

# Efeitos da aplicação de herbicidas sobre a nodulação e desenvolvimento de soja inoculada com estirpes de *Bradyrhizobium* sp.<sup>1</sup>

Décio Scholles<sup>2</sup>, Fernando Gustavo Mohr dieck<sup>3</sup>, Luciano Kayser Vargas<sup>4</sup>  
e Enilson Luiz Saccol de Sá<sup>5</sup>

**Resumo** - A soja tem sido produzida, tradicionalmente, em sistemas que incluem a utilização de herbicidas, muitas vezes em doses acima das recomendadas. O processo de fixação simbiótica de nitrogênio em leguminosas pode ser prejudicado por esses agrotóxicos, tanto por efeitos diretos sobre o rizóbio, como indiretos, sobre a planta hospedeira. Com o objetivo de avaliar o efeito de doses de diferentes herbicidas, bem como o efeito residual desses produtos, sobre estirpes de *Bradyrhizobium* e sobre a nodulação da soja, foram realizados dois experimentos em vasos com solo, conduzidos em casa de vegetação. Em ambos experimentos, as sementes de soja foram inoculadas com as estirpes SEMIA 587 (*Bradyrhizobium elkanii*), SEMIA 5074 ou SEMIA 5079 (*Bradyrhizobium japonicum*). No primeiro experimento, foram aplicados os herbicidas alaclor, imazaquin, metolacolor e metribuzin, na dose recomendada (1x), dez vezes a dose recomendada (10x) e controle sem aplicação. Aos 30 e 55 dias após a germinação, foram avaliados o número e a massa seca de nódulos, a quantidade de nitrogênio total e a massa seca da parte aérea das plantas de soja. No segundo, visando verificar-se o efeito da reaplicação de herbicidas na nodulação da soja, os herbicidas alaclor, imazaquin e metolacolor foram aplicados, nas doses recomendadas, no solo que já havia recebido as mesmas doses no experimento anterior. A aplicação do dobro da dose recomendada foi feita no solo com o tratamento controle. Já o solo que havia recebido a dose equivalente a dez vezes a recomendada, não recebeu reaplicação. Como controle, utilizou-se solo semeado com soja inoculada com as estirpes de *Bradyrhizobium*, sem aplicação de herbicidas. O experimento foi colhido 40 dias após a semeadura, sendo avaliados o número e a massa seca de nódulos e a massa seca da parte aérea. A aplicação da dose recomendada dos herbicidas não diferiu do controle sem aplicação de herbicidas. Já a dose 10 x afetou negativamente todas as variáveis analisadas. A estirpe SEMIA 587 foi a mais eficiente e a mais tolerante aos herbicidas utilizados, enquanto a estirpe SEMIA 5079 foi a mais sensível. O herbicida metribuzin foi o mais tóxico, seguido por metolacolor. A reaplicação dos herbicidas na dose recomendada não foi prejudicial, indicando uma dissipação significativa dos produtos 80 dias após a sua aplicação.

**Palavras-chave:** Rhizobium, fixação simbiótica de nitrogênio, toxicidade, alaclor, imazaquin, metolacolor, metribuzin

## Effects of herbicides on nodulation of soybean inoculated with *Bradyrhizobium* sp. strains

**Abstract** - Soybean crop systems have been traditionally based on the application of herbicides, frequently above the recommended dosages. The use of herbicides may be detrimental to the process of biological nitrogen fixation in legumes, due to direct effects on rhizobia or indirect effects on the host plant. Two experiments were performed in greenhouse, in pots with soil, intending to evaluate the effects of dosages of herbicides and their residual effects over strains of *Bradyrhizobium* and over soybean nodulation. In both experiments, soybean seeds were inoculated with the strains SEMIA 587 (*Bradyrhizobium elkanii*), SEMIA 5074 and SEMIA 5079 (*Bradyrhizobium japonicum*). In the first experiment, the herbicides alachlor, imazaquin, metolachlor and metribuzin were applied in the recommended dosage (1x) and in a dosage ten times greater (10x), besides a standard treatment without herbicide application. The number and dry matter of nodules and the dry matter and nitrogen content of soybean shoots were determined 30 and 55 days after the seeds germination. In the second experiment, the herbicides alachlor, imazaquin and metolachlor were applied, in the recommended dosage, in the soil that had already received that dosage, in the previous

<sup>1</sup> Parte da Dissertação de Mestrado apresentada pelo segundo autor à Universidade Federal do Rio Grande do Sul para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia Agrícola e do Ambiente.

<sup>2</sup> Eng. Agr., M. Sc., Departamento de Solos, UFRGS, Caixa Postal 15100, CEP 90001-970, Porto Alegre-RS.

<sup>3</sup> Eng. Agr., M. Sc., FEPAM, Rua Carlos Chagas, 55 - 5º andar, 90030-020, Porto Alegre, RS.

<sup>4</sup> Eng. Agr., Dr., FEPAGRO, Rua Gonçalves Dias, 570, CEP 90130-060, Porto Alegre - RS.

<sup>5</sup> Eng. Agr., Dr., Departamento de Solos, UFRGS, Caixa Postal 15100, CEP 90001-970, Porto Alegre-RS.

Recebido para publicação em 03/12/2003

experiment. In the soil where no herbicide had been applied, it was made an application of twice the recommended dosage. The soil that had received the dosage 10x received no further treatment, in order to evaluate the residual effect of the herbicides in soybean nodulation, 80 days after their application. As control treatments, soil was seeded with soybean inoculated with the Bradyrhizobium strains, with no herbicide. The experiment was harvested 40 days after soybean seeding and the number and mass of nodules and the dry matter of shoots were analyzed. The application of the recommended dosages of the herbicides had no effect, while the application of the dosage 10x was prejudicial to all variables analyzed. The Bradyrhizobium strain SEMIA 587 was more efficient and more tolerant to the applied herbicides. SEMIA 5079 was the most sensitive strain. The herbicide metribuzin was the most toxic, followed by metolachlor. The reapplication of the recommended dosage had no effect, showing that the herbicides were expressively dissipated 80 days after their application.

