EFEITOS DO USO DE HERBICIDAS EM SOLO CULTIVADO COM CITROS
(*Citrus sinensis* L. Osbeck) SOBRE A POPULAÇÃO DE
FUNGOS MICORRÍZICOS VESÍCULO-ARBUSCULARES

COSME DAMIÃO DOS SANTOS

Biólogo

Orientador : Prof. Dr. Ricardo Victória Filho

Dissertação apresentada à Escola
Superior de Agricultura "Luiz de
Queiroz", da Universidade de São
Paulo, para obtenção do título de
Mestre em Agronomia, Área de
Concentração: Microbiologia Agrícola.

P I R A C I C A B A

Estado de São Paulo - Brasil

Fevereiro - 1989

S237e

Santos, Cosme Damião dos
Efeitos do uso de herbicidas em solo cultivado com citrus (Citrus sinensis L. Osbeck) sobre a população de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares. Piracicaba, 1989.
74p.

Diss.(Mestre) - ESALQ
Bibliografia

1. Herbicida. 2. Laranja pera - Herbicida-Micorriza. 3. Laranja pera - Micorriza. 4. Micorriza - Herbicida. I. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", Piracicaba.

CDD 634.31

EFEITOS DO USO DE HERBICIDAS EM SOLO CULTIVADO COM
CITROS (*Citrus sinensis* L. Osbeck) SOBRE A POPULAÇÃO
DE FUNGOS MICORRIZICOS VESÍCULO-ARBUSCULARES

COSME DAMIÃO DOS SANTOS

Aprovada em: 28.06.1989

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Itamar S. de Melo

CNPDA/EMBRAPA

Prof. Dr. Ricardo Victória Filho

ESALQ/USP

Prof. Dr. Robinson A. Pitelli

UNESP/Jaboticabal

Prof. Dr. RICARDO VICTÓRIA FILHO

Orientador

À memória de meu pai , ANTONIO

à minha mãe , ISAURA :

NOSSA HOMENAGEM

À minha FAMÍLIA ,

NOSSA DEDICAÇÃO

AGRADECIMENTOS

Para não cometer injustiças quanto a agradecimentos pois realmente foram muitos que colaboraram para que esta longa jornada fosse menos difícil , o autor quis prestar um agradecimento único porém muito sincero à Deus por ter colocado nesta longa caminhada as pessoas certas, nas horas certas e nos locais certos .

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	vii
RESUMO.....	x
SUMMARY.....	xii
1.INTRODUÇÃO.....	01
2.REVISÃO DE LITERATURA	05
2.1. Influência dos herbicidas sobre as bactérias do solo	05
2.1.1. Geral	05
2.1.2. Amonificantes	08
2.1.3. Nitrificantes	08
2.1.4. Fixadoras de nitrogênio	10
2.2. Influência dos herbicidas sobre os actino - micetos do solo	14
2.3. Influência dos herbicidas sobre as algas do solo	18
2.4. Influência dos herbicidas sobre os fungos do solo	20
2.4.1. Fungos não micorrízicos	20
2.4.2. Fungos micorrízicos	25
2.4.2.1. Fungos endomicorrízicos	25
2.4.2.2. Fungos ectomicorrízicos	32
2.5. Influência dos herbicidas sobre vírus	33

3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
3.1. Local do experimento	35
3.2. Cultivar	35
3.3. Herbicidas utilizados	35
3.3.1. Ametryne + Secbumetone	35
3.3.2. Bromacil	37
3.3.3. Bromacil + Diuron	37
3.3.4. Dichlobenil	38
3.3.5. Diuron	38
3.3.6. Glyphosate	38
3.3.7. MSMA	39
3.3.8. Paraquat	39
3.3.9. Simazine	40
3.3.10 Terbacil	40
3.4. Delineamento experimental	40
3.5. Instalação e condução do experimento	41
3.5.1. Plantio	41
3.5.2. Aplicação dos herbicidas	41
3.5.3. Tratos culturais	43
3.5.4. Coleta de dados	43
3.5.4.1. Coleta de solo	43
3.5.4.2. Fase laboratorial	44

4.RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
4.1. Influência dos herbicidas no número de esporos de fungos endomicorrízicos	48
4.2. Influência dos herbicidas no índice de colonização radicular	57
5.CONCLUSÕES E SUGESTÕES	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65

LISTA DE TABELAS

Página

TABELA 1.	Características químicas e físicas do solo Latossol Vermelho Amarelo do experimento da Fazenda Sete Lagoas	36
TABELA 2.	Tratamentos utilizados com as respectivas doses do ingrediente ativo (i.a.) e produto comercial (p.c.) no experimento da Fazenda Sete Lagoas - Conchal - SP .	42
TABELA 3.	Números totais de esporos endomicorrízicos referentes a coletas de solos cultivados com citros antes da aplicação dos herbicidas pós-emergentes e aos 37 dias após a aplicação dos herbicidas pré-emergentes. Médias de 3 repetições	49
TABELA 4.	Números totais de esporos endomicorrízicos referentes a coletas de solos cultivados com citros 2 dias após aplicação dos herbicidas pós-emergentes e 65 dias após aplicação dos herbicidas pré-emergentes Médias de 3 repetições	50

- TABELA 5.** Números totais de esporos endomicorrízicos referentes a coletas de solos cultivados com citros 31 dias após a aplicação dos herbicidas pós-emergentes e 94 dias após a aplicação dos herbicidas pré-emergentes . Médias de 3 repetições51
- TABELA 6.** Números médios de esporos endomicorrízicos observados em solos cultivados com citros antes da aplicação dos herbicidas pós-emergentes e aos 37 dias após aplicação dos herbicidas pré-emergentes. Médias de 3 repetições..... 53
- TABELA 7.** Números médios de esporos endomicorrízicos observados em solos cultivados com citros 2 dias após aplicação dos herbicidas pós-emergentes e aos 65 dias após aplicação dos herbicidas pré-emergentes. Médias de 3 repetições 54
- TABELA 8.** Números médios de esporos endomicorrízicos observados em solos cultivados com citros 31 dias após aplicação dos herbicidas pré-emergentes e 94 dias após a aplicação dos herbicidas pós-emergentes. Médias de 3 repetições 55

TABELA 9. Índices de colonização de fungos endomicorrízicos observados em raízes de citros antes da aplicação dos herbicidas pós-emergentes e aos 37 dias após aplicação dos herbicidas pré-emergentes. Médias de 3 repetições .. 58

TABELA 10. Índices de colonização de fungos endomicorrízicos observados em raízes de citros 2 dias após aplicação dos herbicidas pós-emergentes e aos 65 dias após aplicação dos herbicidas pré-emergentes. Médias de 3 repetições 59

TABELA 11. Índices de colonização de fungos endomicorrízicos observados em raízes de citros 31 dias após aplicação dos herbicidas pós-emergentes e 94 dias após aplicação dos herbicidas pré-emergentes . Médias de 3 repetições.. 60

EFEITOS DO USO DE HERBICIDAS EM SOLO CULTIVADO
COM CITROS (*Citrus sinensis* L. Osbeck) SOBRE A POPULAÇÃO
DE FUNGOS MICORRÍZICOS VESÍCULO-ARBUSCULARES

Autor: COSME DAMIÃO DOS SANTOS

Orientador: PROF. DR. RICARDO VICTÓRIA FILHO

RESUMO

A presente pesquisa foi instalada com o objetivo de verificar o efeito do uso de herbicidas residuais bem como os de pós-emergência sobre o número de esporos e índice de colonização de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares num Latossolo Vermelho Amarelo , cultivado com citros (*Citrus sinensis* L.Osbeck .)

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com 12 tratamentos e 3 repetições . Os tratamentos utilizados com as respectivas doses de i.a./ha foram: bromacil (3.2 kg), terbacil (3.2) , simazine (4.0), ametryne (2.25) + secbumetone (2.25), dichlobenil (5.0), diuron (3.2) e bromacil (2.13) + diuron (1.07) aplicados em pré-emergência e paraquat (0.6), glyphosate (1.61) e MSMA (1.77) aplicados em pós-emergência e os tratamentos controles .

A amostragem do solo foi feita antes da aplicação dos herbicidas pós-emergentes e após a aplicação dos mesmos , aos 2 e 31 dias . Com relação aos herbicidas pré-emergentes , a amostragem do solo foi feita aos 37, 65 e 94 dias após a aplicação dos mesmos .

Os esporos de fungos endomicorrízicos foram obtidos através de peneiramento por via úmida . As raízes das plantas foram separadas, coradas e observadas para avaliação do índice de colonização .

Para as condições do presente trabalho , não se detectaram diferenças significativas entre o controle e os tratamentos com herbicidas para número de esporos por unidade de solo e índice de colonização de fungos .

EFFECTS OF THE USE OF HERBICIDES IN SOILS
CULTIVATED WITH CITRUS (*Citrus sinensis* L. Osbeck)
ON THE VESICULAR-ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI POPULATION

Author: COSME DAMIÃO DOS SANTOS

Adviser: PROF. DR. RICARDO VICTÓRIA FILHO

SUMMARY

This research was carried with the aim to verify the effect of the use of residual herbicides as well as the post-emergence ones over the spores number and colonization rate of V.A. mycorrhizal fungi in a Red Yellow Latosol cultivated with Citrus (*Citrus sinensis* L. Osbeck).

The experimental design used was randomized blocks being 12 treatments and 3 replications . The treatments utilized and the respective doses of a.i./ha were: bromacil (3.2 kg), terbacil (3.2) , simazine (4.0) ametryn (2.25) + secbumetone (2.25), dichlobenil (5.0) , diuron (3.2) and bromacil (2.13) + diuron (1.07) applied in pre-emergence and paraquat (0.6) , glyphosate (1.61) and MSMA (1.77) applied in post-emergence and the controls treatments, without herbicide .

The soil sampling was done before the application of the post-emergence herbicides and 2 and 31 days after their application. In relation to the pre-emergence ones the soil sampling was done 37 , 65 and 94 days after their application .

The spores were collected from the soil samples by wet sieving . The citrus roots were separated, stained and observed for colonization rate evaluation .

For the conditions of this experiment there was no significative differences among the control and the herbicides treatments for spores number by soil unit and colonization rate .

1. INTRODUÇÃO

O Brasil encontra-se entre os primeiros produtores de citros no mundo ,sendo superado apenas pelos Estados Unidos da América do Norte . Mesmo assim, detém a maior população cítrica, liderando também a exportação de suco concentrado congelado. A maior porcentagem de plantas cítricas encontra-se no Estado de São Paulo, sendo estimada em 100 milhões de pés cobrindo uma área superior a 400 mil hectares, sendo a laranja-Pera e a laranja-Natal, as que representam a maior porcentagem de cultivo (30,5% e 16,5% , respectivamente). A muda selecionada representa o principal fator para se alcançar sucesso na exploração citrícola, devendo para isto, estar livres de pragas e doenças. As plantas daninhas provocam prejuízos à cultura, principalmente em termos de competição por luz, nutrientes e água, podendo ainda a sua presença favorecer o aparecimento de pragas e doenças, etc... O controle das plantas daninhas com a utilização de herbicidas deve ser feito com certos cuidados e dentro de certas limitações (CAMPOS, 1976).

Quando da aplicação dos herbicidas,

objetiva-se interferir nas vias metabólicas das plantas daninhas entretanto, esses podem também exercer uma influência sobre a comunidade biológica do solo, e nesta, a população de microrganismos (AUDUS, 1964).

A atividade microbiana é um dos fatores relacionados à fertilidade do solo e esta população quantitativa e qualitativamente exerce influência nas interações entre as plantas e os microrganismos. Havendo alguma alteração na composição, limitação de alguns grupos ou favorecimento de outros, afetará o equilíbrio microbiano no solo e, conseqüentemente as condições para o crescimento da planta (TU & BOLLEN, 1968; DROZDOWICZ, 1971).

