostras de solo com alta concentração de bentazon e imazethapyr; no entanto, foi estimulada nos tratamentos com baixa concentração de metolachlor e imazethapyr e na maior concentração de glyphosate. A respiração basal e a atividade da desidrogenase mostraram maior sensibilidade na detecção de efeitos dos herbicidas sobre a microbiota do solo que as determinações da hidrólise de FDA. Apenas foi encontrada correlação significativa entre a atividade da desidrogenase e a respiração basal aos oito dias de incubação. Os resultados destacam a importância da consideração de múltiplos indicadores na avaliação dos efeitos de herbicidas na microbiota do solo.

**Palavras-chave:** bentazon, desidrogenase, FDA, haloxyfop-methyl, imazethapyr + lactofen, respiração microbiana.

**ABSTRACT** - *Effects of bentazon, metolachlor, trifluralin, imazethapyr, imazethapyr+lactofen, haloxyfop-methyl, glyphosate and chlorimuron-ethyl at rates of 2 and 10 times the equivalent commercial dose on soil microbial activity was evaluated in soil samples extracted from a field never treated before. Global soil microbe respiration, estimated by CO<sub>2</sub> production at 2, 4, 8, 12, 16, 20, 24 and 28 days of soil incubation and enzymatic activities (dehydrogenase and fluorescein diacetate hydrolysis) at 8 and 28 days were used as bioindicators. Bentazon and mixture imazethapyr+lactofen at the highest rate and haloxyfop-methyl at both rates, inhibited soil respiration although with differences in timing and duration. None of the herbicides affected FDA hydrolysis. Dehydrogenase activity was inhibited at 8 days of incubation with bentazon and imazethapyr at high rates but it was stimulated by metolachlor and imazethapyr at low rate and glyphosate at the highest rate. Herbicide effects on soil microbial activity was detected with higher sensitivity by global soil microbe respiration and dehydrogenase activity than by FDA hydrolysis. Only dehydrogenase activity and soil respiration estimations at 8 days of soil incubation had significant correlation. Results indicated the need of multiple estimations when evaluating herbicides effects on soil microbiota*

**Keywords:** bentazon, dehydrogenase, FDA, haloxyfop-methyl, imazethapyr + lactofen, microbial respiration.

<sup>1</sup> Recebido para publicação em 10.8.2008 e na forma revisada em 21.8.2009.

<sup>2</sup> Eng<sup>a</sup>-Agr<sup>a</sup>, Profa. Agregada, Dep. Protección Vegetal, Facultad de Agronomía UdelaR, EEMAC, Doutoranda em Produção Vegetal, FCAVJ/UNESP, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n 14884-900 Jaboticabal-SP, <griself@fagro.edu.uy>; <sup>3</sup> Professor Titular do Dep. de Fitossanidade – FCAVJ/UNESP, <rapitelli@ecosafe.agr.br>; <sup>4</sup> Eng<sup>a</sup>-Agr<sup>a</sup>, Dra., Profa. Adjunta, Dep. Biometria, Estadística y Computación. Facultad de Agronomía, UdelaR, EEMAC, <monicade@fagro.edu.uy>.



## INTRODUÇÃO

A produtividade e sustentabilidade dos agroecossistemas estão intimamente ligadas à ação dos microrganismos. A preservação da integridade da capacidade metabólica da microbiota é considerada um requerimento fundamental para a manutenção da qualidade de solo (Alef & Nannipieri, 1995). No entanto, tem-se comprovado que as práticas de manejo associadas à intensificação da agricultura (Giller et al., 1997) e, particularmente, as associadas à utilização de pesticidas (Waiwright, 1978, Moorman, 1989; Wardle & Parkinson, 1991) podem alterar significativamente a funcionalidade da microbiota, pela influência tanto na biomassa como na atividade microbiana do solo.

O uso de herbicidas é um componente vital da agricultura atual. As elevadas perdas de produtividade ligadas à interferência das plantas daninhas, assim como a inexistência de alternativas de igual eficácia para a solução desse problema até o presente, fazem dos herbicidas uma prática essencial e generalizada. Por igual razão, o controle de plantas daninhas tem se constituído em um dos principais fatores antropogênicos com potencialidade de alterar a microbiota dos solos agrícolas (Sannino & Gianfreda, 2001).

