

MARCELO RODRIGUES DOS REIS

IMPACTO DO GLYPHOSATE ASSOCIADO AO ENDOSSULFAN E
TEBUCONAZOLE SOBRE MICROBIOTA DO SOLO NA CULTURA DA SOJA

Tese apresentada à Universidade Federal
de Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia,
para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2009



Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

R375i
2009

Reis, Marcelo Rodrigues dos, 1979-

Impacto do glyphosate associado ao endossulfan e
tebuconazole sobre microbiota do solo na cultura da soja /
Marcelo Rodrigues dos Reis. – Viçosa, MG, 2009.
x, 52f.: il. ; 29cm.

Orientador: Antonio Alberto da Silva.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Nitrogênio - Fixação. 2. Micorriza. 3. Simbiose.
4. Soja. 5. Plantas transgênicas. 6. Herbicidas. 7. Pesticidas.
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 632.5


MARCELO RODRIGUES DOS REIS


IMPACTO DO GLYPHOSATE ASSOCIADO AO ENDOSSULFAN E
TEBUCONAZOLE SOBRE MICROBIOTA DO SOLO NA CULTURA DA SOJA

Tese apresentada à Universidade Federal
de Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia,
para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 17 de junho de 2009.


Prof. Maurício Dutra Costa
(Co-Orientador)


Prof. Paulo Roberto Cecon
(Co-Orientador)


Prof. José Barbosa dos Santos


Prof. Marcelo Coutinho Picanço


Prof. Antonio Alberto da Silva
(Orientador)

Aos meus pais, Valter e Helena, pelo apoio e incentivo.

Ofereço e dedico.

"A estratégia de ontem foi o que nos possibilitou sobreviver até agora, mas uma nova estratégia deve ser criada se quisermos garantir nossa sobrevivência no futuro."

(Paul Levesque)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, pela saúde e pela força para conclusão de mais uma etapa da vida.

Aos meus pais, Helena e Valter, pelo apoio e pela dedicação durante toda a minha vida. Sempre acreditando em mim e orientando-me nos melhores caminhos.

À minha irmã Cláudia e às minhas sobrinhas Giovana e Natália, pelo apoio, pelo carinho e pela alegria.

A todos os familiares e aos amigos conterrâneos, pelo carinho, pelo incentivo e pela amizade.

Às Irmãs do Instituto Francisco Savério Petanha, pelo carinho, pela dedicação, pela amizade, pela formação – moral e profissional, e, também, pela convivência fraternal do Maternal ao Curso Técnico.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Fitotecnia, pela oportunidade ímpar e pelo apoio concedido da graduação ao Doutorado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão das bolsas de estudo e pelo apoio financeiro.

Ao Orientador Prof. Antonio Alberto da Silva, pela amizade, pela confiança, pela compreensão, pela dedicação e pela orientação, sempre aperfeiçoando esse trabalho.

Ao Prof. Maurício Dutra Costa, pelos conselhos, pela amizade, pela confiança e pelas sugestões imprescindíveis para a execução e a conclusão desse trabalho.

Aos Professores José Barbosa dos Santos, Paulo Roberto Cecon e Marcelo Coutinho Picanço, pela amizade, atenção e disponibilidade de tempo. Pelas sugestões e pelas críticas que muito contribuíram para a qualidade final desse trabalho.

Ao amigo Jardel Lopes Pereira, pela amizade e pela integração proporcionada entre os departamentos de Fitotecnia e Entomologia Agrícola na realização de nossos trabalhos.

Aos amigos do Laboratório de Herbicida André Cabral, Alessandra Belo, Alex Coelho, Edson Santos, Evander Alves, Giselle Lima, Leandro Galon, Marco Antonio e Siumar Tironi, pela amizade inestimável e pelo imprescindível auxílio na execução desse trabalho.

A todos os integrantes da Equipe Planta Daninha desta Universidade, pela amizade, pela brilhante convivência e que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desse trabalho.

Aos amigos e colegas do Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, pelas trocas constantes de informações e pelo entretenimento.

Aos professores, aos colegas e aos amigos do Laboratório de Associações Micorrízicas/BIOAGRO, pela excelente integração durante a execução desse trabalho, em especial, à amiga Marliane de Cássia, pela amizade, pelo apoio e pela ajuda inquestionável nas análises microbiológicas.

Aos grandes amigos de República Carlos Henrique, Daniel Falkoski, Gerson Silva, Júlio Martins e Raphael Hermano, pelo ótimo convívio e pelo companheirismo.

E finalmente, a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução desse trabalho, os meus sinceros agradecimentos.

BIOGRAFIA

MARCELO RODRIGUES DOS REIS, filho de Valter Pires dos Reis e Helena Aparecida Rodrigues dos Reis, nasceu na cidade de Araguari, Minas Gerais, em 11 de setembro de 1979.

Em dezembro de 1997, formou-se em Técnico em Química pelo Instituto Francisco Savério Petanha, Araguari, Minas Gerais, Brasil.

Em janeiro de 2005, graduou-se em Engenharia Agrônoma pela Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Em março de 2007, tornou-se Mestre em Fitotecnia pela Universidade Federal de Viçosa. Nesse mesmo mês, iniciou o curso de Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, nessa mesma universidade, submetendo-se à defesa de tese em 17 de junho de 2009.

ÍNDICE

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. LITERATURA CITADA	5
3. IMPACTO DO GLYPHOSATE ASSOCIADO A INSETICIDA E FUNGICIDA SOBRE MICRORGANISMOS ENDOSSIMBIONTES DA SOJA	8
3.1. RESUMO	8
3.2. ABSTRACT	9
3.3. INTRODUÇÃO	10
3.4. MATERIAL E MÉTODOS	12
3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
3.6. LITERATURA CITADA	17
3.7. FIGURAS E TABELAS	19
4. IMPACTO DO GLYPHOSATE ASSOCIADO A INSETICIDA E FUNGICIDA NA ATIVIDADE MICROBIANA E NO POTENCIAL DE SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO EM SOLO CULTIVADO COM SOJA ROUNDUP READY®	22
4.1. RESUMO	22
4.2. ABSTRACT	23
4.3. INTRODUÇÃO	24
4.4. MATERIAL E MÉTODOS	26
4.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.6. LITERATURA CITADA	31
4.7. FIGURAS E TABELAS	33
5. EFEITO DE MÉTODOS DE MANEJO NA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES E NOS TEORES DE MICRONUTRIENTES DE SOJA	36
5.1. RESUMO	36
5.2. ABSTRACT	37
5.3. INTRODUÇÃO	38
5.4. MATERIAL E MÉTODOS	40
5.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.6. LITERATURA CITADA	46
5.7. FIGURAS E TABELAS	48
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	52

RESUMO

REIS, Marcelo Rodrigues dos, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2009.
Impacto do glyphosate associado ao endossulfan e tebuconazole sobre microbiota do solo na cultura da soja. Orientador: Antonio Alberto da Silva. Co-Orientadores: Maurício Dutra Costa e Paulo Roberto Cecon.

A adoção das culturas transgênicas tem levado à maior utilização de glyphosate. Esse produto associado a outros agrotóxicos podem impactar negativamente o ambiente. Dessa forma objetivou-se neste trabalho avaliar os impactos da aplicação de glyphosate, endossulfan, tebuconazole e da mistura fomesafen + fluazifop- ρ -butil na microbiota do solo, nos microrganismos endossimbiontes, na nutrição mineral e na qualidade fisiológica de sementes de soja Roundup Ready (RR). O experimento foi conduzido a campo na estação experimental da Universidade Federal de Viçosa, Coimbra, MG (S 20° 45' 20" e W 42° 52' 40"; altitude de 700 m), entre os meses de dezembro e abril, no ano agrícola 2007/08, em Argissolo Vermelho-Amarelo. Para avaliação da biomassa microbiana, solubilização de fosfato inorgânico, evolução de CO₂ e quociente metabólico do solo, coletaram-se amostras de solo nas entrelinhas da cultura. Para avaliação da colonização micorrízica e nodulação, amostraram-se os sistemas radiculares das plantas de soja. Também, os terceiros trifólios a partir do ápice das plantas foram colhidos para análise de micronutrientes. Todas as amostragens anteriores foram realizadas quando a cultura da soja encontrava-se no estágio reprodutivo R₂. Após a colheita, a qualidade fisiológica das sementes foi avaliada por meio da germinação, da primeira contagem de germinação, do teste de frio sem solo, envelhecimento acelerado, condutividade elétrica e peso de cem sementes. Os agrotóxicos avaliados não afetaram a taxa respiratória do solo. O carbono da biomassa microbiana não foi afetado pelo glyphosate e a mistura fomesafen + fluazifop- ρ -butil. No entanto, houve redução do carbono da biomassa microbiana e aumento do quociente metabólico quando a mistura fomesafen + fluazifop- ρ -butil foi aplicada associada ao endossulfan + tebuconazole. O glyphosate, em aplicação única ou sequencial, não afetou a colonização micorrízica em soja tratada ou não com a mistura endossulfan + tebuconazole. O glyphosate e a mistura fomesafen + fluazifop- ρ -butil não afetaram a massa seca dos nódulos de plantas de soja na ausência da mistura endossulfan + tebuconazole. Os teores de nitrogênio foliar foram afetados negativamente pela aplicação da mistura fomesafen + fluazifop- ρ -butil e o glyphosate em aplicação

sequencial na ausência de endossulfan + tebuconazole. Entretanto, esses tratamentos não afetaram a matéria seca e o número de nódulos das plantas de soja. Os teores de zinco e ferro não foram influenciados pelos agrotóxicos. No entanto, os teores de cobre e de manganês foram influenciados negativamente pela aplicação sequencial de glyphosate associada ao endossulfan e tebuconazole. A porcentagem total germinação das sementes não foram influenciados pelos herbicidas, independentemente da associação ou não com endossulfan + tebuconazole. A condutividade elétrica e a porcentagem de germinação do teste de frio sem solo não foram alterados pelos métodos de controle de plantas daninhas na ausência de endossulfan + tebuconazole. Todavia, na presença de endossulfan + tebuconazole observou-se redução dessas variáveis em sementes de plantas tratadas com mistura fomesafen + fluazifop- ρ -butil. A mistura endossulfan + tebuconazole promoveu efeito positivo no vigor das sementes teste do envelhecimento acelerado. Dentre os métodos de controle de plantas daninhas sem associação com endossulfan + tebuconazole, o maior peso de cem sementes foi observado para a aplicação sequencial de glyphosate. Todavia, na presença de endossulfan + tebuconazole, não se observaram diferenças entre os herbicidas para essa variável. Conclui-se que, nas condições desse experimento, o uso do glyphosate, em associação ou não com endossulfan + tebuconazole, reduziu os teores foliares de cobre e manganês da soja. No entanto, não se constatou efeitos negativos desse produto na biomassa microbiana, na evolução de CO₂, no quociente metabólico e no potencial de solubilização microbiana de fosfato do solo, na colonização micorrízica, no número e massa seca dos nódulos e nos padrões de germinação e vigor das sementes de soja.

ABSTRACT

REIS, Marcelo Rodrigues dos, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2009.
Impact of glyphosate associated with endosulphan and tebuconazole on the soil microbiota during soybean cultivation. Advisor: Antonio Alberto da Silva. Co-advisers: Maurício Dutra Costa and Paulo Roberto Cecon.

The adoption of transgenic plants can lead to an increased use of glyphosate. This product associated with other pesticides can negatively affect the environment. Thus, the objective of this work was to evaluate the impact of glyphosate, endosulphan, tebuconazole, and fomesafen + fluazifop- ρ -butyl applications on the soil microbiota and on the endosymbiotic microorganisms and mineral nutrition of Roundup Ready. The physiological quality of seeds under the same conditions was also evaluated. An experiment was conducted in the field at the experimental station of Universidade Federal de Viçosa, Coimbra, Minas Gerais State (S 20° 45' 20" and W 42° 52' 40"; altitude: 700 m), from December to April, 2007/2008 crop year, in a Yellow-Red Argisol. For microbial biomass, phosphate solubilization potential, CO₂ evolution, and soil metabolic quotient determinations, soil samples were collected in the inter-row at 0-10 cm depth. Mycorrhizal colonization and nodulation were determined in root samples collected from the soybean plants. The third trifolys from the shoot apices were also collected for micronutrient determinations. All samplings were done when soybean plants reached the R2 reproductive stage. The physiological quality of soybean seeds after harvesting was evaluated by the germination percentage, the first germination count, the soilless cold test, the accelerated aging test, the electrical conductivity, and the 100-seed weight. The pesticides did not affect the soil respiratory rates. The microbial biomass carbon was not affected by glyphosate or fomesafen + fluazifop- ρ -butyl application. However, decreases in the microbial biomass carbon and increases in the metabolic quotient were observed after the application of fomesafen + fluazifop- ρ -butyl associated with endosulphan + tebuconazole. Glyphosate, in single or sequential applications, did not affect the mycorrhizal colonization of the soybean plants, either treated or not with endosulphan + tebuconazole. Glyphosate and the mixture fomesafen + fluazifop- ρ -butyl did not affect nodule dry matter in the treatments without endosulphan + tebuconazole application. Leaf nitrogen concentrations were negatively affected by fomesafen + fluazifop- ρ -butyl and glyphosate in sequential application in the treatments without endosulphan + tebuconazole. These treatments did not affect nodule numbers and dry matter. Zinc and iron concentrations were not influenced by the

pesticides. Copper and manganese concentrations were decreased after the sequential application of glyphosate associated with endosulphan + tebuconazole. The total germination percentages were not influenced by the herbicides, either associated or not with endosulphan + tebuconazole. The electrical conductivity and the germination percentages obtained by the soilless cold test were not affected by the weed plant control methods in the absence of endosulphan + tebuconazole. However, in the presence of endosulphan + tebuconazole, decreases in these variables were observed for seeds of plants treated with fomesafen + fluazifop-p-butyl. The mixture endosulphan + tebuconazole promoted a positive effect on seed vigor measured by the accelerated aging test. Among the methods for the control of weed plants, without endosulphan + tebuconazole application, the highest 100-seed weight was observed for the treatment corresponding to glyphosate in sequential application. In the presence of endosulphan + tebuconazole, no differences among the herbicides tested were observed for this variable. It is concluded that, under the conditions of the reported experiment, the use of glyphosate, associated with endosulphan + tebuconazole application, reduced leaf concentrations of copper and manganese in soybean. Also, no negative effects of this product on the soil microbial biomass, CO₂ evolution, metabolic quotient, phosphate solubilization potential, mycorrhizal colonization, nodule numbers, nodule dry matter, seed germination, and seed vigor were observed.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O uso de organismos geneticamente modificados constitui importante ferramenta no manejo integrado de pragas, doenças e plantas daninhas. A transgenia consiste na inserção, de um ou mais genes por técnicas de engenharia genética no genoma de um organismo receptor. Este pode ser ou não da mesma espécie do indivíduo doador. Em geral, os indivíduos doadores da maioria dos genes transferidos para plantas até o momento são bactérias ou vírus, em função de seus genomas menores, os quais facilitam o isolamento dos genes de interesse (Monquero, 2005).

Um dos grandes sucessos dessa tecnologia foi a criação das culturas agrícolas transgênicas resistentes aos herbicidas. Estas foram desenvolvidas com o objetivo principal de simplificar e otimizar o manejo das plantas daninhas nas áreas cultivadas. Segundo a Agbios (2009), dentre as 14 culturas resistentes aos herbicidas no mundo, nove são resistentes ao glyphosate, sendo essas: alfalfa (*Medicago sativa*), algodão (*Gossypium hirsutum*), beterraba (*Beta vulgaris*), canola argentina (*Brassica napus*), canola polonesa (*Brassica rapa*), “creeping bentgrass” (*Agrostis stolonifera*), milho (*Zea mays*), soja (*Glycine max*) e trigo (*Triticum aestivum*).

A tecnologia dos transgênicos foi difundida de forma acelerada pelo mundo, a considerar que a área plantada com culturas transgênicas avançou de 1,7 para 143,7 milhões de hectares após 10 anos da liberação para a comercialização de grãos e sementes de plantas transgênicas – 1996 a 2006 (James, 2007). Em ordem decrescente de área plantada, os 22 países que plantam culturas transgênicas são: EUA, Argentina, Brasil, Canadá, Índia, China, Paraguai, África do Sul, Uruguai, Filipinas, Austrália, Romênia, México, Espanha, Colômbia, França, Irã, Honduras, República Tcheca, Portugal, Alemanha e Eslováquia (James, 2007).

Dentre as culturas transgênicas resistente ao glyphosate a soja ocupa a maior área cultivada no mundo, com aproximadamente 81,9 milhões de hectares. Essa área corresponde a 57% da área com culturas geneticamente modificadas no planeta. No Brasil, 14,5 milhões de hectares foram cultivados com a soja transgênica em 2006 (James, 2007).

As cultivares de soja transgênica resistente ao glyphosate foram obtidas pela inserção de genes oriundos de duas bactérias do solo. Primeiramente, pela inserção do gene *aroA* (*epsps*) de *Agrobacterium tumefaciens* CP4, que expressa a enzima EPSPs insensível ao herbicida em plantas modificadas (Monquero, 2005). O glyphosate inibe a

enzima EPSPs (5-enol piruvil 3-xiquimato fosfato sintase), responsável pela metabolização dos aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano (Silva et al., 2007). Posteriormente, pela modificação das plantas com o gene *gat4601* de *Bacillus licheniformis*, envolvendo a expressão de proteínas GAT4601, que são responsáveis pela degradação do glyphosate a compostos não tóxicos (Agbios, 2009). Essas cultivares são também denominadas de soja RR (Roundup Ready[®]) no mercado.

