

MARCELO RODRIGUES DOS REIS

**INDICADORES MICROBIOLÓGICOS DA QUALIDADE DO SOLO E  
NUTRIÇÃO MINERAL DE PLANTAS DE CANA-DE-AÇÚCAR APÓS  
APLICAÇÃO DE HERBICIDAS**

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

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2007

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

T

R375i  
2007

Reis, Marcelo Rodrigues dos, 1979-  
Indicadores microbiológicos da qualidade do solo e  
nutrição mineral de plantas de cana-de-açúcar após  
aplicação de herbicidas / Marcelo Rodrigues dos Reis.  
– Viçosa, MG, 2007.  
x, 60f. : il. ; 29cm.

Orientador: Antonio Alberto da Silva.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Viçosa.  
Inclui bibliografia.

1. Biologia do solo. 2. Microorganismos do solo.  
3. Herbicidas - Aspectos ambientais. 4. Impacto ambiental.  
5. Ervas daninhas - Controle. 6. Cana-de-açúcar -  
- Nutrição. 7. Plantas - Efeito dos herbicidas. I. Universi-  
dade Federal de Viçosa. II.Título.

CDD 22.ed. 631.46

MARCELO RODRIGUES DOS REIS

**INDICADORES MICROBIOLÓGICOS DA QUALIDADE DO SOLO E  
NUTRIÇÃO MINERAL DE PLANTAS DE CANA-DE-AÇÚCAR APÓS  
APLICAÇÃO DE HERBICIDAS**

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

APROVADA: 16 de março de 2007.

---

**Prof. Maurício Dutra Costa**  
(Co-Orientador)

---

**Prof. Francisco Affonso Ferreira**  
(Co-Orientador)

---

**Prof. José Barbosa dos Santos**

---

**Prof. Tocio Sedyama**

---

**Prof. Antonio Alberto da Silva**  
(Orientador)

## **AGRADECIMENTOS**

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

Aos meus pais, Valter Pires dos Reis e Helena Aparecida Rodrigues dos Reis, pelo apoio incondicional e dedicação durante toda a minha vida. Sempre apontando os melhores caminhos, por mais que pareçam inatingíveis.

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

A todos os familiares e os amigos conterrâneos, pelo carinho, incentivo, amizade e pelas palavras de conforto nos momentos difíceis.

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

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Fitotecnia, pela oportunidade ímpar concedida para a realização desse curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão da bolsa de estudo.

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

Ao Prof. Maurício Dutra Costa, pela co-orientação, amizade, confiança e sugestões imprescindíveis para a execução e conclusão desse trabalho.

Aos Co-orientadores Prof. Francisco Affonso Ferreira e Professor Paulo Roberto Cecon e aos Prof. José Barbosa dos Santos e Tocio Sedyama, pela atenção,

disponibilidade de tempo e amizade. Pelas sugestões e críticas que muito contribuíram para a qualidade final desse trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Herbicida no Solo Amanda Guimarães, Cíntia Fialho, Edson dos Santos, Evander Alves, Marco Antônio e Rodrigo Ferreira, pela amizade inestimável, pelos momentos alegres proporcionados e pelo imprescindível auxílio na execução desse trabalho.

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

Aos prezados amigos Ricardo Werlang e Rafael Vivian, pela amizade, confiança e grande contribuição para minha formação profissional.

Aos colegas e amigos do Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, pelas conversas diárias e pelo entretenimento. Em especial, às amigas Alessandra Belo Camila Khouri, Izabella Martins, Paula Acácia e Zoraia Barros, pela preocupação e palavras de conforto no momento mais difícil.

À coordenação do Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, pelo apoio administrativo. Em especial, à secretária e amiga Mara Rodrigues, pela amizade e força no momento mais difícil.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Associações Micorrízicas, pela recepção e excelente convívio durante a execução desse trabalho. Em especial, ao amigo André Marcos Massenssini, pela amizade, idéias, apoio e ajuda inquestionável nas análises microbiológicas realizadas.

