

**Efeito da Aplicação do Herbicida  
Sulfentrazone nos processos  
simbióticos associados à soja  
(*Glycine max* (L.) Merrill)**

# ***Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 46***

## **Efeito da Aplicação do Herbicida Sulfentrazone nos processos simbióticos associados à soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**

Rosana Faria Vieira  
Célia Maria Maganhotto de Souza

Exemplares dessa publicação podem ser solicitados à:

**Embrapa Meio Ambiente**

Rodovia SP 340 - km 127,5 - Tanquinho Velho  
Caixa Postal 69 13820-000, Jaguariúna, SP  
Fone: (19) 3867-8750 Fax: (19) 3867-8740  
sac@cnpma.embrapa.br  
www.cnpma.embrapa.br

**Comitê de Publicação da Unidade**

Presidente: *Alfredo José Barreto Luiz*

Secretária-Executiva: *Heloisa Ferreira Filizola*

Secretário: *Sandro Freitas Nunes*

Bibliotecária: *Maria Amélia de Toledo Leme*

Membros: *Ladislau Araújo Skorupa, Ariovaldo Luchiar Junior, Luiz Antônio S.Melo, Adriana M. M. Pires, Emília Hamada e Cláudio M. Jonsson*

Normalização Bibliográfica: *Maria Amélia de Toledo Leme*

Editoração Eletrônica: *Alexandre Rita da Conceição*

**1ª edição eletrônica**

(2007)

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no seu todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

---

Efeito da aplicação do herbicida sulfentrazona nos processos simbióticos associados à soja (*Glycine max* (L.) Merrill) / Rosana Faria Vieira, Célia Maria Maganhotto de Souza. – Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2007.

24p. – (Embrapa Meio Ambiente. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento; 46).

1. Microbiologia do solo. 2. Herbicida. 3. Soja. I. Vieira, Rosana Faria. II. Souza, Célia Maria Maganhotto de. III. Título. IV. Série.

---

CDD 631.46

© Embrapa 2007

# Sumário

Resumo .....	05
Abstract .....	06
Introdução .....	07
Material e Métodos .....	08
Avaliação do crescimento das plantas e dos parâmetros microbiológicos .....	09
Identificação e quantificação da sulfentrazona no solo .....	09
Análise estatísticas .....	10
Resultados .....	10
Discussão .....	16
Conclusões .....	19
Agradecimento .....	19
Referências .....	20

# Efeito da Aplicação do Herbicida Sulfentrazone nos processos simbióticos associados à soja (*Glycine max* (L.) Merrill)

---

*Rosana Faria Vieira*<sup>1</sup>

*Célia Maria Maganhotto de Souza*<sup>2</sup>

## Resumo

Este trabalho foi conduzido para avaliar os efeitos potenciais da utilização do herbicida sulfentrazone nos processos simbióticos associados à cultura da soja. O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação em um Latossolo Vermelho-Amarelo coletado na área experimental da Embrapa Meio Ambiente, localizada em Jaguariúna, São Paulo. Os tratamentos consistiram da aplicação ou não do herbicida sulfentrazone. As plantas foram coletadas em três períodos de desenvolvimento da soja. No período inicial o número e o peso dos nódulos secos foram afetados de forma negativa pela presença do herbicida. Isto também foi observado para o peso da parte aérea seca e seu conteúdo em N total. No final do ciclo da cultura verificou-se um decréscimo de 45% na matéria seca das vagens e no seu conteúdo em N total, em virtude da aplicação da sulfentrazone. A percentagem de infecção micorrízica foi 50% menor nas plantas pulverizadas em todas as amostragens realizadas. O C da biomassa microbiana foi menor na presença do herbicida somente no período inicial do desenvolvimento da soja. O efeito danoso da sulfentrazone nas associações simbióticas com fungos micorrízicos e com rizóbio, possivelmente, contribuiu para o menor crescimento da planta.

<sup>1</sup>Engenheira Agrônoma, Doutora em Solos e Nutrição de Plantas, Embrapa Meio Ambiente, Rod. SP 340, km 127,5 - Caixa Postal 69, Tanquinho Velho, 13.820-000 Jaguariúna, SP. rosana@cnpma.embrapa.br

<sup>2</sup>Bióloga, Doutora em Microbiologia Aplicada, Embrapa Meio Ambiente, Rod. SP 340, km 127,5 - Caixa Postal 69, Tanquinho Velho, 13.820-000 Jaguariúna, SP. celia@cnpma.embrapa.br

# Effect of Sulfentrazone Herbicide on Symbiotic Processes Associated to Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill)

---

## Abstract

This work was conducted to evaluate the effects of the herbicide sulfentrazone on symbiotic processes associated with soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). The experiment was conducted in the greenhouse in a Red-Yellow Oxisol collected from Embrapa Meio Ambiente's experimental field, in Jaguariúna, São Paulo. The treatments consisted of application or not of the sulfentrazone herbicide. The plants were harvested in three periods of plant development. The nodule number and nodule dry weight on the onset of soybean development were negatively affected by the presence of the herbicide, as also observed for shoot dry weight and shoot total N. Pod dry weight and their total N content decreased by 45% in the presence of the herbicide. The percentage of mycorrhizal infection was 50% lower in pots plants that received sulfentrazone throughout the soybean growing season. Microbial biomass C was lower in the presence of the herbicide only in the initial period of the soybean development cycle. Mycorrhizal and rhizobial performance in soybean were reduced by sulfentrazone use, and both possibly contributed toward smaller plant growth.

## Introdução

O uso de herbicidas é a ferramenta mais comum utilizada no manejo de ervas daninhas, que é parte integrante do processo de produção das culturas. Um destes herbicidas, a sulfentrazone, tem sido registrado no Brasil para soja, cana-de-açúcar, café e citros. A sulfentrazone faz parte do grupo das ariltriazolinonas, cujo nome químico é N-[2,4-dicloro-5-[4-(difluorometil)-4,5-dihidro-3metil-5-oxo-1H-1,2,4-triazol-1-yl]-fenil] metanossulfonamida. O mecanismo de ação da sulfentrazone nas plantas invasoras está relacionado com a inibição da enzima protoporfirinogênio oxidase (Protox) (NANDIHALLI & DUKE, 1993).

