

## NOTAS CIENTÍFICAS

### PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS INDICADORES DO EFEITO DO DIURON SOBRE A MICROFLORA DO SOLO<sup>1</sup>

ROSANA FARIA VIEIRA<sup>2</sup>

RESUMO - A biomassa microbiana ( $C_{mic}$ ), a respiração básica (RB), as razões  $C_{mic}:C_{org}$  e o  $qCO_2$  foram usados para avaliar o efeito do herbicida diuron, nas dosagens de 0, 2 e 20  $\mu g\ g^{-1}$ , na microflora do solo. O estudo foi conduzido em dois solos com texturas diferentes, e as avaliações, realizadas aos 0, 3, 10, 20 e 33 dias após a aplicação do pesticida. No solo mais argiloso, o  $C_{mic}$  e a razão  $C_{mic}:C_{org}$  forneceram resultados semelhantes quanto ao efeito prejudicial do diuron. A RB não foi afetada pelo diuron. O  $qCO_2$  foi o único parâmetro capaz de demonstrar uma diferenciação no efeito prejudicial entre doses. No solo mais arenoso não se detectou efeito do diuron.

#### MICROBIOLOGICAL PARAMETERS INDICATORS OF THE EFFECT OF DIURON ON SOIL MICROFLORA

ABSTRACT - Microbial biomass ( $C_{mic}$ ), basal respiration (BR),  $C_{mic}:C_{org}$  ration and the  $qCO_2$  were used to evaluate the influence of 0, 2 and 20  $\mu g\ g^{-1}$  of the herbicide diuron on the soil microflora. The study was carried out with two soil types. Evaluations were made at 0, 3, 10, 20 and 33 days after the herbicide application. In the more clayed soil, the  $C_{mic}$  and the ration  $C_{mic}:C_{org}$  gave similar results in relation to the effect of diuron. The BR was not affected by diuron application. The  $qCO_2$  was the only parameter able to demonstrate a differentiation between the doses. In the more sandy soil it was not possible to detect any effect of the herbicide.

Quando os herbicidas são aplicados em sistemas agrícolas, podem exercer certos efeitos prejudiciais sobre a microflora do solo (Duah-Yentumi & Johnson, 1986; Wardle & Parkinson, 1990). Isso pode influenciar a fertilidade do solo, uma vez que aqueles organismos têm importante papel nos seus ciclos biogeoquímicos, além de atuarem como um "pool" altamente lábil de nutrientes que são rapidamente ciclados.

Vários parâmetros, tais como atividade enzimática, nitrificação, respiração do solo (Domsch et al., 1983) e denitrificação (Yeomans & Bremner, 1987), têm sido utilizados na determinação do efeito de herbicidas sobre os microrganismos do solo. Segundo Wardle & Parkinson (1990), um aspecto que tem recebi-

---

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 2 de setembro de 1998.

<sup>2</sup> Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup>, Dr<sup>a</sup>, Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Monitoramento e Avaliação de Impacto Ambiental (CNPMA), Caixa Postal 69, CEP 13820-000 Jaguariúna, SP. E-mail: rosana@cnpma.embrapa.br

do pouca atenção é a influência de pesticidas sobre a biomassa microbiana do solo. Harden et al. (1993) observaram, quase sempre, redução no tamanho da biomassa microbiana em decorrência da aplicação ao solo de quatro herbicidas e do fungicida benomyl.

A microflora do solo pode também ser caracterizada pela eficiência no uso de energia, obtida por meio da relação entre respiração básica e biomassa microbiana (coeficiente metabólico para  $\text{CO}_2$  ou  $q\text{CO}_2$ ) (Domsch & Anderson, 1993). Alto  $q\text{CO}_2$  indica estresse, causado pela compactação do solo, por pesticidas, pela toxidez de metais pesados (Wardle & Ghani, 1995).

A razão C da biomassa microbiana para C orgânico do solo ( $\text{Cmic:Corg}$ ) também responde prontamente a efeitos de distúrbios no solo (Wardle, 1992). São poucos, porém, os estudos que consideram as relações  $\text{Cmic:Corg}$  e o  $q\text{CO}_2$  como possíveis bioindicadores de efeitos detrimenais de herbicidas na microflora do solo.