Aos grandes e eternos amigos de República Daniel Falkoski, Flávio Lemes, Júlio Martins, Weyllison Moura e Carlos Henrique, pela excelente convivência e divergências de idéias, as quais direta ou indiretamente proporcionaram-me maior bagagem de vida. Pelo companheirismo e apoio nos momentos fáceis e difíceis, alegres e tristes.

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

## **BIOGRAFIA**

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

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

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

Iniciou o Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia em março de 2005, em nível de Mestrado, na Universidade Federal de Viçosa. Submetendo-se à defesa de dissertação em 16 de março de 2007.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vii
ABSTRACT .....	ix
1. INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2. LITERATURA CITADA .....	4
3. AÇÃO DE HERBICIDAS SOBRE MICRORGANISMOS SOLUBILIZADORES DE FOSFATO INORGÂNICO DE SOLO RIZOSFÉRICO DE CANA-DE-AÇÚCAR .....	6
3.1. RESUMO .....	6
3.2. INTRODUÇÃO .....	7
3.3. MATERIAL E MÉTODOS .....	10
3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	13
3.5. LITERATURA CITADA.....	16
4. ATIVIDADE MICROBIANA EM SOLO CULTIVADO COM CANA-DE-AÇÚCAR APÓS APLICAÇÃO DE HERBICIDAS.....	24
4.1. RESUMO .....	24
4.2. INTRODUÇÃO .....	25
4.3. MATERIAL E MÉTODOS .....	27
4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	30
4.5. LITERATURA CITADA.....	34

5. DINÂMICA DE NUTRIENTES EM TECIDOS FOLIARES DE CANA-DE-AÇÚCAR APÓS APLICAÇÃO DE HERBICIDAS.....	42
5.1. RESUMO .....	42
5.2. INTRODUÇÃO .....	43
5.3. MATERIAL E MÉTODOS .....	45
5.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	46
5.5. LITERATURA CITADA.....	50
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	60

## RESUMO

REIS, Marcelo Rodrigues dos, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2007. **Indicadores microbiológicos da qualidade do solo e nutrição mineral de plantas de cana-de-açúcar após aplicação de herbicidas.** Orientador: Antonio Alberto da Silva. Co-Orientadores: Maurício Dutra Costa, Francisco Affonso Ferreira e Paulo Roberto Cecon.

Objetivou-se neste trabalho avaliar a microbiota do solo e a nutrição mineral da cana-de-açúcar após aplicação dos herbicidas 2,4-D, ametryn, trifloxysulfuron-sodium e ametryn+trifloxysulfuron-sodium. No primeiro ensaio, avaliou-se a atividade e a densidade populacional dos microrganismos solubilizadores de fosfato inorgânico (MSFI) e totais no solo rizosférico da cana-de-açúcar e, no segundo, foram avaliadas a taxa respiratória, a biomassa microbiana e o quociente metabólico do mesmo solo. No terceiro ensaio, avaliaram-se o crescimento e as concentrações de macro e micronutrientes nos tecidos foliares das plantas de cana-de-açúcar após a aplicação dos herbicidas. Nos três ensaios foram realizadas avaliações aos 15, 30, 45 e 60 dias após a aplicação (DAA) dos herbicidas. Todos os herbicidas provocaram redução na densidade populacional fúngica do solo somente no período inicial de avaliação. O 2,4-D foi mais tóxico às bactérias do solo até aos 60 DAA. Analisando o quociente metabólico, ressaltaram-se condições estressantes para a microbiota do solo quando este foi tratado com ametryn isolado e em mistura com trifloxysulfuron-sodium. A atividade dos MSFI foi favorecida pela aplicação do 2,4-D até os 30 DAA

e o trifloxysulfuron-sodium estimulou essa atividade por todo período de avaliação. As concentrações de N, P e Mg nos tecidos foliares não foram afetados pela utilização dos herbicidas. Em plantas tratadas com trifloxysulfuron-sodium observou-se acréscimo de 22,10% no acúmulo de massa seca da parte aérea das plantas aos 60 DAA. Este trabalho evidenciou que a aplicação dos herbicidas na parte aérea de plantas de cana-de-açúcar afetou a concentração dos nutrientes foliares, a densidade populacional de microrganismos, atividade de solubilização de fosfato, a taxa respiratória, a biomassa e o quociente metabólico na rizosfera.