Os resultados das pesquisas desenvolvidas nas últimas décadas sobre esse assunto descrevem a ampla variabilidade nos efeitos dos herbicidas sobre a microbiota do solo, tanto na natureza como na magnitude, em função, sobretudo, do produto e das doses utilizadas.

Embora se considere que a maioria dos herbicidas seja potencialmente tóxica em elevadas concentrações, os impactos para doses reais estão relacionados com algum grupo de microrganismos ou processo metabólico específico e são transitórios, variando no tempo requerido para a recuperação dos efeitos (Edwards, 1989; Wardle & Parkinson, 1990). Por sua vez, o processo bioquímico alterado pode ser fundamental na determinação da produtividade de uma cultura ou sistema de culturas em particular, independentemente do potencial de recuperação posterior (Wardle et al., 1994). Adicionalmente, o uso repetido do mesmo grupo de herbicidas por extensos

períodos pode desencadear alterações de mais difícil reversibilidade (Wardle et al., 1994). Essas considerações enfatizam a necessidade de gerar informação específica para os distintos herbicidas.

Os estudos em laboratório, embora dificilmente considerem a multiplicidade de fatores que atuam nas condições reais, constituem a primeira etapa, de importante valor exploratório, relevando rapidamente efeitos potenciais (Schloter et al., 2003).

Para esse tipo de estudos é proposta a utilização de bioindicadores genéricos, como medidas da respiração microbiana, mineralização de algumas substâncias ou atividades de diferentes enzimas, que permitem a interpretação de reações não só de populações individuais, mas também de comunidades e biocenoses (Moorman, 1994), e aportam informação de utilidade quanto à atividade biológica do solo (Paul & Clark, 1996). No entanto, considerando a multiplicidade de componentes microbiológicos e processos bioquímicos no solo, o mais indicado é o uso de um grupo mínimo desses bioindicadores (Carter et al., 1992).

No Brasil houve grande expansão e modernização da agricultura, especialmente na cultura da soja, que é plantada desde o Rio Grande do Sul até a Hileia Amazônica e Tabuleiros Maranhenses. A cultura da soja é característica de grandes áreas e uso intensivo de insumos, incluindo os herbicidas. Pela intensidade de uso e extensão das áreas aplicadas com herbicidas nessa cultura, a sociedade passa a requerer informações que permitam inferir os possíveis efeitos ambientais de curto e longo prazo, os quais, em última análise, alterariam a sustentabilidade do agroecossistema.

Assim, o presente trabalho foi conduzido visando avaliar os efeitos de doses dos herbicidas bentazon, metolachlor, trifluralina, imazethapyr, imazethapyr+lactofen, haloxyfop-methyl, glyphosate e chlorimuron-ethyl, comumente utilizados em soja, sobre a evolução de CO<sub>2</sub> e atividades enzimáticas do solo (desidrogenase e hidrólises de FDA) em amostras coletadas em áreas que nunca haviam recebido aplicação de qualquer herbicida.



## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Impacto Ambiental do Núcleo de Estudos e Pesquisas Ambientais em Matologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP Jaboticabal, utilizando amostras de solo colhido em área que nunca recebera pesticidas. As amostras foram coletadas em solo Latossolo Vermelho distrófico (LVd) textura média sob pastagem; depois foram secas à sombra e peneiradas em tamis de 2 mm. A composição química do solo utilizado encontra-se na Tabela 1.

Os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial 8 x 2 + testemunha, em que constituíram os fatores oito herbicidas (bentazon, metolachlor, trifluralina, imazethapyr, imazethapyr+lactofen, haloxyfop-methyl, glyphosate e chlorimuron-ethyl) e duas concentrações (duas e dez vezes a dosagem média recomendada por hectare, correspondentes a 720, 1.920, 534, 100, 50 + 180, 60, 720 e 15 g i.a. ha<sup>-1</sup> para os herbicidas, na ordem mencionada). No laboratório, as parcelas foram distribuídas em delineamento experimental inteiramente casualizado, com três repetições. O cálculo da concentração baseou-se numa profundidade de 1 cm de solo com massa específica de 1.3 g cm<sup>-3</sup>, resultando em 7,69 µg i.a. g<sup>-1</sup> de solo para cada 1.000 g ha<sup>-1</sup> de ingrediente ativo.