O presente trabalho teve como objetivo verificar o efeito do diuron na biomassa microbiana e na respiração dos microrganismos do solo de diferentes texturas. Procurou-se também avaliar, juntamente com as razões  $q\text{CO}_2$  e  $\text{Cmic:Corg}$  o melhor parâmetro indicador do efeito do diuron na microflora do solo.

Os solos utilizados neste estudo – um mais argiloso e um mais arenoso – foram coletados em Jaguariúna, Estado de São Paulo, em fevereiro de 1997, em áreas não cultivadas e classificados como Latossolos Vermelho-Amarelos. As características químicas do solo franco-argilo-arenoso (areia grossa, 61%; areia fina, 13%; silte, 5%; argila, 21%) e do solo argilo-arenoso (areia grossa, 43%; areia fina, 13%; silte, 4%; argila, 40%) são apresentadas a seguir: Solo franco-argilo-arenoso: pH ( $\text{H}_2\text{O}$ ), 4,0; MO, 33,5  $\text{g dm}^{-3}$ ; P (Mehlich 1), 1,2  $\text{mg dm}^{-3}$ ; K, 3,6  $\text{cmolc dm}^{-3}$ ; e 1,5, 0,2, 0,4 e 4,8  $\text{cmolc dm}^{-3}$ , respectivamente, de Al, Ca, Mg e H+Al; Solo argilo-arenoso: pH ( $\text{H}_2\text{O}$ ), 5,3; MO, 36,1%; P, 4,2  $\text{mg dm}^{-3}$ ; K 8,3  $\text{cmolc dm}^{-3}$ ; e 0,1, 1,5, 0,9 e 1,5  $\text{cmolc dm}^{-3}$ , respectivamente, de Al, Ca, Mg e H+Al. O solo mais arenoso apresentou, ainda: V, 11,6% e m, 70,4%, e o mais argiloso: V, 62,8%, e m, 3,8%. Ambos os solos foram amostrados a uma profundidade de 0 - 15 cm.

No laboratório, esses solos passaram por peneiras de 2 mm, e foram, em seguida, homogeneizados e mantidos, com a umidade proveniente do campo, à temperatura de 5°C, durante três dias.

Os tratamentos obedeceram ao esquema fatorial  $(2 \times 3 \times 4) + 1$ , em que os fatores foram: tipos de solos, doses de diuron (0, 1 e 2) e épocas de avaliação (3, 10, 20 e 33 dias após a aplicação do herbicida). O tratamento extra refere-se à avaliação inicial do solo, sem o diuron. A dose 1 do diuron é a indicada no controle da flora invasora nas culturas de milho e cana-de-açúcar, ou seja, 2 mg do produto comercial  $\text{L}^{-1}$  de água ( $2 \mu\text{g g}^{-1}$  de solo). A dose 2 foi dez vezes maior que a dose 1. Foram usadas três repetições.

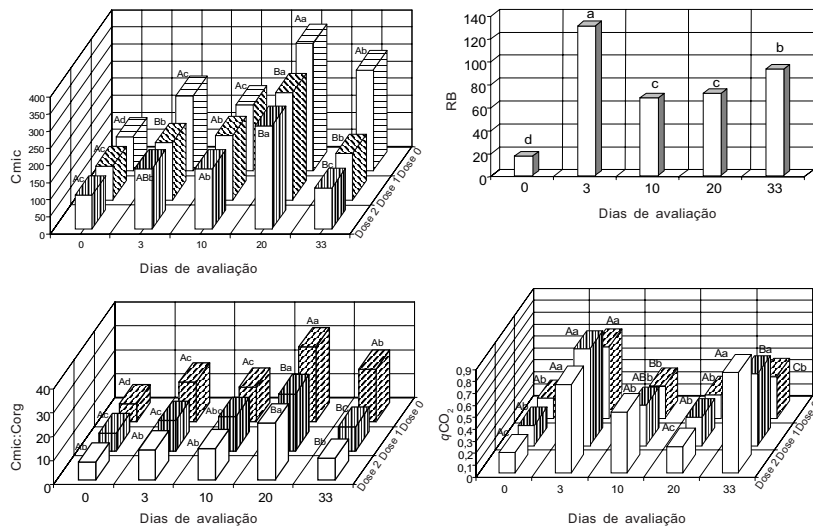
Cada tratamento foi constituído de 150 g de solo seco. O diuron foi aplicado, juntamente com a água, em quantidade suficiente para atingir 70% da capacidade de campo de cada solo. Os solos úmidos foram incubados a 26°C, no escuro.