Os herbicidas ao serem aplicados em pré ou pós-emergência acabam direta ou indiretamente alcançando o solo o que pode afetar os microrganismos que são importantes para a ciclagem de nutrientes e a manutenção da estrutura do solo.

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) pode formar simbiose com rizóbios e fungos micorrízicos arbusculares (AM). Estes sistemas simbióticos aumentam o crescimento da planta por meio de um maior suprimento de N e P, especialmente em solos pobres nestes nutrientes. Estes microrganismos são ativos nas células corticais da raiz, mas não parecem competir por sítios de infecção (BAREA & AZCON-AGUILAR, 1983). Em plantas de soja micorrizadas a fixação de N<sub>2</sub> é maior do que em plantas não-micorrizadas (VEJSADOVÁ et al., 1992; VEJSADOVÁ et al., 1993), possivelmente em decorrência da maior absorção de P nas plantas colonizadas pelos fungos AM (GEORGE et al., 1995).

Vários efeitos toxicológicos de herbicidas sobre as leguminosas são descritos (ZAIDI et al., 2005), mas a magnitude destes efeitos depende primariamente dos tipos e doses dos compostos, da duração de exposição aos produtos, das espécies e idades das plantas (ABD-ALLA et al., 2000) e de outros fatores ambientais. O uso de herbicidas pode influenciar a nodulação e a fixação biológica de nitrogênio afetando o rizóbio, a planta ou ambos. Os herbicidas trifluralina, pendimetalina (BOLLICH et al., 1988) e metribuzim (MALLIK & TESFAI, 1985) são considerados deletérios à simbiose soja-*Bradyrhizobium* spp. Recentemente, Arruda et al. (2001) demonstraram que o número e o peso dos nódulos secos em soja diminuíram em função do aumento na taxa de aplicação do herbicida sulfentrazone. Por outro lado, Gonzalez et al. (1999) não encontraram efeito dos herbicidas metribuzim, acetacoloro, metalacoloro,

trifluralina, imazaquim, imazetapir e clorimurom etil na nodulação da soja e, em conseqüência, no rendimento da cultura, em solos com alto teor de matéria orgânica. Do mesmo modo, Malty et al. (2006) não detectaram efeito do herbicida glifosato na nodulação da soja.

O efeito deletério dos pesticidas nos fungos micorrízicos é amplamente conhecido (SREENIVASA & BAGYARAJ, 1989). Em caupi, embora a proporção de raízes colonizadas pelos fungos MA tenha sido significativamente diminuída com a aplicação do herbicida brominal, este efeito desapareceu após 40 dias (ABD-ALLA et al., 2000).

Os possíveis efeitos deletérios dos herbicidas inibidores da Prottox sobre a microbiota do solo são praticamente desconhecidos (DAUGROIS et al., 2005). Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do herbicida sulfentrazone nos processos simbióticos associados à soja.

## Material e Métodos

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com quatro repetições e incluiu os seguintes tratamentos: aplicação ou não do herbicida sulfentrazone (controle e 0,7 mg kg<sup>-1</sup>) e três períodos de colheita. A concentração do herbicida foi equivalente à dose de campo.

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação no período de janeiro a fevereiro. Foram utilizados potes plásticos contendo 5kg de um Latossolo vermelho amarelo distroférico, coletado à profundidade de 0-20 cm na área experimental da Embrapa Meio Ambiente, em Jaguariúna, SP. As características químicas e físicas deste solo são apresentadas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Características químicas e texturais do solo

Análise química	Parâmetros												
	pH (CaCl <sub>2</sub> )	MO(%)	P <sup>1</sup>	K <sup>2</sup>	Ca <sup>2</sup>	Mg <sup>2</sup>	H + Al <sup>2</sup>	CTC	B <sup>1</sup>	Cu <sup>1</sup>	Fe <sup>1</sup>	Mn <sup>1</sup>	Zn <sup>1</sup>
Valores	4,0	2,1	5	0,6	3	1	88	93,2	0,26	1,3	83	2,5	0,2
Análise textural	Argila (%)		Areia (%)		Silte (%)								
Valores	37,3		46,5		16,2								

<sup>1</sup> – mg kg<sup>-1</sup>

<sup>2</sup> – mmol<sub>c</sub>dm<sup>-3</sup>

O solo recebeu 80 kg  $P_2O_5$  ha<sup>-1</sup> (superfosfato simples) e 70 kg  $K_2O$  ha<sup>-1</sup> (cloreto de potássio). A calagem foi realizada de modo a elevar a saturação de base a 60%. Após a fertilização o solo permaneceu nos potes por sete dias com a umidade corrigida para 80% da capacidade de campo. O herbicida foi aplicado no oitavo dia e homogeneizado em todo o solo. Três dias após a aplicação da sulfentrazone foram semeadas quatro sementes por vaso [*Glycine max* (L.) Merrill cv. IAC-22]. As sementes foram inoculadas com inóculo comercial a base de turfa (*B. japonicum* e *B. elkanni* – BIOMAX) numa proporção de 1 kg 50 kg sementes<sup>-1</sup>. Após a emergência permaneceram apenas duas plantas por vaso. A umidade foi mantida em 80% da capacidade de campo, por meio de pesagens periódicas dos vasos, durante todo o período experimental.