Para determinação da respiração edáfica, amostras de 100 g de solo foram enriquecidas com os herbicidas e incubadas, durante 28 dias, em frascos de vidro com capacidade para três litros, hermeticamente fechados e incubados em câmara BOD a 25 °C e no escuro. A umidade das amostras incubadas foi mantida em aproximadamente 60% da capacidade de campo. A respiração microbiana global foi estimada aos 2, 4, 8, 12, 16, 20, 24 e 28 dias de incubação, por meio da mobilização de CO<sub>2</sub> em 20 mL de NaOH (1N) e posterior titulação

com solução de HCl (0,65N), após a precipitação do carbonato com BaCl<sub>2</sub> (Jenkinson & Powlson, 1976).

As análises das atividades enzimáticas no solo consistiram na: quantificação da desidrogenase seguindo o método proposto por Schuster & Schröder (1990), por meio da taxa de redução do TTC (2,3,-trifeniltetrazolium chloride) para TPF (trifenil formazan), estimado por espectrofotometria no comprimento de onda de 485 nm, após incubação a 30 °C por 24 horas; e quantificação da hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA) para a fluoresceína, de acordo com o método proposto por Schnürer & Rosswall (1982).

Os dados das avaliações, obtidos em diferentes épocas, foram submetidos à análise de variância pelo teste F. Para comparação das médias de respiração basal, quantidade de TPF e de fluoresceína, foi aplicado o teste de Tukey (5%). Para comparações dos tratamentos com a testemunha foram avaliados contrastes ortogonais. Com o objetivo de analisar o comportamento dos tratamentos ao longo do tempo, processou-se, complementarmente, a análise de variância dos dados longitudinais e, para isso, foi utilizada a correção AR(1) na consideração das possíveis autocorrelações dos dados no tempo. Para o estudo das evoluções do CO<sub>2</sub> acumulado durante o período de incubação, também se ajustaram curvas de regressão exponencial, do tipo  $CO_{2\text{acum}} = \beta_0^* + \beta_1^* \text{dias}$ , para cada herbicida. Estas, linearizadas, foram comparadas mediante o teste de homogeneidade de coeficientes de regressão, utilizando-se intervalos de confiança a 95% para separação dos coeficientes  $\beta_1$  e consequente diferenciação das curvas. A fim de estudar possíveis associações entre os bioindicadores estimados, foi realizada uma análise de correlação simples entre a respiração aos 8 e 28 dias e os valores das enzimas desidrogenase e FDA nas mesmas datas.

**Tabela 1** - Principais características químicas do solo utilizado no experimento

P resina	MO	pH	K	Ca	Mg	H + Al	S.B.	C.T.C.	V
(g dm <sup>-3</sup> )		(H <sub>2</sub> O)	(mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )						(%)
2,0	6,0	4,6	0,10	4,33	1,00	20,0	5,33	25,33	21



## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Respiração basal

A análise de variância de dados longitudinais – que permite a consideração do comportamento dos tratamentos ao longo do tempo – destacou o efeito inibitório na atividade respiratória do solo para os tratamentos com bentazon e haloxyfop-methyl, na maior dose. Nesses tratamentos, a respectiva emissão de CO<sub>2</sub> foi, em média, 31 e 33% menores que a determinada na testemunha. Os demais tratamentos não afetaram a respiração no período considerado, apresentando produções de CO<sub>2</sub> similares à da testemunha (Figura 1).

No entanto, a análise do comportamento dos tratamentos por data de avaliação, assim como os estudos das curvas de evoluções dos acúmulos, revelou que, embora com efeitos médios de inibição similares, os herbicidas bentazon<sub>(10x)</sub> e haloxyfop-methyl<sub>(10x)</sub> influenciaram diferencialmente a atividade respiratória.

Para o bentazon<sub>(10x)</sub>, o efeito inibitório, de grande magnitude, determinando uma redução de 62% em relação à testemunha, ocorreu inicialmente, desde a primeira data de avaliação, aos dois dias (Tabela 1).