O C da biomassa microbiana (Cmic) de cada tratamento foi determinado pelo método de fumigação-extração, descrito por Vance et al. (1987). Os solos retirados de cada amostra foram divididos em partes iguais de 35 g: uma, foi fumigada com clorofórmio livre de etanol, e a outra, não. Em ambos os casos, o C orgânico foi extraído com K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 M e quantificados pela técnica de oxidação do dicromato de potássio. O C da biomassa microbiana do solo foi calculado por meio da relação  $Cmic = Ec/0,33$ , em que Ec é o C orgânico extraído do solo fumigado, menos o C orgânico extraído do solo não fumigado.

A respiração básica (RB) dos vários tratamentos foi quantificada segundo metodologia descrita por Alef (1995). Quarenta e cinco gramas de solo de cada tratamento foram colocados em frascos herméticos com 10 mL de NaOH 1N e incubados no escuro, a 25 ± 2°C, por 10 dias. A quantificação do CO<sub>2</sub>-C foi feita por meio da titulação do NaOH com HCl 0,5N.

As razões Cmic:Corg e o qCO<sub>2</sub> (razão entre taxa de respiração e C da biomassa) foram calculados individualmente em relação a cada amostra. Todos os cálculos foram realizados tomando-se por base o peso da amostra seca a 105°C, por 24 horas.

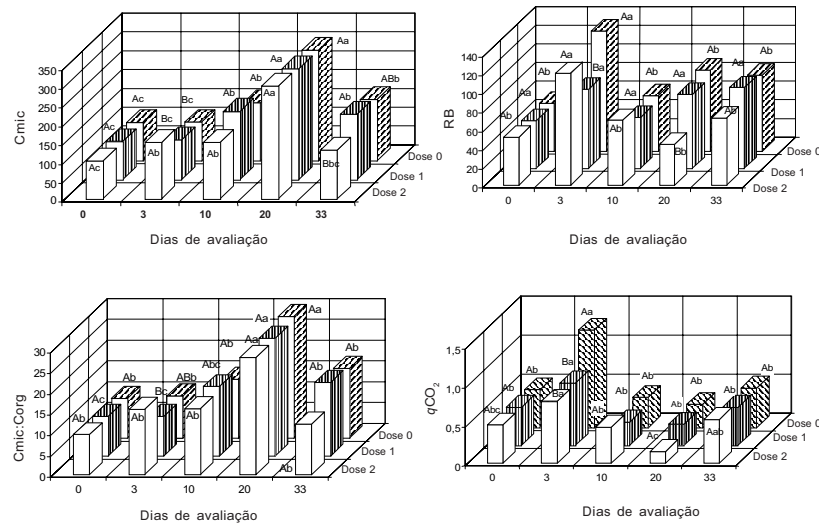
No solo mais argiloso, o Cmic, em todos os níveis de diuron, seguiu a mesma tendência de aumento de crescimento até o vigésimo dia, decaindo de modo acentuado aos 33 dias, notadamente nos tratamentos que receberam o herbicida (Fig. 1). Aos 20 e aos 33 dias, o decréscimo médio no Cmic, em



**FIG. 1.** Solo argilo-arenoso submetido a diferentes doses de diuron: biomassa microbiana (Cmic), em  $\mu\text{g C g}^{-1}$  solo; respiração básica (RB), em  $\text{ng CO}_2\text{-C g}^{-1}$  solo  $\text{h}^{-1}$ ; razão Cmic:Corg, em  $\mu\text{g Cmic mg}^{-1}$  Corg-C, e  $q\text{CO}_2$ , em  $\text{ng CO}_2\text{-C } \mu\text{g}^{-1}$  Cmic  $\text{h}^{-1}$ . Médias seguidas por, pelo menos, uma mesma letra minúscula, nos dias de avaliação, e maiúscula, nas doses de diuron, não diferem significativamente (teste de Tukey a 5%).