**Key words:** Rhizobium, symbiotic nitrogen fixation, toxicity, alachlor, imazaquin, metolachlor, metribuzin

## Introdução

Atualmente, o Brasil é o segundo maior produtor de soja do mundo, sendo responsável por cerca de 20% da produção mundial dessa cultura. Tal produção faz com que a soja se constitua no principal produto agrícola de exportação do país (BRANDÃO JÚNIOR e HUNGRIA, 2000).

Além de sua importância econômica, a soja apresenta uma notável função ecológica, uma vez que é capaz de fixar nitrogênio atmosférico por meio da simbiose com bactérias dos gêneros Bradyrhizobium e Sinorhizobium. A simbiose rizóbio-leguminosa possibilita o aumento do nitrogênio total do solo (AMADO et al., 2000) e, especificamente no caso da soja, supre integralmente as necessidades da cultura em relação a esse nutriente (CAMPOS et al., 2001), dispensando a utilização de fertilizantes nitrogenados, os quais oneram a produção agrícola e constituem-se em fontes potenciais de poluição ambiental (MALHI et al., 2001).

Por outro lado, a soja tem sido produzida em sistemas com alto nível tecnológico, geralmente incluindo a utilização de agrotóxicos, com destaque para os herbicidas. Estima-se que, atualmente, a cultura da soja consuma praticamente a metade do volume de herbicidas comercializados no país (REGITANO et al., 2001). Essa classe de agrotóxico assume importância ainda maior no sistema plantio direto, o qual é baseado no uso de herbicidas para o controle de plantas invasoras (REGITANO et al., 2001), e com a de utilização de variedades transgênicas resistentes a um dado herbicida (AHMAD e MALLOCH, 1995). Devido ao seu emprego generalizado, muitas vezes em doses acima das recomendadas, o uso de herbicidas traz como riscos a contaminação de águas subterâneas e superficiais (BURGARD et al., 1994) e

prejuízos a outros organismos, que não a população alvo de plantas (ECHEVERRIGARAY et al., 1999).

A comunidade microbiana do solo é um dos componentes importantes do ecossistema que podem ser afetados pela aplicação de herbicidas. Os efeitos sobre a comunidade microbiana do solo da presença de um herbicida ou de produtos de sua degradação variam de acordo com a formulação química do herbicida, a dose aplicada e o grupo microbiano considerado. Enquanto alguns herbicidas não interferem nas populações microbianas (HARRIS et al., 1995), outros podem estimular ou reduzir a atividade microbiana como um todo ou afetar apenas determinadas populações. WARDLE et al. (1999) observaram um aumento da biomassa microbiana em solo tratado com atrazina por sete anos consecutivos. Um efeito benéfico sobre a comunidade microbiana também foi constatado com a aplicação de uma dose de 0,67 mg/g de 2,4-D ao solo (PRADO e AIROLDI, 2000). No entanto, a aplicação de doses mais elevadas causou o decréscimo da atividade microbiana, provavelmente em função do acúmulo de subprodutos tóxicos formados a partir da degradação do 2,4-D. Além dessas alterações sobre a comunidade microbiana, podem ser encontrados efeitos específicos de herbicidas sobre grupos ou espécies microbianas, pois a tolerância ou a sensibilidade a um herbicida varia grandemente entre os diferentes microrganismos. A presença de 1 mM de fosfotricina reduziu em cerca de 20% o número de fungos isolados de solos agrícolas tratados com esse herbicida (AHMAD e MALLOCH, 1995). Dentre as bactérias, essa redução foi ainda mais acentuada, ficando em torno de 40%. E, em cada um desses grupos microbianos, também foi constatada uma ampla

variação na resistência ao herbicida, encontrando-se tanto espécies tolerantes, quanto sensíveis.

Dentre os grupos microbianos que podem ser afetados por herbicidas, encontram-se as bactérias capazes de fixar nitrogênio em associação com leguminosas, conhecidas genericamente como rizóbios. Como consequência, o processo de fixação simbiótica de nitrogênio em leguminosas pode ser prejudicado por esses agrotóxicos. Os efeitos de herbicidas sobre o processo de fixação simbiótica de nitrogênio podem ser diretos, quando afetam o rizóbio, ou indiretos, quando afetam a planta hospedeira. Prejuízos à nodulação (SILVA et al., 1998; ABD-ALLA et al., 2000), à sobrevivência de rizóbios (MOORMAN, 1986) e ao desenvolvimento de plantas (ABD-ALLA et al., 2000) têm sido frequentemente verificados com a aplicação de diferentes herbicidas em diferentes culturas, embora até possam ocorrer benefícios para a fixação simbiótica de nitrogênio em alguns casos (MOORMAN, 1986).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de doses de diferentes herbicidas, bem como o efeito residual desses produtos, sobre a nodulação e o desenvolvimento de soja inoculada com diferentes estirpes de *Bradyrhizobium*.

## Material e métodos

Foram realizados dois experimentos trifatoriais, no delineamento completamente casualizado com três repetições. Os três fatores considerados foram: estirpes, herbicidas, e doses de herbicidas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de significância de 5%.

Nos experimentos, foram utilizadas as estirpes de *Bradyrhizobium elkanii* SEMIA 587 e de *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 5074 (=USDA 123 ERY/STR/A-1) e SEMIA 5079 (=CPAC15, DF 24), obtidas da Coleção de Culturas de Rizóbio da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária - FEPAGRO (Porto Alegre, RS). Foram aplicados os herbicidas alaclor (48% de ingrediente ativo), imazaquin (15% i.a.), metolacolor (72% i.a.) e metribuzin (48% i.a.). Os produtos foram utilizados em suas formulações comerciais, depois de verificada a ausência de contaminação microbiana.