Em se tratando do haloxyfop-methyl<sub>(10x)</sub>, a redução na atividade respiratória comprovou-se mais tardiamente, a partir do oitavo dia

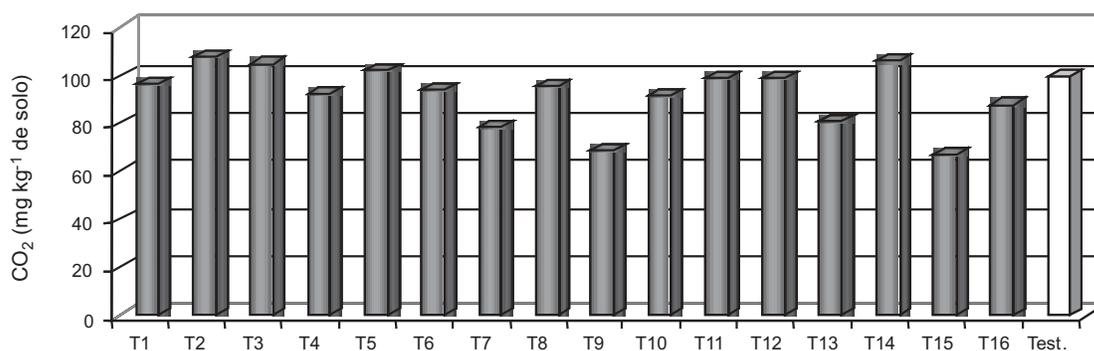
de incubação, quando se estimou o primeiro decréscimo significativo de 34% em relação à testemunha (Tabela 2).

Também para o haloxyfop-methyl<sub>(2x)</sub> na menor dose, as análises por data assinalaram diminuição na atividade respiratória nas quatro últimas avaliações, a partir do 16º dia de incubação.

Por outro lado, a análise das curvas ajustadas para evolução da atividade respiratória destacou outra diferença. Na comparação dos coeficientes, o  $\beta_1$  estimado para o tratamento de bentazon<sub>(10x)</sub> foi o único que diferiu com o correspondente estimado para a curva do tratamento controle. No entanto, os coeficientes estimados para haloxyfop-methyl nas duas doses (Tabela 3), assim como os dos tratamentos restantes, não se diferenciaram daqueles da testemunha.

No tratamento com bentazon<sub>(10x)</sub>, após a inibição inicial foram observados incrementos nas taxas de liberação de CO<sub>2</sub>. Essa recuperação da atividade respiratória explica a diminuição da diferença relativa com a testemunha (Figura 2).

No vigésimo oitavo dia de incubação, o acúmulo de CO<sub>2</sub> no tratamento de bentazon<sub>(10x)</sub> não diferiu daquele da testemunha (Tabela 2). Dessa forma, e de acordo com os resultados de outros autores (Grossbard & Davies, 1976;



T1 = bentazon (2x), T2 = metolachlor (2x), T3 = trifluralina (2x), T4 = imazethapyr (2x), T5 = imazethapyr+lactofen (2x), T6 = glyphosate (2x) T7 = haloxyfop (2x), T8 = chlorimuron (2x), T9 = bentazon(10x), T10 = metolachlor (10x), T11 = trifluralina (10x), T12 = imazethapyr (10x) T13 = imazethapyr+lactofen (10x), T14 = glyphosate (10x), T15 = haloxyfop (10x), T16 = chlorimuron (10x), T17 = testemunha.

**Figura 1** - Evoluções de CO<sub>2</sub> das amostras de solo, ao longo dos 28 dias de incubação, em função dos herbicidas utilizados. Dados expressos em percentuais em relação à testemunha.

**Tabela 2** - Médias dos acúmulos de CO<sub>2</sub> (mg kg<sup>-1</sup> de solo) por data de avaliação para os tratamentos que deferiram da testemunha, segundo as comparações dos contrastes ortogonais (P ≤ 0,05)

Avaliação (dias)	Testemunha	bentazon <sub>(10x)</sub>	haloxyfop-methyl <sub>(10x)</sub>	haloxyfop-methyl <sub>(2x)</sub>	imazethapyr + lactofen <sub>(10x)</sub>
2	50 A	19 (38%)* B	36 (72%) A	37 (74%) A	34 (68%) B
4	75 A	43 (57%) B	66 (88%) A	65 (87%) A	60 (80%) A
8	102 A	66 (64%) B	68 (66%) B	87 (85%) A	83 (81%) A
12	126 A	79 (63%) B	83 (65%) B	105 (83%) A	110 (87%) A
16	149 A	104 (69%) B	106 (71%) B	117 (78%) B	114 (76%) B
20	179 A	128 (71%) B	116 (64%) B	134 (74%) B	147 (82%) A
24	208 A	153 (73%) B	138 (66%) B	157 (75%) B	178 (85%) A
28	232 A	182 (78%) A	141 (60%) B	178 (76%) B	194 (83%) A

\*entre parênteses, os valores estimados nos herbicidas são expressos como porcentagem da testemunha.