## **Avaliação do crescimento das plantas e dos parâmetros microbiológicos**

As plantas foram colhidas aos 10, 24 (estágio de florescimento) e 75 (estágio de enchimento de grãos) dias após a emergência das plantas (DAE). A parte aérea foi cortada rente ao solo, seca a 60°C, pesada e analisada para N e P total (TEDESCO et al., 1985). As raízes foram cuidadosamente lavadas para a retirada dos nódulos, que foram após a remoção, contados, secos e pesados. Partes das raízes foram cortadas em pequenos fragmentos e avaliadas quanto à percentagem de infecção micorrízica (PHILLIPS & HAYMAN, 1970). Os pesos das vagens secas e seus conteúdos em N total foram também avaliados nas plantas coletadas aos 75 DAE. Outras avaliações incluíram: fixação específica do nitrogênio (FEN) em todas as colheitas, taxa de crescimento relativo (TCR) e índice de colheita de nitrogênio (ICN). As seguintes fórmulas foram utilizadas:  $FEN = \text{mg N total na parte aérea} / \text{peso de nódulos secos}^{-1}$ ;  $TCR = \ln PS2 - \ln PS1 / t2 - t1$ , onde PS1 e PS2 são os pesos da parte aérea seca nos tempos t2 e t1 (MATSUNAMI et al., 2004) e  $ICN = \text{N total nas vagens aos 75 DAE} / \text{conteúdo de N total na parte aérea}^{-1}$ , incluindo vagens (KOUTROUBAS et al., 1998, com modificações). Nos mesmos períodos em que as plantas foram coletadas, amostras de solo foram retiradas para medir o C da biomassa microbiana, baseando-se na diferença entre o C extraído com 0,5 M  $K_2SO_4$ , de amostras do solo fumigado e não fumigado e o valor de Kc igual a 0.38 (VANCE et al., 1987)

## **Identificação e quantificação da sulfentrazone no solo**

A amostra de solo (10 g) foi submetida à extração em sistema de refluxo,

utilizando-se 150 mL da solução de acetona e ácido clorídrico  $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  (3:1), por 1 hora. Após atingir a temperatura ambiente, as amostras foram filtradas em funil de Büchner a vácuo, em filtro Whatman N° 1. A fração líquida foi quantitativamente transferida para um balão de fundo redondo (250 mL), sendo então, submetida ao processo de rotaevaporação ( $40^\circ\text{C}$ ), para redução de seu volume a 25 mL. O volume final foi ajustado para 100mL com água bidestilada. Os extratos aquosos foram purificados e concentrados em dois adsorventes diferentes (C8 e sílica gel), usando o sistema Manifold. Alíquotas de 25 mL da amostra foram submetidas ao processo de purificação, inicialmente na fase  $C_8$ , pré – condicionada com acetato de etila e hexano, sendo o analito de interesse retido na fase adsorvente. Eluiu-se o analito para a coluna de sílica gel, utilizando-se uma mistura de acetato de etila-hexano (3:1, v/v), sendo então, recolhido após eluição com acetato de etila. O solvente de eluição foi evaporado até próximo à secura, utilizando-se um sistema de evaporação sob fluxo de nitrogênio (Concentrador Tecnal; modelo TE 194), a  $45^\circ\text{C}$ . A amostra foi ressuspensa para um volume final de 5 mL em acetona. As amostras foram analisadas por cromatografia gasosa, utilizando-se cromatógrafo a gás Agilent, modelo 6890, dotado de sistema de injeção splitless, (temperatura de  $250^\circ\text{C}$ ), e detector de captura de elétrons ( $\mu\text{ECD}$ ) com temperatura ajustada a  $300^\circ\text{C}$ . O volume injetado foi de  $1\mu\text{L}$ . A separação do analito foi feita em coluna megabore, DB 608 (30 m x  $0,53 \text{ mm}$  x  $0,83 \mu\text{m}$ ) com fluxo de nitrogênio de  $16 \text{ mL min.}^{-1}$  e temperatura do forno  $180^\circ\text{C}$  por 1 min., seguida de rampa de aquecimento a  $20^\circ\text{C min.}^{-1}$  até  $250^\circ\text{C}$  e  $5^\circ\text{C min.}^{-1}$  até  $260^\circ\text{C}$ . (ASSALIN, M. R. et al., 2005)

## **Análise estatística**

Anova foi utilizado na análise estatística e o teste de F foi aplicado para comparar efeito de tratamentos, em todos os períodos de avaliação, em nível de significância de 5 %. Utilizou-se o software Statgraphics Plus versão 5.0.

## **Resultados**

As quantidades do herbicida sulfentrazone recuperadas do solo são apresentadas na Tabela 2. Elas variaram de 90% aos 24 DAE a 70% aos 75 DAE. Estes percentuais demonstram que a sulfentrazone é persistente no solo.

**Tabela 2.** Resíduos de sulfentrazone encontrados nos solos tratados ou não com o herbicida sulfentrazone, aos 24 e 75 dias após a emergência das plantas.

Sulfentrazone aplicada (mg kg <sup>-1</sup> )	Quantidade de sulfentrazone recuperada (mg kg <sup>-1</sup> )	
	24 DAE <sup>1</sup>	75 DAE
0 (controle)	0	0
0,7	0,6 (90%) <sup>2</sup>	0,5 (72%)

<sup>1</sup> DAE – Dias após a emergência

<sup>2</sup> Percentagem da quantidade inicialmente aplicada

O número de nódulos foi menor nas plantas cultivadas no solo tratado com sulfentrazone, em todos os estágios de desenvolvimento da cultura, embora um decréscimo significativo (21%) somente tenha ocorrido aos 46 DAE (Tabela 3). O peso dos nódulos secos, nas plantas cultivadas em solo com o herbicida apresentou um decréscimo significativo (18%), em comparação ao controle somente na primeira avaliação (Tabela 3). A fixação específica do nitrogênio foi menor no tratamento com sulfentrazone aos 46 (19%) e 74 DAE (13%), quando comparada às plantas controles (Tabela 4). Os tamanhos dos nódulos foram 8.6%, 18% e 29% maiores em plantas cultivadas no solo com sulfentrazone, aos 24, 46 e 75 DAE, respectivamente, em relação às plantas controles (Tabela 4).