Como efeitos diretos, os herbicidas podem influenciar a densidade e a composição das populações microbianas tanto no solo como o crescimento de espécies individuais em cultura pura; as atividades da microflora, especialmente com respeito à decomposição da matéria orgânica, a fixação do nitrogênio, as transformações do nitrogênio (amonificação, nitrificação, oxidação do nitrito, denitrificação), a decomposição da celulose e outras atividades enzimáticas. Como efeitos indiretos têm-se efeitos dos herbicidas nas interações entre microrganismos e plantas superiores como: associação simbiótica (fixação de nitrogênio, micorríza) e e associações patogênicas (GROSSBARD, 1976).

SMITH (1982) em uma revisão sobre os

herbicidas utilizados no Canadá, menciona que o entendimento das interações dos herbicidas com a microflora do solo é complicado não sómente pelos sistemas complexos de interação múltipla entre o herbicida e o solo mas também pela diversidade de tipos de microrganismos e de suas atividades no solo. Os estudos mais indicativos utilizados pelos cientistas incluem: liberação de gás carbonico, aproveitamento de oxigênio e transformação do nitrogênio. Há também métodos envolvendo a decomposição da matéria orgânica em solos tratados e não tratados. Comenta ainda que existe uma possibilidade dos defensivos de maior persistência afetarem adversamente os microrganismos do solo. Ressalta também que os efeitos na microflora do solo podem ser mascarados por fatores ambientais, particularmente : temperatura, pH, composição da atmosfera e níveis de nutrientes.

Parece lógico que consideravelmente mais esforços de pesquisa devam ser dirigidos a estudos das interações herbicidas X microrganismos em sistemas cultivados . Experimentos de longa duração, particularmente experimentos de campo , podem dar contribuições importante ao conhecimento dos efeitos no crescimento da planta, vigor, qualidade e produção. Todos estes podem refletir de alguma forma, o possível efeito na atividade microbiológica do solo. É importante, portanto, desenvolver trabalho nesta área, particularmente com os herbicidas mais persistentes . Pesquisa aplicada deve ser dirigida com objetivos de melhorar a capacidade atual para identificar, quantificar e

avaliar o potencial dos efeitos prejudiciais dos herbicidas para atividades microbianas do solo, as quais são essenciais para manter a fertilidade do solo. As interações entre herbicida , solo, planta cultivada e microrganismo , requerem igualmente pesquisas contínuas exaustivas . Atenção especial quanto aos efeitos dos herbicidas devem ser : aspectos microbianos do ciclo de nutrientes incluindo decomposição de resíduos de cultura; estudo da rizosfera, em particular nodulação de leguminosas economicamente importantes e associações micorrízicas; patógenos de plantas oriundos do solo, incluindo antagonismo microbiano e, influências microbiológicas na estrutura do solo (GREAVES & MALKOMES, 1980).

Objetivou-se , no presente trabalho , verificar o efeito do uso de herbicidas residuais , bem como herbicidas de pós-emergência, em solos cultivados com citros, sobre o número de esporos e índice de colonização de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Influência dos herbicidas sobre as bactérias do solo

2.1.1. - Geral

Em estudos de laboratório sobre os efeitos do tebutiuron no crescimento de *Pseudomonas aeruginosa*, *Arthrobacter globiformis* e *Bacillus subtilis* não foram observadas diferenças no tipo ou número de células (KLINE et alii, s/d).

1

Balicka et alii, citado por DROZDOWICZ (1971) examinaram o efeito de vários herbicidas sobre sessenta e oito amostras de bactérias isoladas da rizosfera de milho e centeio. Verificaram que a reação das amostras individuais aos mesmos herbicidas depende da formulação comercial (o mesmo herbicida é produzido por muitas

1

BALICKA, N.; SOBIESZCZANSKI, J. & NIEWIADOMA, T. The effect of herbicides on soil microflora .IV -the action of herbicides on soil microorganisms .Acta Microbiol. pol., 18 (1): 11, 1969.

companhias), do modo de aplicação , da sensibilidade da amostra examinada e do tempo de observação. Esses fatores devem ser levados em consideração quando os resultados apresentados por vários autores são discutidos.

Os crescimentos de *Bacillus* sp , *Bacillus mycoides*, *Micrococcus* sp e *Sarcina lutea* foram inibidos fortemente por prometryne e CIPC (Krezel & Musial ¹) citado por DROZDOWICZ (1971).

ROSLYCKY (1981), estudando a influência do terbacil na microbiota do solo e de laboratório observou que concentrações de até 700 µg/g tiveram pouco efeito na população de bactérias tanto sob condições de campo como em laboratório . Não foram verificados efeitos no crescimento "in vitro" de cento e onze estirpes de microrganismos de importância agrícola que incluíam bactérias.

HUGE (1981/2), analisando o efeito do methabenzthiazuron sobre os microrganismos em três solos após um período de cinco e oito anos , observou que o

¹
KREZEL ,Z. & MUSIAL , M. The effect of herbicides on soil microflora. II- The effect of herbicides on enzymatic activity of the soil . *Acta Microbiol. pol.*, 18(1):93 , 1969.

número de bactérias não foi significativamente afetado.

Formas pigmentadas de bactérias e de *Bacillus subtilis* tiveram seu crescimento suprimido em meio contendo atrazine e simazine (Kuzmina¹), citado por DROZDOWICZ (1971).

COLE (1976) estudando o efeito da aplicação de atrazine durante 9 anos em solo cultivado com milho, observou que esse herbicida teve pouco efeito sobre os microrganismos, embora tenha havido uma inibição parcial no crescimento bacteriano na primeira semana após a primeira aplicação. O número de bactérias viáveis não foi afetado após repetidas aplicações.

MUDD et alii (1985), estudando o efeito do isoproturon na dose de 2,5 kg i.a./ha, na rizosfera de trigo, observaram que este causou efeitos variáveis que incluíam aumentos e decréscimos transitórios no número de bactérias. Em laboratório, o herbicida não afetou culturas puras de bactérias nas concentrações de 1-60 µg i.a./ml.

1

KUZMINA, I. V. Microbiological characteristics of a low thick moor and the action of herbicides on soil microflora. Sb. Stud. Nauch. Rab. Mosk. Sel'skokhoz. 14: 268, 1968.

GROSSBARD & WINGFIELD (1978), observaram em solo tratado com o herbicida paraquat , uma diminuição do número de bactérias celulolíticas. Por outro lado, isto não ocorreu com os herbicidas glyphosate e amitrole.

2.1.2. Amonificantes

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

A amonificação não foi influenciada pelos herbicidas atrazine, prometryne e simazine (Balicka et alii), citado por DROZDOWICZ, (1971).

2.1.3. Nitrificantes

WINELY & CLEMENTE SAN (1970) examinaram os efeitos de defensivos agrícolas sobre o *Nitrobacter agilis* . A bactéria foi inibida pelo CIPC (10,0 µg/ml) porém, não foi pelo simazine.

Os herbicidas dalapon, pyrazon e trifluralin, na concentração de 100 ppm , não mostraram efeitos adversos na mineralização do nitrogênio em dois solos . Entretanto, 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 NH_4^+ e NO_3^- , mostraram um retardamento nos processos de nitrificação (oito semanas) e denitrificação (doze semanas) (WEERARATNA, 1980).

Em estudo feito sobre nitrificação do solo com aplicações anuais dos herbicidas MCPA, triallate, simazine e linuron, durante um período de sete - oito anos, GROSSBARD (1971) observou que os efeitos negativos causados pelo linuron e simazine relacionavam-se a diferença na quantidade de matéria orgânica mais prontamente degradável.

A nitrificação não foi apreciavelmente afetada pelo herbicida paraquat, em estudos da atividade microbiana em quatro solos (TU & BOLLEN, 1968).

Os herbicidas atrazine, prometryne e simazine estimularam a nitrificação (Balicka et alii). Este último herbicida (simazine) também estimulou a nitrificação quando foi utilizado na dose agrícola¹ porém, uma dose choque inibiu a mesma (Kulinska), ambos trabalhos citados por DROZDOWICZ (1971).

HALE et alii (1957) estudando os efeitos

KULINSKA, D. The effect of simazine on soil microorganisms (Pol.) Roczn. Nauk. Roln. E. 23 A-2: 229, 1967.

dos herbicidas CIPC e monuron sobre as taxas de nitrificação, observaram que o CIPC, na concentração de 8 ppm, inibiu completamente o crescimento de microrganismos nitrificadores. Para o monuron, isto não ocorreu até a concentração de 40 ppm.

AMAKARI (1977) trabalhando em laboratório com os herbicidas chloroxuron, metobromuron e fluometuron, nas doses de: 0, 0.25, 0.5, 1.0 e 2.0 ppm, observou que os efeitos foram variáveis sobre a população de *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* sendo que o chloroxuron diminuiu o crescimento inicialmente, apresentando um estímulo no sétimo dia de crescimento. Quanto ao metobromuron, este diminuiu o crescimento após o sétimo dia. Por outro lado, efeitos alternados de crescimento e redução populacional foram apresentados pelo herbicida fluometuron.

2.1.4. Fixadoras de nitrogênio

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 quaisquer das doses aplicadas.

KAPUSTA & ROUWENHORST (1973), conduziram

experimentos para determinar a influência de defensivos agrícolas no crescimento de *Rhizobium japonicum* em cultura e no solo. Em laboratório, utilizando os herbicidas chloramben, atrazine, alachlor, chlorprophan, CDAA, DCPA, dicamba, linuron, naptalam, nitralin, propachlor, trifluralin e vernolate, observaram que só o chlorprophan inibiu o crescimento do *Rhizobium*. Concluíram que se os herbicidas forem aplicados nas doses recomendadas, não influenciarão na nodulação.

WORSHAM & GIDDENS (1957) trabalhando com soja semeada 1, 7 e 90 dias após aplicação de dalapon, não observaram redução da nodulação, mesmo em doses altas.

DEUBER et alii (1981), realizando três experimentos em campo e um em vaso, com soja, para estudar o efeito da aplicação do herbicida trifluralin (0.96 kg/ha) em campo e 0.86 kg/ha em vasos) e vernolate (3.60), ambos incorporados ao solo, alachlor (2.40), pendimethalin (1.50 em dois experimentos e 1.25 em outro) e o metribuzin (0.63 em dois e 0.53 em outro), observaram que o trifluralin, pendimethalin e o vernolate, reduziram no início do experimento em vasos, a nodulação e o peso dos nódulos. Em um dos experimentos de campo, o trifluralin reduziu esses valores na fase máxima de nodulação.

Com esta mesma cultura, em campo, e usando os herbicidas: linuron (3,5 kg/ha), alachlor (4,0 l/ha),

napropamide (4,0 kg/ha), trifluralin (1,8 l/ha) e vernolate (4,0 l/ha), MASSARIOL & LAM-SANCHEZ (1974) não verificaram efeitos prejudiciais destes herbicidas sobre a nodulação .

O efeito da aplicação dos herbicidas pré-emergentes: dinoseb, trifluralin, nitralin, dinitramine e linuron, também em soja, foi estudado por ALAA-ELDIN et alii (1981). Dinoseb na dose recomendada e trifluralin, especialmente na concentração 5 vezes a recomendada, estimularam a nodulação , enquanto que nitralin, dinoseb ou linuron, principalmente em concentrações mais altas, inibiram a formação de nódulos. A atividade da nitrogenase dos nódulos tratados com dinoseb e trifluralin aos quarenta e nove dias , nas doses de uma e cinco vezes, mostrou um efeito estimulante. Aos noventa e dois dias, as atividades em todos os tratamentos foram mais baixas quando comparadas ao primeiro período.

KUST & STRUCKMEYER (1971), reportam que a nodulação pode ser prejudicada se o herbicida trifluralin for aplicado em doses elevadas.

HUGÉ (1981/2) analisando o efeito do methabenzthiazuron sobre os microrganismos em três solos tratados com este herbicida após um período de cinco e oito anos, observaram que o número de anaeróbios fixadores de nitrogênio em um solo arenoso, foi reduzido.