## ABSTRACT

REIS, Marcelo Rodrigues dos, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2007. **Microbiological indicators for soil quality and mineral nutrition of the sugar-cane plants after herbicide application.** Adviser: Antonio Alberto da Silva. Co-Advisers: Maurício Dutra Costa, Francisco Affonso Ferreira and Paulo Roberto Cecon.

The objective of this work was to evaluate the impact of the herbicides ametryn and trifloxysulfuron-sodium, singly or combined, and 2,4-D, on the soil microorganisms and the mineral nutrition of the sugar-cane plants. In the first trial, it was evaluated the activity of inorganic phosphate-solubilizing microorganisms and the numbers of fungi and bacteria in the rhizosphere of sugar cane and, in the second, the respiratory rate, microbial biomass, metabolic quotient, and total C-CO<sub>2</sub> evolved from the soil. In the third trial, the growth and the macro and micronutrients concentrations were evaluated in the foliar tissues of the sugar-cane plants after the herbicide application. In the three trials, foliar tissue samples and rhizospheric and non-rhizospheric soil samples were collected and immediately analyzed at 15, 30, 45, and 60 days after spraying (DAS). At 15 DAS, all herbicides tested led to reductions in the numbers of fungi in the soil. 2,4-D caused a reduction in the densities of bacterial populations in the rhizosphere at all times of evaluation, evidencing a higher sensitivity of bacteria to this compound. The soil microbial biomass was sensitive to ametryn applied singly or combined, especially up to 30 DAS. These treatments resulted in the highest values of metabolic quotient at 45 and 60 DAS.

The foliar concentrations of N, P and Mg were not affected for the herbicide use. At 60 DAS, trifloxysulfuron-sodium lead to increase of 22.10% in the biomass accumulation of shoots sugar cane plants. Trifloxysulfuron-sodium and 2,4-D led to higher inorganic phosphate solubilization at 15, 30, and 45 DAS, and 15 and 30 DAS, respectively, without affecting the microbial biomass. This work evidences that herbicide application in the shoots of sugar cane affects the foliar concentrations of macro and micronutrients and the soil microorganisms in the rhizosphere.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil detém posição privilegiada na produção de alimentos, fibras e, principalmente, agroenergia, em razão da grande extensão territorial, com cerca de 90 milhões de hectares agricultáveis, e das condições climáticas favoráveis a culturas importantes na alimentação e na produção de energia renovável.

No Brasil, a produção da agroenergia destaca-se em função do biodiesel, produzido a partir de vegetais como soja (*Glicine max* L.), mamona (*Ricinus communis* L.) e dendê (*Elaeis guineensis*), e do biocombustível etanol, oriundo da fermentação da sacarose produzida pela cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) (EMBRAPA, 2006). Do ponto de vista econômico, energético e ambiental, a cana-de-açúcar é a melhor alternativa para a produção do etanol no Brasil (Andreoli & Souza, 2006).

Há especulações de que o Brasil poderá suprir metade da demanda mundial de etanol, uma vez que existem pressões ambientalistas para que cerca de 10% da gasolina mundial seja substituída por esse produto até o ano de 2025, valor correspondente a 200 bilhões de litros de álcool por ano (Colombo, 2006). Assim, seria necessário melhorar a eficiência e aumentar o número das usinas, com conseqüente expansão da área plantada com cana-de-açúcar de seis milhões de hectares (safra 2005/06) para mais de 14 milhões de hectares até 2030 (Magalhães, 2005).

