

**INSTITUTO FEDERAL DE MINAS GERAIS
CAMPUS SÃO JOÃO EVANGELISTA
GIOVANE SEBASTIÃO DE SOUZA**

**EFEITO DO HERBICIDA 2,4-D EM INDICADORES BIOLÓGICOS DE
QUALIDADE DO SOLO.**

**SÃO JOÃO EVANGELISTA
2016**

GIOVANE SEBASTIÃO DE SOUZA

**EFEITO DO HERBICIDA 2,4-D EM INDICADORES BIOLÓGICOS DE
QUALIDADE DO SOLO.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao
Instituto Federal de Minas Gerais - Campus São João
Evangelista como exigência parcial para obtenção do
título de Bacharel em Agronomia.

Orientador: Dr. Aderlan Gomes da Silva

SÃO JOÃO EVANGELISTA

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

S731e Souza, Giovane Sebastião de.
2016

Efeito do Herbicida 2,4-d em indicadores biológicos de qualidade do solo./
Giovane Sebastião de Souza. – 2016.

39f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia). – Instituto
Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – Campus São João
Evangelista, 2016.

Orientador: Dr. Aderlan Gomes da Silva.

1.Artrópodes. 2.Microbiota do solo. 3.Patógenos do solo. I. Souza, Giovane
Sebastião de. II. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas
Gerais – Campus São João Evangelista. III. Título.

CDD 631.8

Elaborada pela Biblioteca Professor Pedro Valério

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais Campus São João Evangelista

Bibliotecária Responsável: Rejane Valéria Santos – CRB-6/2907

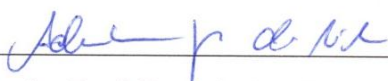
GIOVANE SEBASTIÃO DE SOUZA

**EFEITO DO HERBICIDA 2,4-D EM INDICADORES BIOLÓGICOS DE
QUALIDADE DO SOLO.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao
Instituto Federal de Minas Gerais – Campus
São João Evangelista como exigência parcial
para obtenção do título de Bacharel em
Agronomia.

Aprovado em 20/ 12/ 2016

BANCA EXAMINADORA



Orientador Prof. Dr. Aderlan Gomes da Silva

Instituto Federal de Minas Gerais – Campus São João Evangelista



Prof. Me. Alisson José Eufrásio de Carvalho

Instituto Federal de Minas Gerais – Campus São João Evangelista



Prof. Dr. Douglas de Carvalho Carellos

Instituto Federal de Minas Gerais – Campus São João Evangelista

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, precursor da minha história.

Aos meus pais, Rosária e Israel, que graças a suas forças me trouxeram até o local onde estou.

Aos meus irmãos, Myller e Eduardo, por sempre me incentivarem a continuar as lutas do dia a dia.

DEDICO

RESUMO

O sistema microbiológico do solo tem participação na produtividade e sustentabilidade do agrossistema. A permanência desse meio é considerada um importante indicador de qualidade do solo. Os herbicidas têm o solo como o seu destino final, os proporcionando variadas modificações. *Rhizoctonia solani* é um patógeno de solo que representa importância econômica para diversas culturas largamente difundidas no Brasil, como o *Phaseolus vulgaris* L. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do herbicida 2,4 D sobre a qualidade do solo a partir dos critérios biológicos coleta de artrópodes e número provável de micro-organismos. Objetivou-se avaliar no mesmo o efeito do 2,4 D na proliferação de *R. solani* na germinação de *P. vulgaris* L. O estabelecimento no campo foi realizado em delineamento experimental inteiramente casualizado com duas repetições, sendo estudado o efeito de três concentrações de herbicida 2,4-D (0; 403; 806g i.a. ha⁻¹). *In vitro* foi realizado delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições, sendo estudado o efeito de três concentrações de herbicida 2,4-D (0; 403; 806g i.a. ha⁻¹) sobre a ação de *R. solani* na germinação de *P. vulgaris* L. Os dados foram submetidos às análises de variância a 5,0% de significância. Em experimento de campo, a dose comercial do herbicida 2,4-D (806 g i.a ha⁻¹) bem como 403g i.a. ha⁻¹ não surtiram efeito na microbiota do solo nem nos artrópodes. O tratamento *in vitro* de solo com 2,4-D não influenciou *R. solani*.

Palavras-chave: Artrópodes. Microbiota do solo. Patógenos do solo.

ABSTRACT

The microbiological system of the soil has participation in the productivity and sustainability of the agro system. The permanence of this medium is important for soil quality. Herbicides have the soil as their final destination, providing them with various modifications. *Rhizoctonia solani* is an economically relevant soilborn pathogen for cultures widespread in Brazil, such as *Phaseolus vulgaris* L. The aim of this work was to evaluate the effect of the herbicide 2,4 D on soil quality from the biological criteria arthropod collection and probable number of microorganisms. The effect of 2,4 D on the proliferation of *Rhizoctonia solani* on the germination of *Phaseolus vulgaris* L. was not evaluated. The experiment was carried out in a completely randomized experimental design with two replicates. The effect of three concentrations of 2,4-D herbicides (0; 403; 806 g a.i. ha⁻¹) was studied. In vitro, a completely randomized design with four replications was carried out, and the effect of three concentrations of 2,4-D herbicide (0, 403, 806g a.i. ha⁻¹) on bean seeds germination and on *R. solani* was tested. The data were submitted to analysis of variance at 5.0% of significance. In the field experiment, the commercial dose of 2,4-D herbicide (806 g a.i. ha⁻¹) as well as 403 g a.i. ha⁻¹ had no effect on the soil microbiota or arthropods, neither. In vitro treatment of the soil with 2,4-D did not influence *Rhizoctonia solani*.

Keywords: Arthropods. Soil microbiota. Soilborne pathogens.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Análise de solo da área destinada a execução do experimento.....	19
Tabela 2: Descrição dos tratamentos.....	24
Tabela 3: Resumo da análise de variância para o número de Hymenoptera (formigas) capturados em armadilhas pitfall durante as avaliações	27
Tabela 4: Frequência das ordens de artrópodes nas datas 0, 4 e 38 dias após aplicação de tratamento com 2,4 D.....	28
Tabela 5: Média de log do número provável de micro-organismos em função do tempo após tratamentos com herbicida 2,4 D.....	29
Tabela 6: Correlação entre tempo x UFC (Unidades Formadoras de Colônia) e doses de 2,4 D x UFC.....	30
Tabela 7: Sementes de <i>Phaseolus vulgaris</i> pós aplicação de herbicida 2,4 D e inoculação de <i>Rhizoctonia solani</i>	30

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1 Qualidade do solo	12
2.1.1 Atributos físicos	12
2.1.2 Atributos químicos	13
2.1.3 Atributo biológico	13
2.2 Ácido diclorofenoxiacético (2,4-D).....	14
2.3 <i>Rhizoctonia solani</i>	16
3. METODOLOGIA.....	19
3.1 Perfil do solo.....	19
3.2 Amostragem do solo para avaliação de micro-organismos	20
3.3 Número possível de micro-organismos	20
3.4 Determinação da umidade do solo 100- 110 °C.....	21
3.5 Capacidade máxima de retenção de água	21
3.6 Coleta de artrópodes	21
3.7 Montagem das unidades experimentais	22
3.8 Aplicação dos herbicidas	22
3.9 Plantio de <i>Phaseolus vulgaris</i> L.....	23
3.10 Controle de plantas invasoras.....	23
3.11 Produção de inóculos de <i>Rhizoctonia solani</i>	23
3.12 Substrato para inoculação do <i>Rhizoctonia solani</i>	24
3.13 Montagem das unidades experimentais em laboratório	24
4. Resultados e discussão.....	27
5. Conclusão	33

1. INTRODUÇÃO

O sistema microbiológico do solo tem participação na produtividade e sustentabilidade do agrossistema, uma vez que realiza a degradação de matéria orgânica, aeração do solo, efeito redutor de pesticidas e outros. Assim, a permanência desse meio é considerada um importante indicador de qualidade do solo (ALEF & NANNIPIERI, 1995). Em contrapartida, a contínua utilização das práticas de plantio convencional degrada o sistema do solo como um todo, provocando graves alterações na funcionalidade da microbiota, devido à interferência na qualidade e quantidade de micro-organismos no solo (ARAÚJO & MONTEIRO, 2007).

O crescimento populacional busca uma maior produtividade em uma menor área, sem que ocorra, dessa forma, o aumento das áreas de plantio. Tal fato, juntamente com a pressão econômica de produção em tempo certo e com qualidade, leva à utilização de agroquímicos para o controle de pragas, doenças e plantas daninhas. Dentre esses, os herbicidas se revelam indispensáveis para a produção agrícola uma vez que agem com eficácia (RIZZARDI et. al., 2003).