RODRIGUEZ & MATE (1980), estudaram a

influência de diferentes doses de amitrole sobre *Rhizobium leguminosarum*, *Rhizobium lupini* e *Rhizobium meliloti*, observaram que as três espécies toleraram 1000 ppm do herbicida. Entretanto, o crescimento começou a diminuir à taxa de 5000 ppm, sendo que o *Rhizobium lupinii* foi o que demonstrou menor alteração.

ROSLYCKY (1977) utilizando combinações de linuron com um fumigante (Vorlex), observou que a população de bactéria praticamente não foi afetada. A influência na nodulação foi maior em virtude do fumigante pois o herbicida sozinho mostrou uma influência insignificante sobre a população.

Como observação geral, os herbicidas variam em seus efeitos sobre as bactérias do solo sendo que dependendo da dose e do microrganismo, poderá haver inibição quanto ao seu crescimento. A literatura mostra uma certa influência negativa dos herbicidas prometryne, CIPC, atrazine, simazine, especificamente sobre *Bacillus* sp e paraquat sobre bactérias celulolíticas.

Com relação as bactérias amonificantes, estes mesmos herbicidas, com exceção do CIPC, não tiveram influência sobre a amonificação, sendo que o paraquat retardou a amonificação porém não em virtude da dose de aplicação.

Para bactérias nitrificantes, os trabalhos encontrados mostram um efeito adverso do herbicida CIPC

sobre a nitrificação , efeito este semelhante ao apresentado pelo dalapon. Por outro lado, percebe-se que os herbicidas atrazine, prometryne e simazine, estimulam a nitrificação , sendo que particularmente o simazine, quando usado em doses acima da recomendada, pode exercer uma inibição, o que evidencia que estes efeitos estejam relacionados a dose utilizada do herbicida bem como o tipo de solo, já que o teor de matéria orgânica quando alto, é menos pronunciado o efeito do herbicida.

Para as bactérias fixadoras de nitrogênio , existem trabalhos reportando novamente o efeito do CIPC como inibidor entretanto, isto era evitado quando o herbicida era usado dentro das doses recomendadas . O mesmo se explica sobre o trifluralin que apresentou em alguns trabalhos, efeitos de redução no número de nódulos entretanto, concluiu-se que isto também estava relacionado a dose aplicada, já que este herbicida chegou até a estimular a nodulação em outras situações . Pode-se citar ainda outros exemplos semelhantes com os herbicidas linuron, nitratin, dinitramine, que inibiram a nodulação principalmente em concentrações mais altas .

2.2. Influência dos herbicidas sobre os actinomicetos do solo

Os actinomicetos tem sido investigado numa extensão relativamente pequena considerando sua contribuição importante no equilíbrio das espécies,

relações antagônicas e na degradação da matéria orgânica do solo (GROSSBARD, 1976).

1

Audus¹, citado por GROSSBARD (1976), após uma revisão, cita que a contagem de propágulos total no solo indica que os actinomicetos são relativamente resistentes a herbicidas. As mudanças em níveis de contagem, foram detectadas quando eram frequentemente relacionadas a altas concentrações somente (GROSSBARD, 1976).

Não houve diferenças no tipo ou número de células de *Streptomyces albus* após aplicação do herbicida tebuthiuron (KLINE et alii, s/d).

A respiração da microbiota total do solo foi afetada por altas concentrações de terbacil entretanto, até 500 µg/ml houve um estímulo para a respiração de actinomicetos, sendo que na concentração de 600 µg/ml, a inibição havida foi apenas parcial (ROSLYCKY, 1981).

A população de actinomicetos foi bem resistente a bentazon nas doses de 10 e 100 ppm em dois tipos de solo, sendo esta resistência maior especialmente no solo com maior teor de matéria orgânica (MARSH et alii, 1978).

A porcentagem de *Streptomyces* com trinta

 AUDUS, L. J. The action of herbicides and pesticides on
 the microflora. Meded. Rijksfac. Landbouw. Gent,
 35: 465-492, 1970.

dias de incubação, foi marcadamente aumentada pela maioria dos tratamentos, exceto em dois solos, de um total de quatro , em que foi utilizado o herbicida paraquat (TU & BOLLEN, 1968).

BREAZEALE & CAMPER (1970) mostraram que a contagem de colonias de actinomicetos nas amostras de lotes tratados com trifluralin foi maior do que no lote controle . O herbicida 2,4 D não afetou o número desses microrganismos . Esses lotes receberam repetidas aplicações durante o ano.

O crescimento de actinomicetos foi estimulado significativamente por atrazine e simazine (Kuzmina) , citado por DROZDOWICZ (1971) .

Em estudos de laboratório , Kulinska , citado por DROZDOWICZ (1971) , examinando os efeitos de simazine sobre algumas funções microbianas, observou que este herbicida mostrou ser bastante inativo para os microrganismos heterotróficos . Esse herbicida não influenciou a atividade antibiótica "in vitro" de nenhuma das 278 amostras selecionadas de actinomicetos .

GROSSBARD (1976) revendo trabalhos de contagens de propágulos total de actinomicetos no solo, cita que doses de 8 e 10 kg/ha de atrazine estimularam actinomicetos celulolíticos após uma inibição inicial.

O efeito de vários herbicidas sobre 38 amostras de actinomicetos isolados da rizosfera de milho e centeio foram estudados por Balicka et alii, citado por DROZDOWICZ (1971). Verificaram que a reação depende da formulação comercial, da maneira de aplicação, da sensibilidade da amostra examinada e do tempo de observação.

HUGE (1981/2), analisando o efeito do methabenzthiazuron sobre os microrganismos em três solos tratados com este herbicida após um período de cinco e oito anos, observou que o número de actinomicetos não foi significativamente afetado.

ROSLYCKY (1977), utilizando combinações de linuron com um fumigante (Vorlex), observou que a população de actinomicetos praticamente não foi afetada.

Com relação ao efeito dos herbicidas sobre a população de actinomicetos nota-se que no geral, a influência sobre estes microrganismos é baixíssima demonstrando estes um grau de resistência muito alto aos herbicidas. Alguns exemplos mostrando os herbicidas simazine e atrazine, relatam que não apenas estes herbicidas deixaram de inibir como também estimularam os actinomicetos. A resistência desses microrganismos é mais acentuada em solos com teor mais elevado de matéria orgânica. Possivelmente esta resistência por parte dos actinomicetos esteja relacionada com a sua capacidade de produção de antibióticos.

2.3. Influência dos herbicidas sobre as algas do solo

A sensibilidade é menos marcante no solo que em meio líquido, sendo esta uma regra geral para todos os grupos de microrganismos. Em comum a outros grupos microbianos, a resposta da alga do solo varia com o tipo de solo. As algas também podem adquirir resistência aos herbicidas (GROSSBARD, 1976).

CULLIMORE & McCANN (1977), utilizando os herbicidas 2,4 D, trifluralin, MCPA e TCA, aplicados a dois níveis de concentração, observaram que dos 31 gêneros identificados, apenas as algas *Chlamydomonas*, *Chlorococcum*, *Horridium*, *Palmella* e *Ulothrix* mostraram ser sensíveis aos quatro herbicidas. As mais resistentes foram: *Chlorella*, *Lyngbya*, *Nostoc* e *Hantzschia*

¹
Hamdi et alii, citado por DROZDOWICZ (1971), observaram que o 2,4 D, propanil, molinate e trifluralin em doses agrícolas, inibiram a produção de biomassa e o conteúdo de nitrogênio de *Isoeothrix tenuis*, alga fixadora de nitrogênio. O propanil mostrou-se tóxico para a alga. Baixas concentrações de 2,4 D estimularam a síntese de clorofila.

HAMDI, Y. A.; NAWAWY, A.S.E. & TEWFIK, M.S. Effect of herbicides on growth and nitrogen-fixation of alga *Isoeothrix tenuis*. Acta Microbiol. pol., B, (2): 53, 1970.

-5

-4

O herbicida 2,4 D nas concentrações de 4.10^{-5} e 4.10^{-4} estimularam algumas algas do solo porém, em concentrações mais altas, houve inibição (Platonova¹), citado por DROZDOWICZ (1971).

Fluometuron suprimiu o crescimento autotrófico de *Chlorella pyrenoidosa* e *Euglena gracilis* porém, o efeito inibitório foi sobrepujado quando a alga cresceu heterotróficamente (SIKKA & PRAMER, 1968). O herbicida não afetou a respiração da alga, somente o despreendimento de oxigênio fotossintético. A conclusão chegada pelos autores é que este herbicida é seletivamente tóxico para uma ou mais reações controladas pela luz entretanto, não tem efeito sobre as reações no escuro que precederam a síntese de clorofila.

O número de algas não foi significativamente afetado em três solos tratados com o herbicida methabenzthiazuron, num experimento realizado por HUGE (1981/2), correspondente a um período de cinco e oito anos.

Segundo uma revisão feita por GROSSBARD (1976) sobre o efeito de alguns herbicidas nas contagens de propágulos total de alga no solo, encontrou atrazine, na dose de 4 kg/ha causando inibição, enquanto esta mesma dose para simazine não causou nenhum efeito. Em cultura

 PLATONOVA, V. P. Vliyaniye herbicida 2,4 D na
 pochvennye algi v laboratornykh uslovyach. Nauch.
 Zap. Voronezh. Otd. Vses. Bot. Obshchest., 153, 1968.

pura, encontrou trabalhos de autores onde o fluometuron (0,6 ppm) e atrazine (5,0 ppm) inibiram o crescimento de *C. pyrenoidosa* enquanto que em outro trabalho, 0,5 ppm de atrazine foi suficiente para inibir *C. reinhardtii*.

DAVIS et alii (1976) estudando o efeito dos herbicidas prometryne, diuron, fluometuron e MSMA sobre *Chlorella pyrenoidosa* observaram que após 35 gerações, as concentrações mínimas dos herbicidas para causarem um decréscimo neste microrganismo foram : 10^{-8} M (diuron), 10^{-7} M (prometryne) e 10^{-6} M (fluometuron), sendo que o MSMA não teve nenhum efeito. Quanto a fotossíntese, esta foi inibida por uma exposição de 2 h pelos herbicidas prometryne ou diuron ($5 \cdot 10^{-5}$ M) e por fluometuron na concentração de $5 \cdot 10^{-6}$ M.

Para as algas, a literatura mostra efeitos de inibição particularmente em doses altas entretanto, em baixas concentrações, como no caso do 2,4 D, houve até um estímulo na síntese de clorofila. Percebe-se também que as algas variam em suas sensibilidades aos herbicidas podendo alguns herbicidas causar inibição como por exemplo o atrazine, e outros não causarem nenhum efeito.

2.4. Influência dos herbicidas sobre fungos do solo

2.4.1. Fungos não micorrízicos

Comparando-se a contagem de propágulos fúngicos total no solo, estes são menos frequentes que bactérias e actinomicetos. A estimulação dos fungos,

especialmente em cultura pura, pode ser devido a utilização do herbicida como uma fonte de nutriente. A composição do meio de crescimento pode também afetar grandemente o grau de toxidez (GROSSBARD, 1976).

O efeito de vários herbicidas sobre 35 amostras de leveduras isoladas de rizosfera de milho e centeio foram estudadas por Balicka et alii, citado por DROZDOWICZ (1971). Verificaram que a reação de amostras individuais aos mesmos herbicidas dependeu da formulação comercial, do modo de aplicação, sensibilidade da amostra examinada, tempo de observação .

O número de fungos não foi significativamente afetado em três solos tratados com o herbicida methabenzthiazuron após um período de cinco e oito anos (HUGÉ, 1981/2).

ROSLYCKY (1981) estudando a influência do terbacil na microbiota do solo e em cultura, observou que a população de fungos foi pouco afetada por concentrações até 700 µg/g. Não houve efeitos no crescimento de fungos "in vitro" .