Ressalta-se que essa possível ampliação de área cultivada com cana-de-açúcar acarretará maior demanda por agrotóxicos, que, na agricultura moderna, são essenciais no manejo integrado de doenças, pragas e plantas daninhas. Mais de 128 mil toneladas de agrotóxicos foram utilizadas no Brasil somente no ano de 2005, e os herbicidas representaram 59,89% desse total, perfazendo quase 77 mil toneladas (SINDAG, 2007). Apenas no manejo de plantas daninhas da cultura da cana-de-açúcar, estima-se que nove mil toneladas de herbicidas foram utilizadas na safra 2004/05, sendo a cana-de-açúcar a segunda cultura em consumo desses produtos no Brasil (Procópio et al., 2003; Nunes Jr. et al., 2005; Silva & Silva, 2007).

No Brasil, pouco se discute sobre os impactos ambientais dos cultivos de extensas áreas com a cana-de-açúcar e das etapas de processamento de obtenção de etanol. Os impactos ambientais da monocultura extensiva e da utilização intensiva de fertilizantes e de agrotóxicos sobre o uso da água e os ecossistemas edáficos e aquáticos são questionados pela comunidade científica, embora com pouco aporte de resultados conclusivos.

De modo geral, segundo Bunemann (2006), os herbicidas pouco afetam os organismos do solo. No entanto, tem sido amplamente relatado que esses produtos podem desequilibrar os ecossistemas edáficos e aquáticos e, ainda, exercer efeitos diretos e indiretos no crescimento e desenvolvimento das plantas cultivadas (Dissanayake et al., 1998; Tótola et al., 2002; Das et al., 2003; Rizzardi, 2003). Geralmente, os efeitos dos herbicidas na cultura – como alteração na absorção de nutrientes, sintomas de intoxicação e desregulação dos mecanismos de defesa da planta a determinados fitopatógenos – não são perceptíveis ou não são amplamente considerados (Rizzardi, 2003), sendo relatados somente em poucos trabalhos (Feng et al., 2005; Anderson & Kolmer, 2005; Tuffi Santos, 2007).

Para investigação dos efeitos adversos dos agrotóxicos nos ecossistemas edáficos são utilizados indicadores, os quais podem ser de natureza química (concentrações de nutrientes, pH do solo entre outros), física (a exemplo, a densidade e agregação do solo) e biológica (como, a biodiversidade do solo e as atividades enzimáticas). Cabe destacar que os indicadores de natureza biológica relacionados ao ciclo biogeoquímico dos elementos (C, N, P e S), como biomassa microbiana, evolução de CO<sub>2</sub> e atividades de populações microbianas específicas do solo, são priorizados na avaliação de impactos ambientais, devido, principalmente, à resposta rápida dos microrganismos aos distúrbios provocados no solo, embora ainda não

exista padronização dos métodos utilizados na avaliação desses atributos (Tótola et al., 2002; Gil-Stores et al., 2005).

Com o intuito de verificar o impacto na microbiota do solo cultivado com cana-de-açúcar, após aplicação dos herbicidas 2,4-D, ametryn, trifloxysulfuron-sodium e da mistura comercial ametryn+trifloxysulfuron-sodium, avaliaram-se neste trabalho a atividade dos microrganismos solubilizadores de fosfato inorgânico, a taxa respiratória, o quociente metabólico, a biomassa microbiana do solo e a nutrição mineral da cana-de-açúcar.

## 2. LITERATURA CITADA

ANDERSON, J. A.; KOLMER, J. A. Rust control in glyphosate tolerant wheat following application of the herbicide glyphosate. **Plant Dis.**, v. 89, p. 1136-1142, 2005.

ANDREOLI, C.; DE SOUZA, S. P. Cana-de-açúcar: A melhor alternativa para conversão da energia solar e fóssil em etanol. **Economia e Energia - e & e**, n. 59, p. 27-33, 2006.

BUNEMANN, E.K.; SCHWENKE, G.D.; VAN ZWIETEN, L. Impact of agricultural inputs on soil organisms – a review. **Australian Journal of Soil Research**, v. 44, n. 4, p. 379-406, 2006.