O solo, destino final dos herbicidas, tem por função liberar os resíduos para a atmosfera, para o lençol freático e para os organismos vivos. Nessa última etapa, o agroquímico possui comportamento variado, influenciado por diversos fatores, como por exemplo, os constituintes das frações contidas no solo (ácido fúlvico, humina, ácido húmico, argila e óxidos) (CASTRO, 2010).

O primeiro herbicida seletivo foi o 2,4 D, introduzido em 1946, e sendo ainda hoje o terceiro mais usado nos Estados Unidos e no Canadá. É um dos herbicidas mais usados no mundo (MERINI et. al., 2007).

A contagem de fungos e bactérias é um método de avaliação da qualidade do solo a partir de microscopia ou de estimativa por métodos indiretos. Uma vez que os micro-organismos são retirados do ambiente natural e levados para o meio artificial, sempre haverá certa seleção dos mesmos, a partir do meio de cultura empregado ou do ambiente do cultivo (JAHNEL et. al., 1999).

A coleta de artrópodes que andam pela área pode determinar a qualidade do solo, pois, se o local apresentar condições irregulares com a normalidade do

ecossistema vigente, será possível perceber o reflexo do afugentamento da fauna natural da localidade (ARAÚJO & SIQUEIRA, 2007).

Segundo Elshanshoury et. al. (1995), os efeitos dos herbicidas na população microbiana, sendo patogênica ou não, de forma direta ou indireta, não são todos conhecidos. No entanto, já se têm relatos que a interação herbicida e patógeno pode causar aumento da doença ou redução da mesma (LÉVESQUE & RAHE 1992).

Rhizoctonia solani é um patógeno de solo que representa uma importância econômica para diversas culturas largamente difundidas no Brasil. O feijão e a soja, por exemplo, podem ser levadas ao tombamento, podridão da raiz e da base da haste, morte em reboleira e mela (EMBRAPA, 1999). A possível redução desse com o uso do herbicida 2,4-D no controle de plantas daninhas da cultura de *Phaseolus vulgaris* L, pode ser um meio de reduzir custos e aumentar a produtividade. A relação deletéria pelo herbicida aos fitopatógenos não anula a necessidade de outros manejos para controle dos mesmos. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do herbicida 2,4 D sobre a qualidade do solo a partir dos critérios biológicos - coleta de artrópodes, de número provável de micro-organismos, proliferação de *R. solani* e na influência sobre a emergência de plântulas de *P. vulgaris* L. em solo inoculado com *R. solani*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Qualidade do solo

É medida pela sua capacidade de realizar variadas funções, como: regulação dos fluxos de água e solutos; sustentação da biodiversidade presente; degradação, destoxificação e imobilização de compostos orgânicos e inorgânicos; e ciclagem de nutrientes (MONTEIRO, 2005). O solo não possui padrões de qualidade estabelecidos, sendo necessário caracterizar as suas funções ligadas a cada atributo (DORAN; SARRANTO; LIEBIG, 1996). Atributos esses estabelecidos em físico, químico e biológico, que possibilitam caracterizar, acompanhar e avaliar as mudanças de um dado ecossistema (ARAÚJO & MONTEIRO, 2007).

Esses atributos, em pleno vigor, proporcionam base para o crescimento e desenvolvimento das plantas e adequado ambiente para manter a variedade de organismos que sobrevivem no solo (DORAN & PARKIN, 1994) ao ponto em que, quando o solo sofre algum tipo de alteração, a sua estrutura, atividade biológica e consequentemente a fertilidade refletem essas alterações no agroecossistema (BROOKES, 1995), gerando danos à qualidade do solo e produtividade da cultura possivelmente introduzida na localidade (REIS et. al., 2008).

Para a devida avaliação da qualidade do solo os atributos devem ser trabalhados em conjunto, uma vez que avaliados separadamente não suprem o contexto para caracterizar as possíveis mudanças na perda ou ganho potencial dos cultivos em determinados solos (CARNEIRO et. al., 2009).

2.1.1 Atributos físicos

Os atributos físicos possuem relevante importância frente os processos hidrológicos, dentre estes são citados a infiltração, escoamento superficial, drenagem e erosão. Com isso, dão suporte ao armazenamento e disponibilidade de água, nutrientes, oxigênio no solo, trocas gasosas e atividade biológica (GOMES M.A.F., 2006; ARSHAD et. al., 1996). Voltado para o âmbito agrícola, os indicadores físicos quanto à qualidade do solo se baseiam na textura, estrutura, resistência à peneiração,

profundidade de enraizamento, capacidade de água disponível, percolação ou transmissão da água e sistema de cultivo (ARAÚJO et al., 2012).

Junto aos indicadores físicos, a estrutura do solo é considerada, segundo Campos et. al. (1995), como um dos principais atributos para o desenvolvimento das plantas, devido à sua influência nas condições de compactação, infiltração de água, adensamento e favorecimento à erosão.

2.1.2 Atributos químicos

Os atributos químicos possuem relevância em todos os aspectos do uso do solo, uma vez que revelam a quantidade de nutrientes fixos e variáveis existentes, os quais influenciam diretamente no desenvolvimento da cultura vigente (SANTOS & MAIA, 2013).

Os indicadores químicos, normalmente são divididos, segundo Araújo & Monteiro (2007), em quatro grupos sendo estes aqueles que indicam os processos do solo ou de comportamento (pH, carbono orgânico); os que fornecem o nível do solo de resistir à troca de cátions (tipo de argila (1:1 ou 2:1), CTC, CTA, óxidos de ferro, óxido de alumínio); os que demonstram as necessidades nutricionais das plantas (N, P, H, K, Mg e outros); e aqueles que tornam verídico os níveis de contaminação e poluição (metais pesados, nitrato, fosfato, agrotóxicos).

2.1.3 Atributo biológico

Os componentes biológicos pertencentes ao sistema do solo estão presentes na camada superficial, 1 a 30 cm de profundidade. Esses componentes são formados, em grande porcentagem, por micro-organismos, os quais realizam variadas funções para o funcionamento do solo. Como exemplos das funções que esses exercem inclui-se a decomposição de matéria orgânica, disponibilizam nutrientes assimiláveis às plantas e degradam substâncias tóxicas (KENNEDY & DORAN, 2002). Além desses aspectos, efetuam controle biológicos de patógenos, colaboram na estruturação e agregação do solo e realizam associações simbióticas com as raízes das plantas.

Os micro-organismos possuem função de interagir nos processos do manejo do solo, esses formam bons indicadores da qualidade do solo (POWLSON, BROOKES, CHRISTENSEN, 1997). Diferente dos aspectos físicos e químicos do solo, os micro-organismos respondem rapidamente às mudanças na qualidade do solo, algo relevante para diagnosticar, em tempo hábil, possíveis modificações negativas no solo (ZHANG et al., 2011).

Assim como os micro-organismos, os insetos transeuntes alteram sua permanência no solo quanto às mudanças na qualidade do solo, de forma a ser tratado como marcante indicador, uma vez que são também de fácil detecção e amostragem. Os organismos do solo mudam seus comportamentos devido a mudanças ambientais que modificam seu habitat como fragmentação, mudanças climáticas, poluição e outros (MCGEOCH, 1998).

2.2 Ácido diclorofenoxiacético (2,4-D)

Ácido diclorofenoxiacético (2,4-D), um dos herbicidas mais difundidos e antigos do mundo, foi fabricado por volta da década de 40. Sua utilização inicial foi no âmbito militar, durante a Guerra do Vietnã, onde países, principalmente os EUA, utilizavam o citado herbicida juntamente com o 2,4,5-triclorofenoxiacético (2,4,5-T) e o pentaclorofenol, formando o chamado “agente laranja”, utilizado como desfolhante (AMARANTE et al., 2002). Pós-guerra, com o incentivo à agricultura, com o período denominado “Revolução Verde”, o herbicida foi largamente difundido como substituto da capina mecânica, reduzindo custos junto à diminuição de mão de obra (PRADO & VIEIRA, 1999).

É considerado o primeiro composto orgânico sintetizado usado como herbicida seletivo, sendo um dos promissores da utilização em pequena concentração ($< 1 \text{ Kg.ha}^{-1}$). Pertence ao grupo dos herbicidas clorofenoxiacéticos (RODRIGUES & SERRA, 1996), formando com o Picloran, Triclopyr, Fluroxipyr e Quinclorac o grupo dos mimetizadores de auxina. Estes encadeiam nas plantas os efeitos de concentrações de auxinas endógenas (CATANEO & CARVALHO, 2008).

Herbicida seletivo, sistêmico de pós-emergência para aplicação no controle de plantas infestantes dicotiledôneas nas culturas de trigo, milho, soja, arroz (irrigado e de sequeiro), aveia, sorgo, cana-de-açúcar, café e pastagens de braquiária. No Brasil seu

uso como seletivo é mais difundido no cultivo de cana-de-açúcar (VIEIRA et. al., 1999).