Esse mesmo autor (1977) utilizando combinações de linuron com um fumigante (Vorlex), observou que houve uma drástica redução nas populações de fungos.

DAVET (1981) estudando o efeito do

propyzamide sobre a colonização de um substrato por *Trichoderma harzianum* em presença de outros fungos do solo, observou que o desenvolvimento deste microrganismo foi raramente modificado pelo herbicida .

BREAZEALE & CAMPER (1970) observaram que a contagem de colônias de fungos nas amostras de lotes que receberam repetidas aplicações do herbicida trifluralin durante o ano, foi menor que no lote controle. O herbicida 2,4 D não afetou o número de microrganismos .

A população de fungos foi bem resistente a bentazon nas doses de 10 e 100 ppm em dois tipos de solos, sendo esta resistência maior especialmente no solo com um teor alto de matéria orgânica (MARSH et alii , 1978) .

SAHID et alii (1981) estudando os efeitos dos herbicidas paraquat e diquat na perda de nutrientes dos fungos: *Aspergillus niger* , *Penicillium frequentans* , *Mucor hiemalis* e *Zygorrhynchus heterogamus* observaram que os dois herbicidas causaram uma perda rápida de potássio e fosfato em todos os fungos, sendo essa perda maior em concentrações mais altas, particularmente *Zygorrhynchus* e *Mucor* , mostrando uma sensibilidade maior para estes dois fungos .

A população de fungos decresceu em um solo em que foi utilizado o herbicida paraquat em estudos da influência na atividade microbiana de quatro solos. Com trinta dias de incubação , a porcentagem de *Penicillium*

foi acentuadamente aumentada pela maioria dos tratamentos, exceto em dois solos (TU & BOLLEN, 1968) .

COLE (1976) estudando o efeito da aplicação de atrazine aplicada durante nove anos em solo cultivado com milho, observou que repetidas aplicações desse herbicida não afetou o número de fungos .

ORTUÑO et alii (1978) estudando o efeito da simazine sobre a solubilização de fósforo em solos calcáreos pelo fungo *Aspergillus niger*, observaram que esse herbicida autoregulou o crescimento do fungo, inibindo-o ou estimulando-o, obedecendo uma equação de regressão.

MUDD et alii (1985) estudando o efeito do isoproturon na dose de 2,5 kg i.a./ha , na rizosfera de trigo, observaram que este herbicida causou efeitos variáveis que incluíam aumentos e diminuições transitórias no número de propágulos fúngicos. Em laboratório, o herbicida em concentração 50 vezes maiores que os valores para campo, inibiu o crescimento de alguns fungos.

DAVIS et alii (1976) medindo os efeitos das concentrações de 10^{-6} , 10^{-5} e 10^{-4} M dos herbicidas : prometryne, diuron, fluometuron e MSMA sobre *Trichoderma viride* e *Aspergillus terreus*, observaram que a concentração de 10^{-6} M dos herbicidas prometryne, diuron, fluometuron e MSMA aumentou a esporulação de *T. viride* em aproximadamente 20, 30, 35 e 50 % , respectivamente . Para *Aspergillus terreus* houve também uma tendencia semelhante .

WACHA & TIFFANY (1979) num estudo quantitativo e qualitativo de fungos isolados do solo cultivado com três níveis de atrazine, através de contagem em placas, observaram que os gêneros mais frequentes eram : *Trichoderma*, *Eusarium*, *Penicillium*, *Gliocadium* e *Rhizopus*.

VERMA et alii (1979) trabalhando com os herbicidas : bentazon, fluchloralin, prometryne, terbutryne, alachlor, linuron, oxadiazon, terbacil, pendimethalin, methabenzthiazuron, 2,4 D, diuron, benthocarb, atrazine e simazine, e três fungos: *Rhizoctonia bataticola*, *Sclerotium rolfsii* e *Eusarium oxysporum*, observaram que o crescimento da hifa diminuiu consideravelmente, particularmente pelo benthocarb, methabenzthiazuron e linuron. Por sua vez, a atrazine impediu a formação de esclerócium pelo *Sclerotium rolfsii*.

GROSSBARD & WINGFIELD (1978) observaram uma diminuição no número de propágulos de fungos celulolíticos após aplicação ao solo de amitrole e glyphosate e, quando aplicados à celulose, a diminuição ocorreu devido aos herbicidas glyphosate e paraquat. Por outro lado, esse número aumentou em solo tratado com paraquat. Em cultura pura, paraquat foi o mais tóxico e amitrole o menos tóxico para os fungos estudados.

DUAH-YENTUMI & JOHNSON (1986) estudando os efeitos de repetidas aplicações de herbicidas em solos

sobre a microflora, observaram que o herbicida simazine não demonstrou nenhum efeito sensível entretanto, o herbicida paraquat diminuiu significativamente a massa microbiana, principalmente a biomassa fúngica.

2.4.2. Fungos micorrízicos

2.4.2.1. Fungos endomicorrízicos

Os efeitos dos herbicidas na infecção das plantas cultivadas e nas populações de fungos endomicorrízicos no solo devem ser estudados (GREAVES & MALKOMES , 1980) .

Os herbicidas variam em seus efeitos sobre os fungos endomicorrízicos e diferentes espécies variam em sua sensibilidade. Em algumas instâncias, suas formações são estimuladas porém, este mecanismo não é claro e, provavelmente, esteja relacionado ao efeito de produtos químicos e organismos (antagônicos) ao fungo micorrízico (SPOKES et alii , 1981).

As endomicorrizas, que formam micorrizas do tipo vesicular-arbuscular, são associações mutualísticas formadas por fungos da família Endogonaceae e raízes da maioria das espécies vegetais, estimulando o crescimento das plantas através do aumento na absorção de nutrientes, principalmente o fósforo, além de outros elementos tais como: K, Zn e Cu. Indiretamente, também podem estar

envolvidas em outros processos no solo tais como fixação de nitrogênio (LOPES et alii ,1983) .

Outra característica importante das micorrizas pode estar relacionada a interação com nematóides parasitas de plantas pois já se observou que número de galhas e/ou larvas de plantas infectadas com micorrizas é inferior a de plantas não infectadas (SCHENCK, 1981) e também com fungos fitopatogênicos .

Outros processos em que as micorrizas podem participar estão relacionados a relação água-planta, produção de hormônios , anatomia da planta e também na agregação do solo (LOPES et alii ,1983). Sendo, portanto, fungos benéficos as plantas, necessário se torna meios ou manejo adequado de práticas agrícolas no sentido de que organismos não alvo sejam afetados. Assim, TZEAN & HUANG (1980) reportam que a baixa taxa de infecção de raízes de citros por fungos endomicorrizicos, num levantamento feito em várias localidades da China, foi devida a aplicações pesadas de defensivos agrícolas .

NEMEC et alii (1981) citam que o fungo *Gigaspora margarita* é largamente distribuido em solos de citros na Flórida porém, não tem sido encontrado na Califórnia devido a que na Flórida sua presença esteja, em parte, nas plantas daninhas as quais são comuns em pomares neste Estado ao passo que na Califórnia, as plantas-daninhas são controladas por herbicidas .

Paraquat, na dose de 2 kg i.a /ha reduziu significativamente a infecção de plântulas de *Eragrostis americana* L. inoculadas com *Glomus fasciculatus*, reduzindo também o total de hifa micorrízica e o número de vesículas. A viabilidade do fungo em termos de produção de clamidosporos, foi afetada notadamente por aplicação de paraquat. Na dosagem de 0,5 kg/ha, houve uma tendência a favorecer o desenvolvimento de hifa porém não foi significativamente diferente do controle inoculado (POPE & HOLT, 1981).

Este mesmo herbicida, na dose de 69 g i.a/ha aumentou o número de esporos de *Glomus mosseae* e *Gigaspora margarita*, em solo com pH 6,5, em *Paspalum notatum*, sob condições de casa de vegetação, em 24%. Já *Glomus clarum*, em solo com pH 4,5, foi suprimido pelo tratamento com paraquat (SYLVIA & SCHENCK, 1982).

SPOKES et alii (1981) realizaram experimentos para estudar o efeito de oito produtos químicos no desenvolvimento de fungo endomicorrízico. Utilizaram cebola e alface em casa de vegetação, e cevada em campo, e o herbicida chlortoluron sendo aplicado a 3 e 30 mg/kg (vasos) e 2 kg/ha (campo). Como resultados obtiveram: no experimento de campo, a infecção micorrízica foi reduzida nas parcelas tratadas com chlortoluron (7% de raízes infectadas). No experimento em casa de vegetação (cebola e *Glomus mosseae*), as concentrações maiores inibiram o fungo mais que as menores.

SMITH et alii (1981) estudando o efeito de alguns herbicidas aplicados nas doses de 0,5 a 32 vezes a dose recomendada, na abundância do solo e na infecção de raízes de trigo por fungos micorrízicos, observaram que diallate e triallate reduziram levemente o número de esporos ao passo que o herbicida paraquat, e o herbicida diquat, não tiveram efeitos mensuráveis no número de esporos.

Neste mesmo trabalho, diallate em altas doses, diminuiu a intensidade de infecção, levando a pesos mais baixos das raízes micorrízicas. Houve também uma redução no teor de fósforo. A maioria dos parâmetros de crescimento da planta foram mais reduzidos que os parâmetros micorrízicos quando aplicadas altas doses de diallate, diuron, triallate e trifluralin. Esses autores concluíram que, em taxas normais de aplicação, provavelmente a formação e função da endomicorríza não serão afetadas.

SOUTH et alii (1980) estudando comparativamente os efeitos da fumigação com brometo de metila e os herbicidas trifluralin em pré-emergência na dose de 1,1 kg/ha e napropamide (1,7 kg/ha) em pós-emergência, na formação de endomicorríza em *Liquidambar styraciflua* L. crescida em viveiro e determinar o efeito dessas práticas na produção de plântulas e controle de plantas daninhas observaram que a formação de

endomycorrizas em plântulas com 1, 2 e 3 meses de idade não foram significativamente diminuídas pela fumigação ou pela aplicação dos herbicidas .

A aplicação de herbicidas em viveiro pode ser mais prejudicial aos fungos endomicorrízicos que em bosques porque hospedeiros alternativos das plantas daninhas não se tornam estabelecidos e os herbicidas são frequentemente espalhados uniformemente em pré-emergência através do sistema de irrigação ou com auxílio de um trator. Um herbicida lixiviável uniformemente espalhado pode penetrar rapidamente na zona da raiz , a qual é pouco profunda em plantas cultivadas em viveiros comparadas àquelas em bosques (NEMEC & TUCKER , 1983).

Esses mesmos autores, fazendo uma revisão sobre herbicidas que podem ser eficientes para controle de plantas daninhas em citros e têm sido escolhidos por terem um efeito não inibitório no fungo endomicorrízico do tipo vesicular-arbuscular, encontraram : alachlor, diphenamid , napropamide, diclofop e atrazine.

TOMMERUP & BRIGGS (1981) utilizando os herbicidas flampropisopropyl, metoxuron e trifluralin e estudando o efeito dos mesmos sobre a germinação de esporos endomicorrízicos ,observaram que a germinação dos esporos e crescimento da hifa de *A. laevis* , *Glomus caledonius* e *G. monosporus* não foram alterados por trifluralin a taxa de aplicação 10 vezes a normal . Se forem aplicados à taxas que não afetam o crescimento das plantas hospedeiras então,

provavelmente, não terão efeitos adversos em nenhum estágio do ciclo vital do fungo endomicorrízico .

SCHWAB et alii (1982), observaram baixos níveis de formação de micorrizas do tipo vesicular-arbuscular em *Chenopodium quinoa* Willd após aplicação de simazine em doses sub-letais, acreditando que esta formação tenha sido devida ao aumento da exudação de açúcares e aminoácidos das raízes . A aplicação foliar deste herbicida reduziu o crescimento da planta mas não teve efeito na concentração de fósforo no tecido .