Efeito de doses de herbicidas na nodulação de soja inoculada com diferentes estirpes - O ex-

perimento foi realizado em casa de vegetação, em vasos plásticos contendo 2,5 kg de solo, classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo. O solo utilizado não havia sido cultivado anteriormente com soja e, para avaliar a presença de *Bradyrhizobium* nativo, foi feito um cultivo prévio de soja, em três vasos, por 60 dias, não sendo constatada a formação de nódulos.

O solo foi previamente destorroado e peneirado em malha de 2,0 mm. As análises químicas indicaram 2,5 mg kg<sup>-1</sup> de P, 58 mg kg<sup>-1</sup> de K, 0,8 % de M. O. e pH 4,9. Para extração do nitrogênio inorgânico do solo, o qual pode inibir a formação de nódulos, foi efetuado o plantio de sorgo nos vasos por 40 dias. Após a retirada do sorgo, o solo foi novamente destorroado, sendo feita a correção com uma dose equivalente a 1 100 kg ha<sup>-1</sup> de uma mistura de Carbonato de Cálcio e Carbonato de Magnésio na proporção de 3:1, respectivamente. Após, foi efetuada uma adubação com doses equivalentes a 300 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, na forma de superfosfato triplo, e 300 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, na forma de cloreto de potássio. A aplicação de micronutrientes foi feita na forma de soluções, nas seguintes doses: 5 mg de enxofre/kg de solo, 1 mg de zinco/kg de solo, 1 mg de cobre/kg de solo, 1 mg de boro/kg de solo e 0,25 mg de molibdênio/kg de solo.

A determinação da umidade gravimétrica indicou a capacidade de campo de 12,5%. A umidade do solo foi mantida em 80% da capacidade de campo por meio de pesagens diárias dos vasos e reposição da quantidade de água necessária.

Os tratamentos consistiram na inoculação das três estirpes de *Bradyrhizobium* sp. em sementes de soja e da aplicação dos quatro herbicidas ao solo. As sementes de soja da variedade Ipagro 21 foram misturadas aos inoculantes contendo uma das três estirpes, na proporção de 200 g de inoculante para 60 kg de sementes. No experimento, utilizou-se 1,0 g de inoculante para 300 g de sementes. As estirpes foram inoculadas com inoculante turfoso fornecido pelo Laboratório de Fixação Biológica de Nitrogênio da FEPAGRO. Os inoculantes utilizados continham 2,4 x 10<sup>8</sup> U.F.C. da estirpe SEMIA 587; 3,1 x 10<sup>8</sup> U.F.C. de SEMIA 5074 ou 2,9 x 10<sup>8</sup> U.F.C. de SEMIA 5079. Foram semeadas oito sementes por vaso, permanecendo duas plantas por vaso após o desbaste.

Os herbicidas foram aplicados em pré-emergência, um dia após a semeadura e sem incorpora-

ção, nas doses recomendada (1 x), dez vezes maior (10 x) e controle sem aplicação.

As avaliações, realizadas aos 30 e 55 dias após a germinação, consistiram da contagem de nódulos e das determinações da massa seca de nódulos, da massa seca da parte aérea das plantas de soja. O teor de nitrogênio total da parte aérea foi determinado aos 30 dias após a germinação, pelo método semi-micro Kjeldhal descrito por Tedesco et al. (1995). A quantidade de nitrogênio acumulado na parte aérea da soja foi obtida multiplicando-se o percentual de nitrogênio determinado nas amostras pela massa seca da parte aérea.

Estudo do efeito residual de herbicidas na nodulação e desenvolvimento da soja - Para avaliar-se o efeito residual dos herbicidas, sementes de soja da variedade Ipagro 21 foram misturadas aos inoculantes contendo as mesmas estirpes utilizadas no experimento anterior.

Como tratamentos, efetuou-se a aplicação dos herbicidas alaclor, imazaquin e metolacoloro nos vasos onde havia sido plantada a soja do experimento anterior, correspondentes à primeira época de avaliação. Aplicaram-se as doses recomendadas destes três herbicidas nos vasos do experimento anterior que já tinham recebido esta dose, visando verificar o efeito da reaplicação de herbicidas. A aplicação do dobro da dose recomendada (2 x) ocorreu nos vasos correspondentes ao tratamento controle (sem herbicida). Já os vasos que haviam recebido a dose equivalente a dez vezes a recomendada (10 x), não receberam reaplicação, com

o objetivo de verificar o efeito residual na nodulação da soja após 80 dias de aplicação dessa dose. Como controle, utilizou-se solo semeado com soja inoculada com as estirpes de *Bradyrhizobium*, sem aplicação de herbicidas.

Antes do plantio da soja, o solo recebeu uma adubação em forma líquida equivalente a 150 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 100 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O. O experimento foi colhido 40 dias após a semeadura, sendo avaliados o número e o a massa seca de nódulos e a massa seca da parte aérea.

## Resultados e discussão

A análise da variância dos dados de ambos experimentos revela a ocorrência de interações entre os três fatores analisados (Tabela 1). No primeiro experimento, observa-se que a nodulação (número e massa de nódulos) foi afetada pela estirpe inoculada, pela dose do herbicida e pela interação entre eles. Tal interação, no entanto, não foi observada com relação à produção de massa seca na parte aérea da soja, a qual foi dependente do herbicida e da dose aplicada. Já com relação à quantidade de nitrogênio na parte aérea das plantas de soja, observou-se uma interação significativa entre herbicidas e doses e entre os três fatores analisados. No segundo experimento, ocorreram interações duplas entre estirpes e doses de herbicidas, afetando o número de nódulos, entre herbicidas e doses, afetando a massa de nódulos, e entre estirpes e herbicidas, afetando a massa seca da parte aérea de soja.