Os proponentes e detentores da tecnologia dos transgênicos proclamam a redução substancial no uso de agrotóxicos, diminuindo os impactos negativos da agricultura no ambiente. Embora não tenha reduzido a utilização desses produtos, a substituição do uso de herbicidas de alta toxicidade pelos de baixa toxicidade para animais tornou-se uma realidade, principalmente, pelo uso do glyphosate (Heimlich et al., 2000; Benbrook, 2004, Trigo & Cap, 2006; Bonny, 2007). O uso do glyphosate tem aumentado consideravelmente após liberação da soja RR. Por exemplo, nos EUA houve acréscimo de 19 vezes no consumo de glyphosate desde o ano de 1996 (Bonny, 2007).

O aumento do uso do glyphosate deve-se a sua ação não-seletiva, baixo custo, excelente controle de plantas daninhas em estágio mais avançado, nenhum efeito residual no solo sobre plantas, e ação pouco impactante ao ambiente (Bonny, 2007). Os sojicultores têm relatado a necessidade de até quatro aplicações desse produto numa mesma safra, a depender da comunidade, presença de espécies tolerantes ou resistentes, e da reinfestação das plantas daninhas presentes na área. Tal reinfestação é devido ao glyphosate não apresentar efeito residual no solo sobre plantas, em função de ser fortemente adsorvido aos sesquióxidos de Fe e Al do solo.

Apesar de o glyphosate ser considerado pouco tóxico, o uso intenso e contínuo desse herbicida em mesma área e safra de cultivo pode trazer consequências danosas ao ambiente, por seus efeitos diretos e indiretos sobre organismos não-alvos. Tal hipótese é justificada pelas informações contidas na bula da maioria das formulações comerciais de glyphosate (produto altamente perigoso ao meio ambiente e tóxico para microrganismos do solo). Além dos possíveis efeitos adversos do glyphosate aos microrganismos do solo, salienta-se que esse produto quando absorvido pelas plantas transgênicas pode também afetar os microrganismos endossimbiontes. (Reddy & Zablotowicz, 2003, Maly et al., 2006)

Os microrganismos do solo constituem componente fundamental dos agroecossistemas, pois influenciam diretamente a fertilidade e a produtividade vegetal por meio da ciclagem de nutrientes, supressão de fitopatógenos, produção de

fitormônios e, ainda, da capacidade de metabolização de agrotóxicos (Bottomley, 2005). Normalmente, pequenas alterações na qualidade do solo estão associadas com mudanças em suas propriedades microbianas, as quais apresentam alta sensibilidade a perturbações advindas do manejo (Pankhurst et al., 1997; Tótolá & Chaer, 2002).

Algumas características microbiológicas como a biomassa microbiana, a evolução de CO₂ e o quociente metabólico do solo (Tótolá & Chaer, 2002); o potencial de solubilização microbiana de fosfato inorgânico (Das, 2003) e a interação planta-microrganismos endossimbiontes (Reddy & Zablotowicz, 2003) têm sido propostos para a avaliação das possíveis consequências negativas originadas pelo uso inadequado de agrotóxicos. A biomassa microbiana do solo é considerada a parte viva da matéria orgânica do solo e inclui bactérias, actinomicetos, fungos, protozoários e algas. Essa biomassa está diretamente envolvida na degradação da matéria orgânica, na transformação e disponibilidade dos nutrientes e na degradação de agrotóxicos no solo (Angers et al., 1993; Moormam, 1994). Em geral, as estimativas de biomassa são mais abrangentes, pois levam em consideração as populações microbianas cultiváveis e não-cultiváveis (Lin & Brookes, 1999). A evolução de CO₂ do solo consiste na medida da produção de CO₂ resultante da atividade metabólica dos macro e microrganismos (Doran & Parkin, 1994). No entanto, essas duas características utilizadas de forma isolada não permitem inferências adequadas sobre os distúrbios provocados no solo. Todavia, a relação entre eles denominada de quociente metabólico (qCO₂), tem sido mais indicado para avaliar o efeito das condições de estresse sobre a atividade da biomassa microbiana do solo (Anderson & Domsch, 1993).

O quociente metabólico consiste na taxa de evolução de CO₂ por unidade de biomassa microbiana do solo. Os maiores valores desse quociente sugerem condições de estresse aos microrganismos, ou seja, condições de desequilíbrio do solo em relação a um referencial, por exemplo, solo de mata nativa. Ao passo que os menores valores indicam maior eficiência da biomassa microbiana na utilização dos recursos do ecossistema, ou seja, menos carbono é perdido como CO₂ e maior proporção de carbono é incorporada nas células microbianas (Sakamoto & Obo, 1994).

As atividades dos microrganismos estão envolvidas no ciclo biogeoquímico e, segundo Das (2003) e Tótolá & Chaer (2002), elucidam melhor as mudanças do funcionamento do ecossistema solo, pois influenciam diretamente a disponibilidade dos nutrientes principalmente o fósforo. Alguns microrganismos são capazes de disponibilizar fósforo precipitado do solo em decorrência da acidificação da rizosfera

pela liberação de ácidos orgânicos, sendo denominados de microrganismos solubilizadores de fosfato (Rodriguez & Fraga, 1999). Esses microrganismos são considerados indicadores microbiológicos associados ao ciclo do P no solo, pois sua população e a atividade estão intimamente relacionadas com o manejo e tipo do solo (Nahas et al., 1994b; Carneiro et al., 2004).

Os efeitos positivos da interação entre plantas cultivadas e microrganismos endossimbiontes, especialmente fungos micorrízicos arbusculares, são relatados por diversos autores (Miranda et al., 2005; Silva et al., 2006; Sala et al., 2007) e resulta em melhor nutrição pelo fornecimento de nutrientes às plantas, principalmente, o fósforo (Sylvia et al., 2005), ainda garantindo o suprimento desse nutriente às bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico, no caso da soja. Os microrganismos endossimbiontes – as bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico e fungos micorrízicos arbusculares, presentes nas raízes de soja transgênica podem ser afetados pelo glyphosate, pois, esse produto apresenta metabolização lenta pela planta, sendo cerca de 70% do produto absorvido é rapidamente translocados para os meristemas apicais, principalmente das raízes (Arregui et al., 2004; Neumann et al., 2006).

O glyphosate aplicado em suas diferentes formulações comerciais pode provocar sintomas de intoxicação em plantas de soja RR, apesar das cultivares de soja RR apresentarem baixa sensibilidade a esse produto em relação à soja convencional. Os sintomas de clorose e necrose foliares, deficiências de micronutrientes e redução de crescimento da soja têm sido observados após aplicação de glyphosate nas doses e formulações comerciais (Reddy et al., 2004; Foloni et al., 2005; Correia & Durigan, 2007; Agostinetto et al., 2009). Ainda, podem diminuir a absorção de nutrientes pela soja RR, em especial os micronutrientes catiônicos (Santos et al., 2007; Agostinetto et al., 2009), devido à complexação dos mesmos com o grupo fosfato presente na molécula de glyphosate tanto no solo quanto no interior das plantas. Segundo Neumann et al. (2006), as deficiências de micronutrientes, principalmente de ferro e de manganês, podem aumentar a sensibilidade das plantas às doenças.

Além dos possíveis efeitos adversos do glyphosate, os inseticidas e fungicidas utilizados respectivamente para o controle de pragas e doenças são potenciais impactantes do ambiente. Ressalta-se a possível ocorrência de interações sinérgicas ou antagônicas do glyphosate com inseticida e fungicida no solo ou na planta, o que pode maximizar os efeitos prejudiciais sobre a microbiota do solo, os microrganismos endossimbiontes e a nutrição mineral e qualidade das sementes da soja RR.

Com o intuito de avaliar, em condições de campo, os impactos da aplicação de glyphosate, endossulfan, tebuconazole e da mistura fomesafen + fluazifop- ρ -butil na microbiota do solo, nos microrganismos endossimbiontes, na nutrição mineral e na qualidade fisiológica da soja RR realizou-se este trabalho.

2. LITERATURA CITADA

AGBIOS: **GM Crop Database**. Agbios, Ontario, Canadá, 2009. Disponível em: <www.agbios.com/dabase.php>. Acesso em: 05/06/2009.

AGOSTINETTO, D. et al. Efeitos de formulações de glyphosate aplicadas em diferentes épocas sobre cultivares de soja transgênicas. **Planta Daninha**, 2009. *No prelo*.

ANDERSON, J.P.; DOMSCH, K.H. The metabolic quotient for CO₂ (qCO₂) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biol. Biochem.**, v. 25, n. 3, p. 393-395, 1993.

ANGERS, D.A. et al. Tillage-induced differences in organic matter of particle-size fractions and microbial biomass. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, v. 57, p. 512-516, 1993.

ARREGUI, M.C. et al. Monitoring glyphosate residues in transgenic glyphosate-resistant soybean. **Pest Manag. Sci.**, v. 60, n. 2, p. 163-166, 2004.

BENBROOK, C.M. Genetically engineered crops and pesticide use in the united states: the first nine. **Biotech Infonet Technical Paper**, n. 7, October, 2004, 53 p.

BONNY, S. Genetically modified glyphosate-tolerant soybean in the USA: adoption factors, impacts and prospects. A review. **Agron. Sustain. Dev.**, v. 28, n. 1, p. 1-12, 2007.

BOTTOMLEY, P. J. Microbial Ecology. In: SYLVIA, D.M. et al. (eds.) **Principles and applications of soil microbiology**. 2^a ed., New Jersey: Upper Saddle River, 2005. p. 463-488.

CARNEIRO, R. G. et al. Indicadores biológicos associados ao ciclo do fósforo em solos de Cerrado sob plantio direto e plantio convencional. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 39, n. 7, p. 661-669, 2004.

CORREIA, N. M.; DURIGAN, J.C. Seletividade de diferentes herbicidas à base de glyphosate a soja RR. **Planta Daninha**, v. 25, n. 2, p. 375-379, 2007.

DAS, A. C.; DEBNATH, A.; MUKHERJEE, D. Effect of the herbicides oxadiazon and oxyfluorfen on phosphates solubilizing microorganisms and their persistence in rice fields. **Chemosphere**, v. 53, p. 217-221, 2003.

DORAN, J.W.; PARKIN, T.B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J. M. et al. (eds.) **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p.3-21. Special Publication, 35.

FOLONI, L.L. Aplicação de glifosato em pós-emergência, em soja transgênica cultivada no cerrado. **Revista Brasileira de Herbicidas**, n. 3, p. 47-58, 2005.

HEIMLICH, R.E. et al. Genetically engineered crops: has adoption reduced pesticide use? **Economic Research Service/USDA**, 2000. Disponível em: <<http://www.ers.usda.gov/epubs/pdf/aer786>>. Acesso em: 25/ 10/2008.

JAMES, C. **Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2007**. ISAAA: Ithaca, NY., n. 37, 2007, 16 p.

LIN, Q.; BROOKES, P.C. Comparison of substrate induced respiration, selective inhibition and biovolume of microbial biomass and its community structure in unamended, ryegrass-amended, fumigated and pesticide-treated soils. **Soil Biol. Biochem.**, v. 31, p. 1999-2114, 1999.

MALTY, J.D.S. et al. Efeitos do glifosato sobre microrganismos simbiotróficos de soja, em meio de cultura e casa de vegetação. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 41, n. 2, p. 285-291, 2006.

MIRANDA, J.C.C. et al. Dinâmica e contribuição da micorriza arbuscular em sistemas MONQUERO, P.A. plantas transgênicas resistentes aos herbicidas: situação e perspectivas, **Bragantia**, v.64, n.4, p.517-531, 2005.

MOORMAN, T.B. Pesticide degradation by soil microorganisms: environmental, ecological and management effects. In: HATFIELD, J.L & STEWART, B.A. (eds.) **Effects on soil quality**. Boca Raton, CRC, 1994. p.121-169.

NAHAS, E.; CENTURION, J.F.; ASSIS, L.C. Microrganismos solubilizadores de fosfato e produtores de fosfatases de vários solos. **R. Bras. Ci. Solo**, v.18, p. 43-48, 1994.

NEUMANN, G. et al. Relevance of glyphosate transfer to non-target plants via the rhizosphere. **J. Plant Dis. Protect**, v. 20, n. especial, p. 963-969, 2006.

PANKHURST, C. E.; DOUBE, B. M.; GUPTA, V. V. S. R. (Eds) **Biological indicators of soil health**. Boca Raton: CRC Press, 1997. 268p.

REDDY, K.N.; ZABLOTOWICZ, R.M. Glyphosate-resistant soybean response to various salts of glyphosate and glyphosate accumulation in soybean nodules. **Weed Sci.**, v. 51, n. 4, p. 496-502, 2003.

RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnol. Adv.**, v. 17, p. 319–339, 1999.

SAKAMOTO, K.; OBO, Y. Effects of fungal to bacterial ratio on the relationship between CO₂ evolution and total soil microbial biomass. **Biol. Fert. Soils**, v. 17, p. 39-44, 1994.

SALA, V.M.R. et al. Interação entre fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas em trigo. **Pesq. agropec. bras.**, v. 42, n.11, p. 1593-1600, 2007.

SANTOS, J.B., et al. Efeito de formulações na absorção e translocação do glyphosate em soja transgênica. **Planta Daninha**, v. 25, n. 2, p. 381-388, 2007.

SILVA, A.A. et al. Herbicidas: classificação e mecanismo de ação. In: SILVA, A. A.; SILVA, J.F. (eds.). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2007. 367 p.

SILVA, A.A. et al. Efeitos de mistura de herbicida com inseticida sobre a cultura do milho, as plantas daninhas e a lagarta-do-cartucho. **Planta Daninha**, v. 23, n. 3, p. 571-575, 2005.

SILVA, A.C. et al. Micorrização e épocas de dessecação da *Brachiaria brizantha* sobre o desenvolvimento da soja. **Planta Daninha**, v. 24, p. 221-228, 2006.

SYLVIA, D.M. et al. **Principles and applications of soil microbiology**. 2 ed, New Jersey, 2005. 645 p.

TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: VENEGAS V., H. A. et al. (eds.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002. v. 2. p. 195-276.

TRIGO. E.J.; CAP, E.J. Ten years of genetically modified crops in argentine agriculture. **Executive Summary**. December 2006. 52 p.

3. IMPACTO DO GLYPHOSATE ASSOCIADO A INSETICIDA E FUNGICIDA SOBRE MICRORGANISMOS ENDOSSIMBIONTES DA SOJA

3.1. RESUMO

Objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito do glyphosate, em aplicação sequencial, e da sua interação com endossulfan + tebuconazole na colonização micorrízica, nodulação e nos teores de fósforo e nitrogênio foliar em plantas de soja. O experimento foi conduzido a campo em Argissolo Vermelho-Amarelo câmbico, no ano agrícola de 2007/08. Foram avaliados dez tratamentos em esquema de parcelas subdivididas, no delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições. Nas parcelas, avaliou-se o efeito da aplicação ou não da mistura de inseticida (endossulfan) + fungicida (tebuconazole) e, nas subparcelas, o efeito dos métodos de controle de plantas daninhas (testemunha não capinada; testemunha capinada; aplicação única de glyphosate; aplicação sequencial de glyphosate e aplicação única de fomesafen + fluazifop- ρ -butil). A matéria seca de nódulos (MSN) e da parte aérea (MSPA), o número de nódulos (NN), a colonização micorrízica e os teores de N e P foliar foram avaliados quando as plantas de soja atingiram o estágio R₂. O glyphosate e fomesafen + fluazifop- ρ -butil não reduziram a MSN de plantas de soja, exceto na presença de endossulfan + tebuconazol. O glyphosate em aplicação sequencial, na ausência de endossulfan + tebuconazole, reduziu o NN das plantas de soja em relação às plantas tratadas com inseticida + fungicida. A mistura fomesafen + fluazifop- ρ -butil e o glyphosate em aplicação sequencial afetaram negativamente os teores de N foliar em relação à testemunha capinada na ausência de endossulfan + tebuconazole, enquanto que na presença dessa mistura não se observou efeito. O glyphosate não afetou a colonização micorrízica em soja tratada ou não com a mistura endossulfan + tebuconazole. Já a mistura de fomesafen + fluazifop- ρ -butil estimulou a colonização micorrízica na ausência da mistura endossulfan + tebuconazole. O glyphosate, em aplicação sequencial, não afetou a colonização micorrízica e a nodulação da soja.

Palavras-chave: fungos micorrízicos, bactérias fixadoras de N₂, Roundup Ready.

IMPACT OF GLYPHOSATE ASSOCIATED WITH INSECTICIDE AND FUNGICIDE APPLICATIONS ON THE ENDOSYMBIOTIC MICROORGANISMS OF SOYBEANS

3.2. ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effects of glyphosate, in sequential applications, and its interactions with endosulphan + tebuconazole, on the mycorrhizal colonization, nodulation, and leaf concentrations of P and N of soybean plants. The experiment was conducted in the field in a Yellow-Red Argisol in the 2007/2008 crop year. Ten treatments were installed in split plots following a randomized block design with four replications. Endosulphan + tebuconazole application was done in the main plots, while the different methods of weed control in the sub-plots (unhoed control; hoed control; single application of glyphosate; sequential application of glyphosate; single application of fomesafen + fluazifop- ρ -butyl). Shoot and nodule dry matter, nodule number, mycorrhizal colonization, and N and P concentrations were evaluated when the soybean plants reached the R2 stage. Glyphosate and fomesafen + fluazifop- ρ -butyl did not cause reductions in nodule dry matter, except in the presence of endosulphan + tebuconazole. Glyphosate in sequential applications, in the absence of endosulphan + tebuconazole, promoted decreases in nodule number. Fomesafen + fluazifop- ρ -butyl and glyphosate in sequential applications negatively affected N concentrations in the leaves compared to the hoed control, in the absence of endosulphan + tebuconazole. Glyphosate did not affect the mycorrhizal colonization regardless of the application of endosulphan + tebuconazole. However, fomesafen + fluazifop- ρ -butyl led to increases in the mycorrhizal colonization in the absence of endosulphan + tebuconazole. Glyphosate applied sequentially on soybean plants, under the conditions studied, did not affect the mycorrhizal colonization and nodulation.