O herbicida 2,4-D pode ser absorvido via foliar ou radicular, na primeira este é translocado via apoplástica, seguindo seu fluxo ao penetrar no floema. Seguindo o percurso dos nutrientes acumulam em regiões meristemáticas apicais e radiculares, sendo estas, regiões de elevado crescimento vegetativo (AMARANTE et. al., 2002). Quando absorvido pelas raízes, segue o fluxo da transpiração, a partir do xilema, chegando às partes aéreas da planta.

Após a aplicação do herbicida ocorre o acúmulo de cálcio no citoplasma, estimulando a produção de etileno e acidificação da parede celular. Por sua vez, induz a formação de celulase na parede celular e o baixo pH e a ação das células reduz a estabilidade da parede celular e graças ao turgor de água da célula, ocorre alongação celular. Quando se aplicam herbicidas mimetizadores de auxina o metabolismo fica desregulado e ocorre o crescimento desordenado devido às diferenças de suscetibilidade entre as células. Isso causa o fenômeno conhecido como “epinastia”, com encarquilhamento e a paralisação do crescimento das folhas terminais, a alongação atinge o meristema secundário, ocorrendo o rompimento dos tecidos de condução, interrompendo o fluxo de assimilados das folhas para as raízes. Sem fonte de energia há morte das raízes, desidratação e necrose dos tecidos. A morte da planta ocorre pela ausência de fontes de energia e desidratação (OLIVEIRA, 2011).

Para minimizar a possível resistência de plantas daninhas ao 2,4-D, herbicidas com diferentes mecanismos de ação como os inibidores da PROTOX podem ser utilizados em rotação de herbicidas, dentro do grupo temos como alternativas o Fomesafen, Flumioxazin e Oxyfluorfen (CATANEO & CARVALGO, 2008).

A degradação do herbicida pode ocorrer de forma física, química e biológica; na forma de adsorção, fotólise e lixiviação (GUEDES, 2010); mas em muitos, o princípio ativo dos herbicidas não são totalmente suprimidos pelos degradadores do solo.

O herbicida 2,4-D não tem característica de ser adsorvido ao solo e sim, pela sua característica hidrofóbica, de permanecer na água. Sua volatilização no ar é insignificante. No solo, o herbicida 2,4 D não é persistente, possui alta mobilidade, mas pela relativa degradação microbiana e aplicação geralmente foliar sofre pouca lixiviação (MACHADO, 2004). Higarashi (1999) relata que devido ao 2,4 D ser da família dos organoclorados esses são altamente tóxicos e apresentam elevada persistência.

O tempo de meia-vida no solo é baixo; variando de 6,4 dias em solos minerais até 8,3 dias em solos com alto nível orgânico. Em cursos d'água a meia-vida do 2,4 D é de 2 a 4 semanas. Devido os formulados do herbicida serem na forma ácida, ou amina e éster, são metabolizados a formulações menos tóxicas, o que pode caracterizá-lo como biodegradável (AMARANTE JR. et al., 2002).

As propriedades quantitativas e qualitativas da microbiota do solo influenciam a biodegradação do herbicida, influenciando em sua meia-vida (ARAÚJO & ORLANDA, 2014). Araújo (2002) relata que a degradação microbiana constitui o maior biodegradador, uma vez que favorece a dissipação das moléculas modificadas para o ambiente. Esse tipo de degradador é influenciado pela temperatura do solo, profundidade e potencial hídrico (GUEDES, 2010). Esse processo está ligado à adsorção e dessorção do herbicida, uma vez que determinam a disponibilidade ou não deste ao meio microbiano (BOLAN & BASKARAN, 1996). Segundo Luchini (1987) o conteúdo de matéria orgânica no solo afeta a adsorção do produto, uma vez que quanto maior a porcentagem deste, maior é a adsorção. Por ocorrer apenas na parte superior do solo, a fotodegradação não tem muita efetividade na degradação do 2,4 D (CASTRO, 2010).

O comportamento do herbicida na água possui dinâmica relacionada com o nível nutricional da mesma, uma vez possuindo o nível suficiente de nutriente, a microbiota aquática possui número suficiente para decompor o herbicida (GUEDES, 2010). A interação do herbicida com outros xenobióticos pode retardar a sua degradação, Fournier et al. (1993) relatam o retardo da biomineralização após aplicação de inseticidas organofosforados.

2.3 *Rhizoctonia solani*

Todos os fungos são eucariotos e podem ser unicelulares (leveduras, quitrídias), ou multicelulares. Em sua maioria possuem dois núcleos em suas células que são visíveis por microscópio óptico junto a técnicas de coloração específicas (SILVA & COELHO, 2006).

Entre os diversos gêneros e espécies de fungos existentes, alguns são fitopatógenos especialistas em promover danos a órgãos de reserva (sementes, frutos, etc.), no caule, nas raízes, no sistema vascular, assim como o tombamento de plântulas

ou podridão de colo de plantas adultas. Pensando dessa maneira podemos exemplificar espécies de fitopatógenos de solo como *Fusarium*, *Phytophthora*, *Pythium* e *Rhizoctonia* (FINELLI, 2001).

Para ser classificado no gênero *Rhizoctonia* é necessário estar enquadrado em alguns critérios, dentre estes se destacam a ramificação em ângulo reto observada próxima ao septo distal em hifas jovens; presença de um septo na ramificação da hifa próximo do seu ponto de origem; presença de septos do tipo doliporo; ramificações de hifas que são concêntricas em sua extremidade basal; ausência de grampos de conexão; ausência de conídios; tecido esclerocial não diferenciado em membrana, córtex e medula (não é necessária a produção de escleródios) e ausência de rizomorfos (CARLING; SUMNER, 1992).

Rhizoctonia solani, fungo que sobrevive como saprófita e colonizando matéria orgânica ou na forma de escleródios, causa danos relevantes a diversas culturas comerciais do Brasil, por exemplo o pimentão (*Capsicum annuum* L.), soja (*Glycine max*) e feijoeiro (*P. vulgaris*) (SILVEIRA et al., 2000).

Assim como outros fungos, *R. solani* em condições desfavoráveis à sua disseminação, produz estruturas de sobrevivência, criando aglomerados de células largas e curtas, parecidos com clamidósporos ou escleródios, estrutura facilmente encontrada em tubérculos de batata. Sua disseminação é variada, podendo ocorrer via água da chuva ou de irrigação, implementos agrícolas ou outros que podem estar levando consigo solo contaminado (AGRIOS, 2005).

Sobrevive até um ano em plantas e em restos de cultura; penetra através das paredes celulares da epiderme da raiz ou hipocótilo, invadindo posteriormente os tecidos da planta, nos quais o patógeno os degrada a partir da ação de enzimas e toxinas do patógeno (KRUGNERT, 1980).

Plantas que estão infectadas por *R. solani* possuem quadro de podridão de sementes, morte de plântulas, cancro nos talos, podridão de frutos e raízes, levando à morte prematura das plantas infectadas e/ou à menor produtividade (BRUTON, 1998; GARCIA et. al., 2000).

Na produção de *P. vulgaris*, *R. solani* é encontrado em todas as regiões produtoras, favorecido por temperaturas de 15 a 21 °C e elevada umidade do solo. Ataca as sementes, que apodrecem antes mesmo da germinação. No estado de plântula, causa lesões necróticas, levando ao estrangulamento na base do caule, chegando ao

tombamento. Vagens em contato com o solo podem ser infectadas, produzindo lesões deprimidas, de coloração parda e bem delimitadas. As sementes das vagens infectadas perdem sua coloração e são veículo de contaminação (VECHIATO et al., 2000).

3. METODOLOGIA

3.1 Perfil do solo

O presente estudo foi realizado entre os meses de julho e novembro de 2016. Foi conduzido em área do Instituto Federal de Minas Gerais, *campus* São João Evangelista, situado na região Leste de Minas Gerais, a 22°13'16" de latitude sul e 54°48'20" de longitude oeste, no vale do Rio Doce. O clima é tropical com chuvas de verão, precipitação média anual de 1211,41 mm, temperatura média anual de 21,8°C e Latossolo como solo predominante. O clima é úmido (SCOLFORO, 2008).

Com o intuito de conhecer as condições nutricionais da área a ser utilizada no estudo, área esta situada no setor de olericultura do IFMG, *campus* SJE, foi realizado amostragem do solo na camada de 0 - 20 cm de profundidade, sendo esta encaminhada ao Laboratório de Análise Química do Solo deste instituto. A análise química encontrada está apresentada da Tabela 1.