EFEITOS DA APLICAÇÃO DE HERBICIDAS SOBRE A NODULAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE SOJA INOCULADA COM ESTIRPES DE *BRADYRHIZOBIUM* SP

Tabela 1. Graus de liberdade e quadrados médios das causas de variação da análise de variância de dois experimentos com soja inoculada com estirpes de *Bradyrhizobium* sp. e tratada com herbicidas em diferentes doses

		Experimento 1						
Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio						
		Nº Nódulos		Massa de Nódulos		Massa Seca de Soja		Nitrogênio Total
		30 dias	55 dias	30 dias	55 dias	30 dias	55 dias	55 dias
Estirpes (E)	2	4463,59 *	14372,79 *	0,132 *	0,297 *	2,776 *	5,77 *	4092,49 *
Herbicidas (H)	3	142,24 ns	3230,11 *	0,006 ns	0,047 *	5,041 *	9,97 *	2730,42 *
Doses (D)	2	1546,93 *	30974,48 *	0,630 *	2,075 *	66,511 *	23,80 *	48979,89 *
E x H	6	155,86 ns	781,55 ns	0,002 ns	0,014 *	0,426 ns	0,33 ns	796,46 ns
E x D	4	505,06 *	1030,23 *	0,002 ns	0,016 *	0,168 ns	0,27 ns	70,81 ns
H x D	6	330,38 ns	2995,84 *	0,009 ns	0,106 *	2,822 *	14,55 *	1794,11 *
E x H x D	12	190,99 ns	397,37 ns	0,011 *	0,008 ns	0,188 ns	0,45 ns	750,22 *
Erro	72	178,04	254,01	0,06	0,005	0,193	0,54	366,19

  

		Experimento 2		
Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio		
		Nº Nódulos	Massa de Nódulos	Massa Seca de Soja
Estirpes (E)	2	1347,81 *	0,025 *	0,469 ns
Herbicidas (H)	3	1332,33 *	0,121 *	3,223 *
Doses (D)	2	277,93 *	0,017 ns	0,500 *
E x H	6	91,31 ns	0,006 ns	0,455 *
E x D	4	213,52 *	0,015 ns	0,241 ns
H x D	6	177,04 ns	0,019 *	0,269 ns
E x H x D	12	159,57 ns	0,012 ns	0,574 ns
Erro	72	76,29	0,007	0,151

\* Significativo a 5% de probabilidade de erro. ns Não-significativo.

Efeito de herbicidas em diferentes doses sobre a nodulação, rendimento de massa seca e teor de nitrogênio da soja inoculada com diferentes estirpes de rizóbio - Com relação ao número de nódulos formados, ocorreu uma interação significativa entre a estirpe e a dose de herbicida aplicada (Tabela 2). A aplicação dos herbicidas em doses dez vezes superiores às recomendadas (10 x) foi prejudicial à nodulação da

soja inoculada com as estirpes de rizóbio, independentemente do produto utilizado. Com a aplicação dos herbicidas na dose recomendada (1 x), o número de nódulos não diferiu do tratamento controle para qualquer das estirpes, nas duas épocas de avaliação. Nos tratamentos controle e 1 x, a soja inoculada com a estirpe SEMIA 587 apresentou um número de nódulos superior às inoculadas com as demais estirpes.

Tabela 2. Número de nódulos(1) em soja inoculada com diferentes estirpes de rizóbio e submetida à aplicação de herbicidas em diferentes concentrações. Médias de 12 repetições

Estirpe	Controle	Equivalente à dose recomendada				
		1 x	10 x			
1ª Avaliação: 30 dias após a germinação						
SEMIA 587	51	aA	62	aA	9	aB
SEMIA 5074	32	bA	30	bA	1	bB
SEMIA 5079	31	bA	34	aA	1	bB
2ª Avaliação: 55 dias após a germinação						
SEMIA 587	103	aA	102	aA	45	aB
SEMIA 5074	58	bA	55	bA	24	bB
SEMIA 5079	72	bA	76	aA	12	bB

Valores seguidos de mesma letra, minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas, dentro de cada época, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

(1) Média de duas plantas

A massa seca de nódulos da soja, aos 30 dias após a germinação (Tabela 3), foi afetada pelo princípio ativo do herbicida, pela dose utilizada e pela estirpe de rizóbio inoculada. A soja inoculada com a estirpe SEMIA 587 foi mais tolerante ao herbicida imazaquin do que a inoculada com as estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5074, não tendo sido afetada, com relação à massa seca de nódulos, mesmo na dose 10 x. A estirpe SEMIA 587 também foi mais tolerante ao herbicida alaclor. Embora tenha havido uma diminuição da massa de nódulos com a aplicação da dose 10 x de alaclor, mesmo assim a massa de nódulos formados pela estirpe SEMIA 587 foi superior. Por sua vez, a aplicação de metolacolor, na dose recomendada, diminuiu a massa de nódulos da soja inoculada com SEMIA 5074.

A aplicação do herbicida na dose 10 x inibiu completamente a nodulação com a estirpe SEMIA 5074 e reduziu-a com as demais. Já a aplicação do herbicida imazaquin, na dose 10 x, provocou a inibição da nodulação com a estirpe SEMIA 5079 e a redução na nodulação com a estirpe SEMIA 5074.

Verificou-se que, na primeira época de avaliação, a dose recomendada (1 x) dos herbicidas não afetou a nodulação das três estirpes utilizadas. O número e a massa de nódulos igualaram-se aos do controle sem aplicação de herbicidas. Resultados semelhantes foram obtidos por DUNIGAN et al. (1972) e KAPUSTA e ROUWENHORST (1973), que verificaram que a aplicação de herbicidas na dose recomendada pelos fabricantes causou pouco ou nenhum efeito sobre a nodulação de leguminosas.