Keywords: mycorrhizal fungi, N₂ fixing bacteria, Roundup Ready.

3.3. INTRODUÇÃO

O manejo de plantas daninhas na cultura da soja exige bom nível de conhecimento dos técnicos e produtores, em função de estas espécies distribuírem-se de maneira heterogênea na área. Na atualidade, há também o problema de muitas espécies de plantas daninhas serem tolerantes ou resistentes a alguns herbicidas (Silva et al., 2007). Apenas para o controle de plantas daninhas em soja convencional, há 168 herbicidas disponíveis de diferentes marcas comerciais e mecanismos de ação (MAPA, 2008). No entanto, com o objetivo de simplificar o manejo de plantas daninhas e minimizar o impacto ambiental da aplicação de agrotóxicos, desenvolveram-se cultivares resistentes a herbicidas, principalmente ao glyphosate. Esse herbicida, inibidor da enzima EPSPs (5-enol piruvil 3-xiquimato fosfato sintase), é não seletivo, relativamente barato, com amplo espectro de ação e eficiente no controle das mesmas em estádios mais avançados, não apresenta efeito residual no solo sobre plantas e baixa toxicidade a mamíferos. Dentre 14 culturas resistentes a herbicidas, nove são resistentes ao glyphosate (AGBIOS, 2009).

Em cultivares de soja transgênica resistente ao glyphosate, dois mecanismos de resistência são relatados: primeiro – expressão da enzima EPSPs insensível ao herbicida, codificada pelo gene *aroA* (*epsps*) de *Agrobacterium tumefaciens* CP4 (Monquero, 2005), e segundo – envolve a expressão, em plantas transformadas com o gene *gat4061* de *Bacillus licheniformis*, de proteínas GAT4601, responsáveis pela degradação do glyphosate a compostos não-tóxicos (AGBIOS, 2009).

A soja transgênica resistente ao glyphosate é a cultura que ocupa a maior área plantada no mundo, com aproximadamente 81,9 milhões de hectares. Essa área corresponde a 57% da área cultivada com culturas geneticamente modificadas no planeta. Dentre os 22 países que cultivam lavouras transgênicas, o Brasil apresenta a terceira maior área plantada, com 14,5 milhões de hectares cultivados com a soja transgênica e 120 mil hectares com algodão Bt, resistente a insetos (James, 2007).

Os proponentes e detentores da tecnologia dos transgênicos proclamam a redução substancial no uso de agrotóxicos, diminuindo os impactos destes produtos no ambiente. Embora não tenha reduzido a utilização desses produtos, a substituição do uso de herbicidas de alta toxicidade pelos de baixa toxicidade para animais tornou-se uma realidade, principalmente, pelo uso do glyphosate (Heimlich et al., 2000; Benbrook, 2004, Trigo & Cap, 2006; Bonny, 2007). Apesar de o glyphosate ser

considerado pouco tóxico, o uso intenso e contínuo desse herbicida em mesma área e safra de cultivo, pode trazer consequências danosas e irreversíveis ao ambiente, por seus efeitos diretos e indiretos sobre organismos não-alvos. Tal hipótese é justificada considerando-se que na bula da maioria das formulações comerciais de glyphosate há informações de que o produto é perigoso ao ambiente e altamente tóxico para microrganismos do solo. Muitos microrganismos apresentam a enzima EPSPs, responsável pela metabolização dos aminoácidos aromáticos, fenilalanina, tirosina e triptofano (Sylvia et al., 2005, Moreira & Siqueira, 2006).

O glyphosate, em teoria, não afeta a atividade microbiana do solo, devido à sua rápida inativação pela ligação do grupo fosfato presente em sua molécula aos sesquióxidos de ferro e alumínio presentes no solo. Todavia, ao ser aplicado em planta transgênica, o glyphosate pode interferir na atividade dos microrganismos endossimbiontes – a exemplo dos fungos micorrízicos arbusculares e bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico presentes nas raízes de leguminosas (Sylvia et al., 2005; Santos et al., 2007). A metabolização deste composto é lenta, sendo que cerca de 70% do produto é absorvido e rapidamente translocado para os meristemas apicais, principalmente das raízes (Arregui et al., 2004; Neumann et al., 2006).

Os efeitos positivos da interação entre plantas cultivadas e microrganismos, especialmente fungos micorrízicos arbusculares, são relatados por diversos autores (Barea & Azcón-Aguilar, 1983; Pacovsky et al., 1986; Silva et al., 2006) e resulta em melhor nutrição pelo fornecimento de nutrientes às plantas, principalmente, o fósforo (Bethlenfalvay & Yoder, 1981), ainda garantindo o suprimento desse nutriente às bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico, no caso da soja. Vários trabalhos confirmam a interferência negativa do glyphosate sobre microrganismos fixadores de nitrogênio em plantas de soja (Santos et al., 2005; Zablotowicz & Reddy, 2007; Dvoranen et al.; 2008, Zilli et al., 2008). Os efeitos do glyphosate sobre fungos micorrízicos arbusculares na soja são pouco esclarecidos, haja vista a escassez de informação, com poucos trabalhos abordando o assunto (Morandi, 1989; Mujica et al., 1999; Maly et al., 2006). Acrescenta-se que inseticidas e fungicidas podem atingir e afetar a atividade desses microrganismos endossimbiontes, em virtude da maioria das formulações serem sistêmicas, da possível interação com herbicidas e da ação específica dos fungicidas sobre fungos do solo.

Considerando o exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito do glyphosate, em aplicação sequencial, bem como sua interação com inseticida +

fungicida na colonização micorrízica, nodulação e nos teores de fósforo e nitrogênio foliar em soja transgênica BRS Favorita.

3.4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido a campo na estação experimental da Universidade Federal de Viçosa, Coimbra, MG (S 20° 45' 20" e W 42° 52' 40"; altitude de 700 m), entre os meses de dezembro e abril no ano agrícola 2007/08, em Argissolo Vermelho-Amarelo, caracterizado física e quimicamente (Tabela 1).

Aos 15 dias antes da semeadura da soja, realizou-se a dessecação química da área com glyphosate + 2,4-D (1.440 + 470 g ha⁻¹) em mistura no tanque. A semeadura direta da soja BRS Favorita RR (Roundup Ready[®]) foi realizada na primeira quinzena do mês de dezembro. As sementes foram tratadas com carbendazin + tiram (0,30 + 0,70 g kg⁻¹ de sementes) e inoculadas com estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 587 e SEMIA 5019 (4,2 x 10⁹ células viáveis kg⁻¹ de sementes). Posteriormente ao plantio, demarcaram-se 40 parcelas (10 x 10 m). Utilizou-se o esquema de parcelas subdivididas, no delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições. Nas parcelas, avaliou-se o efeito da aplicação ou não da mistura de inseticida + fungicida e, nas subparcelas, o efeito dos métodos de controle de plantas daninhas. As aplicações do inseticida endossulfan (525 g ha⁻¹) e do fungicida tebuconazole (150 g ha⁻¹), em mistura no tanque, foram realizadas aos 45 dias após emergência (DAE) das plântulas de soja. Os métodos de controle de plantas daninhas foram: 1– testemunha não capinada; 2– testemunha capinada; 3– aplicação única de glyphosate (1.080 g ha⁻¹) aos 15 DAE; 4– aplicação sequencial de glyphosate (1.080 g ha⁻¹) aos 15, 30 e 45 DAE; 5– aplicação de fomesafen + fluazifop- ρ -butil (180 + 225 g ha⁻¹) aos 15 DAE. Os dados diários de precipitação pluviométrica, umidade relativa e temperatura média do ar foram coletados em estação meteorológica localizada próxima à área de plantio durante todo o período de condução do experimento (Figura 1).

As coletas de raízes para avaliações de colonização micorrízica, matéria seca de nódulos e da parte aérea das plantas de soja, número de nódulos e de folhas para os teores de N e P foliar foram realizadas quando as plantas atingiram o estágio R₂ (50% do florescimento pleno).

Para avaliação da colonização por fungos micorrízicos arbusculares em soja, o sistema radicular, cerca de um grama de raízes finas de oito plantas de soja por

subparcela, foi armazenado em solução FAA (formaldeído: ácido acético: etanol). Posteriormente, procedeu-se a descoloração das raízes com KOH e coloração do material fúngico com azul de tripano, de acordo com a técnica descrita por Koske & Gemma (1989). A taxa de colonização micorrízica foi estimada pelo método de interseção em placa quadriculada de Giovannetti & Mosse (1980).

A nodulação foi avaliada pela contagem e secagem dos nódulos do sistema radicular de oitos plantas de soja por subparcela. Após contagem, os nódulos foram submetidos à secagem, em estufa de circulação de ar forçada a 60 °C por 72 h, e posteriormente pesados.

Para determinação dos nutrientes foliares da soja, fósforo e nitrogênio, foram coletados os terceiros trifólios, a partir do ápice, de oito plantas por subparcela. Após secagem dos tecidos vegetais, em estufa de circulação de ar forçada a 65 °C, até atingirem peso constante, estas foram moídas em moinho de lâminas. Em seguida, as amostras foram submetidas à digestão nitro-perclórica para determinação das concentrações de fósforo, pelo método da vitamina C modificado (Braga & De Fellipo, 1974), e à digestão sulfúrica para determinação do teor de nitrogênio total pelo método Kjeldahl.

Avaliações da matéria seca da parte aérea da soja no estágio R₂ foram realizadas por meio de amostragens de oito plantas por subparcela. Essas foram secadas, em estufa de circulação de ar forçada a 65 °C, até atingirem pesos constantes e, posteriormente, pesadas. Também foi determinada a produtividade de grãos da soja (13% de umidade), na época da colheita, por amostragens de 10 m² por subparcela.

Os dados foram submetidos à análise de variância ($P < 0,05$). Para comparação das médias dos tratamentos, utilizou-se o teste de Tukey ($P < 0,05$).

3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para todas as variáveis estudadas, com exceção do número de nódulos totais, observou-se interação entre os fatores testados. Embora não se encontre relatos na literatura dessa interação sobre associações micorrízicas e bactérias fixadoras de nitrogênio, salienta-se que o efeito de determinado herbicida sobre os endossimbiontes pode ser modificado pela combinação com outros agrotóxicos, a exemplo de inseticidas e fungicidas. Tal fato na maioria dos trabalhos é negligenciado, ou pela falta de informação sobre a aplicação de inseticidas e, ou fungicidas para o controle de pragas e

doenças, respectivamente, ou pelo não estudo da interação entre herbicidas e inseticidas + fungicidas.

A matéria seca de nódulos (MSN) foi afetada negativamente pelos agrotóxicos estudados (Tabela 2). O glyphosate e a mistura fomesafen + fluazifop- ρ -butil não afetaram a MSN de plantas de soja na ausência da mistura endossulfan + tebuconazole (Tabela 2). Isso pode demonstrar que os herbicidas, na ausência de inseticida e fungicida, não interferiram na nodulação da soja. Bellaloui et al. (2008), ao avaliarem a influência do glyphosate em aplicação sequencial (1.120 e 3.360 g ha⁻¹, aos 28 e 42 dias após plantio, respectivamente) no metabolismo do N em plantas de soja, não constataram efeitos adversos do glyphosate na MSN dos nódulos. Também, Dvoranen et al. (2008) constataram que o glyphosate em aplicação única ou sequencial (0.540 e 0.360 kg ha⁻¹, aos 12 e 24 dias após plantio, respectivamente) não reduziu a MSN em plantas de soja BRS 254 RR cultivadas em casa de vegetação.

Por outro lado, verificou-se efeito negativo da aplicação única de fomesafen + fluazifop- ρ -butil sobre a MSN de plantas de soja em relação à testemunha capinada na presença de endossulfan + tebuconazole (Tabela 2). Segundo Dvoranen et al. (2008), a mistura fomesafen + fluazifop- ρ -butil, em aplicação sequencial, não afetou a MSN da soja e foi considerada seletiva para nodulação de plantas de soja. Ressalta-se que os autores não informaram da aplicação de agrotóxicos para controle de pragas e doenças.

O glyphosate em aplicação sequencial, na ausência de endossulfan + tebuconazole, reduziu o número de nódulos (NN) das plantas de soja em relação as plantas tratadas com endossulfan + tebuconazole (Tabela 2). Vários autores relataram o efeito adverso do glyphosate no número de nódulos de plantas de soja (Reddy et al., 2000; Reddy & Zablotowicz, 2003; Zablotowicz & Reddy, 2007; Dvoranen et al., 2008). Todavia, na presença de endossulfan + tebuconazole, não foi constatado efeito negativo do glyphosate sobre o NN. O efeito protetor dessa mistura, isto é, a não redução do NN pelo glyphosate em aplicação sequencial na presença de endossulfan + tebuconazole, pode ser sugerido pela redução na população de outros microrganismos do solo, desse modo diminui-se a competição e favorecendo a maior colonização das raízes de soja pelas bactérias fixadoras de N (Moreira & Siqueira, 2006).

A mistura fomesafen + fluazifop- ρ -butil e o glyphosate em aplicação sequencial afetaram negativamente os teores de N foliar em relação à testemunha capinada na ausência de endossulfan + tebuconazole, apesar de ambos os herbicidas não terem afetado a MSN e o NN das plantas de soja (Tabela 2). A redução do teor de N em

plantas de soja tratadas com glyphosate por ocasião do florescimento foi relatada por Santos et al. (2007) ao investigarem os efeitos de três formulações comerciais de glyphosate – Roundup Ready, Roundup Transorb e Zapp QI, na nutrição mineral da soja CD 219RR cultivada em casa de vegetação. Esses mesmos autores descreveram que todas as formulações testadas reduziram os teores de N foliar na soja, sendo a maior redução de N foliar evidenciada em plantas tratadas com formulação Roundup Ready, entretanto, não foi observada a redução do número de nódulos totais.

Por outro lado, não se observou o efeito de herbicidas no teor de N foliar na presença de endossulfan + tebuconazole (Tabela 2). Verificou-se ainda que nas parcelas não tratadas com endossulfan + tebuconazole ocorreu redução nos teores de N foliar, com exceção observada para a testemunha capinada e a aplicação única de fomesafen + fluazifop- ρ -butil (Tabela 2). Nessas parcelas constatou-se incidência do fungo *Phakopsora pachyrhizi* (ferrugem asiática da soja) quando as plantas encontravam-se no estágio reprodutivo inicial, conseqüentemente pode ter acarretado menor acúmulo de N pelas plantas de soja.

O glyphosate, em aplicação única ou sequencial, não afetou a colonização micorrízica em soja tratada ou não com a mistura endossulfan + tebuconazole (Tabela 3). Os efeitos do glyphosate nas associações micorrízicas em soja são pouco elucidados (Morandi, 1989; Mujica et al., 1999; Maltby et al., 2006). Baseados nesses relatos, de maneira geral, o glyphosate pouco afeta os fungos micorrízicos e suas associações, porém, em todos os trabalhos mencionados houve apenas uma aplicação do produto e foram conduzidos ou *in vitro* ou em casa de vegetação com aplicação única do produto.

Já a mistura de fomesafen + fluazifop- ρ -butil estimulou a colonização micorrízica na ausência da mistura endossulfan + tebuconazole. Porém, esse estímulo não foi verificado em soja tratada com endossulfan + tebuconazole (Tabela 3). Contrariamente, Santos et al. (2006) relataram que a mistura fomesafen + fluazifop- ρ -butil reduziu a colonização micorrízica em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) cultivadas no sistema convencional, embora tal efeito fosse transiente, apenas até 12 dias após a aplicação da mesma. Todavia, esses mesmos autores não verificaram tal efeito quando o feijão foi cultivado no sistema de plantio direto. Em trabalho realizado por Vieira et al. (2007) foi observada redução drástica, mais de 50%, na colonização micorrízica em plantas de soja IAC-22 até aos 75 dias após aplicação do herbicida sulfentrazone.

Ressalta-se que a mistura endossulfan + tebuconazole favoreceu a colonização micorrízica em plantas de soja, sendo tal constatação mais evidente nas testemunhas capinada e não capinada (Tabela 3). Uma hipótese pode estar relacionada ao fato de que, ao atingir o solo, essa mistura pode desequilibrar a população de alguns microartrópodes, a exemplo de colêmbolos, e microrganismos do solo predadores de hifas fúngicas, desse modo os fungos micorrízicos terão maiores chances de colonizar as raízes das plantas de soja (Moreira & Siqueira, 2006).

Maiores teores de P foliar foram observados em plantas de soja tratadas com glyphosate em aplicação sequencial e a mistura fomesafen + fluazifop- ρ -butil em associação com endossulfan + tebuconazole (Tabela 3). No entanto, em plantas não tratadas com endossulfan + tebuconazole, verificou-se que apenas o glyphosate, em aplicação única ou sequencial, favoreceu maior acúmulo de P (Tabela 3). Santos et al. (2007) não observaram alterações no teor de P foliar em plantas de soja tratadas com as formulações comerciais de glyphosate – Roundup Ready, Roundup Transorb e Zapp QI. Nesse trabalho, a relação positiva entre micorrização e acúmulo de P pelas plantas não foi observada.