NEMEC & TUCKER (1983) estudando citros e efeitos dos herbicidas : bromacil, diuron, simazine, trifluralin , paraquat e PPG, em casa de vegetação e com uma mistura comercial de bromacil e diuron, por um período de onze anos e simazine + paraquat, cinco anos, experimentos estes realizados também com citros, só que em campo , observaram que houve uma ligeira redução na infecção nas parcelas tratadas com simazine + paraquat . Nos estudos em casa de vegetação , tanto o fungo *Glomus etunicatus* quanto o crescimento da planta , foram afetados adversamente pelos herbicidas paraquat, PPG 844 e simazine .

OCAMPO & BAREA (1985) trabalhando com os herbicidas carbamatos : chlorpropham, sulfallate e phenmedipham, observaram que a aplicação foliar de phenmedipham diminuiu a concentração de açúcares totais e

redutores da raiz e também o metabolismo do fungo após 48 horas da aplicação . Entretanto , o teor de infecção micorrízica presente ao final do experimento , não foi afetado pela aplicação dos herbicidas quer em pós-emergência ou através do solo. Uma observação interessante pelos autores foi que fungos micorrízicos ajudaram as plantas a se recuperarem dos efeitos prejudiciais do phenmedipham .

OCAMPO & HAYMAN (1980), realizando um trabalho com o herbicida chlortoluron em cevada, na dose de 2 kg/ha, reportam que este herbicida não teve efeito no número de esporos e na porcentagem de infecção do fungo endomicorrízico .

GARCIA-ROMERA et alii(1988) estudando o efeito do herbicida cyanazine na infecção da micorrízica em *Pisum sativum* observaram que o efeito depressivo deste herbicida adveio quando as doses eram altas (0,1 mg/ml) possivelmente mais em virtude de influência do herbicida no metabolismo da planta e não diretamente sobre o fungo.

Dentre as várias conclusões chegadas por TRAPPE et alii(1984) após uma longa revisão sobre as reações do fungo endomicorrízico e de sua formação frente aos pesticidas , uma delas foi que é difícil traçar um perfil ideal para estes estudos pois existe uma grande diversidade de culturas , de condições climáticas e de pesticidas utilizados .

2.4.2.2. Fungos ectomicorrízicos

SMITH & FERRY (1979) observaram em viveiro que a simazine aplicada em taxas normais não inibiu o desenvolvimento do fungo micorrízico em *Pinus sylvestris* e *Pinus nigra* e, algumas vezes, aumentou a formação micorrízica. Esse mesmo fato ocorreu em plântulas cultivadas em vasos. Os autores evidenciam também que fatores climáticos bem como tipo de solo são responsáveis na resposta à simazine.

Com relação aos fungos, vários herbicidas citados, entre eles o terbacil, 2,4 D, bentazon, não tiveram efeitos adversos sobre a população de fungos entretanto, herbicidas como o paraquat, em fungos celulolíticos, estimulou o crescimento no solo ao passo que quando aplicados à celulose, contribuiu para uma diminuição; o mesmo ocorreu para outros tipos de fungos. Convém ressaltar aqui que o herbicida linuron apresentou uma drástica redução no número de fungos, chegando inclusive a reduzir, em outro trabalho, o crescimento da hifa. Entretanto, no trabalho que este herbicida foi utilizado com o vorlex, supõe-se que o seu efeito negativo tenha advindo deste produto.

Para os fungos endomicorrízicos, percebe-se também que quando os herbicidas são aplicados em altas doses, existe uma tendência a exercerem uma influência negativa sobre os fungos. O efeito do herbicida pode variar dependendo da dose e também do fungo. O herbicida simazine

mostrou efeitos adversos em alguns trabalhos entretanto, em um deles , chegou a promover a infecção micorrízica em uma espécie de planta que normalmente não é micorrizada. O herbicida paraquat apresentou os efeitos mais pronunciados entretanto, estes resultados dependiam da dose e também das condições do solo já que este efeito prejudicial foi melhor evidenciado em solo com pH ácido.

Para as ectomicorrízicas, observa-se o herbicida simazine atuando como estimulante de crescimento dentro de sua dose recomendada.

2.5. Influência dos herbicidas sobre vírus

Estudos de herbicidas influenciando os fagos, foram conduzidos por ROSLYCKY (1982) . Os herbicidas utilizados foram : paraquat, atrazine, simazine, linuron, diuron e terbacil, sob várias concentrações e em combinações. Observou que atividade lítica de quatro bacteriófagos de *Agrobacterium radiobacter*, três de *Rhizobium meliloti*, três de *Rhizobium trifolii* e dois de *Streptomyces chrysomallus* não foi inibida. A influência dos herbicidas na adsorção de partículas foi estudada com o fago PR-1001 de *A. radiobacter*. Os resultados mostraram que as concentrações de paraquat de 20 a 400 µg/ml diminuíram consideravelmente a porcentagem de adsorção (de 38 para 21%) . Quando se usou concentrações de até 400 µg/ml do herbicida paraquat , 30 do linuron, 20 do diuron , 20 de atrazine, 3 de simazine e 500 de terbacil, não houve

inibição do fago. O mesmo ocorreu para concentrações de 1+2 µg/ml para paraquat/ atrazine , paraquat/simazine , paraquat/diuron e paraquat/linuron, e concentrações de 1+1+1 µg/ml de paraquat/simazine/diuron.

Para o vírus, o único herbicida citado como causador de diminuição foi também o paraquat.

3 -MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Local do experimento

O experimento foi instalado em 1977 na Fazenda Sete Lagoas, município de Conchal, SP (VICTÓRIA FILHO, 1983), sobre solo Latossol Vermelho Amarelo (BRASIL, 1960) e, segundo o SNLCS (Serviço Nacional de Levantamento e Conservação do Solo), Latossol Vermelho Amarelo, unidade São Lucas (Quartzpsamment Haplortox) com A moderado e textura média.

Os dados contendo os resultados das análises físicas e químicas do solo realizadas pelo Centro de Estudos de Solos da ESALQ-USP , encontram-se na tabela 1 .

3.2. Cultivar

Foram plantadas mudas de laranja (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), cultivar Pera, enxertadas sobre limão-cravo (*Citrus limonia* Osbeck) .

3.3. Herbicidas utilizados

3.3.1. ametryne + secbumetone

Formulação comercial utilizada : Gesapax

TABELA 1 - Características químicas e físicas do solo Latosol Vermelho Amarelo do experimento da Fazenda Sete Lagoas .

determinações	valores médios
acidez (pH)	4.90
matéria orgânica (%)	1.75
fósforo solúvel (PO_4^{+++} m.eq./100 ml de T.F.S.A.)	0.04
potássio trocável (K^{++} m.eq./100 ml de T.F.S.A.)	0.20
cálcio (Ca^{++} m.eq./100 ml de T.F.S.A.)	1.07
magnésio (Mg^{++} m.eq./100 ml de T.F.S.A.)	0.80
alumínio trocável (Al^{+++} m.eq./100 ml de T.F.S.A.)	0.56
argila (%)	41.2
limo (%)	16.0
areia fina (%)	30.5
areia grossa (%)	12.3

especial

Ingrediente ativo : 2-etilamino-4-(isopropilamino)-6-(metiltio)-s-triazina + 2-metoxi-4-etilamino-6-sec-butilamino s-triazina .

Características principais : foi utilizada a formulação comercial pó-molhável contendo 50% do ingrediente ativo (25% de ametryne + 25% de secbumetone).

Modo de ação: inibidores fotossintéticos

Aplicação : pré-emergência

3.3.2. Bromacil

Formulação comercial utilizada : Hyvar X

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

Características principais : foi utilizada a formulação pó-molhável contendo 80% do ingrediente ativo .

Modo de ação : inibidor fotossintético

Persistência no solo : 5 a 6 meses

Aplicação : pré-emergência

3.3.3. Bromacil + diuron

Formulação comercial utilizada : Krovar II

Ingrediente ativo : vide bromacil e diuron

Características principais : foi utilizada a formulação comercial pó-molhável contendo 80% do ingrediente ativo (bromacil + diuron) sendo 53,3% de

bromacil e 26,7% de diuron .

Modo de ação : vide bromacil e diuron

Persistência no solo : vide bromacil + diuron

Aplicação : vide bromacil + diuron

3.3.4. Dichlobenil

Formulação comercial utilizada : Casoron

Ingrediente ativo : 2,6-diclorobenzonitrila .

Características principais : foi utilizada formulação granulada contendo 5% do ingrediente ativo .

Modo de ação : inibidor da divisão celular, atuando nas regiões de crescimento .

Persistência no solo : 2 a 6 meses

Aplicação : pré-emergência

3.3.5. Diuron

Formulação comercial utilizada : Karmex

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

Características principais : foi utilizada a formulação pó-molhável contendo 80% do ingrediente ativo .

Modo de ação : inibidor fotossintético

Persistência no solo : 4 a 8 meses

Aplicação : pré-emergência .

3.3.6. Glyphosate

Formulação comercial utilizada : Roundup

Ingrediente ativo : N-(fosfonometil)glicina

Características principais : a formulação comercial utilizada foi a solução concentrada contendo 360 g/l do ingrediente ativo .

Modo de ação : inibidor da biossíntese de aminoácidos aromáticos .

Aplicação : pós-emergência

3.3.7. MSMA

Formulação comercial utilizada : Daconate

Ingrediente ativo : monossódio metanoarsonato

Características principais : foi utilizada a formulação solução concentrada contendo 35,41% do ingrediente ativo

Modo de ação : interfere no metabolismo do fósforo, bloqueando a fosforilação oxidativa .

Aplicação : pós-emergência

3.3.8. Paraquat

Formulação comercial utilizada : Gramoxone

Ingrediente ativo : 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridílio dicloreto .

Características principais : a formulação comercial utilizada foi a solução concentrada contendo 200 g/l do ingrediente ativo .

Modo de ação : forma um radical livre que quando reoxidado provoca a formação de $\text{H} \overset{\cdot}{\text{O}}$ ou $\text{OH} \overset{\cdot}{\text{O}}$ que são tóxicos às membranas celulares .

Aplicação : pós-emergência

3.3.9. Simazine

Formulação comercial utilizada : Gesatop

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

Características principais : a formulação
comercial utilizada foi a pó molhável com 80% do
ingrediente ativo

Modo de ação : inibidor fotossintético

Persistência no solo : 5 a 7 meses

Aplicação : pré-emergência .

3.3.10. Terbacil

Formulação comercial utilizada : Simbar

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

Características principais : foi utilizada a
formulação pó-molhável contendo 80% do ingrediente ativo .

Modo de ação : inibidor fotossintético

Persistência no solo : 5 a 6 meses

Aplicação : pré-emergência

3.4. Delineamento experimental

Foi adotado o delineamento de blocos ao acaso
com 12 tratamentos e 3 repetições. As parcelas
constituíram-se de 4 plantas espaçadas de 4,5m sendo
que o tamanho da parcela era de 3,0 X 18,0 m com uma

área total de 54 m² . Os tratamentos utilizados com as respectivas doses dos ingredientes ativos (i.a.) e dos produtos comerciais (p.c.), encontram-se apresentados na tabela 2.

3.5. Instalação e condução do experimento

3.5.1. Plantio

O pomar da Fazenda Sete Lagoas foi plantado em Maio de 1975, sendo a primeira aplicação dos herbicidas realizada em Outubro de 1977 .

3.5.2. Aplicação dos herbicidas

As aplicações foram realizadas com um pulverizador Jacto manual, com depósito de 20 l , e munido de uma barra de aplicação contendo três bicos Teejet 80.02. As aplicações foram realizadas com um consumo de calda de 300 l/ha . A partir de 1980, devido à dificuldade de aplicação com barra, elas passaram a ser realizadas com apenas 1 bico defletor azul, também com um consumo de 300 l/ha. As aplicações eram realizadas em faixa de 1,5m de cada lado da planta, inclusive sob a copa das mesmas.