**Tabela 3.** Massa seca de nódulos(1) em soja inoculada com diferentes estirpes de rizóbio e submetida à aplicação de herbicidas em diferentes concentrações. Médias de três repetições

Herbicida	Doses	Estirpes					
		SEMIA 587		SEMIA 5074		SEMIA 5079	
		mg					
Imazaquin	Controle	357	aA	233	aB	240	aB
	1 x	246	aA	206	aA	256	aA
	10 x	246	aA	20	bB	0	bC
Alaclor	Controle	357	aA	233	aA	240	aA
	1 x	423	aA	223	aB	260	aB
	10 x	116	bA	40	bB	40	bB
Metolacolor	Controle	357	aA	233	aB	240	aB
	1 x	370	aA	173	bC	261	aB
	10 x	43	bA	0	cB	42	bA
Metribuzin	Controle	357	aA	233	aB	240	aB
	1 x	293	aA	220	aA	253	aA
	10 x	0	bA	0	bA	0	bA

Valores seguidos de mesma letra, minúscula nas colunas, dentro de cada dose do fator herbicida, e maiúscula nas linhas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

(1) Média de duas plantas

Com relação ao herbicida metribuzin, na dose dez vezes superior à recomendada, observou-se, visualmente, que o herbicida prejudicou o crescimento das plantas de soja logo após a germinação. Este produto teve acentuado efeito fitotóxico, causando diversos tipos de mal-formações nas plântulas recém germinadas, tais como atrofia de raízes, caules e folhas, clorose e necrose dos tecidos e, posteriormente, a morte das plântulas. Estas anomalias estruturais foram semelhantes às encontra-

das por KUST e STRUKMEYER (1971). Porém, no presente trabalho, o efeito fitotóxico deste herbicida pode ter sido agravado pelo tipo de solo em que a soja foi cultivada. Isso porque os herbicidas com o princípio ativo metribuzin não são recomendados para solos de textura arenosa e com teor de matéria orgânica inferior a 2,0 % (REUNIÃO DE PESQUISA DA SOJA DA REGIÃO SUL, 2001). A fitotoxicidade dos herbicidas é atenuada pela adsorção às argilas e à matéria orgânica, processo

EFEITOS DA APLICAÇÃO DE HERBICIDAS SOBRE A NODULAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE SOJA INOCULADA COM ESTIRPES DE *BRADYRHIZOBIUM SP*

esse que diminui a concentração dos compostos na solução do solo (JAVARONI et al., 1999). Como o solo utilizado no experimento era arenoso e apresentava apenas 0,8 % de matéria orgânica, a concentração do produto na solução do solo deve ter sido elevada, provocando fitotoxicidade logo no início da germinação das sementes.

Os demais herbicidas não eliminaram o estande de plantas e apresentaram diferentes graus de fitotoxicidade. O herbicida metolacolor prejudicou a nodulação e afetou o desenvolvimento das raízes - que apresentaram pouca ramificação e crescimento superficial - e da parte aérea - que apresentou estiolamento e clorose. Já os herbicidas alaclor e imazaquin apresentaram efeito fitotóxico menos pronunciado. Apesar disso, a nodulação restringiu-se à raiz principal, ao contrário do relatado por DUNIGAN et al. (1972), que verificaram uma maior inibição na formação dos nódulos nesta região da raiz. Esta diferença observada na localização dos nódulos pode estar relacionada ao peque-

no crescimento das raízes, verificado no presente experimento, devido à aplicação da dose dez vezes superior à recomendada. Por sua vez, DUNIGAN et al. (1972) haviam utilizado como dose máxima o equivalente a cinco vezes a dose recomendada, o que pode ter permitido um desenvolvimento das raízes secundárias suficiente para que, nessa região, ocorresse uma formação de nódulos maior do que a observada na raiz principal.

Na avaliação realizada aos 55 dias após a germinação da soja, a massa de nódulos não foi afetada pelo princípio ativo do herbicida, tendo sido afetada apenas pelas doses dos herbicidas (Tabela 4). A inoculação com a estirpe SEMIA 587 resultou em maior massa seca de nódulos, nas três doses de herbicidas analisadas. Como verificado com relação ao número de nódulos, a aplicação da dose recomendada dos herbicidas não afetou a massa seca de nódulos, enquanto a aplicação da dose 10 x reduziu a massa seca de nódulos formados pelas três estirpes.

Tabela 4. Massa seca de nódulos(1) em soja inoculada com diferentes estirpes de rizóbio e submetida à aplicação de herbicidas em diferentes concentrações. Médias de 12 repetições

Estirpe	Controle		Equivalente à dose recomendada			
			1 x		10 x	
			mg			
SEMIA 587	689	aA	666	aA	193	aB
SEMIA 5074	507	bA	510	bA	115	bB
SEMIA 5079	488	bA	447	bA	99	bB

Valores seguidos de mesma letra, minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.: (1) Média de duas plantas

O rendimento de massa seca da parte aérea da soja não foi afetado pela estirpe de rizóbio inoculada, tendo sido afetado, no entanto, pelo princípio ativo e pela dose do herbicida (Tabela 5). Como havia sido constatado com relação à nodulação, a aplicação da dose recomendada dos herbicidas não acarretou prejuízos ao rendimento de massa seca nas duas épocas de avaliação, ao contrário do ocorrido com a aplicação da dose 10 x. Nesta dose, como discutido anteriormente, o herbicida metribuzin causou a redução total do estande de plantas. Embora não tenha eliminado as plantas, o herbicida metolacolor reduziu a produção de mas-

sa seca da parte aérea de soja de modo mais acentuado que alaclor e imazaquin, nas duas avaliações. Isso pode ser comprovado pelo aumento na massa seca das plantas, na segunda avaliação em comparação com a primeira, nos tratamentos com alaclor e imazaquin, na dose 10 x. Tal aumento não se verificou com a aplicação desta dose do herbicida metolacolor. Embora os herbicidas alaclor e metolacolor pertençam ambos ao grupo das acetanilidas (GAN et al., 2002), as suas composições químicas são distintas, resultando na diferença encontrada com relação aos seus efeitos fitotóxicos.