Todos os herbicidas avaliados reduziram a matéria seca da parte aérea da soja (Tabela 4). Sendo o glyphosate em aplicação única ou sequencial foi o que mais afetou negativamente na ausência de endossulfan + tebuconazole, concordando com as reduções dos teores de N foliar (Tabela 3). Todavia, os microrganismos endossimbiontes e a produtividade da soja não foram afetadas nessas parcelas (Tabelas 3 e 4). Nas parcelas não tratadas com a mistura de endossulfan + tebuconazole foram verificadas as menores produtividades (Tabela 4), haja vista a alta incidência de ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) da soja.

Embora não tenham sido constatados relatos na literatura sobre a interação entre herbicidas e inseticidas + fungicidas sobre microrganismos endossimbiontes, ressalta-se que os efeitos dos herbicidas avaliados podem ser modificados na presença de endossulfan + tebuconazole. O uso do glyphosate, mesmo aplicado mais de uma vez numa mesma área durante a safra da soja, não interferiu na atividade dos microrganismos endossimbiontes associados à cultivar BRS Favorita RR. Entretanto, seu uso continuado em outras cultivares de soja transgênica precisa ser mais investigado, para melhor entendimento de sua interferência na interação soja-microrganismos.

3.6. LITERATURA CITADA

- AGBIOS: **GM Crop Database**. Agbios, Ontario, Canadá, 2009. Disponível em: <www.agbios.com/dbase.php>. Acesso em: 05/06/2009.
- ARREGUI, M.C. et al. Monitoring glyphosate residues in transgenic glyphosate-resistant soybean. **Pest Manag. Sci.**, v. 60, n. 2, p. 163-166, 2004.
- BAREA, J.M.; AZCÓN-AGUILAR, C. Mycorrhiza and their significance in nodulating nitrogen fixing plants. **Adv. Agron.**, v.36, n.1, p.1-54. 1983.
- BELLALLOUI, N. et al. Nitrogen metabolism and seed composition as influenced by glyphosate application in glyphosate-resistant soybean. **J. Agr. Food Chem.**, v. 56, n. 8, p. 2765-2772, 2008.
- BENBROOK, C.M. Genetically engineered crops and pesticide use in the united states: the first nine. **Biotech Infonet Technical Paper**, n. 7, October, 2004, 53 p.
- BETHLENFALVAY, G.J.; YODER, J.F. The *Glycine* – *Glomus* – *Rhizobium* symbioses. I. Phosphorus effects on nitrogen fixation and mycorrhizal infection. **Physiol. Plant.**, v.52, n.2, p.141-145, 1981.
- BONNY, S. Genetically modified glyphosate-tolerant soybean in the USA: adoption factors, impacts and prospects. A review. **Agron. Sustain. Dev.**, v. 28, n. 1, p. 1-12, 2007.
- BRAGA, J.M.; DE FELLIPO, B.V. Determinação espectrofotométrica de fósforo em extratos de solos e plantas. **Revista Ceres**, v.21, n.113, p.73-85, 1974.
- DVORANEN, E.C. et al. GR *Glycine max* nodulation and growth under glyphosate, fluazifop-p-butyl and fomesafen application. **Planta Daninha**, v. 26, n. 3, p. 619-625, 2008.
- FERREIRA, E.A. et al. Glyphosate no controle de biótipos de azevém e impacto na microbiota do solo. **Planta Daninha**, v. 24, n. 3, p. 573-578, 2006.
- GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytol.**, v. 84, p. 489-490, 1980.
- HEIMLICH, R.E. et al. Genetically engineered crops: has adoption reduced pesticide use? **Economic Research Service/USDA**, 2000. Disponível em: <<http://www.ers.usda.gov/epubs/pdf/aer786>>. Acesso em: 25/ 10/2008.
- JAMES, C. **Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2007**. ISAAA: Ithaca, NY., n. 37, 2007, 16 p.
- KOSKE, R.; GEMMA, J.N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. **Mycol. Res.**, 92: 486 - 505, 1989.
- MALTY, J.D.S. et al. Efeitos do glifosato sobre microrganismos simbiotróficos de soja, em meio de cultura e casa de vegetação. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 41, n. 2, p. 285-291, 2006.
- MAPA - Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. **Sistema AGROFIT**. Disponível em: < http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 25/ 11/2008.
- MONQUERO, P.A. plantas transgênicas resistentes aos herbicidas: situação e perspectivas, **Bragantia**, v.64, n.4, p.517-531, 2005.

- MORANDI, D. Effect of xenobiotics on endomycorrhizal infection and isoflavonoid accumulation in soybean roots. **Plant Physiol. Bioch.**, v.27, p.697-701, 1989.
- MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e Bioquímica do solo**, Lavras, UFLA, 2006, 729p.
- MUJICA, M. et al. Influence of the herbicides chlorsulfuron and glyphosate on mycorrhizal soybean intercropped with the weeds *Brassica campestris* or *Sorghum halepensis*. **Symbiosis**, v. 27, n. 1, p. 73-81, 1999.
- NEUMANN, G. et al. Relevance of glyphosate transfer to non-target plants via the rhizosphere. **J. Plant Dis. Protect**, v. 20, n. especial, p. 963-969, 2006.
- PACOVSKY, R.S.; PAUL, E.A.; BETHLENFALVAY, G.J. Response of mycorrhizal and P fertilized soybeans to nodulation by *Bradyrhizobium* or ammonium nitrate. **Crop Sci.**, v.26, n.1, p.145-150, 1986
- REDDY, K.N.; ZABLOTOWICZ, R.M. Glyphosate-resistant soybean response to various salts of glyphosate and glyphosate accumulation in soybean nodules. **Weed Sci.**, v. 51, n. 4, p. 496-502, 2003.
- REDDY, K.N. et al. Effect of glyphosate on growth, chlorophyll, and nodulation in glyphosate-resistant and susceptible soybean (*Glycine max*). **J. New Seeds**, v. 2 n. 3, p. 37-52, 2000.
- SANTOS, J.B. et al. Avaliação de formulações de glyphosate sobre soja Roundup Ready. **Planta Daninha**, v. 25, n. p. 165-171, 2007.
- SANTOS, J.B. et al. Tolerance of *Bradyrhizobium* strains to glyphosate formulations. **Crop Prot.**, v. 24, n. 6, p. 543-547, 2005.
- SILVA, A.A. et al. Métodos de controle de plantas daninhas. In: SILVA, A.A.; SILVA, J.F. (eds.). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2007. 367 p.
- SILVA, A.C. et al. Micorrização e épocas de dessecação da *Brachiaria brizantha* sobre o desenvolvimento da soja. **Planta Daninha**, v.24, p.221-228, 2006.
- SYLVIA, D.M.; FURRMANN, J.J.; HARTEL, P.G.; ZUBERER, D.A. **Principles and applications of soil microbiology**. 2 Edition, New Jersey, 2005. 645 p.
- TRIGO. E.J.; CAP, E.J. Ten years of genetically modified crops in argentine agriculture. **Executive Summary**. December 2006. 52 p.
- VIEIRA, R.F. et al. Soil microbial biomass C and symbiotic processes associated with soybean after sulfentrazone herbicide application. **Plant Soil**, v. 300, n. 1, p. 95-103, 2007.
- ZABLOTOWICZ, R.M.; REDDY, K.N. Nitrogenase activity, nitrogen content, and yield responses to glyphosate in glyphosate-resistant soybean. **Crop Prot.**, v. 26, n. 3, p. 370-376, 2007.
- ZILLI, J.E. et al. Efeito de glyphosate e imazaquin na comunidade bacteriana do rizoplano de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) e em características microbiológicas do solo. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 32, n.2, p. 633-642, 2008.

3.7. FIGURAS E TABELAS

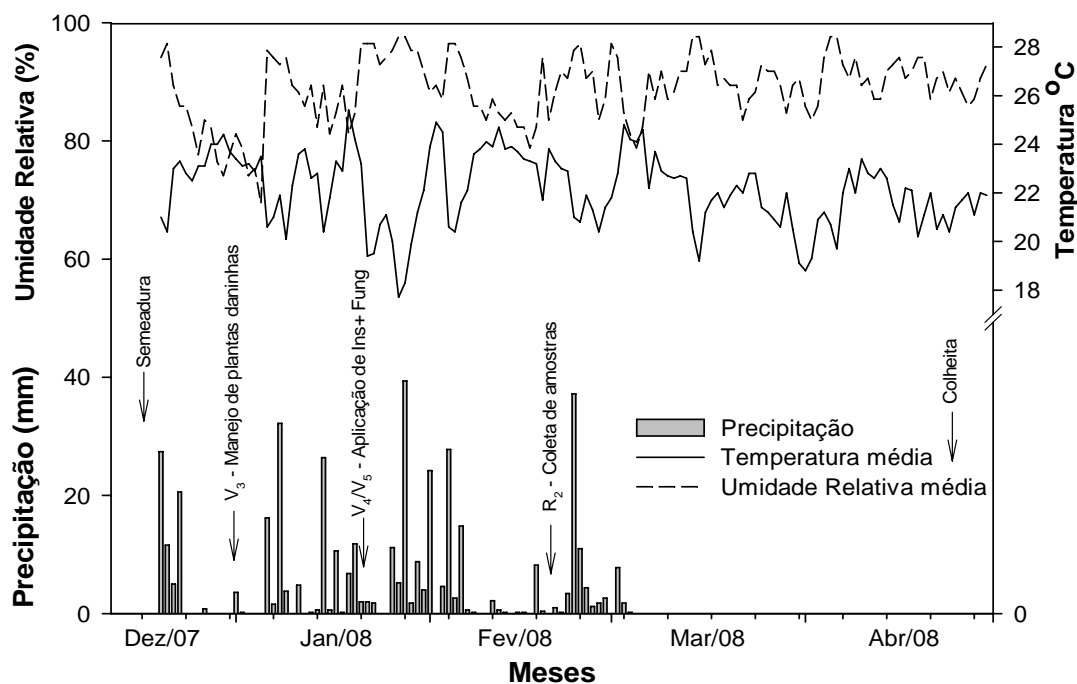


Figura 1 – Precipitação pluviométrica, umidade relativa do ar e temperatura média diária do ar durante o período de 12 de dezembro de 2007 a 20 de abril de 2008. Coimbra, MG, 2007/08. * As datas aproximadas de semeadura, manejo de plantas daninhas, aplicações de inseticidas e fungicidas e colheita estão assinaladas no período com o respectivo estágio fenológico da soja.

Tabela 1 – Principais características físicas e químicas do Argissolo Vermelho Amarelo cultivado com soja Roundup Ready® no período compreendido entre dezembro/2007 e abril/2008. Coimbra, MG, 2007/08

Análise granulométrica (dag kg ⁻¹)										
Argila	Silte	Areia fina	Areia grossa	Classificação textural						
51	13	16	20	Argiloso						
Análise Química										
pH	P	K ⁺	H + Al	Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	CTC _{total}	v	m	MO
	mg dm ⁻³		cmol _c dm ⁻³					%		dag kg ⁻¹
5,40	10,4	138	5,78	0	2,40	0,80	9,33	38	0	1,70

Tabela 2 – Matéria seca de nódulos (MSN), número de nódulos (NN) e teor de nitrogênio foliar (N) em soja BRS Favorita RR submetida a diferentes métodos de controle de plantas daninhas com ou sem aplicação de endossulfan + tebuconazole. Coimbra-MG, 2007/08

Método de controle de plantas daninhas	MSN (g/planta) *		NN (NN/planta) *		N (g kg ⁻¹) *	
	sem E+T**	com E+T	sem E+T	com E+T	sem E+T	com E+T
Testemunha não capinada	0,068 bA ¹	0,124 bA	11,42 aA	21,91 aA	4,75 abB	5,23 aA
Testemunha capinada	0,084 bA	0,172 aA	10,65 aA	22,04 aA	5,31 aA	5,02 aA
Aplicação única de glyphosate	0,131 aA	0,165 aA	17,32 aA	23,13 aA	4,86 abB	5,40 aA
Aplicação sequencial de glyphosate	0,134 aA	0,143 abA	18,77 ab	37,98 aA	4,54 bB	5,16 aA
Aplicação única de fomesafen + fluazifop- ρ -butil	0,154 aA	0,128 bA	20,92 aA	33,48 aA	4,69 bA	4,94 aA
C.V. parcela (%)	41,21		30,53		5,20	
C.V. subparcela (%)	16,15		18,66		4,70	

* Plantas de soja coletadas no estágio R₂, ou seja, 50% do florescimento pleno. ** E + T = Endossulfan + tebuconazole, respectivamente. ¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, e maiúscula, na linha, não diferem entre si, para cada variável, pelo teste Tukey (P > 0,05).

Tabela 3 – Colonização micorrízica e teor de P foliar em soja BRS Favorita RR submetida a diferentes métodos de controle de plantas daninhas com ou sem aplicação de endossulfan + tebuconazole. Coimbra-MG, 2007/08

Método de controle de plantas daninhas	Micorrização (%)*		P foliar (g kg ⁻¹)*	
	sem E+T**	com E+T	sem E+T	com E+T
Testemunha não capinada	56,66 abB ¹	85,00 aA	3,92 aA	3,56 bA
Testemunha capinada	49,66 bB	76,00 aA	3,37 cA	3,69 bA
Aplicação única de glyphosate	58,33 abB	76,66 aA	3,95 aA	3,70 bA
Aplicação sequencial de glyphosate	48,33 bB	83,33 aA	3,73 abA	4,08 aA
Aplicação única de fomesafen + fluazifop- ρ -butil	68,33 aB	83,00 aA	3,40 bcB	3,88 abA
C.V. parcela (%)	14,01		8,71	
C.V. subparcela (%)	10,08		3,70	

* Plantas de soja coletadas no estágio R₂, ou seja, 50% do florescimento pleno. ** E + T = Endossulfan + tebuconazole, respectivamente. ¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, e maiúscula, na linha, não diferem entre si, para cada variável, pelo teste Tukey (P > 0,05).

Tabela 4 – Matéria seca da parte aérea (MSPA) e produtividade da soja BRS Favorita RR submetida a diferentes métodos de controle de plantas daninhas com ou sem aplicação de endossulfan + tebuconazole. Coimbra-MG, 2007/08

Método de controle de plantas daninhas	MSPA (g/planta)*		Produtividade (kg ha ⁻¹)	
	sem E+T**	com E+T	sem E+T	com E+T
Testemunha não capinada	13,26 dA	15,83 cA	1943,11 bA	2366,21 cA
Testemunha capinada	25,83 aA	26,46 aA	2929,80 aB	4140,86 abA
Aplicação única de glyphosate	18,60 cB	22,10 bA	2391,08 abB	3669,20 bA
Aplicação sequencial de glyphosate	19,53 bcA	18,43 cA	2743,91 abB	4762,97 aA
Aplicação única de fomesafen + fluazifop- <i>p</i> -butil	22,80 abA	19,23 bcB	2964,30 aB	4604,56 aA
C.V. parcela (%)	11,07		22,39	
C.V. subparcela (%)	6,73		11,25	

* Plantas de soja coletadas no estágio R₂, ou seja, 50% do florescimento pleno. ** E + T = Endossulfan + tebuconazole, respectivamente. ¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, e maiúscula, na linha, não diferem entre si, para cada variável, pelo teste Tukey (P > 0,05).

4. IMPACTO DO GLYPHOSATE ASSOCIADO A INSETICIDA E FUNGICIDA NA ATIVIDADE MICROBIANA E NO POTENCIAL DE SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO EM SOLO CULTIVADO COM SOJA ROUNDUP READY®

4.1. RESUMO

Objetivou-se com este trabalho avaliar a atividade microbiana e o potencial de solubilização de fosfato inorgânico em solos cultivados com soja sob diferentes manejos fitossanitários. O experimento foi conduzido a campo em Argissolo Vermelho-Amarelo câmbico, no ano agrícola de 2007/08. Foram avaliados dez tratamentos em esquema de parcelas subdivididas, no delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições. Nas parcelas, avaliou-se o efeito da aplicação ou não da mistura de inseticida (endossulfan) + fungicida (tebuconazole) e, nas subparcelas, o efeito dos métodos de controle de plantas daninhas (testemunha não capinada; testemunha capinada; aplicação única de glyphosate; aplicação sequencial de glyphosate e aplicação única de fomesafen + fluazifop-p-butil). Amostras de solo da entrelinha da cultura foram coletadas quando as plantas atingiram o estágio R₂ (50% do florescimento pleno) para avaliação da taxa respiratória, biomassa microbiana, quociente metabólico, potencial de solubilização de fosfato inorgânico e potencial hidrogeniônico do solo. Para a taxa respiratória do solo, não se observaram alterações com a utilização dos diferentes manejos fitossanitários. Os herbicidas avaliados interferiram em características como o CBM e qCO₂, variáveis diretamente relacionadas à qualidade do solo. O glyphosate aplicado em dose única ou sequencial associado ou não com endossulfan + tebuconazole apresentou os menores valores de qCO₂ e os maiores de CBM, indicando condições de menor desequilíbrio da microbiota do solo. Maiores atividades de solubilização de fosfato foram observadas nos tratamentos com aplicação única ou sequencial de glyphosate em combinação com endossulfan + tebuconazole. A aplicação dos agrotóxicos na parte aérea das plantas de soja interfere na atividade dos microrganismos associados à rizosfera.

Palavras-chave: biomassa microbiana, soja transgênica, quociente metabólico.