Para a presente pesquisa, as aplicações foram realizadas em 12/11/85 (herbicidas de pré-emergência) e em 14/01/86 (herbicidas de pós-emergência).

TABELA 2 - Tratamentos utilizados com as respectivas doses do ingrediente ativo (i.a) e do produto comercial (p.c.) no experimento da Fazenda Sete Lagoas - Conchal - SP

TRATAMENTOS	PRODUTO COMERCIAL	Doses(kg/ha)	
		i.a.	p.c.
-----*			
2. testemunha capinada	-	-	-
3. terbacil	Simbar	3.2	4.0
4. simazine	Gesatop	4.0	5.0
5. ametryne + secbumetone	Gesapax Esp.	4.5	9.0
6. dichlobenil	Casoron	5.0	100.0
7. diuron	Karmex	3.2	4.0
8. bromacil	Hyvar X	3.2	4.0
9. bromacil + diuron	Krovar II	3.2	4.0
10. paraquat	Gramoxone	0.6	3.0
11. glyphosate	Roundup	1.61	5.0
12. MSMA	Daconate	1.77	5.0

* era sempre capinada por ocasião da aplicação dos herbicidas e quando atingia 25% da cobertura pelas plantas-daninhas

3.5.3. Tratos culturais

Havia duas testemunhas : uma que recebeu capina na ocasião da aplicação dos herbicidas (testemunha) e outra que recebeu sempre que atingiu 25% de cobertura pelas plantas daninhas (testemunha capinada) .

Mesmo os tratamentos com herbicidas eram capinados quando atingiam 25% de cobertura para evitar prejuízos à cultura .

Com relação aos tratamentos de pós-emergência ,estes eram sempre realizados aproximadamente 30 dias após a aplicação dos tratamentos em pré-emergência .

3.5.4. Coleta de dados

3.5.4.1. Coleta de solo

As coletas foram realizadas aos 37, 65 e 94 dias respectivamente , após a aplicação dos herbicidas de pré-emergência e aos 0, 2 e 31 dias após a aplicação dos herbicidas de pós-emergência .

As amostras foram coletadas com o auxílio de um trado, na profundidade de 0-15 cm e numa extensão de 2,50 m equidistante ao tronco longitudinalmente. Essas medidas foram baseadas num trabalho prévio de MOREIRA(1983) quanto à disposição do sistema radicular de citros .

As amostras eram constituídas por 4 sub-amostras por planta , totalizando um conjunto de 16 sub-amostras para cada parcela ou seja, para cada repetição .

Com o auxílio de uma espátula, o solo era coletado das três partes do trado (superior , inferior e mediana), para cada sub-amostra (+ 50 g total) e colocados em sacos plásticos devidamente identificados e com um volume total por amostra de aproximadamente 600 a 800 g de solo .

Convém salientar que previamente ao início da coleta e para cada mudança de parcela , tanto o trado quanto a espátula , eram lavados com água , embebidos em álcool e posteriormente flambados.

3.5.4.2. Fase laboratorial

3.5.4.2.1. Separação das raízes do solo

O solo coletado foi disperso sobre jornais, amostra por amostra, de onde retirou-se os segmentos de raízes as quais foram imediatamente lavadas em água corrente e colocadas em frascos de vidro contendo AFA, uma solução conservadora constituída por álcool, formaldeído e ácido acético .

Quanto ao solo, este permaneceu sobre os jornais, em bancadas dentro do laboratório, por um período de aproximadamente 60 horas para secagem ao ar. Decorrido este período, os mesmos foram recolhidos novamente em seus respectivos sacos plásticos, amarrados e armazenados para posterior avaliação de esporos de fungos endomicorrízicos.

3.5.4.2.2. Avaliação de esporos de fungos endomicorrízicos

Após homogeneização do solo através de agitação manual dos sacos plásticos, retirou-se uma alíquota de aproximadamente 100 ml e procedeu-se o peneiramento por via úmida, conforme técnica descrita por GERDEMANN & NICHOLSON (1963).

Após o peneiramento, recolheu-se os conteúdos de cada peneira em bécheres individuais e realizou-se uma centrifugação primeiramente com água e depois com sacarose, conforme técnica descrita por OHMS (1957). Após a centrifugação, procedeu-se a observação em lupa, contando-se e separando-se os esporos de fungos endomicorrízicos, identificando-os por gênero e armazenando-os em frascos de vidro contendo uma solução para conservação dos mesmos (Ringer), constituída por cloretos de sódio, potássio e cálcio, sendo em seguida colocados em geladeira.

3.5.4.2.2.1. Separação e identificação dos esporos não identificados

Os esporos que não puderam ser identificados foram separados por caracteres morfológicos e colocados em lâminas de P.V.A. (resina de álcool polivinílico) conforme técnica descrita por TRAPPE & SCHENCK (1982) e levados ao Instituto de Botânica-SP para serem identificados.

3.5.4.2.3. Avaliação da infecção micorrízica

3.5.4.2.3.1. Separação das raízes de citros

Para se evitar erros na avaliação da infecção micorrízica, fez-se, previamente à coloração, uma separação das raízes de citros das de plantas daninhas presentes na amostra, com o auxílio de uma lupa.

3.5.4.2.3.2. Coloração das raízes de citros

As raízes de citros foram lavadas em água corrente e colocadas em solução de KOH (10 %) , por um período de aproximadamente 30 minutos para depois serem aquecidas em banho-maria a 96° C por um período de aproximadamente 60 minutos, acidificadas com HCl (1 %) e coloridas em lactoglicerol-azul(0,05%), seguindo técnica modificada de PHILLIPS & HAYMAN (1970) , sendo depois armazenadas em frascos de vidro contendo lactoglicerol incolor .

3.5.4.2.3.3. Índice de colonização radicular

Uma pequena porção das raízes coloridas, foi

cortada em 10 segmentos de 1 cm de extensão e montada em lâminas de vidro , observadas em microscópio com objetiva de 40 , proporcionando um aumento de 400 vezes.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Influência dos herbicidas no número de esporos de fungos endomicorrízicos

Pelos resultados apresentados nas tabelas 3, 4 e 5, percebe-se que dentre os esporos identificados, os que mais predominam são os pertencentes ao gênero *Glomus*, principalmente, e ao gênero *Gigaspora*. Cumpre ressaltar que dentro do gênero *Gigaspora* estão incluídos esporos pertencentes ao gênero *Scutellospora*, de acordo com a nova classificação realizada por WALKER & SANDERS (1986) já que esta surgiu após a conclusão do presente trabalho.

Segundo um levantamento feito em citros, no Taiwan, TZEAN & HUANG (1980) observaram que o maior número de fungos encontrados pertencia ao gênero *Glomus* e citam neste mesmo trabalho que Nicolson & Schenck¹ observaram *Gigaspora* como o mais frequente na Flórida, USA; dados esses confirmados posteriormente por NEMEC et alii (1981) que comentam ainda que a presença desse fungo na Flórida esteja em parte, nas plantas-daninhas, que são comuns

¹

NICOLSON, T.H. & SCHENCK, N.C. Endogonaceous mycorrhizal endophytes in Florida. *Mycologia* 71:178-198, 1979.

Tabela 3 - Número totais de esporos endomicorrízicos

referentes a coletas de solos cultivados com citros
antes da aplicação dos herbicidas pós-emergentes e
aos 37 dias após a aplicação dos herbicidas pré-
emergentes . Médias de 3 repetições.

Tratamentos	NTE	SH	GL	GI	AC	SC
1 - Testemunha	146.7	85.0	45.3	10.7	5.0	0.7
2 - Testemunha capinada	79.3	46.7	26.0	5.3	0.3	1.0
3 - Terbacil	50.7	41.0	6.7	1.7	0.0	1.3
4 - Simazine	49.0	40.0	5.3	2.3	0.0	1.3
5 - Ametryne + Secbumetone	58.0	48.7	7.7	0.3	0.3	1.0
6 - Dichlobenil	59.3	48.7	7.0	2.7	0.7	0.3
7 - Diuron	53.3	41.7	9.7	0.3	0.0	1.7
8 - Bromacil	46.3	31.7	6.7	6.7	0.3	1.0
9 - Bromacil + Diuron	49.3	43.7	4.7	0.3	0.3	0.3
10- Paraquat	96.7	70.0	17.0	3.7	5.3	0.7
11- Glyphosate	68.3	55.0	8.0	4.7	0.0	0.7
12- MSMA	93.3	72.7	13.7	5.3	1.7	0.0

NTE - número total de esporos
SH - sem identificação
GL - Glomus
GI - Gigaspora
AC - Acaulospora
SC - Sclerocystis

Tabela 4 - Números totais de esporos endomicorrízicos referentes a coletas de solos cultivados com citros 2 dias após aplicação dos herbicidas pós-emergentes e 65 dias após aplicação dos herbicidas pré-emergentes . Médias de 3 repetições .

Tratamentos	NTE	SH	GL	GI	AC	SC
1 - Testemunha	83.3	54.3	21.7	6.7	0.0	0.7
2 - Testemunha capinada	83.0	53.7	21.3	7.0	0.0	1.0
3 - Terbacil	48.0	37.3	6.3	4.0	0.0	0.3
4 - Simazine	59.3	45.7	5.7	7.3	0.0	0.7
5 - Ametryne + Secbumetone	49.3	40.3	7.7	1.0	0.0	0.3
6 - Dichlobenil	49.3	36.3	10.3	1.7	0.0	1.0
7 - Diuron	51.7	48.0	2.0	0.3	0.0	1.3
8 - Bromacil	45.7	39.7	4.0	1.7	0.0	0.3
9 - Bromacil + Diuron	36.7	30.7	3.7	0.0	0.7	1.7
10- Paraquat	66.3	54.0	4.0	7.0	1.0	0.3
11- Glyphosate	43.7	32.3	2.0	8.3	0.0	1.0
12- MSMA	63.3	45.3	13.0	4.0	0.0	1.0

NTE - Número total de esporos
 SH - Sem identificação
 GL - Glomus
 GI - Gigaspora
 AC - Acaulospora
 SC - Sclerocystis

Tabela 5 - Números totais de esporos endomicorrízicos referentes a coletas de solos cultivados com citros 31 dias após a aplicação dos herbicidas pós-emergentes e 94 dias após a aplicação dos herbicidas pré-emergentes . Médias de 3 repetições .

Tratamentos	NTE	SH	GL	GI	AC	SC
1 - Testemunha	53.7	36.7	11.3	4.7	0.0	1.0
2 - Testemunha capinada	45.0	31.3	8.7	4.7	0.0	0.3
3 - Terbacil	27.3	24.0	2.0	1.0	0.0	0.3
4 - Simazine	34.7	26.3	6.3	1.3	0.0	0.7
5 - Ametryne + Secbumetone	32.0	29.0	2.0	0.0	0.0	1.0
6 - Dichlobenil	41.7	34.3	6.3	0.7	0.0	0.3
7 - Diuron	32.3	22.7	8.7	0.7	0.0	0.3
8 - Bromacil	32.7	27.0	4.0	1.7	0.0	0.0
9 - Bromacil + Diuron	20.3	18.0	1.3	0.3	0.0	0.7
10- Paraquat	58.0	45.7	10.0	2.3	0.0	0.0
11- Glyphosate	35.0	24.0	6.7	3.7	0.0	0.7
12- MSMA	58.3	36.3	17.7	3.7	0.3	0.3

NTE - Número total de esporos

SH - Sem identificação

GL - Glomus

GI - Gigaspora

AC - Acaulospora

SC - Sclerocystis

em pomares neste Estado porém, na Califórnia, este fungo não tem sido encontrado pois as plantas-daninhas são controladas por herbicidas.

Outra observação realizada no presente trabalho é que numericamente os esporos encontrados nos tratamentos com herbicidas pós-emergentes, particularmente para a primeira coleta são altos, o que em parte se explica devido à que esses dados foram coletados antes da última aplicação dos herbicidas que foi utilizada no presente experimento.