Tabela 1: Análise de solo da área destinada a execução do experimento

Ph	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	(t)	(T)	V	m	MO	P-rem
H ₂ O	- mg.dm ⁻³	-	----- cmol _c .dm ⁻³ -----				-----			---- % ----		dag.Kg ⁻¹	mg.L ⁻¹
6,92	716,7	410	7,10	0,60	0,00	1,16	8,75	8,75	9,91	88,3	0,0	2,47	47,0

pH em água – Relação 1:2,5; CTC(t) – Capacidade de Troca Catiônica efetiva; P – K – extrator Mehlich 1; CTC(T) – Capacidade de Troca Catiônica a pH7,0; Ca – Mg – Al – Extrator; KCl 1N; V= índice de Saturação de Bases; H+Al – Extrator: SMP; Mat.Org.(MO) – Oxidação:Na₂Cr₂O₇4N+H₂SO₄10N; m=índice de Saturação de Alumínio; P-rem=Fósforo remanescente SB=Soma de Bases Trocáveis

A área utilizada para a aplicação dos herbicidas possuía um histórico agrícola voltado para o plantio de *P. vulgaris* e *Curcubita moschata*, as quais tinham o manejo de plantas daninhas com a utilização de herbicida glyphosate. A área estava um ano sem uso, mas o manejo de plantas daninhas com o herbicida glifosato continuou.

A área não sofreu nenhum tipo de manejo mecanizado como aração e gradagem. Previamente à instalação do experimento foi realizada a aplicação do herbicida glifosato para controle de plantas daninhas na dosagem de 480 g i.a. ha⁻¹. A aplicação foi realizada 20 dias antes do início do experimento.

3.2 Amostragem do solo para avaliação de micro-organismos

Para a caracterização inicial do solo, antes da instalação do experimento, foi realizada uma amostragem do solo onde foi obtida uma amostra composta, a partir de 15 amostras simples da área. O solo foi coletado a uma profundidade de até 20 cm com o auxílio de cavadeira. A amostra foi conduzida até laboratório de Energia do IFMG com a finalidade de ser utilizada para avaliação do número de micro-organismos presentes no solo, umidade do solo e capacidade máxima de retenção de água (ARRUDA, 2014).

3.3 Número possível de micro-organismos

Para proliferação e possível contagem do número de micro-organismos o solo foi peneirado em malha de 2 mm e retiradas duas alíquotas de 50 g cada, as quais foram diluídas em 500 ml de água. O material ficou em repouso por 20 minutos para que o material sólido decantasse. Posteriormente foram retirados 10 ml de suspensão que foi diluída em tubos de ensaio, sendo um ml para cada 9 ml de água, até atingir a diluição de 1.10^{-19} (ALEXANDER, 1982). Para a propagação dos micro-organismos foi utilizado meio de cultura de BDA (ágar dextrose e água) na proporção de 39 gramas de meio em pó para 1 litro de água. O meio de cultura foi homogeneizado e esterilizado em autoclave a 121 °C durante 20 minutos. Após a esterilização o meio de cultura foi vertido em placas de Petri esterilizadas previamente. A esterilização das placas de Petri foi realizada em estufa, a 180° C, durante uma hora. Sobre o meio de cultura, após sua gelificação, foi inoculada uma gota da suspensão, devidamente uniformizada sobre a superfície do meio. Após 24 horas realizou-se a contagem do número de unidades formadoras de colônia que proliferaram no meio de cultura, sendo cada unidade contabilizada como um micro-organismo (CEREDA et. al.,1990).

3.4 Determinação da umidade do solo 100- 110 °C

A mesma amostra de solo foi utilizada para determinação da umidade a 100-110° C e capacidade máxima de retenção de água segundo metodologia de Monteiro & Friguette (2000); formulada a partir da utilização de 3 alíquotas de 5g cada, previamente peneiradas em peneira de 2mm e acondicionadas em latinhas de alumínio sem a tampa em estufa a 105° C até peso constante (aproximadamente 48 horas). Com a utilização da fórmula abaixo, calculou-se a porcentagem de umidade do solo.

$$U(\%) = 100 \left(\frac{P - P_1}{P} \right)$$

P= peso da amostra ao natural e P1= peso da amostra seca a 100-110°C

3.5 Capacidade máxima de retenção de água

Para a determinação da capacidade máxima de retenção de água foram utilizadas três alíquotas de solo peneiradas em malha de 2 mm, as quais foram acondicionadas em funil revestido com papel filtro montado em frasco coletor; sobre o solo foram aplicados 100 ml de água destilada e o funil foi tampado para evitar evaporação da água, deixando em repouso por uma noite. No dia seguinte foi realizada a pesagem dos frascos coletores com a água destilada. Com a massa da água precipitada o próximo passo é a realização dos cálculos segundo Monteiro & Friguette (2000).

3.6 Coleta de artrópodes

Concomitante à coleta do solo foram acondicionados as armadilhas de solo tipo *pitfall* (buraco) com metodologia de Aquino et al. (2006). Estas foram confeccionadas com garrafas de polietileno de 500 ml cortados ao meio, no sentido horizontal, acondicionas 3 armadilhas por unidade experimental, respeitando a metodologia de Aquino et. al. (2004) utilizando de uma armadilha a cada 2, 5 m², totalizando 18 armadilhas. Com auxílio de cavadeira fizeram-se os buracos no solo, nas quais foram acondicionadas as armadilhas de maneira que a área de abertura ficasse no mesmo nível

da superfície do solo, facilitando a queda dos artrópodes transeuntes do local, que por sua vez ficam aprisionados na armadilha pela superfície lisa e a alíquota de álcool colocada em seu interior. As armadilhas ficaram na área por 48 horas, inclusive no período noturno, possibilitando coleta de artrópodes com hábitos desse período. Após o período determinado, ocorreu a retirada das armadilhas, contagem dos artrópodes e sua classificação quanto à ordem.

3.7 Montagem das unidades experimentais

Após realização das avaliações preliminares o passo subsequente foi a delimitação das unidades experimentais para cultivo do feijão em delineamento inteiramente casualizado. Esses foram compostos por uma área de 8 m² cada, utilizando um total de 48 m², sendo os tratamentos: testemunha, aplicação do herbicida 2,4 D na dose recomendada (806g i.a. ha⁻¹), aplicação do 2,4 D com metade da dose recomendada, sendo duas repetições para cada tratamento, totalizando 6 unidades experimentais. Cada unidade foi subdividida para o plantio de 3 linhas de feijoeiro. Para amostragem de solo para contagem de micro-organismos e para amostragem de artrópodes as subunidades não foram consideradas.

3.8 Aplicação dos herbicidas

Antes do plantio do *P. vulgaris* foi realizada a aplicação do herbicida, com diluição de 1 ml de 2,4 D para cada 20 L de água como tratamento utilizando a dose comercial e a metade da dose para o mesmo volume de água para compor a metade da dose comercial.

A aplicação foi realizada com bomba costal manual com capacidade de 20 L de solução, com a preservação de mesma intensidade de bombeamento do mecanismo aplicador e velocidade do aplicador pelo decorrer da área com bico tipo leque, com ângulo de aplicação de 110 °, pressão de funcionamento de 2 a 4 bar, como recomendado para aplicação de herbicidas de área total. A aplicação foi feita a uma altura de 50 cm do solo, garantindo aplicação uniforme do produto com volume de caldo de 200 L ha⁻¹.

Para avaliar o primeiro efeito após aplicação do herbicida realizou-se nova coleta de artrópodes e coleta de solo para contagem de micro-organismos quatro dias após a aplicação dos tratamentos, processos citados anteriormente. Esse processo de coleta foi realizado no aos 38 dias após aplicação.

3.9 Plantio de *Phaseolus vulgaris* L.

Quinze dias após a aplicação de 2,4 D foi realizado o plantio do *P. vulgaris* do grupo carioca, plantio este realizado em espaçamento de 50 cm entre linhas e 10 cm entre plantas, sendo três linhas de plantio por unidade experimental, sendo uma estimativa de 200000 plantas ha⁻¹; plantio realizado manualmente com auxílio de enxada.

3.10 Controle de plantas invasoras

No estágio V3 (primeira folha trifoliolada aberta e plana), para fim de controle das plantas invasoras, foi realizada capina mecânica, com subsequente amostragem do solo para contagem de micro-organismos com mesma metodologia já estabelecida, sendo esta a já relacionada como última amostragem.

3.11 Produção de inóculos de *Rhizoctonia solani*

Utilizando da metodologia de Michereff Filho et. al. (1996), com adaptações, os inóculos foram obtidos a partir de cultura com cinco dias de idade, desenvolvidas em BDA sob temperatura ambiente. Um disco de micélio com 9 mm de diâmetro foi transferido para vidraria contendo 60 g de arroz cozido e autoclavado (121° C, 30 min) e incubado por três semanas em temperatura ambiente, no escuro.

O arroz já inoculado foi seco à sombra em saco de papel, sobre temperatura ambiente, por 72 horas. Após a secagem foi triturado em multiprocessador, formando uma massa do fungo junto ao meio nutricional abordado.