IMPACT OF GLYPHOSATE ASSOCIATED WITH INSECTICIDE AND FUNGICIDE APPLICATION ON THE MICROBIAL ACTIVITY AND PHOSPHATE SOLUBILIZATION POTENTIAL OF A SOIL CULTIVATED WITH ROUNDUP READY® SOYBEAN

4.2. ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the microbial activity and phosphate solubilization potential of a soil cultivated with soybean under different phytosanitary management strategies. The experiment was conducted in the field in a Cambic red-yellow Argisol. Ten treatments were arranged in split-plot scheme in the randomized block design with four replications. The effect of fungicide + herbicide application (endosulphan + tebuconazole) was evaluated in the plots, while weed control management was studied in the subplots (hoed or unhoed control; single-dose or sequential glyphosate application; single-dose fomesafen + fluazifop- ρ -butil application). Soils samples from the inter-row were collected when plants reached the R₂ stage and used to measure soil respiratory rate, microbial biomass carbon (MBC), metabolic quotient ($q\text{CO}_2$), phosphate solubilization potential, and pH. The phytosanitary management strategies evaluated did not affect soil respiratory rates. The herbicides tested influenced soil MBC and $q\text{CO}_2$, variables directly related to soil quality. Glyphosate applied in a single dose or sequentially, either in combination with endosulphan + tebuconazole or not, led to lower $q\text{CO}_2$ values (0.075-0.079 mg μg^{-1} d⁻¹) and higher MBC (239.64 – 312.82 $\mu\text{g g}^{-1}$), indicating less disturbance of the soil. Higher phosphate solubilizing activity, 425 and 472 mg L⁻¹, were observed for the treatments with single-dose or sequential application of glyphosate, respectively, in the absence of endossulfan + tebuconazole. Agrochemical application on soybean shoots affects the activity of soil microorganisms in the plant rhizosphere.

Keywords: Microbial biomass, transgenic soybean, metabolic quotient

4.3. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior consumidor de agrotóxicos do mundo já superando os EUA; sendo comercializado cerca de sete bilhões de dólares no país na safra de 2008 (ANDEF, 2009). Dentre esses agrotóxicos o maior volume comercializado se refere a herbicidas. Com a adoção do cultivo de soja transgênica resistente ao glyphosate no Brasil tem levado ao consumo intensivo desse herbicida para o controle de plantas daninhas, em vista da concomitante adoção do plantio direto em detrimento do convencional, das alterações na comunidade de plantas daninhas com o estabelecimento de espécies tolerantes ou resistentes e das estratégias de mercado (Bonny et al., 2007). Todavia, o aumento do consumo de herbicidas pode levar a maiores impactos ambientais negativos, principalmente àqueles relacionados ao solo, considerando-se que cerca de 60-70% do herbicida aplicado em pós-emergência podem atingir direta ou indiretamente esse ambiente (Law et al., 2001). A aplicação de herbicidas pode alterar a atividade microbiana do solo, a depender do herbicida aplicado, do tipo de solo, da espécie da planta e da microbiota e suas interações (Santos et al., 2005; Reis et al., 2008).

A atividade microbiana, medida pela evolução de CO₂ do solo, tem sido utilizada como estimador da atividade fisiológica da microbiota do solo e consequências das práticas agrícolas sobre ecossistemas (Tótola & Chaer, 2002). A biomassa microbiana é responsável por funções essenciais ao solo, a exemplo da decomposição de matéria orgânica, da ciclagem de nutrientes minerais, da promoção de crescimento de plantas, do controle biológico e da degradação de compostos no solo. Ela tem sido proposta como parâmetro sensível aos distúrbios provocados nesse ambiente, principalmente em relação àqueles resultantes da aplicação de substâncias xenobióticas (Wardle, 1994; Sylvia et al., 2005). Para melhor interpretação da qualidade do solo, utiliza-se frequentemente o quociente metabólico (qCO₂), que representa a relação entre a evolução de CO₂ e o carbono da biomassa microbiana do solo (Anderson & Domsch, 1985). Esse quociente é considerado um indicador da qualidade do solo e parte do pressuposto que, à medida que a biomassa microbiana se torna eficiente em utilizar os recursos, menor quantidade de carbono é perdida como CO₂ pela respiração. O carbono é imobilizado nas células microbianas, desse modo, menor qCO₂ representa biomassa microbiana em condição de equilíbrio, ou seja, ambiente com menor grau de distúrbio.

O glyphosate, em teoria, não afeta a atividade microbiana do solo, devido à sua inativação no solo pela ligação do grupo fosfato presente na molécula, aos sesquióxidos de ferro e alumínio (Lancaster et al., 2008; Pereira et al. 2008). A taxa respiratória nem sempre é sensível aos distúrbios do solo por ser atividade redundante nesse ambiente, sendo realizada por diferentes microrganismos. Já a biomassa microbiana, pode sofrer parcialmente a inibição por alguns agrotóxicos aplicados. No entanto, microrganismos tolerantes sobressaem-se em detrimento dos sensíveis, não havendo alteração na biomassa microbiana total.

A análise minuciosa dos efeitos do glyphosate no solo requer estudos quantitativos e qualitativos da microbiota ali presente, a exemplo das avaliações de atividades específicas desempenhadas por determinados grupos microbianos ou funcionais. Tótola & Chaer (2002) e Das et al. (2003) enfatizaram que as atividades dos microrganismos envolvidas nos ciclos biogeoquímicos são consideradas bons indicadores de qualidade do solo, visto que influenciam diretamente na disponibilidade dos nutrientes e auxiliam na elucidação das mudanças de funcionamento do ecossistema solo.

Dentre os grupos funcionais existentes, o grupo dos microrganismos solubilizadores de fosfato inorgânico (MSFI) é bem adequado como indicador da qualidade do solo, principalmente em solos tropicais. Apesar de presente em grande quantidade no solo, o nutriente fósforo (P) é encontrado em baixíssimas concentrações na solução do solo, a saber 0,1 a 1,0 mg L⁻¹ de H₂PO₄⁻ (Novais et al., 2007). Grande parte do P indisponível encontra-se precipitado com cálcio (P-Ca) em solos menos ácidos, ferro (P-Fe) e alumínio (P-Al) em solos mais ácidos. Para disponibilização do P precipitado, as plantas e os MSFI acidificam naturalmente o solo rizosférico por meio da liberação de prótons e ácidos orgânicos (Rodríguez & Fraga, 1999; Novais et al., 2007). Os MSFI são responsáveis pela liberação de ácidos orgânicos, como o glucônico, cítrico, glutâmico, oxálico, láctico, fumárico, tartárico e succínico, os quais atuam como doadores de prótons e agentes quelantes dos íons Ca, Al e Fe, favorecendo a solubilização do fosfato inorgânico do solo (Rodríguez & Fraga, 1999). Os MSFI constituem cerca de 5 a 10% da microbiota total dos solos e são encontrados na maioria destes. A diversidade e as populações dos MSFI são consideravelmente superiores em solos circunvizinhos às raízes das plantas, ou seja, nos solos rizosféricos (Nahas et al., 1994; Nautiyal, 1999). Também, os MSFI apresentam a capacidade de promover o crescimento de plantas pela exsudação de fitormônios, vitaminas e antibióticos. Além

disso, a população e a atividade dos MSFI estão relacionadas com o manejo e tipo do solo, sendo considerados indicadores microbiológicos associados ao ciclo do P no solo (Kucey, 1983; Nahas et al., 1994; Carneiro et al., 2004). Pode ainda contribuir para a adoção de práticas agrícolas menos impactantes negativamente ao ambiente. No entanto, no Brasil há poucos estudos que evidenciam possíveis impactos da aplicação de herbicidas sobre os MSFI do solo (Massenssini et al. 2008; Reis et al., 2008).

Diante do exposto, objetivou-se com o trabalho avaliar a respiração e a biomassa microbiana, o quociente metabólico do solo rizosférico e o potencial de solubilização de fosfato em solos cultivados com soja tratadas com herbicidas aplicados isoladamente ou em conjunto com inseticidas e fungicidas.

4.4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido a campo na estação experimental da Universidade Federal de Viçosa, Coimbra-MG (S 20° 45' 20" e W 42° 52' 40"; altitude de 700 m), entre os meses de dezembro e abril no ano agrícola 2007/08, em Argissolo Vermelho-Amarelo câmbico, caracterizado química e fisicamente (Tabela 1).

Aos 15 dias antes da semeadura da soja, realizou-se a dessecação química da área com glyphosate + 2,4-D (1.440 + 470 g ha⁻¹) em mistura no tanque. A semeadura direta da soja BRS Favorita RR (Roundup Ready[®]) foi realizada na primeira quinzena do mês de dezembro. As sementes foram tratadas com carbendazin + tiram (0,30 + 0,70 g kg⁻¹ de sementes) e inoculadas com estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 587 e SEMIA 5019 (4,2x10⁹ células viáveis kg⁻¹ de sementes). Posteriormente ao plantio, demarcaram-se 40 parcelas (10x10 m). Utilizou-se o esquema de parcelas subdivididas, no delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições. Nas parcelas, avaliou-se o efeito da aplicação ou não da mistura de inseticida + fungicida e, nas subparcelas, o efeito dos métodos de controle de plantas daninhas. As aplicações do inseticida endossulfan (525 g ha⁻¹) e do fungicida tebuconazole (150 g ha⁻¹), em mistura no tanque, foram realizadas aos 45 e 90 dias após emergência (DAE) das plântulas de soja. Os métodos de controle de plantas daninhas foram: 1– testemunha não capinada; 2– testemunha capinada; 3– aplicação única de glyphosate (1.080 g ha⁻¹) aos 15 DAE; 4– aplicação sequencial de glyphosate (1.080 g ha⁻¹) aos 15, 30 e 45 DAE; 5– aplicação de fomesafen + fluazifop-*p*-butil (180 + 225 g ha⁻¹) aos 15 DAE. Os dados diários de precipitação pluviométrica, umidade relativa e temperatura média do ar foram coletados

em estação meteorológica localizada próxima à área de plantio durante todo o período de condução do experimento (Figura 1).

Amostras de solo da entrelinha e do solo rizosférico da cultura foram coletadas quando as plantas atingiram o estágio R₂ (50% do florescimento pleno) para avaliação da taxa respiratória, biomassa microbiana, quociente metabólico, potencial de solubilização de fosfato inorgânico e potencial hidrogeniônico do solo.

Para avaliação da taxa respiratória, utilizou o método respirométrico para determinação do C-CO₂ evoluído do solo, segundo metodologia descrita por Vivian et al. (2006).

Para determinação do carbono da biomassa microbiana (CBM), pesaram-se duas subamostras de 20 g de solo em cada frasco usado na avaliação da taxa respiratória após período de incubação. Utilizou-se o método descrito por Vance et al. (1987), modificado por Islam & Weil (1998) para estimar a biomassa microbiana, sendo as amostras tratadas com radiação de microondas por 60 + 60 segundos.

A partir dos valores obtidos para as taxas respiratórias e CBM do solo, calculou-se qCO₂, dividindo-se a média diária do C-CO₂ evoluído do solo pelo CBM determinado no solo (Anderson & Domsch, 1985).

Para estimativa do potencial de solubilização de fosfato inorgânico em meio líquido, transferiu-se 1 g de solo rizoférico das amostras de cada repetição (oito plantas/subparcela) para tubo de ensaio com meio líquido NBRI, pH 6,8-7,0, contendo (g L⁻¹): glicose, 10; Ca₃(PO₄)₂, 5; MgCl₂.6H₂O, 0,5; MgSO₄.7H₂O, 0,25; KCl, 0,2; e (NH₄)₂SO₄, 0,1 (Nautyal, 1999). Após incubação por 15 dias a 27 °C, a fase líquida foi submetida à centrifugação a 8.000 rpm por 20 min. No sobrenadante, determinou-se a quantidade de P inorgânico pelo método colorimétrico da vitamina C modificado, no comprimento de onda de 725 nm (Braga & De Fellipo, 1974).

O pH do solo foi estimado a partir da solução solo: água (1:2,5) agitada por 30' e permanecida em repouso por mais 30 minutos (Embrapa, 1997). Os dados foram submetidos à análise de variância (P < 0,05). Para comparação das médias dos tratamentos, utilizou-se o teste de Tukey (P < 0,05).

4.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os fatores avaliados não afetaram a taxa respiratória do solo (Tabela 2). Pereira et al. (2008) avaliando os efeitos do glyphosate sobre a microbiota do solo cultivado

com soja transgênica não detectaram diferença na taxa respiratória. No entanto, esses autores constataram que esse produto aplicado em associação com endossulfan propiciou maior evolução de CO₂ em relação à aplicação de glyphosate isoladamente. Por outro lado, em alguns trabalhos, o glyphosate isolado induziu maiores taxas respiratórias iniciais em relação ao controle sem aplicação de herbicida, indicando a possível metabolização do glyphosate pela biota do solo (Costa et al., 1997; Moreno et al., 2007).

Para o carbono da biomassa microbiana (CBM), nos métodos de controle de plantas daninhas sem a aplicação de endossulfan + tebuconazole, não se observou diferença entre os métodos de controle de plantas daninhas (Tabela 3). No entanto, para os tratamentos com aplicação de endossulfan + tebuconazole, as parcelas tratadas com fomesafen + fluazifop- ρ -butil e a testemunha sem capina apresentaram os menores valores de CBM em relação à testemunha capinada e à aplicação única ou sequencial de glyphosate (Tabela 3). A mistura fomesafen + fluazifop- ρ -butil parece ser mais danosa à população de microrganismos do solo, pois, quando aplicada em conjunto com endossulfan + tebuconazole, a redução do CBM de 65,05% em relação a testemunha capinada. Isso pode ser devido ao possível efeito sinérgico entre ambas as misturas, desse modo potencializando o efeito negativo desses compostos sobre os microrganismos do solo. Santos et al. (2005) avaliaram o efeito dos herbicidas fluazifop- ρ -butil e fomesafen, isolados e em mistura, nos atributos biológicos de qualidade do solo cultivado com feijão (*Phaseolus vulgaris*) em sistema de cultivo convencional e plantio direto. Em ambos os cultivos constataram-se maiores reduções na biomassa microbiana do solo tratado com a mistura de fluazifop- ρ -butil e fomesafen. Também, Pereira et al. (2008) demonstraram que o endossulfan causou redução de 48,64% no CBM de solo cultivado com soja em relação ao controle sem aplicação de agrotóxicos. No entanto, não se encontrou trabalhos na literatura avaliando os efeitos das duas misturas aplicadas simultaneamente. Ao avaliar o efeito da aplicação de endossulfan + tebuconazole, não se observaram diferenças entre os manejos de plantas daninhas (Tabela 3).

Com relação aos valores do quociente metabólico (qCO₂), estimados no estágio R₂ da soja, observou-se que, na ausência de endossulfan + tebuconazole, os solos tratados com glyphosate em aplicação única ou sequencial, fomesafen + fluazifop e testemunha capinada não apresentaram diferenças, sendo que os mesmos apresentaram valores inferiores à testemunha não capinada (Tabela 4). Este fato pode ser devido à

incorporação de matéria orgânica (plantas daninhas) no solo quando a capina é realizada, pois o material orgânico depositado no solo servirá como fonte de carbono e energia para os microrganismos, tendendo a uma condição de equilíbrio.

Todavia, o glyphosate dose única e sequencial aplicado juntamente com endossulfan + tebuconazole apresentaram os menores valores de qCO_2 diferindo-se dos demais métodos de controle de plantas daninhas, com destaque para a área tratada com fomesafen + fluazifop- ρ -butil e para a testemunha sem capina. Ao comparar os níveis do fator endossulfan + tebuconazole não se verificaram diferenças nos valores de qCO_2 entre ambos (Tabela 4).

Para o P solubilizado, constataram-se diferenças entre os métodos de controle de plantas daninhas nas áreas onde foram executados sem a aplicação de endossulfan + tebuconazole (Tabela 5). O glyphosate em aplicação única e sequencial promoveu maior solubilização de fosfato, embora Massenssini et al. (2008) relataram que o glyphosate nas formulações comerciais – Roundup NA e Transorb, Scout, Zapp QI, foi prejudicial à atividade de bactérias solubilizadoras de fosfato isoladas da rizosfera de eucalipto. No entanto, tal estudo foi conduzido *in vitro*, isolando dessa forma a interação planta-microrganismo-solo. Essa maior promoção de solubilização de fosfato pode estar associada à maior exsudação radicular das plantas de soja tratadas com glyphosate, havendo maior incremento de C e energia na rizosfera com o conseqüente favorecimento da atividade microbiana. Segundo Kremer et al. (2005), a aplicação de glyphosate em plantas de soja promove aumento na quantidade e alterações na composição do material exsudado, o que pode aumentar a biomassa microbiana associadas a essas plantas. Maior incremento no CBM foi observado com a aplicação do glyphosate (Tabela 3), portanto há maior evolução de CO_2 que, ao ser liberado na solução do solo, reage com H_2O formando o ácido carbônico (H_2CO_3). Dessa forma ocorre a acidificação da solução do solo (Tabela 5) e, conseqüentemente, promoção da solubilização de fosfatos. Na presença da mistura endossulfan + tebuconazole, o glyphosate em aplicação única e sequencial e a testemunha capinada propiciaram os maiores valores de solubilização de fosfato, diferenciando-se da testemunha sem capina (Tabela 5).