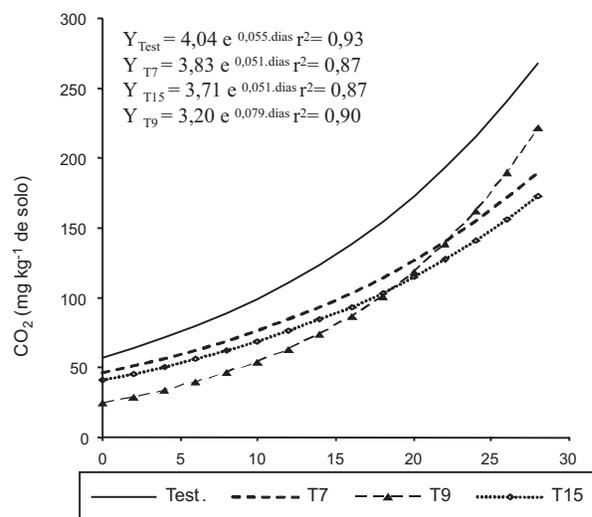
Marsh et al., 1978; Allievi et al., 1996) para o bentazon, só foram observados efeitos inibitórios na dose elevada, e estes foram transitórios. Segundo Huber & Otto (1994), esse herbicida é rapidamente degradado pela microflora aeróbica na camada superficial do solo, resultando que parte considerável do herbicida é mineralizada a CO<sub>2</sub> (24-50%) e o restante caracterizado por produtos intermediários instáveis, os quais são imediatamente fixados, biótica ou abioticamente. A evolução da emissão de CO<sub>2</sub> nesse tratamento mostra que, depois da redução da atividade respiratória inicial, aparentemente, houve estímulo no final do período de incubação.

Marsh et al. (1978), estudando a resposta de distintos grupos de microrganismos ao bentazon em doses de 10 a 100 ppm, observaram diminuição temporária de várias populações de bactérias e de alguns fungos celulolíticos, assim como incrementos de populações de outros fungos e de actinomicetes. A combinação desses efeitos do tipo diferencial dos herbicidas sobre a biodiversidade original do solo e as dinâmicas induzidas pela alteração pode explicar a variabilidade observada em bioindicadores da atividade global, como a respiração edáfica, em curtos espaços de tempo.

Para o haloxyfop-methyl, a detecção dos efeitos inibitórios sobre a respiração edáfica nas duas doses e a manutenção desses efeitos até o final do período de incubação, aos 28 dias, poderiam estar indicando maior potencial de

**Tabela 3** - Valores de  $\hat{\alpha}_1$  estimados e valores correspondentes dos limites inferior e superior dos intervalos de confiança a 95%, para o bentazon<sub>(10x)</sub>, a testemunha e o haloxyfop-methyl, nas concentrações correspondentes às doses 2x e 10x

Tratamento	$\hat{\alpha}_1$ estimado	Limite inferior	Limite superior
Testemunha	0,0553 b	0,0445	0,0662
Bentazon	0,0786 a	0,0667	0,0894
Haloxyfop-methyl <sub>(10x)</sub>	0,0524 b	0,0405	0,0623
Haloxyfop-methyl <sub>(2x)</sub>	0,0507 b	0,0398	0,0616

**Figura 2** - Representações gráficas da evolução de CO<sub>2</sub> acumulada em amostras de solo enriquecidas com os herbicidas bentazon<sub>(10x)</sub> (T9), haloxyfop-methyl<sub>(2x)</sub> (T7), haloxyfop-methyl<sub>(10x)</sub> (T15) e para a testemunha.

distúrbio da atividade da microbiota, comparativamente com os outros herbicidas testados no tipo de solo estudado. No trabalho de Andréa et al. (2000) também foram detectados efeitos inibitórios na atividade respiratória com este herbicida. A diferença do encontrado no presente experimento é que na pesquisa citada a inibição foi detectada unicamente no dia seguinte ao da aplicação. Segundo esses autores, é possível que haloxyfop-methyl e o composto haloxyfop-ácido, que resulta da rápida hidrólise do primeiro, exibam efeitos diferenciais sobre a microbiota do solo. Diferenças na composição das comunidades de microrganismos e suas evoluções nos solos poderiam, portanto, explicar as variações entre momentos na detecção dos efeitos. Para as condições deste experimento, pode-se interpretar que se expressou uma maior sensibilidade ao composto hidrolisado.