3.12 Substrato para inoculação do *Rhizoctonia solani*

Solo utilizado na experimentação foi coletado nas intermediações do IFMG – SJE, solo de superfície e com significativa quantidade de matéria orgânica, teor de umidade de 19,39 % e capacidade máxima de retenção de água de 54%. A capacidade de retenção de água foi determinada de acordo com Monteiro & Figueredo (2000). A umidade do solo foi ajustada para 70% da capacidade de campo, utilizado posteriormente para manter condições favoráveis para a proliferação do fungo assim como a propagação de *P. vulgaris*.

Para inoculação do fungo, plantio de *P. vulgaris* e aplicação do herbicida 2,4 D, 500 g do solo foram acondicionados em saco plástico utilizado para produção de mudas de 10x20 cm.

3.13 Montagem das unidades experimentais em laboratório

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado com cada unidade experimental constituída de um saco plástico contendo 500g de solo com quatro repetições. Cada saco plástico possuía quatro sementes de *P. vulgaris* semeadas a uma profundidade de 2 cm. Os tratamentos são listados na Tabela 2.

Tabela 2: Descrição dos tratamentos

Tratamento	Descrição dos tratamentos
1	Sem <i>Rhizoctonia solani</i> sem 2,4 D
2	Com <i>Rhizoctonia solani</i> sem 2,4 D
3	Sem <i>Rhizoctonia solani</i> com 2,4 D *dose comercial
4	Sem <i>Rhizoctonia solani</i> com 2,4 D ½ dose comercial
5	Com <i>Rhizoctonia solani</i> com 2,4 D dose comercial
6	Com <i>Rhizoctonia solani</i> com 2,4 D ½ dose comercial

*Dose comercial: 806 g i.a. ha⁻¹

Foram utilizados 72 mg kg⁻¹ de inóculo de *Rhizoctonia solani*, produzido como descrito anteriormente, misturados de maneira uniforme nos 2,5 cm superficiais do solo segundo Oliveira (2006).

O herbicida 2,4 D foi aplicado segundo a mesma metodologia realizada na aplicação a campo, de maneira que as unidades amostrais foram colocadas em piso plano para uniformizar a aplicação.

Durante o tempo de germinação até a emergência e aparecimento das folhas primárias do *P. vulgaris*, diariamente a umidade do solo foi controlada a 70% da capacidade de campo graças a pesagem e conformidade com acréscimo de água.

Para avaliação de forma indireta da proliferação da *R. solani* aos 7 dias após o plantio do feijão foi realizada uma avaliação através de escala com variação de nota 0 a 4 (0= ausência de sintomas; 1=hipocótilo com pequenas lesões; 2=hipocótilo com grandes lesões, sem constrição; 3=hipocótilo totalmente constricto, mostrando tombamento; 4=sementes não germinadas e/ou plântulas não emergidas).

Com a finalidade de comprovar a proliferação do *R. solani* ou demais fungos foi realizado segundo Alfenas et al (2007), o isolamento de fungos fitopatogênicos do solo pelo método de isca de porções vegetativas de eucalipto. Para este fim ramos vegetativos de *Eucalyptus grandis* de 7 cm de comprimento e cerca de 0,5 cm de diâmetro, foram autoclavados a 121 °C, por 10 minutos. Posteriormente foram acondicionados 3 ramos em cada unidade amostral. Passados quatro dias foram montadas lâminas com micélios dos fungos que desenvolveram nos ramos a fim de observá-los ao microscópio óptico e determiná-los quanto a presença de fitopatógenos.

Os dados que apresentaram normalidade e homogeneidade de variâncias foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade. Para os dados em que os requisitos para executar a análise de variância não foram atendidos, nem mesmo após a transformação dos dados, são apresentadas estatísticas descritivas: média de frequência relativa e desvio padrão da frequência relativa de artrópodes (Coleoptera, Ortoptera e Araneae); média de UFC no solo em função de dose e tempo de aplicação do herbicida; análise de correlação para UFC e tempo decorrido da aplicação do herbicida e para UFC e dose de herbicida; e percentual de germinação de sementes após inoculação de *R. solani* no solo. Para avaliação do número de artrópodes e contagem de micro-organismos no campo as subunidades e unidades experimentais foram desconsideradas devido ao padrão de amostragem dentro das unidades que passaram a ser consideradas unidades amostrais. Então, para tais variáveis, o delineamento de amostragem foi considerado como inteiramente ao acaso, onde foram realizadas três repetições para os três tratamentos (doses). As repetições foram realizadas no tempo, em

unidades amostrais fixas, com repetição total de unidades amostrais, para artrópodes, e em unidades amostrais independentes, sem repetição das unidades amostrais no tempo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observado efeito de dose e tempo na amostragem de Hymenoptera ($p < 0,05$) (Tabela 3). O artrópode que possuiu maior relevância em número durante as coletas a partir das armadilhas tipo *pitfall* (buraco) foi a formiga, classificada na ordem Hymenoptera, relatado na Tabela 4. Mesmo ocorrendo um aumento do número de formigas ao decorrer do tempo, não houve diferença significativa entre as médias de Hymenoptera. Os tratamentos em estudo não interferiram no número de artrópodes presentes na área.

Observou-se tendência ao aumento do número de artrópodes coletados pelas armadilhas ao decorrer do tempo de amostragem (Tabela 3). Provavelmente como foi aplicado o herbicida glyphosate, 20 dias antes do tratamento do solo com 2,4 D, pode ter afugentado os artrópodes até a sua degradação pelos micro-organismos do solo e/ou adsorção pelo solo.

Os relatos da meia vida do glyphosate no solo são variados, desde menos de uma semana (TONI et al., 2006) até 174 dias (WAUCHOPE et al., 1992). Junior et al. (2002) alegam que o glyphosate tem alta toxicidade para bactérias e fungos, podendo levar efeito adverso em invertebrados do solo. Messersmith e Akins (1995) declaram que moléculas de diversos herbicidas, como Fomesafen e Fluazifop-p-butyl causam efeito deletério sobre variadas espécies de artrópodes. Wendson et al. (2000) observaram redução da média de formigas coletadas em armadilhas de solo em decorrência da prévia aplicação dos herbicidas pelos herbicidas alachlor, metolachlor, dimethenamid e diuron.

Tabela 3: Resumo da análise de variância para o número de Hymenoptera (formigas) capturados em armadilhas *pitfall* durante as avaliações.

Fonte da variação	Gl	QM	P
Dose	2	727,7002	0,169322

Gl – graus de liberdade; QM – quadrado médio; P – valor de probabilidade de significância do teste F. Fonte: o autor.

Assim como para os artrópodes, a microbiota do solo não foi influenciada pela aplicação dos herbicidas ($p > 0,05$) para com as médias das UFC's (Unidades Formadoras de Colônia. A degradação e adsorção do 2,4 D no solo provavelmente reduziram seu efeito toxicológico a culturas não seletivas ou a macro fauna existentes no meio. Souza et al., (1996) observou que a presença de matéria orgânica no solo, acelera a degradação do herbicida 2,4-D, ao mesmo tempo favorece o meio aos micro-

organismos decompositores. A matéria orgânica também interfere na adsorção da molécula de 2,4-D, aumentando este processo (MARCONDES, 2001).

Tabela 4: Frequência das ordens de artrópodes nas datas 0, 4 e 38 dias após aplicação de tratamento com 2,4 D.

Dose	Ordens	FREQUÊNCIA RELATIVA				
		DIAS			MÉDIA	DESVIO
		0	4	38		
0	Hymenoptera (formiga)	7,14	4,76	30,36	14,09	14,14
0	Coleoptera (besouros)	0,00	0,00	2,68	0,89	1,55
0	Orthoptera (grilo)	3,57	2,38	0,00	1,98	1,82
0	Araneae (aranha)	0,00	0,00	3,57	1,19	2,06
0,5	Hymenoptera (formiga)	17,86	48,81	28,57	31,75	15,72
0,5	Coleoptera (besouros)	0,00	2,38	0,00	0,79	1,37
0,5	Orthoptera (grilo)	1,79	2,38	0,00	1,39	1,24
0,5	Araneae (aranha)	0,00	4,76	0,00	1,59	2,75
1	Hymenoptera (formiga)	69,64	30,95	34,82	45,14	21,31
1	Coleoptera (besouros)	0,00	2,38	0,00	0,79	1,37
1	Orthoptera (grilo)	0,00	1,19	0,00	0,40	0,69
1	Araneae (aranha)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Total de organismos amostrados		56,00	84,00	112,00		

Dose: 0= Testemunha, sem aplicação do herbicida 2,4 D; 1= dose comercial do 2,4 D (806 g i. a. há⁻¹); 0,5= metade da dose comercial de 2,4 D (806 g i.a. há⁻¹).

Os valores das médias podem ser observados na Tabela 5. Os tratamentos com 2,4-D não afetaram a microbiota do solo.