**Tabela 3** Número e peso dos nódulos secos (mg planta<sup>-1</sup>) em plantas de soja cultivadas em solos tratados ou não com o herbicida sulfentrazone.

Sulfentrazone (mg kg <sup>-1</sup> )	Número de nódulos planta <sup>-1</sup>			Peso dos nódulos secos planta <sup>-1</sup>		
	24 DAE	46 DAE	75 DAE	24 DAE	46 DAE	75 DAE
0 (controle)	23,5 ± 2,25 a	43,38 ± 4,80a	57,63 ± 11,18a	25,99 ± 4,25a	126,50 ± 13,34 a	267,88 ± 39,74 a
0,7	18,13 ± 2,78 a	34,13 ± 7,73b	45,50 ± 14,78a	21,40 ± 2,70 b	121,25 ± 21,55a	295,75 ± 16,28 a

DAE – Dias após a emergência

Os dados representam valores médios de quatro repetições ± SE. Médias com diferentes letras na mesma coluna diferem significativamente entre si ( P ≤ 0,05, teste F)

**Tabela 4** Fixação específica do nitrogênio (FEN) em plantas de soja tratadas ou não com o herbicida sulfentrazona.

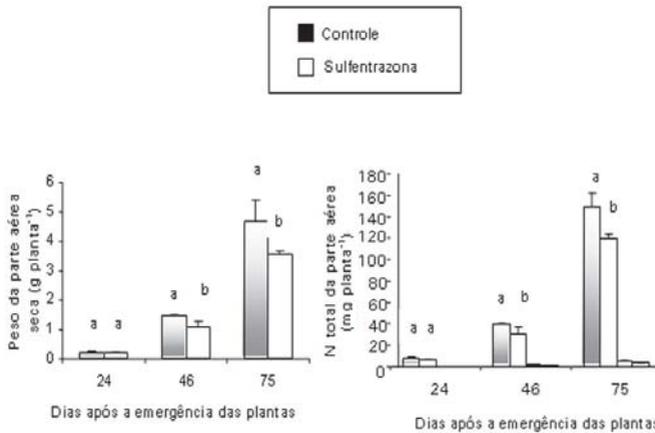
Sulfentrazona (mg kg <sup>-1</sup> )	FEN <sup>a</sup>			Peso de nódulos secos número de nódulos <sup>-1</sup> (Tamanho dos nódulos)		
	24 DAE	46 DAE	75 DAE	24 DAE	46 DAE	75 DAE
0 (controle)	0,30 ± 0,03 a	0,31 ± 0,04 a	0,55 ± 0,03 a	1,10 ± 0,19 a	2,93 ± 0,29 a	4,69 ± 0,36 a
0,7	0,32 ± 0,04 a	0,25 ± 0,04 a	0,40 ± 0,02 b	1,20 ± 0,23 a	3,65 ± 0,86 a	7,19 ± 2,84 b

DAE – Dias após a emergência

Os dados representam valores médios de quatro repetições ± SE. Médias com diferentes letras na mesma coluna diferem significativamente entre si (P ≤ 0,05, teste F)

<sup>a</sup> Quantidade de N assimilado peso de nódulos secos<sup>-1</sup>

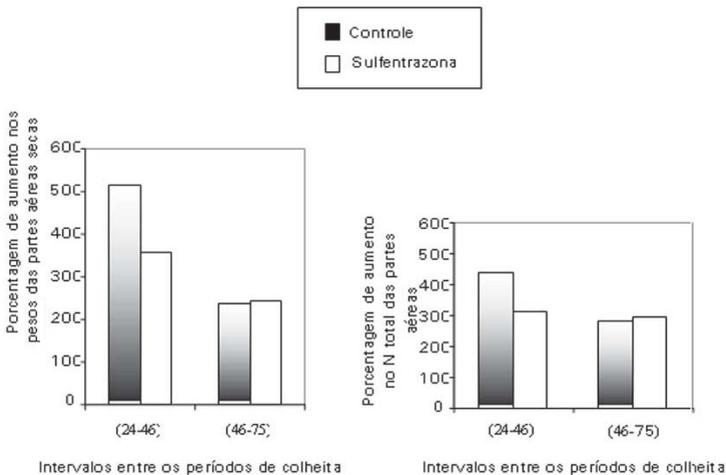
As plantas cultivadas na presença do herbicida também apresentaram menores acumulações de matéria seca da parte aérea e menores conteúdos em N total (Fig. 1). Estes efeitos foram observados a partir da segunda colheita das plantas. Em relação ao peso da parte aérea seca, decréscimos médios de 25% foram obtidos aos 46 e 75 DAE. As quantidades de N total acumuladas na parte aérea das plantas foram, em média, 18% menores no tratamento com herbicida. Não houve diferença entre os teores de P total nas plantas de ambos os tratamentos (dados não apresentados).



**Fig. 1.** Peso e conteúdo de N total na parte aérea das plantas de soja crescendo em solos tratados ou não com o herbicida sulfentrazona. Os dados são valores médios de quatro repetições. Médias com letras diferentes, dentro de cada tempo, diferem significativamente entre si (P ≤ 0,05, teste F). Barras = ± SE

Entre 46 e 75 DAE, ocorreu a recuperação na quantidade de N total e da matéria seca da parte aérea nas plantas que receberam o herbicida, ou seja, a percentagem de aumento em ambos os tratamentos foi praticamente a mesma (Fig. 2). Isto ocorreu concomitantemente com a recuperação da nodulação e um aumento médio no peso dos nódulos secos de 228%, em relação à avaliação anterior.