**Tabela 5.** Rendimento de massa seca de parte aérea da soja (1) inoculada com diferentes estirpes de rizóbio e submetida à aplicação de herbicidas em diferentes concentrações. Médias de nove repetições

Herbicida	Controle		Equivalente à dose recomendada			
			1 x		10 x	
g						
<b>1ª Avaliação: 30 dias após a germinação</b>						
Imazaquin	3,79	aA	3,81	aA	1,89	bB
Alaclor	3,79	aA	3,80	aA	2,44	aB
Metolacoloro	3,79	aA	3,36	aA	1,08	cB
Metribuzin	3,79	aA	3,43	aA	0	dB
<b>2ª Avaliação: 55 dias após a germinação</b>						
Imazaquin	6,54	aA	6,48	aA	3,82	aB
Alaclor	6,54	aA	6,61	aA	4,00	aB
Metolacoloro	6,54	aA	6,25	aA	0,93	bB
Metribuzin	6,54	aA	6,57	aA	0	cB

Valores seguidos de mesma letra, minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas, dentro de cada época, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

(1) Média de duas plantas

O conteúdo de nitrogênio total acumulado na parte aérea da soja foi afetado pelas diferentes estirpes de rizóbio, pelos princípios ativos dos herbicidas e pelas doses aplicadas (Tabela 6). Tal como verificado com relação à massa seca da parte aérea, os herbicidas imazaquin e alaclor apresentaram efeito menos intenso, o que resultou em maior acúmulo de nitrogênio na parte aérea da soja, em comparação

com metolacoloro e metribuzin. Além disso, a aplicação destes herbicidas, mesmo nas doses recomendadas, apresentou influência sobre a quantidade de nitrogênio total acumulada na parte aérea da soja, a qual esteve na dependência da estirpe inoculada. A aplicação de metolacoloro, por exemplo, afetou mais intensamente a soja que havia sido inoculada com as estirpes SEMIA 5074 e SEMIA 5079.

**Tabela 6.** Nitrogênio na parte aérea da soja (1) inoculada com diferentes estirpes de rizóbio e submetida à aplicação de herbicidas em diferentes concentrações. Médias de três repetições

Herbicida	Doses	Estirpes					
		SEMIA 587		SEMIA 5074		SEMIA 5079	
mg							
Imazaquin	Controle	108,28	aA	92,72	aB	90,63	aB
	1 x	89,31	abA	95,61	aA	72,67	aB
	10 x	64,14	bA	38,16	bB	42,84	bB
Alaclor	Controle	108,28	aA	92,72	aA	90,63	aA
	1 x	109,42	aA	82,36	abB	89,42	aB
	10 x	58,45	bA	60,83	bA	35,80	bB
Metolacoloro	Controle	108,28	aA	92,72	aB	90,63	bB
	1 x	99,30	aA	67,34	bB	77,29	bB
	10 x	35,40	bA	5,13	cC	10,91	cB
Metribuzin	Controle	108,28	aA	92,72	aB	90,63	aC
	1 x	84,03	bA	80,11	aA	67,21	bB
	10 x	0	cA	0	bA	0	cA

Valores seguidos de mesma letra, minúscula nas colunas, dentro de cada nível do fator herbicida, e maiúscula nas linhas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

(1) Média de duas plantas

EFEITOS DA APLICAÇÃO DE HERBICIDAS SOBRE A NODULAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE SOJA INOCULADA COM ESTIRPES DE *BRADYRHIZOBIUM* SP

O acúmulo de nitrogênio pela soja, quando inoculada com a estirpe SEMIA 587, foi maior do que com as estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5074. Além disso, a estirpe SEMIA 587 proporcionou maior número de nódulos, maior massa seca de nódulos e maior rendimento de matéria seca da soja. Esses resultados podem ser devidos a características intrínsecas de eficiência e/ou de resistência aos herbicidas, que conferiram a essa estirpe maior efetividade na fixação do nitrogênio, em comparação com as demais.

De um modo geral, a aplicação da dose recomendada dos herbicidas não trouxe prejuízos às variáveis analisadas, sobretudo sobre o acúmulo de massa seca da parte aérea (Tabela 5). Este resultado está de acordo com SINGH e WRIGHT (2002), que verificaram que as populações de rizóbios somente foram afetadas por doses de herbicidas muito superiores às aplicadas a campo. De acordo com os autores, os prejuízos decorrentes da aplicação de herbicidas devem-se mais à toxidez sobre a leguminosa do que sobre o rizóbio.

Efeito residual e de reaplicação de doses de herbicidas na nodulação da soja - Neste estudo, que teve por objetivo verificar o efeito residual dos herbicidas alaclor, imazaquin e metolacoloro na nodulação da soja inoculada com as estirpes SEMIA 587, SEMIA 5079 e SEMIA 5074, observou-se que o número de nódulos foi influenciado pela estirpe de rizóbio inoculada e pela dose do herbicida aplicado, independentemente do princípio ativo (Tabela 7). O efeito residual da dose 10 x dos herbicidas e a aplicação de uma dose duas vezes superior à recomendada foram mais prejudiciais à soja inoculada com as estirpes SEMIA 5074 e SEMIA 5079. A estirpe SEMIA 587 não foi afetada pelos herbicidas, tendo produzido número de nódulos semelhante nos três tratamentos. Por esse resultado, as estirpes SEMIA 5074 e SEMIA 5079 parecem ser menos tolerantes aos produtos aplicados do que a estirpe SEMIA 587, confirmando o que havia sido constatado no primeiro experimento.