Monteiro (2001) relata que compostos químicos introduzidos no solo servem como nutriente para os micro-organismos, principalmente carbono, nitrogênio e fósforo. O 2,4-D é relatado como estimulador da atividade microbiana, com aumento de sua degradação quando a microbiota estiver em níveis elevados (SOUZA et. al., 1996). Walker & Welch (1989 apud MARCONDES, 2001) discorre que o pH do solo influencia na degradação de alguns herbicidas, o triasulfuron passou de 33 dias de meia vida no pH de 5,8 para 120 dias em pH 7,4; interferindo também na adsorção, passando de 0,55 para 0,19 L.Kg⁻¹ ao aumentar o pH.

Tabela 5: Média de log do número provável de micro-organismos em função do tempo após tratamentos com herbicida 2,4 D.

Dose	UNIDADE FORMADORAS DE COLÔNIAS,				
	0	4	38	65	Total Geral
0	11,78	6,62	2,95	3,54	6,61
0,5	11,78	2,78	3,33	3,20	3,12
1	11,78	5,89	3,35	3,08	4,55
Total Geral	11,78	5,56	3,15	3,25	5,13

Dose: 0= Testemunha, sem aplicação do herbicida 2,4 D; 0,5= metade da dose comercial de 2,4 D (806 g i.a. ha⁻¹); 1= dose comercial do 2,4 D (806 g i.a. ha⁻¹).

A temperatura da região, como citada anteriormente, é em média de 21,8° C e OU (1984 apud MARCONDES, 2001) relata que temperaturas por volta de 24° C aceleram a degradação de 2,4-D.

O tempo de meia vida do 2,4-D é bem reduzido, menos de 7 dias (GAZZIERO, et al., 2001), desta forma a molécula do herbicida pode não ter ficado tempo suficiente presente na área para exercer alguma função adversa aos artrópodes.

O aumento das doses do herbicida 2,4-D tendeu a diminuir as UFC's, relatado pela correlação negativa apresentada na Tabela 6. Prado e Airolid (2001) relatam que o 2,4-D atua diretamente sobre os micro-organismos do solo, no início utilizam o herbicida como fonte de nutriente e após, com aumento da quantidade deste, ocorre decréscimo na atividade microbiana.

Na primeira data de amostragem acredita-se como elucidado anteriormente, que o efeito do glifosato era vigente no solo, levando a maior atividade da microbiota, uma vez que o herbicida glifosato serve como nutriente para os micro-organismos do solo (ANDRIGHETTI et al., 2014), aumentando a atividade microbiana até o ponto em que as moléculas do herbicida sejam degradadas, chegando ao ponto da segunda amostragem onde a atividade microbiana começa a diminuir pela provável redução de moléculas do glifosato e ainda não degradação do 2,4-D ou mesmo sua adsorção pelo solo. O tempo de efeito do glifosato como fonte elevação da atividade microbiana será influenciado pela forma com que está presente no solo, glifosato não-adsorvido tem meia vida de 6 a 9 dias e adsorvido de 222 a 835 dias. Uma vez aplicado repetidamente no solo, como é o caso da área da pesquisa, pode levar maior adaptação dos micro-organismos, podendo apresentar enzimas específicas para metabolizar as moléculas do herbicida (ARAÚJO, et al., 2003).

Tabela 6: Correlação linear de Pearson para as variáveis número de unidades formadoras de colônias (UFC), dose do herbicida e tempo decorrido da aplicação do herbicida.

	Dose do herbicida	Tempo
UFC	-0,5868	-0,7556

Fonte: o autor.

As doses de 2,4-D não exerceram redução do desenvolvimento de *R. solani* ($p < 0,05$). Levando em consideração os tratamentos de 2,4-D no controle de *R. solani*, este não causou efeito no fitopatógeno, uma vez que o número de sementes germinadas foi de apenas 6,25 % no tratamento com dose comercial do produto (806 g ia/ha) e 12,5 % no tratamento com metade da dose comercial (Tabela 7). As demais sementes apresentaram sintomas de podridão.

Tabela 7: Porcentagem de germinação de sementes de *Phaseolus vulgaris* após aplicação de herbicida 2,4 D e inoculação de *Rhizoctonia solani*.

Tratamentos	Sementes germinadas	%
Sem <i>Rhizoctonia solani</i> Sem 2,4 D	1	6,25
Com <i>Rhizoctonia solani</i> Com 2,4 D dose comercial	1	6,25
Sem <i>Rhizoctonia solani</i> Com 2,4 D dose comercial/	0	0
Sem <i>Rhizoctonia solani</i> Com 2,4 D 1/2 dose comercial	2	12,5
Com <i>Rhizoctonia solani</i> Com 2,4 D 1/2 dose comercial	2	12,5
Com <i>Rhizoctonia solani</i> Sem herbicida 2,4 D	1	6,25

Fonte: o autor.

Durante o desenvolvimento do trabalho foi observado a ocorrência de fungos em todos os tratamentos, inclusive nos tratamentos sem inoculação de *Rhizoctonia solani*. A seguir são citados os fungos encontrados no solo e nas sementes após 20 dias da inoculação de *R. solani*:

- *Fusarium* sp;
- *Artrobotrys* sp.;
- *Cylindrocladium* sp.;
- *Rhizoctonia solani*;
- *Penicillium* sp;
- *Gliocladium* sp.;

Dentre os fungos encontrados, *Fusarium* sp. e *R. solani*, são fitopatógenos da cultura do *P. vulgaris*, causando podridão de sementes e tombamento. Algumas

espécies do gênero *Fusarium* causam danos ao feijão e estas podem sobreviver no solo como saprófitos, sendo *Fusarium oxysporum*, a principal destas, causando a doença chamada “murcha” ou “amarelecimento de *Fusarium*” (SALLIS et al., 2001). *Penicillium* sp. segundo o mesmo autor é comumente encontrado em sementes de feijão.

Artrobotrys sp. é classificado como nematófago facultativo (MOTA & CAMOS, 2003). *Cylindrocladium* é causador de mancha nas folhas, podridão de estacas e tombamento de mudas em eucalipto além de podridão do colo em outras culturas (APARECIDO & FINATTI., 2012).

Gliocladium é um fungo de vida livre já mencionado como parasita de outros fungos e realiza competição por nutrientes e/ou espaço com outros micro-organismos (ANTOMARE et al., 1999).

Existem relatos de que herbicidas não influenciaram na propagação de fungos fitopatogênicos. Rosa et al. (2010) discorre que herbicida Setoxidim não diferiu na velocidade de crescimento de *Rhizoctonia solani* e *Fusarium oxysporum*. Soares (2006) comenta que herbicidas podem favorecer ou diminuir a incidência de doenças.

A interação entre herbicidas e rizoctoniose, tem uma vasta gama de conclusões, incluindo efeitos no aumento, redução ou nenhuma influência significativa na incidência e/ou severidade da doença, dependendo do herbicida e da espécie de planta cultivada, dentre outros fatores (SANYAL & SHRESTHA, 2008).

Efeitos de herbicidas sobre fungos fitopatogênicos podem variar quando os microrganismos se encontram no solo. Isso porque o solo é um ambiente complexo, onde vários fatores estão atuando, como o tipo de solo, a compactação, textura e pH, o que pode, inclusive, afetar não só a sobrevivência dos propágulos de fungos (SOARES, 2011) como a ação tóxica de compostos químicos sobre esses propágulos.

Herbicidas como o glifosato afetaram por morte ou inibição da germinação de esporos do fungo patogênico *Phakopsora pachyrhizi* (SOARES, 2008). Segundo Anderson & Kolmer (2005) na produção de trigo o glifosato reduziu infecções com *Puccinia triticina* Erikss e *P. graminis* f sp. *tricini* Erikss.

Glifosato, trifluralina, diuron utilizados em cultivo de feijão-caupi no Agreste Meridional de Pernambuco ocasionou o aumento da atividade saprofítica e da atividade patogênica de *Rhizoctonia* spp. (BARROS et al., 2013).

Uma das causas do não efeito do herbicida 2,4-D no desenvolvimento de *R. solani* pode ser a não esterilização do solo, uma vez que a área onde o solo foi coletado já vem de histórico de utilização de herbicidas, o que proporcionou condições ao surgimento de micro-organismos com enzimas especializadas em degradação de herbicidas, o que pode ter causado a rápida degradação do herbicida, uma vez que a meia vida do 2,4-D, como já mencionada anteriormente, pode ser de até menos de 7 dias em condições de alta atividade microbiana. A esterilização do solo levaria a destruição da microbiota do solo e dos fungos que possivelmente aumentaram a não germinação das sementes de *P. vulgaris*.

5. CONCLUSÃO

O número de artrópodes não foi afetado pela aplicação de 2,4-D.

Houve correlação negativa entre dose de 2,4-D e UFC presentes no solo e entre UFC e tempo após a aplicação de 2,4-D.

Vários fungos, dentre eles alguns potencialmente patogênicos, foram observados em iscas dispostas em solo inoculado com *R. solani* e que recebeu a aplicação de 2,4-D.