Santos et al. (2005), avaliando o fluazifop-p-butil, herbicida com igual modo de ação, obtiveram resultados similares e afirmaram que se trata de potentes inibidores da síntese de acetil coenzima A carboxilase (ACCCase), presente também no metabolismo microbiano, o que poderia explicar a magnitude dos efeitos observados.

O tratamento de imazethapyr + lactofen<sub>(10x)</sub>, da mesma forma que o tratamento com haloxyfop-methyl<sub>(2x)</sub>, embora a análise de variância de dados longitudinais não indicasse efeito significativo médio ao longo do tempo, diferenciou-se da testemunha na avaliação realizada tanto aos 2 como aos 16 dias, com redução de 32 e 24% da respiração edáfica em relação ao controle, respectivamente (Tabela 2).

#### Atividades enzimáticas

Não foram observados efeitos significativos dos herbicidas na hidrólise de FDA ( $P > 0,05$ ), e sim na atividade da desidrogenase, tanto na avaliação das amostras com 8 quanto com 28 dias de incubação ( $P \leq 0,0001$  e  $P \leq 0,0216$ , respectivamente), indicando alterações nos processos oxidativos do solo (Tabela 4).

Aos 28 dias de incubação, a maioria dos herbicidas inibiu a atividade da desidrogenase. Em todos os tratamentos na dose 10x, excetuando o tratamento de imazethapyr<sub>(10x)</sub>, a quantidade de TPF foi menor que a estimada na testemunha.

**Tabela 4** - Valores médios obtidos nas estimativas da atividade da desidrogenase por data de avaliação para os tratamentos que diferiram da testemunha, segundo as comparações dos contrastes ortogonais ( $P \leq 0,05$ )

Tratamento	8 dias	Pr.F	28 dias	Pr.F
	( g TPF. g <sup>-1</sup> de solo seco h <sup>-1</sup> )	Valor de F	g TPF. g <sup>-1</sup> de solo seco h <sup>-1</sup> )	Valor de F
TEST.	1,75		1,48	
T1	-----	-----	<b>0,50</b>	0,0062
T2	2,26	0,0098	<b>0,54</b>	0,0084
T3	<b>1,33</b>	0,0298	-----	-----
T4	2,24	0,0050	-----	-----
T6	-----	-----	<b>0,82</b>	0,0492
T8	-----	-----	<b>0,69</b>	0,0450
T9	<b>0,62</b>	<0,0001	<b>0,14</b>	0,0006
T10	-----	-----	<b>0,19</b>	0,0008
T11	-----	-----	<b>0,66</b>	0,0185
T13	<b>1,10</b>	0,0004	<b>0,35</b>	0,0023
T14	2,11	0,0314	<b>0,55</b>	0,0087
T15	-----	-----	<b>0,66</b>	0,0179
T16	-----	-----	<b>0,74</b>	0,0298

T1 = bentazon (2x), T2 = metolachlor (2x), T3 = trifluralina (2x), T4 = imazethapyr (2x), T5 = imazethapyr + lactofen (2x), T6 = glyphosate (2x), T7 = haloxyfop-methyl (2x), T8 = chlorimuron (2x), T9 = bentazon (10x), T10 = metolachlor (10x), T11 = trifluralina (10x), T12 = imazethapyr (10x), T13 = imazethapyr + lactofen (10x), T14 = glyphosate (10x), T15 = haloxyfop (10x), T16 = chlorimuron (10x).

Mostrando algum grau de concordância com as estimativas de atividade respiratória, figuram os tratamentos de imazethapyr+lactofen<sub>(10x)</sub> e o de bentazon<sub>(10x)</sub>, os quais, junto com o tratamento de metolachlor<sub>(10x)</sub>, foram os determinantes das maiores reduções da atividade da desidrogenase.

Com similar análise, chama atenção o fato de não ter sido detectado efeito na atividade da desidrogenase para amostras de solo enriquecidas com haloxyfop-methyl<sub>(2x)</sub>.

Na avaliação das amostras com oito dias de incubação, comprovaram-se tanto os efeitos de inibição como os de estímulo. Assim, como era esperado, o bentazon<sub>(10x)</sub> e a mistura imazethapyr+lactofen<sub>(10x)</sub> reduziram de modo expressivo a atividade da desidrogenase, mostrando associação com as determinações na respiração edáfica.