O menor valor de solubilização de fosfato foi observado na parcela não capinada (Tabela 5). A mistura fomesafen + fluazifop- ρ -butil apresentou os menores valores de pH independentemente da presença ou não de endossulfan + tebuconazole (Tabela 5), não sendo verificada maior solubilização de P. Esse fato pode ser atribuído à redução

drástica da biomassa microbiana, sendo observado decréscimo de 65,05 e 37,18% no CBM nas parcelas tratadas com essa mistura associada ou não com endossulfan + tebuconazole, respectivamente (Tabela 3). Ao comparar os métodos de controle de plantas daninhas com aplicação ou não de endossulfan + tebuconazole, observou-se que houve maior solubilização de fosfato nas parcelas onde o glyphosate foi aplicado em dose única e seqüencial sem aplicação de endossulfan + tebuconazole (Tabela 5).

Em trabalho realizado por Reis et al., (2008) constatou-se que atividade dos microrganismos solubilizadores de fosfato não foi influenciada negativamente pelo 2,4-D, ametryn, trifloxysulfuron-sodium e ametryn + trifloxysulfuron-sodium, sendo ainda estimulada na presença de trifloxysulfuron-sodium e 2,4-D. Comportamento semelhante foi verificado para os herbicidas oxadiazon e oxyfluorfen, butachlor e basalin em trabalhos realizados respectivamente por Debnath et al. (2002) e Das et al. (2003).

O pH do solo não se diferiu nas amostras de solos tratados somente com herbicidas, com exceção das amostras que receberam fomesafen + fluazifop- ρ -butil (Tabela 5). No entanto, quando na presença de endossulfan + tebuconazole não foi observada diferença entre os métodos de controle de plantas daninhas em relação à testemunha não capinada (Tabela 5). Taiwo & Oso (1997) verificaram que em solos tratados com atrazine houve redução de quase uma unidade de pH no solo e, conseqüentemente, acréscimo de quase 5 mg kg⁻¹ de Pi na solução do solo.

Com base nos resultados, pode-se concluir que os métodos de controle de plantas daninhas em soja interferiram nas características CBM e qCO₂, variáveis diretamente relacionadas à qualidade do solo, associados ou não à aplicação de endossulfan + tebuconazole. O glyphosate em aplicação única ou sequencial associado à mistura endossulfan + tebuconazole promoveu os menores valores de qCO₂, indicando condições de menor desequilíbrio no solo. A aplicação de endossulfan + tebuconazole nas parcelas tratadas com glyphosate em aplicação única ou sequencial influenciou negativamente a atividade dos microrganismos solubilizadores de fosfato.

4.6. LITERATURA CITADA

- ANDEF – Agência nacional de defesa vegetal. **Brasil supera EUA no consumo de agrotóxicos**. Disponível em: < <http://www.andef.com.br/informativo/andef201200910512.htm>>. Acesso em: 22/ 01/2009.
- ANDERSON, J.P.; DOMSCH, K.H. The metabolic quotient for CO₂ (qCO₂) as a specific activity parameter to asses the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biol. Biochem.**, v. 25, n. 3, p. 393-395, 1993.
- BRAGA, J.M.; DEFELIPO, B.V. Determinação espectrofotométrica de fósforo em extratos de solos e plantas. **Revista Ceres**, v. 21, n. 113, p. 73-85, 1974.
- CARNEIRO, R.G. et al. Indicadores biológicos associados ao ciclo do fósforo em solos de Cerrado sob plantio direto e plantio convencional. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 39, n. 7, p. 661-669, 2004.
- COSTA, M.A.; MONTEIRO, R.T.R.; TORNISIELO, V.L. Influência da adição de palha de cana-de-açúcar na degradação de ¹⁴C-ametrina em solo areia quartzosa. **Sci. Agric.**, v. 54, n. 3, 1997.
- DAS, A.C.; DEBNATH, A.; MUKHERJEE, D. Effect of the herbicides oxadiazon and oxyfluorfen on phosphates solubilizing microorganisms and their persistence in rice fields. **Chemosphere**, v. 53, p. 217-221, 2003.
- DEBNATH, A.; DAS, A.C.; MUKHERJEE, D. Persistence and effect of butachlor and basalin on the activities of phosphate solubilizing microorganisms in wetland rice soil. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 68, n. 5, p. 766-770, 2002.
- ISLAM, K.R.; WEIL, R.R. Microwave irradiation of soil four routine measurement of microbial biomass carbon. **Biol. Fert. Soils**, v. 27, n. 4, p. 408-416, 1998.
- KUCEY, R.M.N. Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. **Can. J. Soil. Sci.**, v.63, n. 4, p. 671-678, 1983.
- MASSESSINI, A.M. et al. Atividade de isolados bacterianos solubilizadores de fosfato na presença de formulações comerciais de Glyphosate. **Planta Daninha**, v. 26, n. p. 815-823, 2008.
- MORENO, J.L. et al. Effects of atrazine on microbial activity in semiarid soil. **Appl. Soil Ecol.**, v. 35, n. 1, p. 120-127, 2007.
- NAHAS, E.; CENTURION, J.F.; ASSIS, L.C. Microrganismos solubilizadores de fosfato e produtores de fosfatases de vários solos. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 18, n. 1, p. 43-48, 1994.
- NAUTIYAL, C.S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiol. Letters**, v. 170, n. 1, p. 265-270, 1999.
- NOVAIS, R.F. et al. Fósforo em solo e planta em condições tropicais. In: NOVAIS, R.F et al (Eds) **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. 1017p.
- REIS, M.R. et al. Ação de herbicidas sobre microrganismos solubilizadores de fosfato inorgânico em solo rizosférico de cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v.26, n.2, p.333-341, 2008.

- RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnol. Adv.**, v. 17, n. 4-5, p. 319-339, 1999.
- 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.
- TAIWO, L.B.; OSO, B.A. The influence of some pesticides on soil microbial flora in relation to changes in nutrient level, rock phosphate solubilization and P release under laboratory conditions. **Agric. Ecosys. Environ.**, v. 65, n. 1, p. 59-68, 1997.
- TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: VENEGAS V., H. A. et al. (eds.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002. v. 2. p. 195-276.
- VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil. Biol. Biochem.**, v. 19, n. 6, p. 703-707, 1987.
- VIVIAN, R. et al. Persistência de sulfentrazone em Latossolo vermelho-amarelo cultivado com cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v. 24, n. 4, p. 741-750, 2006.
- WARDLE, D.A. Impact of disturbances on detritus food-webs in agro-ecosystems of contrasting tillage and weed management practices. **Adv. Ecol. Res.**, v. 26, p. 10-17, 1994.

4.7. FIGURAS E TABELAS

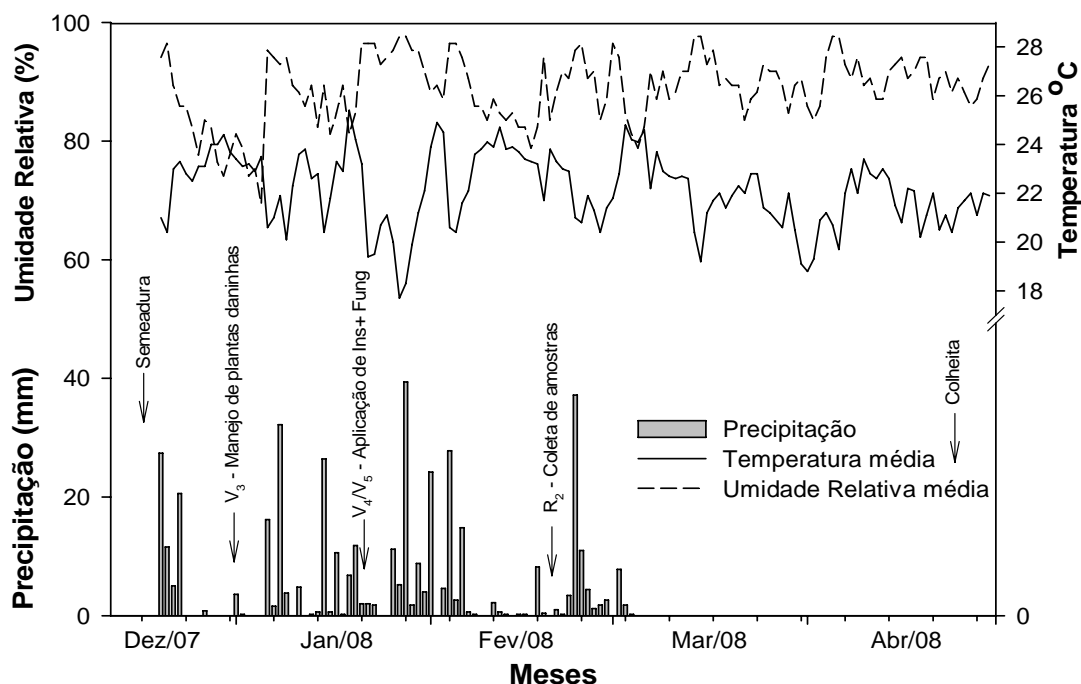


Figura 1 – Precipitação pluviométrica, umidade relativa do ar e temperatura média diária do ar durante o período de 12 de dezembro de 2007 a 20 de abril de 2008. Coimbra, MG, 2007/08. * As datas aproximadas de semeadura, manejo de plantas daninhas, aplicações de inseticidas e fungicidas e colheita estão assinaladas no período com o respectivo estágio fenológico da soja.

Tabela 1 – Principais características físicas e químicas do Argissolo Vermelho Amarelo câmbico cultivado com soja Roundup Ready® no período compreendido entre dezembro/2007 e abril/2008. Coimbra, MG, 2007/08

Análise granulométrica (dag kg ⁻¹)										
Argila	Silte	Areia fina	Areia grossa	Classificação textural						
51	13	16	20	Argiloso						
Análise Química										
pH	P	K ⁺	H + Al	Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	CTC _{total}	v	m	MO
H ₂ O	mg dm ⁻³		cmol _c dm ⁻³					%		dag kg ⁻¹
5,40	10,4	138	5,78	0	2,40	0,80	9,33	38	0	1,70

Tabela 2 – Taxa respiratória de solo cultivado com soja BRS Favorita RR submetida a diferentes métodos de controle de plantas daninhas com ou sem aplicação de endossulfan + tebuconazole. Coimbra-MG, 2007/08

Método de controle de plantas daninhas	Taxa respiratória (mg g ⁻¹ d ⁻¹)*	
	sem E+T**	com E+T
Testemunha não capinada	21,75 aA ¹	18,00 aA
Testemunha capinada	16,77 aA	16,77 aA
Aplicação única de glyphosate	17,51 aA	13,60 aA
Aplicação sequencial de glyphosate	19,25 aA	16,54 aA
Aplicação única de fomesafen + fluazifop-ρ-butil	15,88 aA	11,32 aA
C.V. parcela (%)		19,83
C.V. subparcela (%)		16,59

*= Solo coletado quando as plantas de soja atingiram o estágio R₂, ou seja, 50% do florescimento pleno.

** E + T = Endossulfan + tebuconazole. ¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, e maiúscula, na linha, não diferem entre si, para cada variável, pelo teste Tukey (P > 0,05).

Tabela 3 – Carbono da biomassa microbiana (CBM) de solo cultivado com soja BRS Favorita RR submetida a diferentes métodos de controle de plantas daninhas com ou sem aplicação de endossulfan + tebuconazole. Coimbra-MG, 2007/08

Método de controle de plantas daninhas	Biomassa microbiana (µg g ⁻¹ CBM)*	
	sem E+T**	com E+T
Testemunha não capinada	136,12 aA ¹	147,27 bA
Testemunha capinada	233,14 aA	237,74 abA
Aplicação única de glyphosate	229,30 aA	239,64 abA
Aplicação sequencial de glyphosate	250,16 aA	312,82 aA
Aplicação única de fomesafen + fluazifop-ρ-butil	148,81 aA	83,05 cA
C.V. parcela (%)		43,81
C.V. subparcela (%)		31,05

*= Solo coletado quando as plantas de soja atingiram o estágio R₂, ou seja, 50% do florescimento pleno.

** E + T = Endossulfan + tebuconazole. ¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, e maiúscula, na linha, não diferem entre si, para cada variável, pelo teste Tukey (P > 0,05).

Tabela 4 – Quociente metabólico (qCO_2) de solo cultivado com soja BRS Favorita RR submetida a diferentes métodos de controle de plantas daninhas com ou sem aplicação de endossulfan + tebuconazole. Coimbra-MG, 2007/08

Método de controle de plantas daninhas	$q CO_2$ (mg CO_2 μg $CBM^{-1} d^{-1}$)*	
	sem E+T**	com E+T
Testemunha não capinada	0,145 aA ¹	0,130 aA
Testemunha capinada	0,080 bA	0,071 bA
Aplicação única de glyphosate	0,075 bA	0,079 bA
Aplicação sequencial de glyphosate	0,078 bA	0,075 bA
Aplicação única de fomesafen + fluazifop- ρ -butil	0 113 abA	0,136 aA
C.V. parcela (%)	29,09	
C.V. subparcela (%)	11,99	

*= Solo coletado quando as plantas de soja atingiram o estágio R₂, ou seja, 50% do florescimento pleno.
 ** E + T = Endossulfan + tebuconazole. ¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, e maiúscula, na linha, não diferem entre si, para cada variável, pelo teste Tukey (P > 0,05).

Tabela 5 – Fósforo (P) solubilizado e potencial hidrogeniônico (pH) de solo cultivado com soja BRS Favorita RR submetida a diferentes métodos de controle de plantas daninhas com ou sem aplicação de endossulfan + tebuconazole. Coimbra-MG, 2007/08

Método de controle de plantas daninhas	P solubilizado (mg L ⁻¹)*		pH*	
	sem E+T**	com E+T	sem E+T	com E+T
Testemunha não capinada	74,50 cA ¹	111,50 bA	6,06 aA	5,58 abB
Testemunha capinada	126,00 cB	340,85 aA	5,92 abA	5,85 aA
Aplicação única de glyphosate	425,00 aA	318,16 aB	5,83 abA	5,70 abA
Aplicação sequencial de glyphosate	472,00 aA	373,50 aB	5,88 abA	5,47 bB
Aplicação única de fomesafen + fluazifop- ρ -butil	193,00 b	255,00 aB	5,67 bA	5,33 bB
C.V. parcela (%)	18,27		2,61	
C.V. subparcela (%)	16,01		1,94	

*= Solo coletado quando as plantas de soja atingiram o estágio R₂, ou seja, 50% do florescimento pleno.
 * E + T = Endossulfan + tebuconazole. ¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, e maiúscula, na linha, não diferem entre si, para cada variável, pelo teste Tukey (P > 0,05).

5. EFEITO DE MÉTODOS DE MANEJO NA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES E NOS TEORES DE MICRONUTRIENTES DE SOJA

5.1. RESUMO

Objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito de métodos de controle de plantas daninhas, associados ou não com endossulfan + tebuconazole, na qualidade fisiológica de sementes e na nutrição mineral da soja. Foram avaliados dez tratamentos em esquema de parcelas subdivididas, no delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições. Nas parcelas, avaliou-se o efeito da aplicação ou não da mistura de inseticida (endossulfan) + fungicida (tebuconazole) e, nas subparcelas, o efeito dos métodos de controle de plantas daninhas (testemunha não capinada; testemunha capinada; aplicação única e sequencial de glyphosate e aplicação única de fomesafen + fluazifop- ρ -butil). Os teores micronutrientes foram determinados de amostras dos terceiros trifólios das plantas de soja no estágio R₂. Após colheita da soja, as sementes foram amostradas para avaliar o padrão de germinação e vigor e a produtividade de sementes. Os teores dos micronutrientes zinco e ferro não foram influenciados pelos agrotóxicos. No entanto, os teores de cobre e de manganês foram influenciados pela aplicação sequencial de glyphosate associada ao endossulfan e tebuconazole. A porcentagem total germinação das sementes não foi influenciada pelos herbicidas, independentemente da associação ou não com inseticida e fungicida. Valores de condutividade elétrica e de germinação do teste de frio sem solo não foram alterados ao se avaliar os efeitos dos herbicidas na ausência de endossulfan + tebuconazole. Todavia, na presença de endossulfan + tebuconazole observou-se redução desses valores em amostras de sementes de plantas tratadas com mistura fomesafen + fluazifop- ρ -butil. Dentre os tratamentos sem associação com endossulfan + tebuconazole, o maior peso de cem sementes foi observado para tratamento glyphosate em aplicação sequencial. Todavia, na presença de endossulfan + tebuconazole, não se observaram diferenças entre os herbicidas para essa variável, sendo esses valores superiores aos obtidos na ausência de endossulfan + tebuconazole. De modo geral, a aplicação sequencial de glyphosate associado ou não a endossulfan + tebuconazole altera os teores de Cu e Mn da plantas de soja, porém, não influencia e os padrões de germinação e vigor das sementes de soja.

Palavras-chave: Germinação, vigor, micronutrientes.