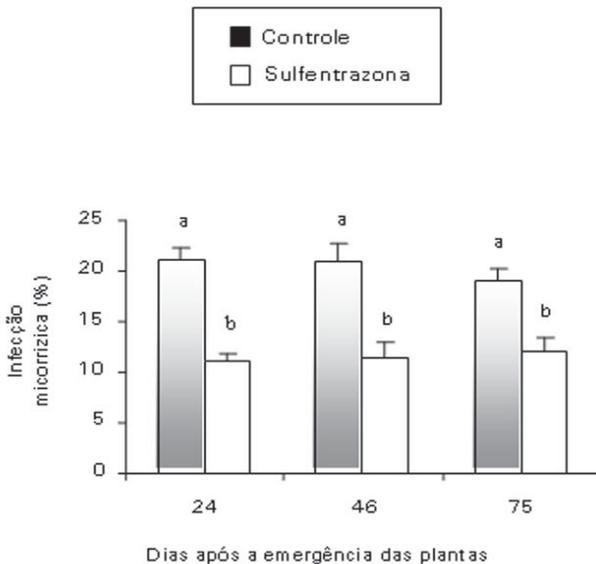
A percentagem de infecção micorrízica foi muito menor nas plantas crescendo na presença do herbicida. Em decorrência da aplicação da sulfentrazone foram obtidos decréscimos de 48, 45 e 37%, neste parâmetro, aos 24, 46 e 75 DAE, respectivamente, em relação às plantas controles (Fig. 3).



**Fig. 2.** Porcentagem de aumento no peso da parte aérea seca e no conteúdo em total na parte aérea da soja entre 24 e 46 dias após a emergência das plantas em solo tratado ou não com o herbicida sulfentrazone.

Não houve diferença significativa entre os números de vagens obtidos no controle e no tratamento com herbicida (Tabela 5). Os pesos das vagens secas e seus conteúdos em N total, por outro lado, foram bem menores nas plantas tratadas com o herbicida. Em ambos os casos, decréscimos médios de 45% foram observados.

A TCR foi 15% maior no tratamento controle no início do crescimento da soja (24 – 46 DAE). Dos 46 – 75 DAE não houve diferença entre os tratamentos com relação a este parâmetro (Tabela 6). O ICN foi 32% maior no tratamento controle (Tabela 6).



**Fig. 3.** Percentagem de infecção micorrizica em plantas de soja cultivadas em solos tratados ou não com o herbicida sulfentrazone. Dados são valores médios de quatro repetições. Médias com letras diferentes, dentro de cada tempo, diferem significativamente entre si ( $P \leq 0,05$ , teste F). Barras =  $\pm$  SE

**Tabela 5.** Número de vagens, peso das vagens secas e conteúdo de N total das vagens de plantas de soja cultivadas na presença ou não do herbicida sulfentrazone, aos 75 dias após a emergência das plantas.

Quantidade de sulfentrazone ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Número de vagens vaso <sup>-1</sup> pote	Peso das vagens secas ( $\text{g planta}^{-1}$ )	Conteúdo de N total nas vagens ( $\text{mg planta}^{-1}$ )
0 (controle)	$19,0 \pm 0,82$ a	$2,16 \pm 0,18$ a	$70,31 \pm 6,02$ a
0,7	$16,5 \pm 1,91$ a	$1,19 \pm 0,09$ b	$38,72 \pm 3,85$ b

Os dados representam valores médios de quatro repetições  $\pm$  SE. Médias com diferentes letras na mesma coluna diferem significativamente entre si ( $P \leq 0,05$ , teste F)

**Tabela 6.** Taxa de crescimento relativo (TCR) e índice de colheita de nitrogênio em plantas de soja crescendo em solos tratados ou não com o herbicida sulfentrazone.

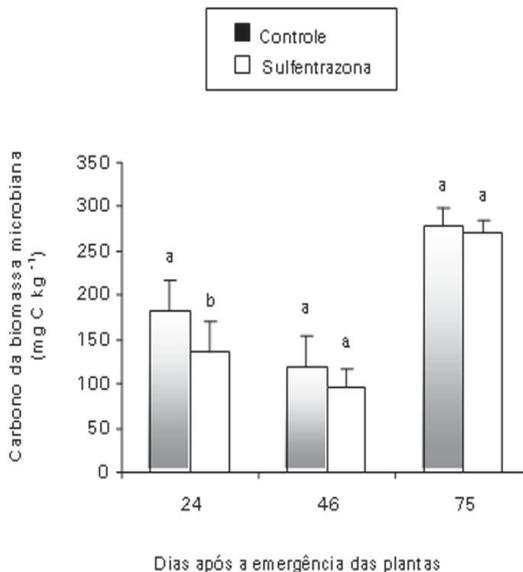
Sulfentrazone (mg kg <sup>-1</sup> )	TCR (mg g <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>		ICN <sup>b</sup>
	24 – 46 DAE	46 – 75 DAE	75 DAE
0 (controle)	80,95 ± 1,78 a	40,08 ± 5,38 a	0,47 ± 0,05 a
0,7	68,97 ± 8,01 b	41,70 ± 5,05 a	0,32 ± 0,03 b

<sup>a</sup>TCR = taxa de crescimento relativo =  $\ln PS2 - \ln PS1 / t2 - t1$

<sup>b</sup>ICN = índice de colheita de nitrogênio = N nas vagens aos 75 DAE / conteúdo de N total na parte aérea aos 75 DAE, incluindo vagens

Os dados representam valores médios de quatro repetições ± SE. Médias com diferentes letras na mesma coluna diferem significativamente entre si (  $P \leq 0,05$ , teste F)

O efeito detrimental da aplicação do herbicida no C da biomassa microbiana (Cmic) foi observado somente aos 24 DAE com uma redução de 26% em relação ao controle (Fig. 4). Na segunda avaliação (46 DAE) o Cmic em ambos os tratamentos diminuíram em relação à primeira avaliação, porém sem efeito significativo do herbicida. Na terceira colheita (75 DAE), os valores de Cmic foram muito maiores do que os observados nas outras coletas, mas sem efeito aparente da aplicação da sulfentrazone (Fig. 4).