Os resultados de estímulo detectados nos tratamentos de metolachlor<sub>(2x)</sub>, imazethapyr<sub>(2x)</sub> e glyphosate<sub>(10x)</sub> estariam indicando efeitos de promoção da atividade oxidativa do solo para esses herbicidas.

Esses tipos de efeito têm sido reportados na literatura para herbicidas com potencial de rápida mineralização e de serem utilizados como substrato para o crescimento de algumas populações de microrganismos quando aplicados em altas concentrações. Para o glyphosate em particular, existem referências tanto de inibição (Santos et al., 2004; Weaver et al., 2007) quanto de incrementos na atividade da microbiota do solo (Haney et al., 2000; Busse et al., 2001; Araújo et al., 2003; Andréa et al., 2004). Em todos os casos, trata-se de efeitos iniciais e transitórios, como ocorreu com os resultados do presente trabalho.

A análise da atividade da desidrogenase mostrou, no presente estudo, ter maior sensibilidade para detecção de efeitos de herbicidas, quando comparada com os resultados obtidos na análise pela hidrólise de FDA. As enzimas responsáveis da hidrólise do FDA são ubíquas no ambiente solo. A habilidade para hidrolisar FDA está amplamente difundida, especialmente entre os principais decompositores do solo, fungos e bactérias, razão pela qual a quantificação desse processo deveria prover uma boa estimativa da atividade da microbiota (Schnürer & Rosswall, 1982). No entanto, a

determinação da fluoresceína apresenta dificuldades em solos com baixa atividade microbiana, relacionadas, segundo Adam & Duncan (2001), com limitações no desempenho do solvente utilizado no método tradicional de avaliação. O solo do presente estudo pode ser incluído nessa categoria.

Quanto às correlações entre a atividade respiratória e as atividades enzimáticas, só foi significativa a correlação com a atividade da desidrogenase estimada aos oito dias de incubação ( $P = 0,017$ ), embora de baixa magnitude ( $r = 0,57$ ).

Da análise conjunta dos resultados depreende-se a importância da consideração da dinâmica temporal, assim como da necessidade da utilização de múltiplos bioindicadores, na interpretação dos efeitos dos herbicidas no solo.

No presente estudo, a estimativa da respiração microbiana só permitiu relevar efeitos de inibição na produção de CO<sub>2</sub> em quatro dos herbicidas avaliados, com marcadas diferenças nos momentos de expressão e na duração. A estimativa da atividade da desidrogenase apresentou maior sensibilidade, relevando efeitos em maior número de herbicidas, tanto de ação inibitória como estimulatória.

Não contando com estimações de quantidade nem diversidade das comunidades microbianas, não foi possível elucidar se houve interferência negativa ou positiva dos herbicidas que demonstraram capacidade de alterar a atividade da microbiota. A quantificação da biomassa, assim como o cálculo do quociente metabólico (qCO<sub>2</sub>), como sugerem Reis et al. (2008), poderiam ter permitido a interpretação dos efeitos observados.

## LITERATURA CITADA

- ADAM, G.; DUNCAN, H. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using <sup>3</sup>H-fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. **Soil Biol. Biochem.**, v. 33, n. 7/8, p. 943-951, 2001.
- ALEF, K.; NANNIPIERI, P. (Eds.). **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. London: Academic, 1995. 576 p.
- ALLIEVI, L. et al. Influence of the herbicide bentazon on soil microbial community. **Microbiol. Res.**, v. 151, n. 1, p. 105-11, 1996.