EFFECT OF MANAGEMENT METHODS ON SEEDS PHYSIOLOGICAL QUALITY AND IN THE SOYBEAN MICRONUTRIENTS CONCENTRATIONS

5.2. ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the microbial activity and phosphate solubilization potential of a soil cultivated with soybean under different phytosanitary management strategies. Ten treatments were arranged in split-plot scheme in the randomized block design with four replications. The effect of fungicide + herbicide application (endosulphan + tebuconazole) was evaluated in the plots, while weed control management was studied in the subplots (hoed or unhoed control; single-dose or sequential glyphosate application; single-dose fomesafen + fluazifop- ρ -butil application). The third trifolys from the shoot apices were also collected for micronutrient determinations. All samplings were done when soybean plants reached the R2 reproductive stage. The physiological quality of soybean seeds after harvesting was evaluated by the germination percentage, the first germination count, the soilless cold test, the accelerated aging test, the electrical conductivity, and the 100-seed weight. Zinc and iron concentrations were not influenced by the pesticides. However, copper and manganese concentrations were decreased after the sequential application of glyphosate associated with endosulphan + tebuconazole. The total germination percentages were not influenced by the herbicides, either associated or not with endosulphan + tebuconazole. The electrical conductivity and the germination percentages obtained by the soilless cold test were not affected by the weed plant control methods employed in the absence of endosulphan + tebuconazole. However, in the presence of endosulphan + tebuconazole, decreases in this variables were observed for seeds of plants treated with fomesafen + fluazifop- ρ -butil. The mixture endosulphan + tebuconazole promoted a positive effect on seed vigor measured by the accelerated aging test. Among the methods for the control of weed plants, without endosulphan + tebuconazole application, the highest 100-seed weight was observed for the treatment corresponding to glyphosate in sequential application. However, in the presence of endosulphan + tebuconazole, no difference among the herbicides tested were observed for this variable. The use of glyphosate, associated with endosulphan + tebuconazole application, reduced the leaf concentrations of copper and manganese of soybean plants, however, no effect this product on the seed germination and vigor were observed

Keywords: Germination, vigor, micronutrients.

5.3. INTRODUÇÃO

As plantas daninhas podem reduzir a produtividade da soja em até 82% quando em competição durante todo o ciclo (Silva et al., 2008). Em convívio com a cultura, essas plantas competem por luz e recursos do meio – água e nutrientes, tendo como consequências a redução de alguns componentes de produção da soja, a exemplo do número de vagens, número de grãos por vagem e peso de mil sementes (Juan et al., 2003; Lamego et al., 2004; Meschede et al., 2004; Silva et al., 2008).

Além da redução da produtividade, em áreas de cultivo de soja altamente infestadas com plantas daninhas, pode ocorrer atraso na maturação das sementes e, conseqüentemente, da colheita. A desidratação lenta da semente na maturação, em decorrência da presença de alta densidade de plantas daninhas nas fases de maturação e pré-colheita, pode apresentar efeitos indesejáveis nas sementes de soja, por exemplo, a ocorrência de grãos verdes devido à não-degradação dos pigmentos fotossintéticos dos cotilédones, que podem influenciar o posterior processo na qualidade fisiológica das sementes (Cioni et al., 1981; Costa et al., 2005). Quando o processo de maturação das sementes não ocorre de forma adequada, algumas mudanças associadas com deterioração ocorrem mais intensamente, tais como a redução da germinação, da taxa de emergência de plântulas e da tolerância às condições adversas de ambiente (Marcos Filho, 2005).

A aquisição de sementes com boa qualidade fisiológica – germinação e vigor, é o primeiro fator importante para o estabelecimento adequado da cultura a campo e, conseqüentemente, para se obter elevada produtividade de sementes. A velocidade e uniformidade de germinação das sementes proporcionam à cultura maior capacidade na competição com as plantas daninhas (Radosevich et al., 1997). Esta situação é desejável no manejo das plantas daninhas quando se tem objetivo explorar a máxima competição da cultura sobre essas, visando reduzir perdas e gastos com herbicidas, além de reduzir a contaminação ambiental pelos agrotóxicos (Nunes et al., 2003).

Ressalta-se que para o controle de plantas daninhas na cultura da soja existem 168 marcas comerciais de herbicidas registradas (Mapa, 2008), o que representa grande potencial de impacto ambiental negativo, se aplicados de forma inadequada e sem o conhecimento dos agricultores e dos técnicos. No entanto, atualmente com a liberação do cultivo comercial de soja transgênica resistente ao glyphosate – soja RR (Roundup Ready[®]), o controle de plantas daninhas nessas lavouras é realizado com o glyphosate.

Considera-se na atualidade que o glyphosate é um herbicida que causa menor impacto ambiental, em virtude de não apresentar persistência, efeito residual e ser fortemente adsorvido as partículas do solo (Rodrigues & Almeida, 2005). O uso desse produto tem aumentado consideravelmente após liberação da soja RR e se destaca, principalmente, por apresentar ação não-seletiva, baixo custo, baixo efeito residual no solo, excelente controle de plantas daninhas em estádios mais avançados e baixo impacto ambiental (Bonny, 2007). Esse herbicida inibe a enzima EPSPs (5-enol piruvil 3-xiquimato fosfato sintase) das plantas, a qual faz parte da rota metabólica do chiquimato responsável pela síntese dos aminoácidos aromáticos essenciais fenilalanina, tirosina e triptofano, além de outros compostos secundários importantes como auxina e aleloquímicos (Hinchee et al., 1993). De todo o carbono fixado pela fotossíntese, estima-se que mais de 20% seja direcionado para essa rota, destinando-se à síntese dos aminoácidos aromáticos (Devine et al., 1993).

Todavia, tem sido observado por sojicultores que o glyphosate aplicado em suas diferentes formulações comerciais pode provocar sintomas de intoxicação em plantas de soja RR. Apesar das cultivares de soja RR apresentar baixa sensibilidade aos efeitos tóxicos de diferentes formulações comerciais de glyphosate em relação à soja convencional, vários trabalhos relatam sintomas de clorose e necrose foliares, deficiências de micronutrientes e redução de crescimento da soja após aplicação do produto na doses comerciais (Reddy et al, 2004, Foloni et al., 2005; Correia & Durigan, 2007; Agostinetto et al., 2009). Adicionalmente, o glyphosate pode alterar a absorção de nutrientes pela cultura, em especial os micronutrientes catiônicos (Santos et al., 2007; Agostinetto et al., 2009). Vários autores constataram que a aplicação de glyphosate pode induzir, direta ou indiretamente, à deficiência de micronutrientes catiônicos ferro, zinco e manganês em plantas de soja RR (Eker et al., 2006; Neumann et al., 2006; Bott et al., 2008). Esses mesmos autores relatam que tais deficiências ocorrem devido à complexação dos micronutrientes catiônicos com o grupo fosfato presente na molécula de glyphosate tanto no solo quanto no interior das plantas. Neumann et al., (2006) descreveram que as deficiências de micronutrientes, principalmente de ferro e de manganês, podem aumentar a sensibilidade das plantas às doenças.

Alterações na nutrição mineral da cultura associada ao ataque de pragas e doenças podem comprometer a produtividade e a qualidade fisiológica das sementes. Ainda é possível ocorrer interações sinérgicas ou antagônicas entre o glyphosate e

outros agrotóxicos utilizados no controle de pragas e doenças, o que pode ou não potencializar os efeitos prejudiciais na cultura da soja, respectivamente.

Kapusta & Krausz (1992) e Silva et al. (2005) constataram redução na produção de grãos de milho ao aplicar respectivamente os inseticidas terbufos no plantio e chlorpirifos em mistura de tanque associado ao herbicida nicosulfuron em plantas de milho com três folhas expandidas em relação às parcelas tratadas somente com herbicida. Bierman et al. (2006) não observaram sintomas de intoxicação e interferência na produtividade da soja, ao avaliarem 36 combinações de fungicidas no tratamento de sementes (thiabendazole, pentachloronitrobenzene, captan, fludioxonil) e herbicidas (imazethapyr, imazamox, glyphosate, glyphosate+cloransulam-methyl). Evidencia-se que há pouca informação disponível na literatura avaliando os efeitos dessas interações entre agrotóxicos.

Diante do exposto, objetivou-se, neste trabalho, avaliar a qualidade fisiológica das sementes e os teores de micronutrientes da soja em função de métodos de controle de plantas daninhas, associados ou não com aplicação de endossulfan + tebuconazole.

5.4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido a campo na estação experimental da Universidade Federal de Viçosa, Coimbra, MG (S 20° 45' 20" e W 42° 52' 40"; altitude de 700 m), entre os meses de dezembro e abril no ano agrícola 2007/08, em Argissolo Vermelho-Amarelo câmbico, caracterizado física e quimicamente (Tabela 1).

Aos 15 dias antes da semeadura da soja, realizou-se a dessecação química da área com glyphosate + 2,4-D (1.440 + 470 g ha⁻¹) em mistura no tanque. A semeadura direta da soja BRS Favorita RR (Roundup Ready[®]) foi realizada na primeira quinzena do mês de dezembro. As sementes foram tratadas com carbendazin + tiram (0,30 + 0,70 g kg⁻¹ de sementes) e inoculadas com estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 587 e SEMIA 5019 (4,2x10⁹ células viáveis kg⁻¹ de sementes). Posteriormente ao plantio, demarcaram-se 40 parcelas (10x10 m). Utilizou-se o esquema de parcelas subdivididas, no delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições. Nas parcelas, avaliou-se o efeito da aplicação ou não da mistura de inseticida + fungicida e, nas subparcelas, o efeito dos métodos de controle de plantas daninhas. As aplicações do inseticida endossulfan (525 g ha⁻¹) e do fungicida tebuconazole (150 g ha⁻¹), em mistura no tanque, foram realizadas aos 45 e 90 dias após emergência (DAE) das plântulas de soja. Os métodos de controle de plantas daninhas foram: 1– testemunha não capinada;

2– testemunha capinada; 3– aplicação única de glyphosate (1.080 g ha^{-1}) aos 15 DAE; 4– aplicação sequencial de glyphosate (1.080 g ha^{-1}) aos 15, 30 e 45 DAE; 5– aplicação de fomesafen + fluazifop- ρ -butil ($180 + 225 \text{ g ha}^{-1}$) aos 15 DAE. Os dados diários de precipitação pluvial, umidade relativa e temperatura média foram coletados em estação meteorológica localizada próxima à área de plantio durante todo o período de condução do experimento (Figura 1).

Para avaliação dos teores de micronutrientes das plantas de soja foram coletados os terceiros trifólios a partir do ápice de oito plantas de cada subparcela, quando as plantas encontravam-se no estágio reprodutivo R₂. Após a secagem do tecido vegetal em estufa de circulação de ar forçada a 65 °C até atingir peso constante, esses foram moídos em moinho de lâminas. Em seguida, as amostras foram submetidas à digestão nitro-perclórica para determinação das concentrações de ferro (Fe), zinco (Zn), manganês (Mn), cobre (Cu), por espectrofotometria de absorção atômica (AOAC, 1975).

Após a colheita da soja, amostras de sementes foram coletadas e, em seguida, avaliaram-se a germinação (GER), primeira contagem de germinação (PCG), teste de frio sem solo (TFR), envelhecimento acelerado (TEA), condutividade elétrica (CEL) e peso de cem sementes (PCS). Os métodos utilizados para a realização destes testes foram:

Teste de germinação:

Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes por tratamento, semeadas em rolos de papel tipo “Germitest” e incubados a 25 °C. A quantidade de água adicionada foi de 2,5 vezes o peso do papel, visando o umedecimento adequado e a uniformização do teste. As avaliações e contagens das plântulas normais foram feitas no sétimo dia após a semeadura de acordo com as Regras de Análise de Sementes (Brasil, 1992).

Primeira contagem de germinação:

Empregou-se o mesmo método adotado no teste de germinação, sendo a avaliação do número de sementes germinadas realizada aos quatro dias após a incubação, conforme descrito por Krzyzanowski et al. (1999).

Teste de frio sem solo:

As sementes foram semeadas seguindo o método descrito no teste de germinação. Em seguida, os rolos foram incubados durante cinco dias a 10 °C. Após esse período, foram transferidos para uma câmara de germinação a 25 °C, por sete dias para a germinação das sementes. A avaliação foi realizada considerando somente as plântulas normais emergidas (Krzyzanowski et al., 1999).

Envelhecimento acelerado:

Baseou-se no método descrito por Marcos Filho et al. (2005), utilizando-se uma minicâmara na qual foram colocadas 50 sementes, quatro repetições de cada tratamento, sobre uma tela localizada a 2 cm do fundo da mesma, adicionando-se 40mL de água no seu interior, afim de garantir o nível de umidade relativa do ar próximo de 100% em seu interior. Em seguida, as minicâmaras foram incubadas em câmara tipo BOD, a 41 °C, por 72 horas (Hampton & TeKrony, 1995). Após esse período, as sementes foram colocadas para germinar, e avaliadas conforme o teste de germinação.

Condutividade elétrica:

Procedeu-se a pesagem de 50 sementes, quatro repetições por tratamento. Em seguida, foram transferidas para copos plásticos descartáveis com 75 mL de água deionizada. Após 24 horas de embebição a 25°C, a condutividade elétrica foi determinada em condutivímetro, de acordo com o método descrito por Krzyzanowski et al. (1999).

Peso de cem sementes e produtividade:

Após colheita da soja em 10 m² de cada subparcela, determinaram-se o peso de 100 sementes e a produtividade. Após contagem de 100 sementes, essas foram pesadas e efetuada a correção do peso para 13% de umidade, tanto para a produtividade quanto para a determinação da massa de cem sementes.

Os dados foram submetidos à análise de variância ($P < 0,05$), e sendo os efeitos dos tratamentos significativos, procedeu-se a comparação das médias pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

5.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para todas as variáveis estudadas, observou-se a interação entre os fatores testados.

Os teores dos micronutrientes dos tecidos foliares das plantas de soja encontraram-se dentro dos limites da faixa adequada de nutrientes estabelecidos por Malavolta (1997) para a cultura da soja.

Os teores dos micronutrientes zinco (Zn) e ferro (Fe) não foram influenciados pelos tratamentos. No entanto, os teores de cobre (Cu) e de Manganês (Mn) foram influenciados pela aplicação dos agrotóxicos (Tabela 1).

No tratamento glyphosate em aplicação sequencial observou-se maior teor de Cu, possivelmente pela menor competição exercida pelas plantas daninhas presentes, entretanto, não diferindo da capina mecânica. Apesar do bom controle das plantas

daninhas nos dois tratamentos anteriores, maior competição foi estabelecida na testemunha capinada – capina mecânica, pela presença de plantas daninhas remanescentes na linha da cultura, ou pela rebrota dessas na área verificadas na época de coleta das amostras. No entanto, o glyphosate em aplicação sequencial, na presença da mistura de endossulfan + tebuconazole, reduziu os teores de Cu e de Mn em relação aos demais tratamentos (Tabela 1). Ao ser aplicado em soja RR, esse produto é lentamente degradado pelas plantas, sendo cerca de 70% do produto absorvido rapidamente translocado para os meristemas apicais, principalmente das raízes, e, também, exsudado (Arregui et al., 2004; Neumann et al., 2006). Dessa forma, os micronutrientes catiônicos, como Cu e Mn presentes no solo ou na planta, podem complexar-se com o grupamento fosfato do glyphosate, tornando-se indisponíveis para o metabolismo das plantas. Isso foi verificado por Bott et al. (2008) estudando o efeito do glyphosate na indução de deficiência de Mn em cultivares de soja convencional Conquista e transgênica Valiosa RR cultivadas em solo arenoso ácido (pH= 4,5), porém, quando cultivadas em solo argiloso calcário (pH= 7,6) não observaram tal indução, pois solos com altos teores de Ca^{+2} podem levar a rápida complexação e imobilização do glyphosate. No entanto, não foram encontrados na literatura relatos de indução de deficiência de Cu na presença de glyphosate.

A porcentagem total germinação (PTG) das sementes de soja não foram influenciados pelos métodos de controle de plantas daninhas, independentemente da associação ou não com inseticida e fungicida (Tabela 2). Menores valores de PTG foram observados quando houve aplicação de endossulfan + tebuconazole e capina mecânica e, também, quando não se aplicou endossulfan + tebuconazole, mas foi aplicado glyphosate de forma sequencial (Tabela 2).

O glyphosate em aplicação única ou sequencial, na ausência de endossulfan + tebuconazole reduziram a primeira contagem da germinação - PCG. Porém, na presença de endossulfan + tebuconazole, esse herbicida em aplicação única ou sequencial favoreceu a PCG das sementes de soja (Tabela 2). Maiores valores de PCG indicam maiores chances de sucesso de formação do estande de plantas desejado, uma vez que a semente permanecerá menor tempo exposta ao ataque de insetos e microrganismos do solo (Marcos Filho, 2005). Em sementes de trigo, Zepka et al. (2007) observaram que o herbicida pendimethalin causou ligeira redução na velocidade de germinação, apesar de não ter afetado a germinação total das sementes. Segundo esses autores, alguns herbicidas podem reduzir a permeabilidade das membranas e alterar a velocidade de

embebição das sementes, causando desuniformidade da velocidade de germinação das mesmas, apesar de não afetar o percentual de germinação final.

Para o teste de frio (TFR), ao se avaliar os métodos de controle de plantas daninhas na ausência de endossulfan + tebuconazole, não se verificaram diferenças nos valores de germinação do TRF em relação à testemunha capinada. Em relação ao uso de inseticida + fungicida essa variável somente foi reduzida pela mistura fomesafen + fluazifop- ρ -butil (Tabela 3). Martins et al. (2006) relataram que o uso de metolachlor, alachlor, simazine e atrazine isolado ou associado com simazine, metolachlor ou óleo mineral no sorgo não afetaram a qualidade das sementes. No entanto, tais autores não relataram se realizaram aplicações de inseticidas ou fungicidas.

Ao se comparar o uso ou não da mistura endossulfan + tebuconazole, observou-se que a testemunha capinada apresentou menor valor de germinação para o teste de envelhecimento acelerado (TEA) na ausência dos agrotóxicos (Tabela 3). Na ausência de endossulfan + tebuconazole, observou-se que a testemunha capinada e a aplicação única de fomesafen + fluazifop- ρ -butil demonstraram menores valores de germinação para o TEA em relação aos demais tratamentos (Tabela 3). Para os métodos de controle de plantas daninhas associados com endossulfan + tebuconazole não se observaram diferenças no TEA em todos os tratamentos testados. O TEA expõe as sementes a condições de alta temperatura e alta umidade do ar, favorecendo o desenvolvimento de microrganismos que podem reduzir a germinação das sementes (Marcos Filho, 2005). Este fato pode explicar o efeito positivo do uso da mistura endossulfan + tebuconazole no resultado do TEA. Portanto, os resultados podem indicar não um maior vigor das sementes submetidas à mistura, mas sim uma consequência do efeito protetor desses produtos contra o ataque de pragas e doenças nas plantas, garantindo o desenvolvimento saudável dessas plantas e, conseqüentemente, a obtenção de sementes de boa qualidade fisiológica.