Em virtude da porcentagem muito alta de esporos que não puderam ser identificados em relação ao número total de esporos, fica difícil afirmar algum possível efeito do herbicida sobre esta ou aquela população por isso, fez-se as análises estatísticas utilizando-se somente os números totais de esporos

Os resultados para o número total de esporos de fungos endomicorrízicos obtidos nas 3 coletas encontram-se nas tabelas 6, 7 e 8. Esses dados, embora apresentados em seus valores numéricos reais, foram transformados em $\sqrt{X + 0,5}$ para a realização das análises estatísticas. Essas análises envolviam comparações entre a testemunha capinada e todos os tratamentos, testemunha capinada e os tratamentos com herbicidas pré-emergentes e testemunha capinada e os tratamentos com herbicidas

Tabela 6 -Números médios de esporos endomicorrízicos observados em solos cultivados com citros antes da aplicação dos herbicidas pós-emergentes e aos 37 dias após aplicação dos herbicidas pré-emergentes . Médias de 3 repetições .

Tratamentos	Médias / 100 ml solo
2 - Testemunha capinada	79,3
3 - Terbacil	50,7
4 - Simazine	49,0
5 - Ametryne + Secbumetone	58,0
6 - Dichlobenil	59,3
7 - Diuron	53,3
8 - Bromacil	46,3
9 - Bromacil + Diuron	49,3
10- Paraquat	96,7
11- Glyphosate	68,3
12- MSMA	93,3

F = 1,18 (n.s.)

C.V. = 20,65 %

Tabela 7 - Números médios de esporos endomicorrízicos observados em solos cultivados com citros 2 dias após aplicação dos herbicidas pós-emergentes e aos 65 dias após a aplicação dos herbicidas pré-emergentes . Médias de 3 repetições .

Tratamentos	Médias / 100 ml solo
2 - Testemunha capinada	83.0
3 - Terbacil	48.0
4 - Simazine	59.3
5 - Ametryne + Secbumetone	49.3
6 - Dichlobenil	49.3
7 - Diuron	51.7
8 - Bromacil	45.7
9 - Bromacil + Diuron	36.7
10- Paraquat	66.3
11- Glyphosate	43.7
12- MSMA	63.3

F = 1,37 (n.s.)

C.V. - 19.16%

Tabela 8 - Números médios de esporos endomicorrízicos observados em solos cultivados com citros 31 dias após a aplicação dos herbicidas pós-emergentes e 94 dias após a aplicação dos herbicidas pré-emergentes. Médias de 3 repetições.

Tratamentos	Médias / 100 ml solo
2 - Testemunha capinada	45.0
3 - Terbacil	27.3
4 - Simazine	34.7
5 - Ametryne + Secbumetone	32.0
6 - Dichlobenil	41.7
7 - Diuron	32.3
8 - Bromacil	32.7
9 - Bromacil + Diuron	20.3
10- Paraquat	58.0
11- Glyphosate	35.0
12- MSMA	58.3

F = 2.33 (n.s.)

C.V. = 17.7 %

pós-emergentes, sendo realizadas individualmente para cada época de coleta .

Em todas as análises realizadas , não se detectou diferenças significativas entre os tratamentos , quaisquer que fossem eles e em nenhuma das três épocas de amostragem, sugerindo que para as condições do presente trabalho, os herbicidas não demonstraram efeito depressivo no número total de esporos .

Os autores NEMEC & TUCKER (1983) estudando os efeitos de diversos herbicidas sobre o desenvolvimento do fungo *Glomus etunicatus* em citros, em casa de vegetação não observaram redução no número de esporos quando foram utilizados os herbicidas : simazine , bromacil e o diuron entretanto , estas doses foram inferiores às utilizadas no presente experimento . Já POPE & HOLT (1981) observaram uma redução no número de esporos pertencentes ao gênero *Glomus* somente quando a dose aplicada de paraquat foi de 2 kg/ha , redução esta de 77% , ao passo que a dose de 0,5 kg/ha, bem próxima da utilizada no presente trabalho, tendeu a aumentar a produção de esporos, respondendo por um acréscimo de aproximadamente 40% . Este mesmo herbicida, utilizado na dose de 1,12 kg/ha, causou uma redução significativa de *Glomus etunicatus*, em citros (NEMEC & TUCKER , 1983) .

Outro fator interessante que se deve levar

em conta na apreciação do efeito do herbicida sobre o fungo endomicorrízico está relacionado ao pH do solo . SYLVIA & SCHENCK (1982) reportam que o herbicida paraquat , num solo cujo pH era 6.5 , aumentou o número de esporos por grama de solo para *Glomus mosseae* e *Gigaspora margarita* , ao passo que em solo com pH 4.5 , este mesmo herbicida inibiu o desenvolvimento do fungo endomicorrízico *Glomus clarum*.

OCAMPO & HAYMAN (1980) não detectaram efeitos no número de esporos em cevada após aplicação do herbicida chlortoluron .

4.2. Influência dos herbicidas no índice de colonização radicular

Os resultados para índice de colonização micorrízica observados nas três coletas encontram-se nas tabelas 9 , 10 e 11 . Embora esses resultados estejam apresentados com os seus valores numéricos reais , os mesmos foram transformados em $\text{arc sen } \sqrt{x}$ para a realização das análises estatísticas . Essas análises incluíam comparações entre a testemunha capinada e todos os herbicidas , somente entre a testemunha capinada e os

Tabela 9 - Índices de colonização de fungos endomicorrízicos observados em raízes de citros antes da aplicação dos herbicidas pós-emergentes e aos 37 dias após a aplicação dos herbicidas pré-emergentes. Médias de 3 repetições .

Tratamentos	Médias / %
2 - Testemunha capinada	71.7
3 - Terbacil	59.7
4 - Simazine	68.1
5 - Ametryne + Secbumetone	82.5
6 - Dichlobenil	79.4
7 - Diuron	73.0
8 - Bromacil	71.4
9 - Bromacil + Diuron	67.0
10- Paraquat	66.9
11- Glyphosate	82.7
12- MSMA	64.7

F = 0.87 (n.s.)

C.V. = 15.2 %

Tabela 10 - Índices de colonização de fungos endomicorrízicos observados em raízes de citros 2 dias após a aplicação dos herbicidas pós-emergentes e aos 65 dias após a aplicação dos herbicidas pré-emergentes . Médias de 3 repetições .

Tratamentos	Médias / %
2 - Testemunha capinada	74.5
3 - Terbacil	75.0
4 - Simazine	74.7
5 - Ametryne + Secbumetone	72.1
6 - Dichlobenil	66.5
7 - Diuron	75.3
8 - Bromacil	76.9
9 - Bromacil + Diuron	55.6
10- Paraquat	68.1
11- Glyphosate	73.3
12- MSMA	67.8

F = 0.75 (n.s.)

C.V. = 13.31 %

Tabela 11 - Índices de colonização de fungos endomicorrízicos observados em raízes de citros 31 dias após a aplicação dos herbicidas pós-emergentes e 94 dias após a aplicação dos herbicidas pré-emergentes. Médias de 3 repetições

Tratamentos	Médias / %
2 - Testemunha capinada	70.2
3 - Terbacil	71.7
4 - Simazine	66.9
5 - Ametryne + Secbumetone	68.9
6 - Dichlobenil	78.2
7 - Diuron	73.9
8 - Bromacil	63.0
9 - Bromacil + Diuron	68.8
10- Paraquat	81.3
11- Glyphosate	74.9
12- MSMA	76.5

F = 0.62 (n.s.)

C.V. = 12.63 %

herbicidas pré-emergentes e, finalmente entre a testemunha capinada e os herbicidas pós-emergentes, sendo realizadas individualmente para cada época de coleta .

Aqui também , em todas as análises realizadas não se detectaram diferenças significativas entre os tratamentos, quaisquer que fossem eles, em nenhuma das três épocas de amostragem , sugerindo também que os herbicidas não apresentaram efeitos significativos no sentido de prejudicar a colonização pelos fungos endomicorrízicos.

Os resultados apresentados pelo presente trabalho concordam com os obtidos por POPE & HOLT (1981) onde a utilização de doses equivalentes a 0,5 kg i.a/ha do herbicida paraquat, não afetou a colonização por *Glomus fasciculatus*, havendo tendência de um aumento de hifas para *Eraxinus americana* L. O efeito prejudicial só foi observado com a dose de 2 kg/ ha, efeito este que resultou numa redução . A explicação apresentada pelos mesmos sugerem que este herbicida crie um ambiente favorável de rizosfera para a infecção .

NEMEC & TUCKER (1983) também observaram uma redução significativa no desenvolvimento do fungo endomicorrízico nas raízes de citros, utilizando-se deste mesmo herbicida numa dose de 1,12 kg/ha . Neste mesmo

trabalho , utilizando uma mistura de paraquat e simazine, perceberam que houve um ligeiro decréscimo no desenvolvimento do fungo e das raízes entretanto , sugerem que este efeito esteja mais relacionado à ação do paraquat sobre o fungo .

SMITH et alii (1981) estudando o efeito de diversos herbicidas em trigo , entre eles o paraquat e o diuron , em doses que variavam entre 0,5 e 32 vezes a recomendada no campo, não perceberam sinais prejudiciais concluindo que se os herbicidas forem aplicados em taxas normais recomendadas, possivelmente não afetem a formação endomicorrízica .

NEMEC & TUCKER (1983) também não perceberam efeitos significativos nas raízes tratadas com uma mistura de bromacil e diuron, quando comparada ao controle. Mesmo em casa de vegetação, estes herbicidas, isoladamente, não tiveram efeito significativo em citros inoculado com *Glomus etunicatus* . Neste mesmo trabalho, os autores observaram que o herbicida simazine, em altas doses , reduziu a infecção micorrízica entretanto , não chegando bloquear completamente a infecção fúngica .

Até mesmo plantas consideradas não hospedeiras de fungos micorrízicos vesículo arbusculares como *Chenopodium quinoa* Willd apresentaram sinais de infecção micorrízica após a utilização do herbicida simazine , acreditando os autores que esta formação

micorrízica tenha advindo do aumento de açúcares e aminoácidos provocados por este herbicida (SCHWAB et alii, 1982).

Estudando o efeito do herbicida cyanazine em ervilha (*Pisum sativum*) sobre a infecção do fungo endomicorrízico , GARCIA-ROMERA et alii (1988) observaram um efeito depressivo somente quando foi utilizado uma dose alta deste herbicida , acreditando os mesmos que este efeito tenha sido mais em virtude da influência do herbicida no metabolismo da planta e não diretamente sobre o fungo .

TRAPPE et alii(1984) sugerem que os pesquisadores envolvidos com trabalhos relacionados a fungos endomicorrízicos deveriam atuar conjuntamente com : químicos orgânicos , especialistas em pesticida e fisiologistas de planta para que juntos, procurem fundamentos que norteiem a atividade do pesticida .

Mesmo em plantas colonizadas por outros tipos de fungos, como *Pinus* , o herbicida simazine não inibiu o desenvolvimento de ectomicorríza em duas espécies de *Pinus*: *Pinus sylvestris* e *Pinus nigra*, podendo até mesmo aumentar a formação micorrízica (SMITH & FERRY, 1979).

5 -CONCLUSÕES E SUGESTÕES

Os herbicidas pré e pós-emergentes não afetaram a redução do número de esporos de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares .

Os mesmos herbicidas não afetaram o índice de colonização radicular.

Os resultados apresentados sugerem ainda que , se os herbicidas forem utilizados dentro das doses recomendadas , seus efeitos poderão ser insignificantes.

Sugere-se que face a importância que a cultura de citros representa ao Brasil e, pela importância que os fungos micorrízicos vesículo-arbusculares representam às culturas , inclusive a do próprio citros, urge maior incentivo e mais trabalhos envolvendo estudos com respeito a influência de herbicidas sobre estes microrganismos, principalmente trabalhos de campo , trabalhos esses com particular ênfase ao estudo dos efeitos na composição específica dentro de cada gênero .