**Fig. 4.** Carbono da biomassa microbiana em solos cultivados com soja e tratados ou não com o herbicida sulfentrazone. Dados são valores médios de quatro repetições. Médias com letras diferentes, dentro de cada tempo, diferem significativamente entre si ( $P \leq 0,05$ , teste F). Barras =  $\pm$  SE

## Discussão

O número de nódulos por vaso foi afetado mais do que o tamanho do nódulo, sugerindo um efeito direto da sulfentrazone sobre a iniciação do nódulo mais do que sobre o desenvolvimento do nódulo. Este efeito do herbicida é também observado quando se analisa a razão entre o peso dos nódulos secos e o número de nódulos, que foi maior no tratamento com herbicida, em todos os estágios de desenvolvimento da cultura, mesmo que dos 46 DAE aos 75 DAE os pesos dos nódulos fossem quase os mesmos em ambos os tratamentos. Efeitos adversos dos herbicidas sobre a iniciação dos nódulos já foram relatados para ervilha (GONZALEZ et al., 1996) e soja (ZAWOZNIK & TOMARO, 2005). Efeitos negativos de herbicida sobre a nodulação foi também observado por Anderson et al. (2004) em grão-de-bico. A menor fixação específica do nitrogênio, aos 46 e 75 DAE, no tratamento com sulfentrazone indicou que os nódulos fixaram menor quantidade de N do que o tratamento controle, com base no peso, apesar

dos nódulos terem sido maiores no tratamento com herbicida.

As plantas não tratadas com o herbicida mostraram, dos 24 aos 46 DAE, 507% de aumento no peso da parte aérea seca contra 365% das plantas tratadas com o herbicida. Embora nódulos maiores tenham maior zona para fixar nitrogênio do que nódulos menores, a alta demanda energética associada à fixação de  $N_2$ , resultará em grande demanda de fotossintatos para os nódulos maiores, comparativamente aos menores (KING & PURCELL, 2001). O decréscimo na acumulação de matéria seca nas plantas crescendo na ausência do herbicida foi 106% maior que o valor observado para as plantas cultivadas na presença do herbicida. Aos 75 DAE, no tratamento com herbicida, juntamente com uma recuperação de 228% no peso dos nódulos secos em relação à avaliação anterior, ocorreu também um aumento no teor de N total da parte aérea, ou seja, a percentagem de aumento em ambos os tratamentos foi praticamente a mesma. Abd-Alla & Omar (1993) relataram uma redução no conteúdo de N juntamente com um decréscimo no número de nódulos em plantas de feijão fava, que cresceram em solo tratado com herbicida. Por outro lado, considerando o efeito detrimental da sulfentrazone na percentagem de infecção micorrízica, o decréscimo no conteúdo de N total da parte aérea das plantas cultivadas na presença do herbicida pode ter ocorrido devido à baixa colonização por estes fungos. Os fungos micorrízicos também participam da aquisição de nitrogênio do solo pelas raízes colonizadas (SINGH, 1996). Os fungos MA podem também afetar o conteúdo de nitrogênio das plantas por meio de seus efeitos sobre o suprimento de açúcar para a fixação do nitrogênio pelos rizóbios nos nódulos (HAYMAN, 1982).

Embora existam vários trabalhos que demonstram os efeitos adversos dos herbicidas na colonização das raízes por fungos micorrízicos, este parece ser o primeiro com o herbicida sulfentrazone. Malty et al. (2006) não observaram efeito do herbicida glifosato na colonização micorrízica de soja. Por outro lado, Abd-Alla et al. (2000) verificaram que os herbicidas brominal e gramoxone inibiram a colonização das raízes de todas as leguminosas por eles estudadas. Outros trabalhos também mostraram menor colonização em culturas devido à aplicação de herbicidas no solo (PAULA & ZAMBOLIM, 1994; SANTOS et al., 2006) Contrariamente ao que foi observado para a nodulação, a colonização das raízes com fungos micorrízicos permaneceu baixa durante todo o ciclo da soja, demonstrando a maior sensibilidade deste simbiote. O efeito negativo de pesticidas sobre a colonização micorrízica por fungos MA tem sido atribuído, na maioria dos estudos, à inibição da germinação dos esporos para que o processo de infecção possa iniciar (SMITH & GIANINAZZI-PEARSON, 1988; DODD & JEFFRIES, 1989). A presença do

herbicida pode também afetar a produção de enzimas degradadoras da parede celular pelas hifas MA; estas enzimas são essenciais para que ocorra a infecção das raízes pelos fungos micorrízicos (ABD-ALLA et al., 2000).

Tem sido assumido que um dos efeitos benéficos dos fungos micorrízicos na fixação do  $N_2$  está relacionado ao aumento no suprimento de P para os nódulos (GEORGE et al., 1995). Porém, desde que nenhum aumento foi observado na percentagem de raízes colonizadas nas plantas tratadas com o herbicida, a recuperação da nodulação aos 46 DAE, pode estar relacionada a outros efeitos da simbiose que não um aumento na nutrição fosfatada. Além disso, as plantas crescendo na presença do herbicida mostraram tendência a apresentar menores concentrações de P na parte aérea. Do mesmo modo, Antunes et al. (2006) não atribuiu o aumento no número e peso dos nódulos secos em soja à maior absorção de P pelos fungos micorrízicos arbusculares.

Os pesos das vagens secas e seus conteúdos em N total foram os parâmetros que melhor demonstraram os efeitos detrimenais da presença do herbicida no cultivo da soja. Quando as vagens começam a ser formadas é necessário que ocorra uma maciça redistribuição do N das partes vegetativas para as partes reprodutivas das plantas. Embora os aumentos na matéria seca e no conteúdo de N total verificado dos 46 aos 75 DAE fossem iguais nas plantas de ambos os tratamentos, o TCR e o IRN foram, em média, 29% maior, respectivamente, para o tratamento sem sulfentrazone. Este fato indica que a maior redistribuição de N pelas plantas que não receberam sulfentrazone parece estar relacionada ao tamanho do 'pool' de N disponível na planta antes do estágio de enchimento das vagens. Resultados similares foram obtidos por Koutroubas et al. (1998) que verificaram que a matéria seca e a acumulação de N nos estágios iniciais de crescimento é um fator importante na obtenção de altos rendimentos da soja.