Foram constatados menores valores de condutividade elétrica das sementes (CEL) nos tratamentos fomesafen + fluazifop- ρ -butil e a capina mecânica associada à aplicação de endossulfan + tebuconazole (Tabela 3). Menores valores de germinação no teste de CEL indicam melhor qualidade das sementes, conferida pela melhor integridade das membranas celulares, que é constatada pela menor lixiviação de sais minerais das sementes para a solução teste. Em relação à condutividade elétrica das sementes de soja não se verificaram diferenças entre os métodos de controle de plantas daninhas independentemente da aplicação de endossulfan + tebuconazole (Tabela 3).

Dentre os tratamentos sem associação com inseticida + fungicida, o maior peso de cem sementes (17,68 g) foi observado para tratamento glyphosate em aplicação sequencial (Tabela 4). Esse resultado é mais bem explicado pela menor competição da cultura com as plantas daninhas, haja vista que esse tratamento foi o mais eficiente no controle de plantas daninhas. Também, o glyphosate pode ter protegido as plantas de soja do ataque severo do fungo da ferrugem asiática – conforme foi verificado na ausência do tebuconazole, pois esse produto tem apresentado ação no controle de ferrugem asiática da soja segundo Feng et al. (2005) e Soares et al. (2008). Já os demais tratamentos apresentaram valores intermediários (15,80-16,49 g/100 sementes) em relação ao anterior e a testemunha não capinada (14,19 g/100 sementes). Todavia, na presença de endossulfan + tebuconazole, não se observaram diferenças entre os métodos de controle de plantas daninhas para esta variável (Tabela 4).

A aplicação do endossulfan + tebuconazole proporcionou os melhores valores para a produtividade de grãos, sendo, em média, 34% maiores em relação à ausência dessa mistura (Tabela 4). Na ausência do endossulfan + tebuconazole, o glyphosate em aplicação sequencial, a mistura fomesafen + fluazifop- ρ -butil e a testemunha capinada favoreceram maiores produtividades de grãos em relação aos demais na presença de endossulfan + tebuconazole. Pois, houve maior produtividade de grãos em virtude de que esses tratamentos mantiveram as unidades experimentais livres da competição soja-plantas daninhas. Conclui-se que os padrões de germinação (PTG e PCG) e vigor (TFR, TEA e CEL) das sementes de soja são alterados em função da combinação dos agrotóxicos utilizados para o controle de pragas, insetos e plantas daninhas. O uso de endossulfan + tebuconazole proporcionou o controle de pragas e de ferrugem asiática, resultando no aumento do peso de cem sementes e de produtividade de sementes.

5.6. LITERATURA CITADA

- AGOSTINETTO, D. et al. Efeitos de formulações de glyphosate aplicadas em diferentes épocas sobre cultivares de soja transgênicas, **Planta Daninha**, 2009. *No prelo*.
- ARREGUI, M.C. et al. Monitoring glyphosate residues in transgenic glyphosate-resistant soybean. **Pest Manag. Sci.**, v. 60, n. 2, p. 163-166, 2004.
- BIERMAN, R.E. et al. Fungicide-herbicide interaction in soybean (*Glycine max*). **Crop Prot.**, v. 25, n. 2, p. 134-139, 2006.
- BONNY, S. Genetically modified glyphosate-tolerant soybean in the USA: adoption factors, impacts and prospects. A review. **Agron. Sustain. Dev.**, v. 28, n. 1, p. 1-12, 2007.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.
- CIONI, M.; PINZAUTI, G.; VANNI, P. Comparative biochemistry of the glyoxylate cycle. **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 70, p. 1-26, 1981.
- CORREIA, N. M.; DURIGAN, J.C. Seletividade de diferentes herbicidas à base de glyphosate a soja RR. **Planta Daninha**, v. 25, n. 2, p. 375-379, 2007.
- COSTA, N. P. et al. Perfil dos aspectos físicos, fisiológicos e químicos de sementes de soja produzidas em seis regiões do Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, p. 172-181, 2005.
- DEVINE, M. et al. Inhibition of aromatic amino acid synthesis. In: **Physiology Herbicide Action**. Englewood Cliffs: Prentice Hall, p.252-263, 1993.
- FOLONI, L.L. Aplicação de glifosato em pós-emergência, em soja transgênica cultivada no cerrado. **Revista Brasileira de Herbicidas**, n. 3, p. 47-58, 2005.
- HINCHEE, M.A.W. et al. Herbicide-tolerant crops. In: KUNG, S.; WU, R. (eds.). **Transgenic plants**. San Diego: Academic Press, p.243-263, 1993.
- JUAN, V. F.; SAINT-ANDRE, H.; FERNANDEZ, R.R. Competencia de lecheron (*Euphorbia dentata*) em soja. **Planta Daninha**, v. 21, n. 2, p. 175-180, 2003.
- KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.V.; NETO, J.B.F. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. 218 p.
- LAMEGO, F. P. et al. Tolerância a interferência de plantas competidoras e habilidade de supressão por genótipos de soja – II. Resposta de variáveis de produtividade. **Planta Daninha**, v. 22, n. 4, p. 491-498, 2004.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do Estado Nutricional das Plantas**. 2ª ed. Potafos, Piracicaba, SP. 1997, 319p.
- MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Sistema AGROFIT**. Disponível em: < http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 25/ 11/2008.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. FEALQ: Piracicaba, 2005. 495 p.

- MARTINS, C.C.; NAKAGAWA, J.; MARTINS, D. Seletividade de herbicidas sobre a produtividade e a qualidade de sementes de sorgo granífero. **Agropecuária Técnica**, v.27, n.1, p.37-42, 2006.
- MESCHEDE, D. K. et al. Período anterior à interferência em soja: estudo de caso com baixa densidade de estande e testemunhas duplas. **Planta Daninha**, v. 22, n. 2, p. 239-246, 2004.
- NEUMANN, G. et al. Relevance of glyphosate transfer to non-target plants via the rhizosphere. **J. Plant Dis. Protect**, v. 20, n. especial, p. 963-969, 2006.
- NUNES, U.R. et al. Soybean seed osmoconditioning effect on the crop competitive ability against weeds. **Planta Daninha**, v. 21, p. 27-35, 2003.
- RADOSEVICH, S.; HOLT, J.; GHERSA, C. **Weed ecology: implications for management**, 2.ed. New York: Wiley, 1997. 588p.
- RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.R. **Guia de herbicidas**. 5ª ed, Londrina: Edição dos Autores, 2005. 591p.
- SANTOS, J.B., et al. Efeito de formulações na absorção e translocação do glyphosate em soja transgênica. **Planta Daninha**, v. 25, n. 2, p. 381-388, 2007.
- SILVA, A.A. et al. Efeitos de mistura de herbicida com inseticida sobre a cultura do milho, as plantas daninhas e a lagarta-do-cartucho. **Planta Daninha**, v. 23, n. 3, p. 571-575, 2005.
- SILVA, A.F. et al. Densidades de plantas daninhas e épocas de controle sobre os componentes de produção da soja. **Planta Daninha**, v. 26, n. 1, p. 65-71, 2008.
- ZEPKA, A.P.S.; LARRÉ, C.F.; LOPES, N.F. Efeito do herbicida pendimethalin na germinação de sementes de trigo. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 630-632, 2007.

5.7. FIGURAS E TABELAS

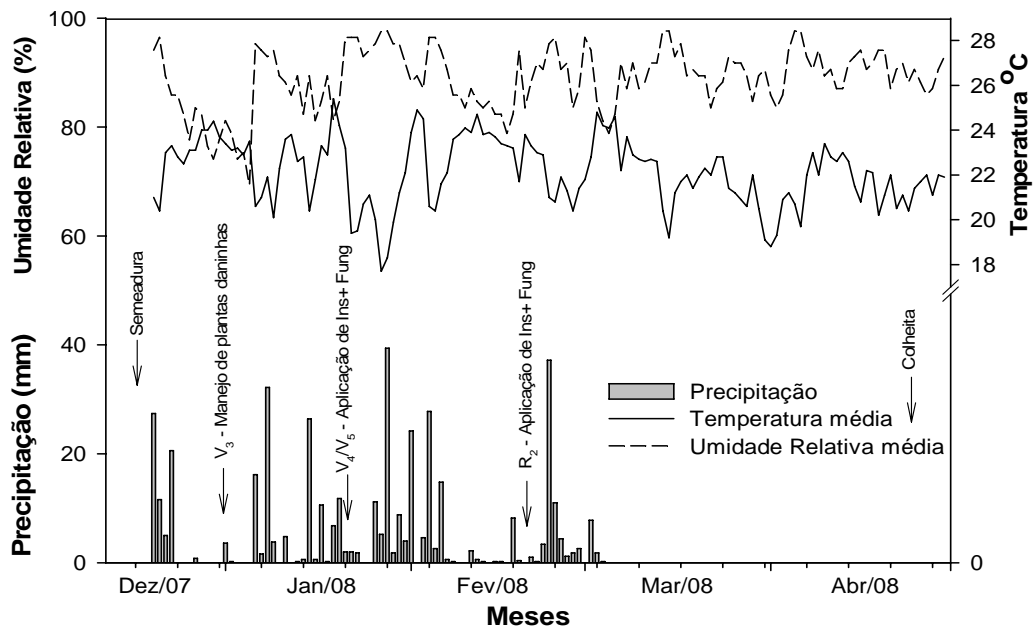


Figura 1 – Precipitação pluvial, umidade relativa e temperatura diária durante o período de 12 de dezembro de 2007 a 20 de abril de 2008. Coimbra, MG, 2007/08. * As datas aproximadas de semeadura, manejo de plantas daninhas, aplicações de inseticidas e fungicidas e colheita estão assinaladas no período com o respectivo estágio fenológico da soja.

Tabela 1 – Teores médios de micronutrientes foliares (Cu, Mn, Zn e Fe) em plantas de soja BRS Favorita RR no estágio R₂ submetidas a diferentes métodos de controle de plantas daninhas com ou sem aplicação de endossulfan + tebuconazole. Coimbra-MG, 2007/08

Método de controle de plantas daninhas	Cu		Mn		Zn		Fe	
	sem E+T*	com E+T	sem E+T	com E+T	sem E+T	com E+T	sem E+T	com E+T
	----- mg kg ⁻¹ -----							
Testemunha não capinada	5,76 bB	7,60 abA	78,90 aA	87,91 aA	43,26 aA	47,51 aA	197,13 aA	213,46 aA
Testemunha capinada	6,85 abB	8,56 aA	77,08 aA	82,11 aA	47,75 aA	54,16 aA	181,63 aA	224,50 aA
Aplicação única de glyphosate	6,75 abB	8,11 aA	88,80 aA	78,53 aA	46,93 aA	46,95 aA	204,53 aA	184,08 aA
Aplicação sequencial de glyphosate	7,55 aA	6,33 bB	82,20 aA	74,23 bA	47,80 aA	48,86 aA	199,96 aA	212,95 aA
Aplicação única de fomesafen + fluazifop- <i>p</i> -butil	6,98 abB	7,78 abA	78,13 aA	78,33 aA	48,15 aA	51,26 aA	194,91 aA	173,38 aA
C.V. parcela (%)	11,05		16,17		10,36		23,40	
C.V. subparcela (%)	9,39		13,69		9,84		17,49	

* E + T = Endossulfan + tebuconazole. ¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, e maiúscula, na linha, não diferem entre si, para cada variável, pelo teste Tukey (P > 0,05).

Tabela 2 – Valores médios de porcentagem total de germinação (PTG) e primeira contagem de germinação (PCG) de sementes de soja BRS Favorita RR no estádio R₂ submetidas a diferentes métodos de controle de plantas daninhas com ou sem aplicação de endossulfan + tebuconazole. Coimbra-MG, 2007/08

Método de controle de plantas daninhas	PTG (%)		PCG (%)	
	sem E+T*	com E+T	sem E+T	com E+T
Testemunha não capinada	74 aA	73 aA	45 bcA	52 abA
Testemunha capinada	84 aA	61 bB	67 aA	33 cB
Aplicação única de glyphosate	78 aA	76 aA	51 bcA	56 aA
Aplicação sequencial de glyphosate	71 aB	84 aA	42 cA	42 bcA
Aplicação única de fomesafen + fluazifop- ρ -butil	79 aA	78 aA	57 abA	55 aA
C.V. parcela (%)	14,90		11,58	
C.V. subparcela (%)	9,88		6,43	

* E + T = Endossulfan + tebuconazole. ¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, e maiúscula, na linha, não diferem entre si, para cada variável, pelo teste Tukey (P > 0,05).

Tabela 3 – Valores médios de germinação obtidos pelo teste de frio (TFR), teste de envelhecimento acelerado (TEA) e condutividade elétrica (CEL) de sementes de soja BRS Favorita no estádio R₂ submetidas a diferentes métodos de controle de plantas daninhas com ou sem aplicação de endossulfan + tebuconazole. Coimbra-MG, 2007/08

Método de controle de plantas daninhas	TFR (%)		TEA (%)		CEL (%)	
	sem E+T*	com E+T	sem E+T	com E+T	sem E+T	com E+T
Testemunha não capinada	90 aA	83 aA	89 aA	86 aA	143,90 aA	132,30 aA
Testemunha capinada	84 abA	83 aA	74 bB	83 aA	146,03 aA	117,70 aB
Aplicação única de glyphosate	76 bB	86 aA	76 aA	79 aA	135,60 aA	131,30 aA
Aplicação sequencial de glyphosate	83 abA	79 aA	83 aAB	87 aA	140,35 aA	126,46 aA
Aplicação única de fomesafen + fluazifop- ρ -butil	76 bA	72 bA	75 bA	80 aA	167,15 aA	127,15 aB
C.V. parcela (%)	8,23		7,94		15,79	
C.V. subparcela (%)	6,32		5,63		14,16	

* E + T = Endossulfan + tebuconazole. ¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, e maiúscula, na linha, não diferem entre si, para cada variável, pelo teste Tukey (P > 0,05).

Tabela 4 – Peso de cem sementes (PCS) e produtividade de soja BRS Favorita RR no estágio R₂ submetidas a diferentes métodos de controle de plantas daninhas com ou sem aplicação de endossulfan + tebuconazole. Coimbra-MG, 2007/08

Método de controle de plantas daninhas	PCS (g)		Produtividade (kg ha ⁻¹)	
	sem E+T*	com E+T	sem E+T	com E+T
Testemunha não capinada	14,19 bB	15,83 cA	1943,11 bA	2366,21 cA
Testemunha capinada	15,80 abB	26,46 aA	2929,80 aB	4140,86 abA
Aplicação única de glyphosate	15,79 abB	22,10 bA	2391,08 abB	3669,20 bA
Aplicação sequencial de glyphosate	17,68 aB	18,43 cA	2743,91 abB	4762,97 aA
Aplicação única de fomesafen + fluazifop- ρ -butil	16,49 abB	19,23 bcA	2964,30 aB	4604,56 aA
C.V. parcela (%)	6,76		22,39	
C.V. subparcela (%)	4,40		11,25	

* E + T = Endossulfan + tebuconazole. ¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, e maiúscula, na linha, não diferem entre si, para cada variável, pelo teste Tukey (P > 0,05).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando os resultados obtidos neste trabalho, verificou-se que houve interação entre os métodos de controle de plantas daninhas e a aplicação de endossulfan e tebuconazole, respectivamente. A mistura fomesafen + fluazifop- ρ -butil associada ao endossulfan + tebuconazole reduziu o carbono da biomassa microbiana e apresentou maiores valores de quociente metabólico, o que indica condições estressantes para a microbiota do solo. No entanto, não interferiu nas demais características microbianas do solo avaliadas. O uso do glyphosate, em aplicação única ou sequencial, não interferiu na microbiota do solo e na atividade dos microrganismos endossimbiontes associados à cultivar BRS Favorita RR, mesmo quando associado ao endossulfan e tebuconazole. A nutrição mineral das plantas de soja, de modo geral, foi pouco influenciada pelos agrotóxicos. Os teores de cobre e de manganês foram influenciados negativamente pela aplicação sequencial de glyphosate associada ao endossulfan e tebuconazole. A mistura fomesafen + fluazifop- ρ -butil e o glyphosate em aplicação sequencial afetaram negativamente os teores de N foliar. A qualidade fisiológica das sementes, de modo geral, não foi influenciada pela aplicação de herbicidas. Todavia, houve melhoria na qualidade das sementes quando realizou-se a aplicação de herbicidas associada ao endossulfan e tebuconazole refletindo em maiores produtividades de sementes. Concluiu-se que o uso do glyphosate, mesmo aplicado mais de uma vez numa mesma área durante a safra da soja, não interfere na microbiota do solo e na cultivar BRS Favorita RR, mesmo quando associado ao endossulfan e tebuconazole. Entretanto, para o melhor entendimento da interferência da utilização continuada desse produto na interação soja-microrganismos, na nutrição mineral das plantas e na qualidade fisiológica das sementes de soja devem ser realizados experimentos utilizando-se outras cultivares de soja transgênica e outros tipos de solos.