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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 , nov./ dez. 1981

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.

AUDUS, L.J. In: *The physiology and biochemistry of herbicides* . London, Academic Press Ltd, 1964, 555 p.

BRASIL . Ministério da Agricultura . Centro Nacional de Ensino e Pesquisas Agronomicas. Comissão de Solos. *Levantamento de reconhecimento dos solos do Estado de São Paulo* ,Rio de Janeiro, 1960. 634 p.(Boletim 12).

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.* 12:379, 1970.
- CAMPOS, J.S. de Cultura dos citros - Campinas
Coordenadoria de Assistência Técnica Integral, 100 p.
ilus. 25cm (Boletim Técnico 88), 1976 .
- COLE, M.A. Effect of long-term atrazine application on soil microbial activity . *Weed Science* 24(5): 473-476, 1976.
- 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.
- DAVET, P. Effets de quelques pesticides sur la colonisation d'un substrat par le *Irichoderma barzianum* rifaï 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* 12 : 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.
- DEUBER, R. & FORSTER, R. Influência do EPTC na nodulação

natural de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Planta Daninha 1 (2): 38-43, 1978.

-----; CAMARGO, P.N. & SIGNORI, L.H. Efeitos de herbicidas e populações de plantas na nodulação e produção da soja (*Glycine max* (L.) Merrill "Santa Rosa" Planta Daninha 4(2): 97-109, 1981.

DROZDOWICZ, A. Os herbicidas e os microorganismos . Rev. Microbiol. 2(1): 43-61, jan. / mar. 1971.

DUAH-YENTUMI, S. & JOHNSON, D.B. Changes in soil microflora in response to repeated applications of some pesticides. Soil Biol. Biochem. 18 (6): 629-635, 1986.

GARCIA-ROMERA, I.; MIQUEL, J.A. & OCAMPO, J.A. Effect of cyanazine herbicide on VA mycorrhizal infection and growth of *Pisum sativum* . Plant and Soil 102 : 207-210, 1988.

GERDEMANN , J.W. & NICOLSON , T.H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting . Trans. Brit. Mycol. Soc. 46: 235-244, 1963.

GREAVES, M.P. & MALKOMES, H.P. Effects on soil microflora . In: HANCE, R.J. ed., Interaction between herbicides and the soil. New York , Academic Press, 1980. p. 223-253..

GROSSBARD, E. The effect of repeated field applications of four herbicides on the evolution of carbon dioxide and mineralization of nitrogen in soil . *Weed Res.* 11: 263-275, 1971.

----- Effects on the soil microflora . In: AUDUS, L.J. ed. *Herbicides , Physiology , Biochemistry , Ecology*. London; Academic Press, 1976. 2v p. 99-147.

----- & WINGFIELD, G.I. Effects of paraquat, aminotriazole and glyphosate on cellulose decomposition. *Weed Res.* 18(6): 347-353, 1978.

HALE, M.G.; HULCHER, F.H. & CHAPPELL, W.E. The effects of several herbicides on nitrification in a field soil under laboratory conditions . *Weeds* 5(4): 331-341, 1957.

HUGE, P.L. Chemical, physical and microbiological analyses of three soils treated for eight years with Tribunil. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 34(52): 97-120, 1981/2.

KAPUSTA, G & ROUWENHORST, D.L. Interaction of selected pesticides and *Rhizobium japonicum* in pure culture and under field conditions . *Agronomy Journal* 65(1): 112-115, Jan./feb. 1973.

KLINE, R.M. ; KNOX, J.W. & BEGUE, W.J. O efeito do perflam em microrganismos do solo . "s/l", "s.d."

KUST, C.A. & STRUCKMEYER, B.E. Effects of trifluralin on

growth, nodulation and anatomy of soybeans. *Weed Science* 12(2) : 147-152 , march 1971.

LOPES, E. S.; SIQUEIRA, J.O. & ZAMBOLIM, L. Caracterização das micorrizas vesicular-arbusculares e seus efeitos no crescimento das plantas . *Rev. Bras. de Ciência do Solo* 7(1) : 1-19, 1983 .

MARSH, J.A.P.; WINGFIELD, G.I.; DAVIES, H.A. & GROSSBARD, E. Simultaneous assesment of various responses of the soil microflora to bentazone. *Weed Res.* 18: 293-300, 1978 .

MASSARIOL, A.A. & LAM-SANCHEZ, A. Efeito de cinco herbicidas na nodulação , controle de ervas daninhas e produção da cultura da soja (*Glycine max*(L.) Merril). *Científica* 1(1): 18-23 , 1974.

MOREIRA, C.S. Estudo da distribuição do sistema radicular da laranjeira "Pera" (*Citrus sinensis* Osbeck) com diferentes manejos de solo. Piracicaba, 1983. 97 p. (Livre-Docência) - Escola Superior de Agricultura " Luiz de Queiroz " (USP) .

MUDD, P.J.; GREAVES, M.P. & WRIGHT, S.J.L. Effects of isoproturon in the rhizosphere of wheat . *Weed Research* 25: 423-432, 1985.

NEMEC, S. & TUCKER, D. Effects of herbicides on endomycorrhizal fungi in Florida citrus (*Citrus* spp.)

soils . *Weed Science* 31(4): 427-431, July 1983.

-----; MENGE, J.A.; PLATT, R.G. & JOHNSON, L.V.
Vesicular -arbuscular mycorrhizal fungi associated
with citrus in Florida and California and notes on
their distribution and ecology. *Mycologia* 73:112-127,
1981.

OCAMPO, J.A. & BAREA, J.M. Effect of carbamate herbicides
on VA mycorrhizal infection and plant growth. *Plant
and Soil* 85 :375-383, 1985 .

----- & HAYMAN, D.S. Effects of pesticides on
mycorrhiza in field-grown barley, maize and potatoes.
Trans. Br. Mycol. Soc. 74(2), 1980.

OHMS, R.E. A flotation method for collecting spores of a
phycomycetis mycorrhizal infections . II- Crop rotation
and residual effects on non-host plants. *New Phytol.*
82:334-343, 1957.

ORTUÑO ,A ; HERNANSAEZ, A. & NOGUERA, J. Influencia de la
simazina sobre microorganismos solubilizadores de
fósforo en suelos calizos . *Anales de Edafología y
Agrobiología* 32 (5/6) : 431-439, 1978.

PHILLIPS, J . M. & HAYMAN, D.S. Improved procedures for
clearing roots and staining parasitic and
vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid

assesment of infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 55:
158-161, 1970.

POPE , P.E. & HOLT, H.A. Paraquat influences development
and efficacy of the mycorrhizal fungus *Glomus*
fasciculatus *Can. J. Bot.* 52(4): 518-521 , 1981.

RODRIGUEZ, M.F. & MATE, E.M. Accion del herbicida amitrol
sobre tres especies del genero *Rhizobium* . *Anales*
de Edafologia y Agrobiologia 32(11/12): 2157-2164, 1980.

ROSLYCKY, E.B. Response of soil microflora and certain
crops to Vorlex and Linuron. *Can. J. Soil Sci.* 52(2):
103 - 108, may 1977.

----- Influence of terbacil on microbiota in soil
and cultures. *Can. J. Soil Sci.* 61(1):11-17, feb. 1981.

-----Influence of selected herbicides in phages of
some soil bacteria . *Can. J. Soil Sci.* 62(1): 217-220,
feb. 1982 (note)

SAHID, I.B. ; LYON, A.J.E. & SMITH, S.N. The effect of
bipyridyl herbicides on the loss of nutrients from
fungi. *New Phytol.* 82(3): 401-409, 1981.

SCHENCK, N.C. Can mycorrhizae control root disease ? *Plant*
Disease 65: 230-234, 1981.

SCHWAB, S.M. ; JOHNSON, E.L.V. & MENGE, J.A. Influence of

simazine on formation of vesicular-arbuscular mycorrhizae in *Chenopodium quinoa* Willd. *Plant and Soil* 64(2):283-287, 1982.

SIKKA, H.G. & PRAMMER, D. Physiological effects of fluometuron on some unicellular algae. *Weed Science* 16:296, 1968.

SMITH, A.E. Herbicides and the soil environment in Canada. *Can. J. Soil. Sci.* 62(3): 433-460, august 1982.

SMITH, J.R. & FERRY, B.W. The effects of simazine, applied for weed control, on the mycorrhizal development of *Pinus* seedlings. *Annals of Botany* 43(1): 93-99, 1979.

SMITH, T.F.; MOACK, A.J. & COSH, S.M. The effect of some herbicides on vesicular-arbuscular endophyte abundance in the soil and on the infection of host roots. *Pesticide Science* 12(1): 91-97, 1981.

SOUTH, D.B. ; GJERSTAD, D.H. & CAMPBELL, S.J. Comparison of methyl-bromide and herbicide effects on endomycorrhizal formation, seedlings production and weed control in sweetgum seedbeds. *European J. of Forest Pathology* 10(6): 371-377, 1980.

SPOKES, J.R.; MACDONALD, R.M. & HAYMAN, D.S. Effects of plant protection chemicals on vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Pesticide Science* 12(3): 346-350, 1981.

SYLVIA, D.M. & SCHENCK, N.C. Effect of post-colonization treatments on sporulation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Phytopathology* 72(7): 950, 1982.

TOMMERUP, J.C. & BRIGGS, G.G. Influence of agricultural chemicals on germination of vesicular-arbuscular endophyte spores. *Trans. of the British Mycological Society* 76(2):326-328, 1981.

TRAPPE, J.M. & SCHENCK, N.C. Taxonomy of the fungi forming endomycorrhizae P.V.A. In: SCHENCK, N.C. ed. *Methods and principles of mycorrhizal research*. St. Paul, The American Phytopathological Society, 1982. 244 p., pg 8, 1982.

-----; MOLINA, R. & CASTELLANO, M. Reactions of mycorrhizal fungi and mycorrhiza formation to pesticides. *Ann. Rev. Phytopathol.* 22: 331-359, 1984.

TU, C.M. & BOLLEN, W.B. Effect of paraquat on microbial activities in soils. *Weed Res.* 8(1): 28-37, 1968.

TZEAN, S.S. & HUANG, Y.S. The occurrence and formation of vesicular-arbuscular mycorrhizae of citrus and maize. *Bot. Bull. Academia Sinica* 21: 119-134, 1980.

VERMA, R.K.; VYAS, S.C.; SHASTRY, P.P. & JAIN, A.C. Laboratory screening of some herbicides against three soil-borne pathogens. *Indian Phytopathology* 32(3):

394-396, 1979.

VICTÓRIA FILHO, R. Efeitos do uso contínuo de herbicidas no desenvolvimento, produção e qualidade dos frutos de dois cultivares de citros (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) Piracicaba, 1983. 232p. (Livre Docência) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (USP).

WACHA, A.G. & TIFFANY, L.H. Soil fungi isolated from fields under different tillage and weed-control regimes . *Mycologia* 71(6): 1215-1226, 1979.

WALKER, C. ; SANDERS, F.E. Taxonomic concepts in the endogonaceae III - The separation of *Scutellospora* gen. nov. from *Gigaspora* Gerd. Trappe. *Mycotaxon* 22: 169-182, 1986.

WEERARATNA, C.S. Effect of dalapon-sodium on nitrification and denitrification in a tropical loam soil. *Weed Research* 20 (5): 291-293, 1980.

WINELY, C.L. & CLEMENT SAN, C.L. Effect of pesticides on nitrite oxidation by *Nitrobacter agilis* . *Appl. Microbiol.* 12 :214 , 1970.

WORSHAM, A.D. & GIDDENS, J. Some effects of 2,2-dichloropropionic acid on soil microorganisms. *Weeds* 5(4): 316-320, 1957.