COLOMBO, S. Um desafio para o Brasil. **Jornal da USP**, v. 22, n. 784, p. 4-5, 2006.

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

DISSANAYAKE, N.D.; HOY, J.W.; GRIFFIN, J.L. Herbicides effects on sugarcane growth, pythium root rot, and *Pythium arrhenomanes*. **Phytopathology**, v. 88, n. 6, p. 530-534, 1998.

EMBRAPA – **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Disponível em: <[http://www.embrapa.gov.br/noticias/artigos/folder.2006-01-2.0836234627/artigo.2006-03-28.5134771600/mostra\\_artigo](http://www.embrapa.gov.br/noticias/artigos/folder.2006-01-2.0836234627/artigo.2006-03-28.5134771600/mostra_artigo)>. Acesso em: 10/02/2007.

FENG, P. C. C. et al. Glyphosate inhibits rust diseases in glyphosate-resistant wheat and soybean. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 102, p. 17290-17295, 2005.

GIL-STORES, F.; TRASAR-CEPEDA, C.; LEIRÓS, M.C.; SEOANE, S. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 37, p. 877-887, 2005.

HOLT, J.A.; MAYER, R.J. Changes in microbial biomass and protease activities of soil associated with long-term sugar cane monoculture. **Biological and Fertility of Soils**, v. 27, p.127-131, 1998.

MAGALHÃES, P.G. In: BARBIERI, J. 30 anos do Proálcool no centro do debate. **Jornal da Unicamp**. ed. 309, p. 11, 2005.

NUNES JR. et al. **Indicadores agrícolas do setor sucroalcooleiro**. Ed. Grupo IDEA, 2005. 111p.

PROCÓPIO, S.O. et al. **Manejo de plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, p.150, 2003.

RIZZARDI, M.A. et al. Ação de herbicidas sobre mecanismos de defesa das plantas aos patógenos. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p. 957-965, 2003.

SILVA, A.A.; SILVA, J.F. (Editores). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG. Ed. UFV, 2007. 367p.

SINDAG – **Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola** . Disponível em: <<http://www.sindag.com.br/upload/compimp0105.xls>>. Acesso em: 10/02/2007.

TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: VENEGAS, V.H.A., SCHAEFER, C.E.G.R., BARROS, N.F., MELLO, J.W.V., COSTA, L.M. (Eds.). **Tópicos em Ciência do Solo**. v. II (2002) – Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 195-276, 2002.

TUFFI SANTOS, L.D. et al. Glyphosate sobre a resistência à ferrugem (*Puccinia psidii*) do eucalipto. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 25, n. 1, p. 139-147, 2007

### **3. AÇÃO DE HERBICIDAS SOBRE MICRORGANISMOS SOLUBILIZADORES DE FOSFATO INORGÂNICO DE SOLO RIZOSFÉRICO DE CANA-DE-AÇÚCAR**

#### **3.1. RESUMO**

Objetivou-se avaliar, com este trabalho, o impacto dos herbicidas ametryn e trifloxysulfuron-sodium, isolados ou em mistura, e 2,4-D na atividade dos microrganismos solubilizadores de fosfato inorgânico e a densidade populacional de bactérias e fungos do solo rizosférico de cana-de-açúcar. Plantas de cana-de-açúcar com três a quatro folhas completamente expandidas foram aspergidas com soluções de 2,4-D, ametryn, trifloxysulfuron-sodium e ametryn+trifloxysulfuron-sodium nas doses de 1,30; 1,00; 0,0225 e 1,463+0,0375 kg ha<sup>-1</sup> respectivamente. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado no esquema de parcelas subdivididas, com quatro repetições. Nas parcelas foram avaliados os efeitos dos herbicidas e, nas subparcelas, o efeito tempo após a aplicação dos herbicidas. Aos 15, 30, 45 e 60 dias após a aplicação (DAA), amostras de solos rizosférico e não-rizosférico foram coletadas e, em seguida, analisadas, estimando-se a densidade populacional de bactérias e fungos, a atividade potencial de solubilização de fosfato inorgânico e a solubilização relativa de fosfato inorgânico. O 2,4-D reduziu a densidade populacional bacteriana do solo em todas as épocas de avaliação, demonstrando a maior sensibilidade desse grupo de organismos a este composto. Todos os herbicidas