Tabela 7. Efeito de reaplicação e residual de herbicidas no número de nódulos(1) de soja inoculada com estirpes de *Bradyrhizobium* sp. Médias de nove repetições.

Estirpe	Dose Aplicada					
	Aplicação da dose recomendada em solo previamente submetido à esta mesma aplicação		Aplicação de 2x a dose recomendada em solo sem aplicações anteriores		Nenhuma aplicação em solo que havia recebido a dose 10x a recomendada	
SEMIA 587	30	aA	34	aA	30	aA
SEMIA 5074	27	aA	17	bB	15	bB
SEMIA 5079	23	aA	13	bB	19	bA

Valores seguidos de mesma letra, minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.; (1) Média de duas plantas

Em relação à massa seca de nódulos, os herbicidas imazaquin e alaclor foram menos prejudiciais do que metolacoloro (Tabela 8). Isso pode ter sido devido à menor toxicidade e à menor persistência daqueles herbicidas, em comparação com metolacoloro. O herbicida imazaquin apresenta baixa persistência em solos arenosos (CANTWELL et al., 1989), sendo dissipado devido à degradação microbiana ou à fotodecomposição. Como, no experimento, o produto foi aplicado na superfície do solo, sem incorporação, pode ter ocorrido uma degradação parcial pela ação da luz ultravioleta, antes que ocorressem prejuízos à nodulação. De modo seme-

lhante, o herbicida alaclor apresenta baixa persistência no solo. Embora não sofra uma fotodecomposição expressiva, os demais processos de dissipação do alaclor, sobretudo a mineralização microbiana, podem fazer com que o herbicida seja rapidamente decomposto na superfície do solo, apresentando um período de meia vida de cerca de duas semanas (JAVARONI et al., 1999). O fato de a dose 2 x ter diminuído a massa seca de nódulos de soja reforça a idéia de que a decomposição do herbicida foi significativa, o que teria levado a uma diminuição na sua concentração e a uma redução dos seus efeitos nas outras duas doses.

**Tabela 8.** Efeito de reaplicação e residual de herbicidas na massa seca de nódulos de soja(1) inoculada com estirpes de *Bradyrhizobium* sp. Médias de nove repetições.

Herbicida	Dose Aplicada					
	Aplicação da dose recomendada em solo previamente submetido à esta mesma aplicação		Aplicação de 2x a dose recomendada em solo sem aplicações anteriores		Nenhuma aplicação em solo que havia recebido a dose 10x a recomendada	
mg						
Imazaquin	185	abA	194	aA	227	aA
Alaclor	261	aA	116	abC	211	aB
Metolacloro	98	bA	86	bA	64	bA

Valores seguidos de mesma letra, minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.; (1) Média de duas plantas

Para o rendimento de massa seca da parte aérea da soja, não foram verificadas diferenças entre a reaplicação da dose recomendada, a aplicação do dobro dessa dose e o efeito residual da dose dez vezes a recomendada (Tabela 9). No entanto, ocorreu uma interação entre o herbicida aplicado e a estirpe inoculada, indicando que algumas estirpes podem ser mais sensíveis a determinados herbicidas do que outras. O herbicida metolacloro reduziu a massa seca da parte aérea da soja inoculada com as três estirpes, indicando que todas têm sensibilidade ao produto. A produção de massa seca da parte aérea da soja inoculada com a estirpe SEMIA 5079 foi inferior à observada quando da inoculação com as demais estirpes em solo tratado com o herbicida imazaquin, confirmando o observado no experimen-

to anterior. Portanto, a aplicação de imazaquin pode causar prejuízos à nodulação da soja, dependendo da estirpe de rizóbio utilizada. MILLS e WITT (1989) não encontraram redução na nodulação e rendimento da soja com este herbicida, talvez por terem utilizado uma estirpe que foi tolerante ao produto. Já a produção de massa seca da parte aérea da soja inoculada com a estirpe SEMIA 5074 foi significativamente menor do que a da soja inoculada com as demais estirpes em solo tratado com alaclor. Esses resultados indicam que as estirpes de *Bradyrhizobium* podem apresentar diferentes níveis de tolerância aos diversos princípios ativos dos herbicidas, tal como constatado por ROSLYCKY (1985). Dentre as estirpes utilizadas no presente estudo, SEMIA 587 apresentou maior tolerância aos herbicidas aplicados.

**Tabela 9.** Efeito de reaplicação e residual dos herbicidas no rendimento de massa seca da soja(1) em função do princípio ativo e da inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium* sp. Médias de nove repetições.

Estirpe	Herbicidas					
	Metolacloro		Imazaquin		Alaclor	
g						
SEMIA 587	1,42	aB	2,34	abA	2,16	aA
SEMIA 5074	1,73	aB	2,42	aA	1,71	bB
SEMIA 5079	1,47	aA	1,93	bA	1,81	abA

Valores seguidos de mesma letra, minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.; (1) Média de duas plantas

## Conclusões

A aplicação da dose recomendada dos herbicidas não interfere na nodulação e no acúmulo de massa seca e de nitrogênio na parte aérea de soja. A aplicação da dose 10 x, por sua vez, reduz o número e a massa seca de nódulos e o acúmulo de massa seca e de nitrogênio na parte aérea de soja;

A estirpe SEMIA 587 apresenta maior eficiência, sendo, ainda, menos afetada pelos produtos

herbicidas testados. A estirpe SEMIA 5079 é a mais afetada pelos herbicidas;

Em dose 10 vezes acima da recomendada, o herbicida metribuzin foi o que resultou em maiores prejuízos à soja, seguido por metolacolor. Os herbicidas imazaquin e alaclor foram menos tóxicos;

A reaplicação da dose recomendada dos herbicidas não afeta a nodulação, ao contrário da aplicação do dobro da dose recomendada, indicando uma dissipação significativa dos produtos 80 dias após a sua aplicação.