O C da biomassa microbiana foi 26% menor no tratamento com herbicida no início do ciclo de desenvolvimento da cultura. Decréscimos máximos de 20,3% e 25% já foram obtidos por outros autores para tratamentos envolvendo, respectivamente, o rimsulfuron (VISCHETTI et al., 2000) e o imazamox (VISCHETTI et al., 2002). Os valores similares obtidos para o Cmic dos 46 aos 75 DAE, em ambos os tratamentos, podem estar relacionados à adaptação dos microrganismos ao herbicida. As elevadas recuperações do herbicida associada aos altos valores de Cmic obtidos, podem indicar uma ausência de correlação entre o tamanho da Cmic e sua capacidade para degradar sulfentrazone. Estes dados estão de acordo com Ghani et al. (1996) que não verificaram correlação entre a biomassa microbiana total e ativa com a

degradação de pesticida. Ao contrário, Voos & Groffman (1997) sugerem que existe uma relação entre o tamanho da biomassa microbiana e a capacidade de degradação de herbicida em um ecossistema. O aumento do Cmic nos tratamentos com e sem herbicida, aos 75 DAE, pode ser devido a um aumento da disponibilidade de C orgânico liberado pelos organismos mortos por algum distúrbio que ocorreu aos 46 DAE e que foi danoso aos microrganismos em ambos os tratamentos. A degradação microbiana é citada como um importante mecanismo de dissipação da sulfentrazone no solo (OHMES et al., 2000). Neste trabalho foi impossível tirar conclusões sobre a função dos microrganismos na degradação do herbicida em questão. Do mesmo modo que é interessante estudar a biomassa dos microrganismos, em trabalhos futuros, será também importante avaliar mudanças na estrutura da comunidade microbiana. Lupwayi et al. (2004) obtiveram dados mostrando mudanças na população de microrganismos em resposta a herbicidas, mesmo quando o C microbiano não foi afetado em relação ao controle. Recentemente, Daugrois et al. (2005), relataram que a sulfentrazone alterou a diversidade funcional da comunidade microbiana, embora não tenham quantificado o Cmic.

Em virtude da alta persistência do herbicida sulfentrazone no solo precauções devem ser tomadas com relação à sua utilização. Pesquisas adicionais devem ser conduzidas no sentido de verificar como a aplicação repetida de tal pesticida poderá afetar a comunidade de microrganismos no solo e as suas funções. Do mesmo modo, seria interessante estudar como o desenvolvimento de populações resistentes a este herbicida poderá afetar os processos biológicos do solo.

## Conclusões

Este trabalho demonstrou que a aplicação de sulfentrazone foi deletéria para os processos simbióticos na soja e, portanto, a sua utilização para controlar ervas daninhas em soja deveria ser evitada até que testes adicionais, a campo, sejam conduzidos.

## Agradecimento

À FAPESP (Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo apoio financeiro.

## Referências

- ABD-ALLA, M.H.; OMAR, S.A. Herbicides effects on nodulation, growth and nitrogen yield of faba bean induced by indigenous *Rhizobium leguminosarum*. **Zentralblatt fur Mikrobiologie**, v.148, p.593-597, 1993.
- ABD-ALLA, M.H.; OMAR, S.A.; KARANXHA, S. The impact of pesticides on arbuscular mycorrhizal and nitrogen-fixing symbioses in legumes. **Applied Soil Ecology**, v.14, p. 191-200, 2000.
- ANDERSON, A.; BALDOCK, J.A.; ROGERS, S.L.; BELLOTTI, W.; GILL, G. Influence of chlorsulfuron on rhizobial growth, nodule formation, and nitrogen fixation with chickpea. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.55, p.1059-1070, 2004.
- ANTUNES, P.M.; DE VARENNES, A.; RAJCAN, I.; GOSS, M.J. Accumulation of specific flavonoids in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) as a function of the early tripartite symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi and *Bradyrhizobium japonicum* (Kirchner) Jordan. **Soil Biology and Biochemistry**, v.38, p.1234-1242, 2006.
- ARRUDA, J.S.; LOPES, N.F.; BACARIN, M.A. Nodulação e fixação do dinitrogênio em soja tratada com sulfentrazone. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, p.325-330, 2001.
- ASSALIN, M. R., ABAKERLI, R. B., FAY, E. F., SILVA, C. M. M. Metodologia para análise do herbicida sulfentrazone em água e solo. In: **III Congresso Virtual Iberoamericano sobre Gestión de Calidad en Laboratorios**, Madri pp 295–297, 2005.
- BAREA, J.M.; AZCON-AGUILAR, C. Mycorrhizas and their significance in nodulating nitrogen-fixing plants. **Advances in Agronomy**, v.36, p.1-54, 1983.
- BOLLICH, P.K.; DUNIGAN, E.P.; KITCHEN, L.M.; TAYLOR, V. The influence of trifluralin and pendimethalin on nodulation, N<sub>2</sub> (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) fixation, and seed yield of field grown soybeans (*Glycine max*). **Weed Science**, v.36, p.15-19, 1988.

DAUGROIS, J.H.; HOY, J.W.; GRIFFIN, J.L. Protoporphyrinogen oxidase inhibitor herbicide effects on *Pythium* root rot of sugarcane, *Pythium* species, and the soil microbial community. **Phytopathology**, v.95, p.220-226, 2005.

DODD, J.C.; JEFFRIES, P. Effect of fungicides on three vesicular-arbuscular mycorrhiza fungi associated with winter wheat (*Triticum aestivum* L.). **Biology and Fertility of Soils**, v.7, p.120-128, 1989.

GEORGE, E.; MARSCHNER, H.; JAKOBSEN, I. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in uptake of phosphorus and nitrogen from soil. **Critical Reviews in Biotechnology**, v.15, p. 257-270, 1995.