Os indicadores biológicos utilizados foram insuficientes para realizar uma adequada avaliação da qualidade do solo após a aplicação de 2,4-D.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. Plant Pathology. 5 ed. San Diego: **Academic Press**, 2005. 922 p.
- ALEF, K. & NANNIPIERI, P., eds. Methods in applied soil microbiology and biochemistry. London, **Academic Press**, 1995. 576p.
- ALFENAS, A. C. et al. Isolamento de Fungos Fitopatogênicos. In: **ALFENAS, A.C. Métodos em fitopatologia**. Viçosa: Ed. UFV, 2007. P 53-90.
- ALEXANDER, M. Most probable number method for microbial populations. In: PAGE, A.L. et al. Methods of soil analysis. Part 2. 2.ed. Madison: **American Society of Agronomy**, 1982. p. 815-820.
- ALTOMARE, C.; NORVELL, W. A.; BJORYMAN, T.; HARMAN, G. E. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, US, v. 65, n. 7, p. 2926-2933, 1999.
- AMARANTE Jr., O. P. **Avaliação do potencial de contaminação por herbicidas: determinação do 2,4-D e do seu principal produto de degradação em solos de campos de cultivo de eucaliptos**. 2002. 125p. Dissertação (Mestrado em Química Analítica)- Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2002.
- ANDRIGHETTI M. S. et al. Biodegradação de glifosato pela microbiota de solos cultivados com macieira. **R. Bras. Ciência de Solo**, 38:1643-1653, 2014.
- APARECIDO C. C. & D FINATTI. Impacto do gênero *Cylindrocladium* para diferentes culturas. **Centro de P&D de Sanidade Vegetal**, nº 16/06/2012.
- AQUINO, A. M.; MENEZES, E.L.A.; QUEIROZ, J. M.; Recomendações para Coleta de Artrópodes Terrestres por Armadilhas de Queda ("Pitfall-Traps"). Seropédica: **Embrapa**, 2006. 8 p. (Embrapa. Circular Técnico), 18.
- AQUINO, A. M. de; RODRIGUES, K; PEREIRA, A. J. CORREIA, M.E.F.; GUERRA, J.G.M. **Fauna edáfica associada a Interface solo-serrapilheira no cultivo do repolho (*Brassica oleracea*) sob manejo orgânico em plantio direto e convencional**. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 26., REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 10., SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 8., REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 5., 2004, Lages. Anala... Lages: UDESC, 2004. CD-ROM.
- ARAÚJO E. A. et al. Qualidade do solo: conceitos, indicadores e avaliação. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia** v.5, n.1 jan/abr. (2012) 188 Print-ISSN 1983-6325 (On line) e-ISSN 1984-7548.
- ARAÚJO A. S. F. et al. Biodegradação de glifosato em dois solos brasileiros. **Pesticidas: R.Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 13, p. 157-164, jan./dez. 2003.

ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Biosci. J., Uberlândia**, v. 23, n. 3, p. 66-75, July./Sept. 2007.

ARAÚJO L. C. A. & ORLANDA J. F. F. Biodegradação do herbicida 2,4-d utilizando bactérias selecionadas do solo do cerrado maranhense. **Pesticidas: r. ecotoxicol. e meio ambiente**, Curitiba, v. 21, p. 21-32, jan./dez. 2014.

ARRUDA M. R. et al., Amostragem e Cuidados na Coleta de Solo para Fins de Fertilidade. **Embrapa Amazônia Ocidental Manaus**, AM 2014.

Amostragem e cuidados na coleta de solo para fins de fertilidade / Murilo Rodrigues de Arruda... [et al.] – Manaus:Embrapa Amazônia Ocidental, 2014. 18 p. – (Documentos / Embrapa Amazônia Ocidental, ISSN 1517-3135; 115).

BARROS A. P. O. et al. Influência da utilização de herbicidas sobre rhizoctonia spp. Em solos cultivados com feijão-caupi no agreste de Pernambuco. **III CONAD**. 22 a 24 de abril de 2013/ Recife- PE.

BOLAN, NS & BASKARAN S. Biodegradation of 2,4-D herbicide as affected by Its adsorption-desorption behaviour and microbial activity of soils. *Australian Journal of Soil Research*. 34(6) 1041 1053. Published: 1996.

BROOKES, D. C. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 19, p. 269-279, 1995.

BRUTON, B. D. Soilborne diseases in Cucurbitaceae: pathogen virulence and host resistance. In: **CUCURBITACEAE** 98, 1998. Proceedings [S.l.:s.n.], 1998. p. 143-166.

CAMPOS, B.C. et al. Estabilidade estrutural de um latossolo vermelho-escuro distrófico após sete anos de rotação de culturas e sistemas de manejo de solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 19, p. 121-126, 1995.

CARLING, D.E. & SUMNER, D.R. Rhizoctonia. In: Singleton, L.L., Mihail, J.D. & Rush, C.M. (Eds.) Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. New York NY. **APS Press**. 1992. pp. 157-165.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; SOARES, A. L. L. Carbono orgânico, nitrogênio total, biomassa microbiana e atividade microbiana do solo em duas cronossequências de reabilitação após mineração de bauxita. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 621-632, 2009.

CASTRO, F. D. **Degradação do Ácido Diclorofenoxiacético (2,4-D) com Ozônio eletrogerado**. 2010, 69p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Uberlândia Instituto de Química Programa de Pós-graduação em Química. Uberlândia-MG.

CATANEO; CARVALHO. Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas/ coordenação de Padro Jacob Christoffoleti. - - 3. Ed., rev. e atual - - **Piracicaba**,

Associação Brasileira de Ação à Resistência de Plantas Daninhas – HRAC-BR, 2008.

CATÓIA, T. A et . al. Sinergística e compatibilidade de diuron e paraquat no desenvolvimento de *Sclerotinia sclerotiorum* (lib.) de bary. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v.7, n.1, p. 21-34, jan./abr. 2014.

CEREDA, M. P.; FLORS, A. B.; VALLES, S. A.; ALBEROLA, J. Tratamento anaeróbio em duas fases de suspensões amiláceas. II. Fase metanogênica. Influência da adição de cianeto. **Revista brasileira de microbiologia**, São Paulo, v.21 n.1 p.73-78, 1990

DORAN, J.W.; PARKIN, T.B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A. (Eds.). Defining soil quality for a sustainable environment. Madison, Wisconsin: **Soil Science Society American**, 1994. p. 3-21. (Special Publication, 35).

DORAN, J.W.; PARKIN, T.B. Quantitative indicators of soil quality: a minimum data set. In: DORAN, J.W.; JONES, A.J. (Eds.). Methods for assessing soil quality. Wisconsin, USA: **Soil Science Society American**, 1996. p.25-37. (Special Publication, 49).

DUAH-YENTUMI, S.; KUWATSUKA, S. Microbial degradation of benthocarb, MCPA and 2,4-D herbicides in perfused soils amended with organic matter and chemical fertilizer. **Soil Sci. Plant Nutr.**, v.28, p.19-26, 1982.

EL-SHANSHOURY, A.; EL-RAHEEM, R.; ABU ELSOUOUD, S. M.; AWADALLA, O. A.; EL-BANDY, N. B. Formation of tomatine in tomato plants infected with *Streptomyces* species and treated with herbicides, correlated with reduction of *Pseudomonas solanacearum* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Acta Microbiologica Polonica**, v. 44, n. 1, p. 255-266, 1995.

FOURNIER, J. C. Behavior of soil microflora in pesticide degradation. In: **Fate and prediction of environmental chemicals in soils, plants and aquatic systems**. S.l.s.n., 1993. P.199-208.

GARCIA-JIMENEZ, J.; Armengol, J.; Sales, R.; Jordá, C.; Bruton. B. D. Fungal pathogens associated with melon plants collapse in Spain. **EPPO Bulletin**, Paris, v. 30, n. 2, p. 169-173, 2000.

GAZZIERO, D.L.P et al. Comportamento do girassol quando cultivado em área tratada com o herbicida 2,4-d. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v.19, n.1, p.127-133, 2001.

GUEDES, S. F. **Estudo da biodegradação do ácido 2,4-diclorofenoxiacético, um herbicida selectivo amplamente utilizado na agricultura, por uma estirpe de *Penicillium***. 2010. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Hidrosfera) Faculdade de Ciências e Tecnologia, Monte da Caparica, 2010.

HIGARASHI, M.M. **Processos oxidativos avançados aplicados à remediação de solos brasileiros contaminados com pesticidas**. 1999. 96 f. Tese (Doutorado em Química Analítica), Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 1999.

JAHNEL, M. C.; CARDOSO, E.J.B.N.; DIAS, C.T.S. Determinação do número mais provável de microrganismos do solo pelo método de plaqueamento por gotas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v.23, n.3, p. 553-559, 1999.