## Referências

- 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*, Amsterdam, v. 14, n. 1, p. 191-200, 2000.
- AHMAD, I.; MALLOCH, D. Interaction of soil microflora with the bioherbicide phosphinothricin. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, Amsterdam, v. 54, n. 3, p. 165-174, 1995.
- AMADO, T. J. C.; MIELNICZUCK, J.; FERNANDES, S. B. V. Leguminosas e adubação mineral como fontes de nitrogênio para o milho em sistemas de preparo de solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 24, n. 1, p. 179-189, 2000.
- BRANDÃO JUNIOR, O.; HUNGRIA, M. Efeito de concentrações de solução açucarada na aderência do inoculante turfoso às sementes, na nodulação e no rendimento da soja. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 24, n. 3, p. 515-526, 2000.
- BURGARD, D. J.; DOWDY, R. H.; KOSKINEN, W. C.; CHENG, H. H. Movement of metribuzin in a loamy sand soil under irrigated potato production. *Weed Science*, Champaign, v. 42, n. 2, p. 446-452, 1994.
- CAMPOS, B. C.; HUNGRIA, M.; TEDESCO, V. Eficiência da fixação biológica de N<sub>2</sub> por estirpes de *Bradyrhizobium* na soja em plantio direto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 25, n. 3, p. 583-592, 2001.
- CANTWELL, J. R.; LIEBL, R. A.; SLIFE, F. W. Biodegradation characteristics of imazaquin and imazethapyr. *Weed Science*, Champaign, v. 42, n. 4, p. 815-819, 1989.
- DUNIGAN, E. D.; FREY, J. P.; ALLEN JR.; L. D. McMAHON, A. Herbicidal effects on the nodulation of *Glycine max* (L. Merrill). *Agronomy Journal*, Madison, v. 64, n. 4, 806-808, 1972.
- ECHEVERRIGARAY, S.; GOMES, L. H.; TAVARES, F. C. A. Isolation and characteristics of metolachlor - resistant mutants of *Sacharomices cerevisae*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, Oxford, v. 15, n. 5, p. 679-681, 1999.
- GAN, J.; WANG, Q.; YATES, S.R.; KOSKINEN, W.C.; JURY, W.A. Dechlorination of chloroacetanilide herbicides by thiosulfate salts. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, Washington, v. 99, n. 8, p. 5189-5194, 2002.
- HARRIS, P. A.; SCHOMBERG, H. H.; BANKS, P. A.; GIDDENS, J. Burning, tillage and herbicide effects on the soil microflora in a wheat-soybean double-crop system. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 27, n. 2, p. 153-156, 1995.
- JAVARONI, R. C. A.; LANDGRAF, M. D.; REZENDE, M. O. O. Comportamento dos herbicidas atrazina e alaclor aplicados em solo preparado para o cultivo de cana-de-açúcar. *Química Nova*, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 58-64, 1999.
- KAPUSTA, G.; ROUWENSHORST, D. L. Interaction of selected pesticides and *Rhizobium japonicum* in pure culture and under field conditions. *Agronomy Journal*, Madison, v. 65, n. 1, p. 112-115, 1973.
- KUST, C. A.; STRUKMEYER, B. E. Effect of trifluralin on growth, nodulation, and anatomy of soybeans. *Weed Science*, Champaign, v. 19, n. 1, p. 147-152, 1971.
- MALHI, S. S.; GRANT, C. A.; JOHNSTON, A. M.; GILL, K. S. Nitrogen fertilization management for no-till cereal production in the Canadian Great Plains: a review. *Soil Tillage Research*, Amsterdam, v. 60, n. 3-4, p. 101-122, 2001.
- MILLS, J. A.; WITT, W. W. Efficacy, phytotoxicity, and persistence of imazaquin, imazethapyr, and clomazone in no-till double-crop soybean (*Glycine max*). *Weed Science*, Champaign, v. 37, n. 2, p. 353-359, 1989.

- MOORMAN, T. B. Effects of herbicides on the survival of *Rhizobium japonicum* strains. **Weed Science**, Champaign, v. 34, n. 4, p. 628-633, 1986.
- PRADO, G. S.; AIROLDI, C. Effect of the pesticide 2,4-D on microbial activity of the soil monitored by microcalorimetry. **Thermochimica Acta**, Amsterdam, v. 349, n. 1, p. 17-22, 2000.
- REGITANO, J. B.; ALLEONI, L. R. F.; TORNISIELO, V. L. Atributos de solos tropicais e absorção de imazaquin. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 4, p. 801-807, 2001.
- REUNIÃO DE PESQUISA DA SOJA DA REGIÃO SUL, 29, 2001, Porto Alegre. **Indicações técnicas para a cultura da soja no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina 2001/2002**. Porto Alegre: FEPAGRO, 2001. 138 p.
- ROSLYCKY, E. B. Sensitivity and adaptation of selected rhizobia and agrobacteria to paraquat. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 65, n. 4, p. 555-562, 1985.
- SILVA, J. C. C.; COLAÇO, W.; BURITY, H. A.; FERREIRA, N. C. M.; FIGUEIREDO, M. V. B.; MARTINEZ, C. R. Herbicidas na nodulação e na fixação de N<sub>2</sub> em caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 1, p. 77-86, 1998.
- SINGH, G.; WRIGHT, D. In vitro studies on the effects of herbicides on the growth of rhizobia. **Letters in Applied Microbiology**, London, v. 35, n. 1, p. 12-16, 2002.
- TEDESCO, J. M.; GIANELO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174 p. (Boletim técnico, 5).
- WARDLE, D. A.; YEATES, G. W.; NICHOLSON, K. S.; BONNER, K. I.; WATSON, R. N. Response of soil microbial biomass dynamics, activity and plant litter decomposition to agricultural intensification over a seven-year period. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 31, n. 12, p. 1707-1720, 1999.