GHANI, A.; WARDLE, D.A.; RAHMAN, A.; LAUREN, D.R. Interactions between <sup>14</sup>C-labelled atrazine and the soil microbial biomass in relation to herbicide degradation **Biology and Fertility of Soils**, v.21, p.17-22, 1996.

GONZALEZ, A.; GONZALEZ MURUA, C.; ROYUELA, M. Influence of imazethapyr on *Rhizobium* growth and its symbiosis with pea (*Pisum sativum*). **Weed Science**, v.44, p. 31-37, 1996.

GONZALEZ, N.; EYHERABIDE, J.J.; BARCELLONA, M.I.; GASPARI, A.; SANMARTINO, S. Effect of soil interacting herbicides on soybean nodulation in Balcarce, Argentina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, p.1167-1173, 1999.

HAYMAN, D.S. The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis. **Canadian Journal of Botany**, v.61, p.944-963, 1982.

KING, C.A.; PURCELL, L.C. Soybean nodule size and relationship to nitrogen fixation response to water deficit. **Crop Science**, v.41, p.1099-1107, 2001.

KOUTROUBAS, S.D.; PAPAKOSTA, D.K.; GAGIANAS, A.A. The importance of early dry matter and nitrogen accumulation in soybean yield. **European Journal of Agronomy**, v.9, p.1-10, 1998.

LUPWAYI, N.Z.; HARKER, K.N.; CLAYTON, G.W.; TURKINGTON, T.K.; RICE, W.A.; O'DONOVAN, J.T. Soil microbial biomass and diversity after herbicide application. **Canadian Journal of Plant Science**, v.84, p.677-685, 2004.

MALLIK, M.A.B.; TESFAI, K. Pesticidal effect on soybean-rhizobia symbioses. **Plant and Soil**, v.85, p.33-41, 1985.

MALTY, J.S.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Efeitos do glifosato sobre microrganismos simbiotróficos de soja, em meio de cultura e casa de vegetação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.285-291, 2006.

MATSUNAMI, T.; KAIHATSU, A.; MAEKAWA, T.; TAKAHASHI, M.; KOKUBUN, M. Characterization of vegetative growth of a supernodulating soybean genotype, Sakukei 4. **Plant Production Science**, v.7, p.165-171, 2004.

NANDIHALLI, U.B.; DUKE, S.O. The porphyrin pathway as a herbicide target site. . In: DUKE, S.O.; MENN, J.J.; PLIMMER, J.R. (Ed.). **Pest control with enhanced environmental safety**. Washington: American Chemical Society, 1993. p.62-72. (American Chemical Society Symposium Series, 524).

OHMES, G.A.; HAYES, R.M.; MUELLER, T.C. Sulfentrazone dissipation in a Tennessee soil. **Weed Technology**, v.14, p.100-105, 2000.

PAULA JR., T.J.; ZAMBOLIM, L. Efeito de fungicidas e de herbicidas sobre a micorrização de *Eucalyptus grandis* por *Glomus etunicatum*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 19, p.173-177, 2006.

SANTOS, J.B.; JAKELAITIS, A.; SILVA, A.A.; COSTA, M.D.; MANABE, A.; SILVA, M.C.S. Action of two herbicides on the microbial activity of soil cultivated with common bean (*Phaseolus vulgaris*) in conventional-till and no-till systems. **Weed Research**, v.46, p.284-289, 2006.

SINGH, C.S. Arbuscular mycorrhiza (AM) in association with *Rhizobium* sp. improves nodulation, N<sub>2</sub> fixation, and N utilization of pigeon pea (*Cajanus cajan*), as assessed with <sup>15</sup>N technique, in pots. **Microbiological Research**, v.15, p.87-92, 1996.

SMITH, S.E.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.39, p.221-244, 1988.

SREENIVASA, M.N.; BAGYARAJ, D.J. Use of pesticides for mass production of vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculum. **Plant and Soil**, v.119, p.127-132, 1989.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: UFRGS, 1985. (Boletim técnico, 5). 174p.

VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, v.19, p.703-707, 1987.

VEJSADOVÁ, H.; SIBLÍKOVÁ, D.; HRSELOVÁ, H.; VANCURA, V. Effect of the AM fungus *Glomus* sp. on the growth and yield of soybean inoculated with *Bradyrhizobium japonicum*. **Plant and Soil**, v.140, p.121-125, 1992.

VEJSADOVÁ, H.; SIBLÍKOVÁ, D.; GRYNDLER, M.; SIMON, T.; MIKSIK, I. Influence of inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and *Glomus claroideum* on seed yield of soybean under greenhouse and field conditions. **Journal of Plant Nutrition**, v.16, p.619-629, 1993.

VISCHETTI, C.; PERUCCI, P.; SCARPONI, L. Relationship between rimsulfuron degradation and microbial biomass content in a clay loam soil. **Biology and Fertility of Soils**, v.31, p.310-314, 2000.

VISCHETTI, C.; CASUCCI, C.; PERUCCI, P. Relationship between changes of soil microbial biomass content and imazamox and benfluralin degradation. **Biology and Fertility of Soils**, v.35, p.13-17, 2002.

VOOS, G.; GROFFMAN, P.M. Relationship between microbial biomass and dissipation of 2,4-D and dicamba in soil. **Biology and Fertility of Soils**, v.24, p.106-110, 1997.

ZAIDI, A.; KHAN, M.S.; RIZVI, P.Q. Effect of herbicides on growth, nodulation and nitrogen content of greengram. **Agronomic Sustainable Development**, v.25, p.497-504, 2005.

ZAWOZNIK, M.S.; TOMARO, M.L. Effect of chlorimuron-ethyl on *Bradyrhizobium japonicum* and its symbiosis with soybean. **Pest Management Science**, v.61, p.1003-1008, 2005.

**Embrapa**

---

*Meio Ambiente*

**Ministério da Agricultura,  
Pecuária e Abastecimento**