decorrência da aplicação do diuron foi de 15 e 56%, em média, respectivamente, no tocante às duas doses do herbicida. A respiração, nesse solo, não foi afetada pelas doses de diuron; houve apenas efeito das épocas de determinação, ou seja, ela foi máxima no 3º dia, caindo, em média, 44% no 10º e 20º dia, e subindo novamente no 33º dia (Fig. 1). A relação Cmic:Corg teve a mesma tendência observada no Cmic, isto é, o diuron foi prejudicial aos 20 dias e, principalmente, aos 33 dias, com 34 e 56% de diminuição, em média, respectivamente, no tocante às duas doses de diuron (Fig. 1). Portanto, ambas as variáveis permitiram a mesma constatação quanto ao efeito do herbicida sobre a microflora do solo. O  $qCO_2$  no 3º dia foi alto em todos os tratamentos em decorrência da alta respiração observada neste período. Esta alta respiração está, possivelmente, relacionada à adaptação dos microrganismos às novas condições ambientais a que foram submetidos. O  $qCO_2$  declinou posteriormente até o 20º dia, igualmente, em todos os tratamentos. No 33º dia, ocorreu uma diferenciação deste parâmetro entre os tratamentos com 2 e 20  $\mu g\ g^{-1}$  de diuron; neste período, o  $qCO_2$  apresentou um aumento de 71% e 140%, respectivamente, em relação à testemunha (Fig. 1). Este maior  $qCO_2$  ocorreu, provavelmente, em decorrência do aumento da taxa de respiração, observado no último dia de avaliação, sem um correspondente incremento na biomassa. Segundo Odum (1985), tal aumento na respiração da comunidade pode ser sinal de estresse, nesse caso, devido ao pesticida, uma vez que reparos nos danos causados pelo agente estressante poderia requerer o desvio da energia de crescimento e produção, para a manutenção.

Quanto aos resultados referentes ao solo mais arenoso, verifica-se que, em relação ao Cmic, a tendência de crescimento foi a mesma observada no solo mais argiloso, ou seja, com valores máximos aos 20 dias, e posterior decréscimo aos 33 dias. Isto poderia indicar uma diminuição acentuada de fontes energéticas, para crescimento da microflora, a partir da última data de avaliação. Nesse solo, o herbicida não demonstrou efeito aos 20 dias e, aos 33 dias, houve apenas uma tendência a menor Cmic com a maior dose do pesticida (Fig. 2). A respiração apresentou um decréscimo de 31% no terceiro dia com a dose 1 de diuron e de 47% aos 20 dias com a dose 2. Aos três dias, o provável efeito significativo do herbicida na dose 1 esteve ligado à variação dos dados obtidos nessa época. Aos 33 dias, não houve efeito do herbicida na respiração. A razão Cmic:Corg seguiu a mesma tendência de aumento e queda observada no Cmic, porém não houve efeito da aplicação do diuron. O  $qCO_2$  apresentou a mesma tendência de queda do 3º para o 20º dia de avaliação, verificado no solo mais argiloso. Contrariamente a esse solo, porém, a tendência de aumento no  $qCO_2$  observado no 33º dia ocorreu em todos os tratamentos. Isto pode indicar a ação de algum fator estressante nas condições de crescimento, que pode ter mascarado o efeito do diuron no solo arenoso. A ocorrência de tal fator se faz visível também ao se analisar os dados de Cmic. Do 20º dia para o 33º dia de crescimento, houve decréscimo de 45% no Cmic em todos os tratamentos, independentemente da aplicação do diuron. No solo mais argiloso, o decréscimo no Cmic, observado no tratamento-controle, não foi significativo em relação à época anterior, ao passo que nos tratamentos com diuron, os Cmic apresentaram um declínio de mais de 50%. O decréscimo