JUNIOR O. P. A. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Quim. Nova**, Vol. 25, No. 4, 589-593, 2002.

KENNEDY, A.; DORAN, J. Sustainable agriculture: role of microorganisms. In: BITTON, G. (Org.) **Encyclopedia of Environmental Microbiology**. New York: John Wiley & Sons, 2002. p. 3116-3126.

LÉVESQUE, C.A.; RAHE, J.E. Herbicide interaction with fungal root pathogens, with special reference to glyphosate. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v.30, p.579-602, 1992.

LOCKWOOD, J.L. Evolution of concepts associated with soilborne plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology** 26: 93-121. 1988.

LUCHINI, L.C. **Adsorção-dessorção dos herbicidas paraquat, diuron e 2,4-D em seis solos brasileiros**. Piracicaba: 1987. 91p. [Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo].

MACHADO, A. F. **Degradação do herbicida 2,4-d por processos oxidativos avançados**. Curitiba 2004. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal do Paraná 2004.

MARCONDES M. A. **Influência de aplicações de pesticidas na degradação do herbicida "c-2,4-d em diferentes solos**. Autarquia associada à universidade de São Paulo. São Paulo 2001.

MENDES, D.; PITELLI, R. A.; COELHO, L. Efeito de concentrações de herbicidas sobre aspectos biológicos de *Fusarium sp.*(isolado FCAV# 940).**Planta Daninha**, p. 85-93, 2004.

MERINI, L.J.; CUADRADO, V.; FLOCCO, C.G.; GIULIETTI, A.M. Dissipation of 2,4-D in soils of the humid pampa region, Argentina: a microcosm study. **Chemosphere**, v.68, p.259-265, 2007.

MESSERSMITH, C. G.; ADKINS, S. W. Integrating weed-feeding insects and herbicides for weed control. **Weed Technology**, Lawrence v. 9, n. 1, p. 199-208, 1995.

McGEOCH, M.A. The selection, testing and application of terrestrial insects as bioindicators. **Biology Review**, v.73, p.181-201, 1998.

MONTEIRO, R.T.R. Biodegradação de pesticidas em solos brasileiros. In: VARGAS, M.C.; MARTINS, J.T. Biodegradação. Piracicaba: **EMBRAPA Meio Ambiente**, 2001.

MONTEIRO, R.T.R.; FIGUEREDO, R.T.S. Determinação da umidade, pH e capacidade de retenção de água do solo. In: FIGUEREDO, R.T.S.; VALARINI, P.J., Coord. Indicadores Biológicos e Bioquímicos da Qualidade do Solo: manual técnico. Januária: **Embrapa Meio Ambiente**, 2000. 198 p.

MONTEIRO, R.T. Indicadores da qualidade do solo. **Agrociencia**. (2005) Vol. IX N° 1 y N° 2 pág. 255 – 257.

MORAES, P.V.D. Comportamento ambiental do glifosato. **Scientia Agraria Paranaensis** Volume 9, número 3 - 2010, p 22-35.

MOTA, M. DE A.; CAMPOS, A. K.; ARAÚJO, J. V. de, Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras, **Pesq. Vet. Bras.** Vol.23 no.3 Rio de Janeiro July/Sept. 2003.

OLIVEIRA, A. C. C. de. **Metodologia de inoculação, variabilidade e controle de Rhizoctonia solani na cultura da cenoura**. 2006. ii, 63 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

OLIVEIRA R. S. Mecanismo de Ação de Herbicidas. In: Biologia e Manejo de Plantas Daninhas. 2011.p 141 a 191.

POWLSON, D. S.; BROOKES, P. C.; CHRISTENSEN, B. T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 19, p. 159-164, 1997.

PRADO, A.G.S.; AIROLDI, C. Toxic effect caused on microflora of soil by pesticide picloram application. **J. Environ. Monit.**, v.3, p.394-397, 2001.

PRADO, A.G.S. VIEIRA; E.M. Avaliação das quantidades crônicas do herbicida 2,4-D aplicadas no solo baseada em estudos de adsorção-desorção. **An. Assoe. Bras. Quím.**, São Paulo, v. 47, n. 3, p. 239-246, 1998.

REIS, M.R. et al. Atividade microbiana em solo cultivado com cana-de-açúcar após aplicação de herbicidas. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 26, n. 2, p. 323-331, 2008.

RIZZARDI et al. Ação de herbicidas sobre mecanismos de defesa das plantas aos patógenos. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, set-out, 2003.

RODRIGUES, M. V. N. SERRA, G. E. Determinação de resíduos de 2,4d em amostras vegetais. **Pesticidas R. Téc. Cient.**, Curitiba, V. 6, p.99-104, 1996.

ROSA D. D. et al . Efeito de herbicidas sobre agentes fitopatogênicos. **Acta Scientiarum. Agronomy**. Maringá, v. 32, n. 3, p. 379-383, 2010.

SALLIS M. G. V. et al. Fungos associados às sementes de feijão-miúdo. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 23, nº 1, p.36-39, 2001.

SANTOS & MAIA. BIOINDICADORES DE QUALIDADE DO SOLO. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, vol. 10, p.195-223, 2013.

SANTOS R. P. et al. Avaliação de isolados de trichoderma spp. E Gliocladium virens na produção de crescimento em mudas de eucalipto e na produção de ácido indolacético in vitro. Brasília, DF: **Embrapa Recursos genéticos e Biotecnologia**, 2008. – p – (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Recusros Genéticos e Biotecnologia. INSS 1676-1340;232).

SANYAL, D.; SHRESTHA, A. Direct effect of herbicides on plant pathogens and disease development in various cropping systems. **Weed Science**, v. 56, n. 1, p. 155-160, 2008.

SCOLFORO, J. R. S.; MELLO M. J.; SILVA, C. P. C. Inventário Florestal de Minas Gerais: Floresta Estacional Semidecidual e Ombrófila – Florística, Estrutura, Diversidade, Similaridade, Distribuição, Diamétrica e de Altura, Volumetria, Tendências de Crescimento e Áreas Aptas para Manejo Florestal. – Lavras: **Editora UFLA**, 2008. 1029 p: il.

SILVA, R. R. & COELHO, G. D. Fungos principais grupos e aplicações biotecnológicas. INSTITUTO DE BOTÂNICA – IBt. **Programa de Pós Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente** - Curso de Capacitação de monitores e educadores São Paulo, outubro de 2006.

SILVEIRA, S.F., ALFENAS, A.C., FERREIRA, F.A., SUTTON, J.C. Characterization of 133 *Rhizoctonia* species associated with foliar necrosis and leaf scorch of clonally-propagated Eucalyptus in Brazil. **Eur. J. Plant Pathol.**, v.106, p.27-36, 2000.

SOARES F. B. **Impacto de fungicidas e inseticidas na densidade populacional de Beauveria bassiana no solo sobre efeito da microbiota nativa**. Universidade estadual paulista “Julio de Mesquita Filho”- faculdade de ciências agrárias e veterinárias- Campus de Jaboticabal. São Paulo, dez 2011.

SOARES R.M. et al. Utilização de glifosato para o controle de ferrugem da soja. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.43, n.4, p.473-477, abr. 2008.

SOUZA, A.P.; LOURES, E.G.; SILVA, J.F.; RUIZ, H.A. Efeito do oxyfluorfen, 2,4-D e glyphosate na atividade microbiana de solos com diferentes texturas e conteúdos de matéria orgânica. **Planta Daninha**, v.14, p.55-64, 1996.

TONI, L. R. M.; SANTANA, H.; ZAIA, D. A. M. Adsorção de glyphosate sobre solos e minerais. **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.4, p.829-833, 2006.

VIEIRA E. M. et al. Estudo da adsorção/dessorção do ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4d) em solo na ausência e presença de matéria orgânica. Instituto de Química de São Carlos - Universidade de São Paulo - IQSC/USP - CP 780 - 13560-970 - São Carlos – SP. **Química nova**, 22(3) (1999).

VECHIATO M.H., et al., Efeito do tratamento de sementes de feijão (*phaseolus vulgaris*) com fungicidas no controle de *macrophomina phaseolina* e na emergência de plântulas. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.67, n.I, p.83-88, jan./jun., 2000.

WAUCHOPE, R. D. et al. The SCS/ARS/CES pesticide properties database: select values for environmental decision making. **Reviews of environmental contamination & toxicology**, New York, v.123, n.1, p.1-164, 1992.

WEDSON D. F. Impacto de herbicidas em uma guilda de formigaspredadoras. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.1, n.3, 2000.

YU, S. J. Induction of detoxification enzymes by triazine herbicides in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Maryland, v. 80, p. 113-122, 2004.

ZHANG, C.; LIU, G.; XUE, S.; SONG, Z. Rhizosphere soil microbial activity under different vegetation types on the Loess Plateau, China. **Geoderma**, v. 161, p. 115-125, 2011.