- ANDRÉA, M. M. et al. Glyphosate: Influência na bioatividade do solo e ação de minhocas sobre sua dissipação em terra agrícola. **Planta Daninha**, v. 22, n. 1, p. 95-100, 2004.
- ANDRÉA, M. M.; PERES, T. B.; MATALLO, M. B. Effect of the herbicide haloxifop-methyl on some soil biological parameters. In: INTERNATIONAL WEED SCIENCE CONGRESS, 3., 2000, Foz do Iguaçu. **Proceedings...** Foz do Iguaçu: 2000. CD-ROM.
- ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R.; ABARKELI, R. B. Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils. **Chemosphere**, v. 52, n. 5, p. 799-804, 2003.
- BUSSE, M. D. et al. Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial communities. **Soil Biol. Biochem.**, v. 33, n. 12/13, p. 1777-1789, 2001.
- CARTER, M. R. Influence of reduced tillage systems on organic matter, microbial biomass, macro-aggregate distribution and structural stability of surface soil in a humid climate. **Soil Till. Res.**, v. 23, n. 4, p. 361-372, 1992.
- EDWARDS, C. A. Impact of herbicides on soil ecosystems. **Crit. Rev. Plant Sci.**, v. 8, n. 3, p. 221-257, 1989.
- GILLER, K. E. et al. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function. **Appl. Soil Ecol.**, v. 6, n. 1, p. 3-16, 1997.
- GROSSBARD, E.; DAVIES, H. A. Specific microbial responses to herbicides. **Weed Res.**, v. 16, n. 3, p. 163-170, 1976.
- HANEY, R. L. et al. Effect of glyphosate on soil microbial activity and biomass. **Weed Sci.**, v. 48, n. 1, p. 89-93, 2000.
- HUBER, R.; OTTO, S. Environmental behavior of bentazon herbicide. **Rev. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 137, n. 1, p. 111-134, 1994.
- JENKINSON, D. S.; POWLSON, D. S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. A method for measuring soil biomass. **Soil Biol. Biochem.**, v. 8, n. 3, p. 209-213, 1976.
- MARSH, J. A. P. et al. Simultaneous assessment of various responses of the soil microflora to bentazone. **Weed Res.**, v. 18, n. 5, p. 293-300, 1978.
- MOORMAN, J. B. A review of pesticide effects on microorganisms and microbial processes related to soil fertility. **J. Prod. Agric.**, v. 21, n. 14-23, 1989.
- PAUL, E. A.; CLARK, F. E. (Eds.) **Soil microbiology and biochemistry**. London: Academic Press, 1996. 340 p.
- REIS, M. R. et al. Atividade microbiana em solo cultivado com cana-de-açúcar após aplicação de herbicidas. **Planta Daninha**, v. 26, n. 2, p. 323-331, 2008.
- SANTOS, J. B. et al. Efeitos de diferentes formulações comerciais de glyphosate sobre estirpes de *Bradyrhizobium*. **Planta Daninha**, v. 22, n. 2, p. 293-299, 2004.
- SANTOS, J. B. et al. Atividade microbiana do solo após aplicação de herbicidas em sistemas de plantio direto e convencional. **Planta Daninha**, v. 23, n. 4, p. 683-691, 2005.
- SANNINO, F.; GIANFREDA, L. Pesticide influence on soil enzymatic activities. **Chemosphere.**, v. 45, n. 4/5, p. 417-425, 2001.
- SCHLOTTER, M.; DILLI, O.; MUNCHA, J. C. Indicators for evaluating soil quality **Agric. Ecosyst. Environ.**, v. 98, n. 1/3, p. 255-262, 2003.
- SCHNÜRER, J.; ROSSWALL, T. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 43, n. 6, p. 1256-1261, 1982.
- SCHUSTER, E.; SCHRÖDER, D. Side-effects of sequentially-applied pesticides on non-target soil microorganisms: field experiments. **Soil Biol. Biochem.**, v. 22, n. 3, p. 375-383, 1990.
- WAIWRIGHT, M. A review of the effect of pesticides on microbial activity in soil, **J. Soil. Sci.**, v. 29, n. 3, p. 287-298, 1978.
- WARDLE, D. A.; PARKINSON, D. Effects of three herbicides on soil microbial biomass and activity. **Plant Soil**, v. 122, n. 1, p. 21-28, 1990.
- WARDLE, D. A.; PARKINSON, D. Relative importance of the effects of 2,4-D, glyphosate and environmental variables on the soil microbial biomass. **Plant Soil**, v. 134, n. 2, p. 209-219, 1991.
- WARDLE, D. A.; NICHOLSON, K. S.; RAHMAN, A. Influence of herbicide applications on the decomposition, microbial biomass, and microbial activity of pasture shoot and root litter. **New Zealand J. Agric. Res.**, v. 37, n. 1, p. 29-39, 1994.
- WEAVER, M. A. et al. Effects of glyphosate on soil microbial communities and its mineralization in a Mississippi soil. **Pest Mang. Sci.**, v. 23, n. 4, p. 388-393, 2007.