**FIG. 2.** Solo franco-argilo-arenoso submetido a diferentes doses de diuron: biomassa microbiana (Cmic), em  $\mu\text{g C g}^{-1}$  solo; respiração básica (RB), em  $\text{ng CO}_2\text{-C g}^{-1}$  solo  $\text{h}^{-1}$ ; razão Cmic:Corg, em  $\mu\text{g Cmic mg}^{-1}$  Corg-C e,  $q\text{CO}_2$ , em  $\text{ng CO}_2\text{-C } \mu\text{g}^{-1}$  Cmic  $\text{h}^{-1}$ . Médias seguidas por, pelo menos, uma mesma letra minúscula, nos dias de avaliação, e maiúscula, nas doses de diuron, não diferem significativamente (teste de Tukey a 5%).

no teor de umidade do solo arenoso ao longo do experimento pode ter contribuído para a quase-ausência de resposta deste solo à aplicação do diuron e pode ser o fator estressante a que nos referimos acima. A umidade caiu de 9,06% (70% CC) para 5,92% (45% CC), da montagem do ensaio à última avaliação, aos 33 dias. Tal fato não ocorreu com o solo mais argiloso, no qual a umidade se manteve entre 13% e 11,5% (70% e 60% CC) durante todo o período experimental.

É importante observar, neste trabalho, que o seu período de condução foi extremamente importante para que o efeito do diuron na microflora do solo pudesse ser detectado. No solo mais argiloso, o efeito detrimental do herbicida sobre o Cmic somente foi notado a partir do 20º dia de avaliação.

O efeito do diuron na microflora do solo, caracterizado pela razão Cmic:Corg, tende a dar a mesma resposta observada com a variável Cmic. Mesmo no caso do solo mais arenoso, onde os dados dessas variáveis não diferiram significativamente entre os tratamentos, observa-se esta tendência. A diferenciação do efeito detrimental das doses 1 e 2 de diuron, medido pelo  $q\text{CO}_2$ , aos 33 dias, no solo mais argiloso, ocorreu mesmo que o Cmic não tenha diferido significativamente nessas doses. Isto demonstra que o parâmetro  $q\text{CO}_2$  é altamente sensível para medir efeitos do diuron. Outro fator que torna o  $q\text{CO}_2$  um parâmetro adequado para a identificação de distúrbios na microflora do solo, causados pela aplicação do diuron, decorre do fato de que embora o Cmic diminuísse de maneira previsível com a adição do pesticida, tal fato não ocorreu com a taxa de respiração.

**REFERÊNCIAS**

- ALEF, K. Soil respiration. In: ALEF, K.; NANNIPIERI, P. (Eds.). **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. San Diego: Academic Press, 1995. p. 215-216.
- DOMSCH, K.H.; JAGNOW, G.; ANDERSON, T.H. An ecological concept for the assessment of side-effects of agrochemicals on soil microorganisms. **Residue Reviews**, v.86, p.65-105, 1983.
- DOMSCH, K.H.; ANDERSON, T. The metabolic quotient for CO<sub>2</sub> ( $qCO_2$ ) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biological and Biochemistry**, v.25, p.393-395, 1993.
- DUAH-YENTUMI, S.; JOHNSON, D.B. Changes in soil microflora in response to repeated applications of some pesticides. **Soil Biology and Biochemistry**, v.18, p.629-635, 1986.
- HARDEN, T.; JOERGENSEN, R.G.; MEYER, B.; WOLTERS, V. Soil microbial biomass estimated by fumigation-extraction and substrate-induced respiration in two pesticide-treated soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.25, p.679-683, 1993.
- ODUM, E.P. Trends expected in stressed ecosystems. **Bioscience**, v.35, p.419-422, 1985.
- VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial C. **Soil Biology and Biochemistry**, v.19, p.159-164, 1987.
- WARDLE, D.A. A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soils. **Biological Reviews**, v.67, p.321-358, 1992.
- WARDLE, D.A.; GHANI, A. A critique of the microbial metabolic quotient ( $qCO_2$ ) as a bioindicator of disturbance and ecosystem development. **Soil Biology and Biochemistry**, v.27, p.1601-1610, 1995.
- WARDLE, D.A.; PARKINSON, D. Effects of three herbicides on soil microbial biomass and activity. **Plant and Soil**, v.122, p.21-28, 1990.
- YEOMANS, J.C.; BREMNER, J.M. Effects of dalapon atrazine, and simazine on denitrification in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v.19, p.31-34, 1987.