provocaram redução na densidade populacional fúngica do solo somente aos 15 DAA. O trifloxysulfuron-sodium e o 2,4-D favoreceram as maiores atividades de solubilização de fosfato inorgânico aos 15, 30 e 45 DAA e aos 15 e 30 DAA, respectivamente, sem, no entanto, afetar a biomassa microbiana do solo. Maior solubilização relativa de fosfato inorgânico foi observada em amostras de solos tratados com a mistura ametryn+trifloxysulfuron-sodium, indicando alterações no sistema solo. Evidenciou-se neste trabalho que a aplicação dos herbicidas na parte aérea de plantas de cana-de-açúcar afeta o número de microrganismos e a atividade de solubilização de fosfato na rizosfera.

**Palavras-chave:** bactérias, fungos, ametryn, trifloxysulfuron-sodium, 2,4-D.

### 3.2. INTRODUÇÃO

A utilização de grandes áreas e quantidades expressivas de insumos agrícolas pode afetar a qualidade ou a saúde do solo, sendo práticas questionadas pela comunidade científica quanto à sustentabilidade dos agroecossistemas.

Os termos qualidade e saúde do solo equivalem-se e relacionam-se com as propriedades biológicas, físicas e químicas do solo, essenciais para manter a produtividade agrícola a longo prazo, e com o mínimo de impacto negativo possível (Arias, 2005; Tótola et al., 2002). Algumas propriedades biológicas do solo – enfatizando as de natureza microbiológica – têm sido propostas como mais sensíveis a mudanças quando os solos são submetidos a diferentes tipos de manejo e, portanto, seriam mais adequadas como indicadores de qualidade do solo (Pankhurst & Doube, 1997; Tótola et al., 2002). Segundo Bottomley (2005), os microrganismos do solo influenciam diretamente a fertilidade e a produtividade vegetal por meio da ciclagem de nutrientes, supressão de fitopatógenos, produção de fitormônios e, ainda, da capacidade de metabolização de agrotóxicos. Também, Das (2003) e Tótola et al. (2002) enfatizaram que as atividades dos microrganismos estão envolvidas no ciclo biogeoquímico, visto que influenciam diretamente a disponibilidade dos nutrientes e elucidam melhor as mudanças do funcionamento do ecossistema solo.

Apesar de presente em grande quantidade no solo, o nutriente fósforo (P) é encontrado em baixíssimas concentrações na solução do solo (0,1 a 1,0 mg L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>), sendo, portanto, considerado o nutriente mais crítico para todas as formas

de vida, por ser constituinte de importantes biomoléculas, como DNA, ATP e fosfolipídios (Novais & Smith, 1999).

A dinâmica do P em solos é complexa devido à ocorrência do fenômeno de retenção de P, isto é, a transformação de P-lábil para P não-lábil, decorrente da adsorção deste nutriente nos oxidróxidos de Fe e Al. A retenção de P também se dá pela sua precipitação com Fe e Al em solos ácidos e com Ca em solos alcalinos. Dessa forma, a disponibilidade de P na solução do solo e a eficiência da adubação fosfatada são reduzidas em solos tropicais, que geralmente apresentam altos teores de oxidróxidos de Fe e Al e alta atividade de  $Al^{3+}$  na solução do solo (Novais & Smith, 1999). Para disponibilização do P precipitado (P-Fe, P-Al e P-Ca), ocorre de forma natural a acidificação da rizosfera com a liberação de prótons pela planta e de ácidos orgânicos por microrganismos, sendo estes denominados de microrganismos solubilizadores de fosfato inorgânico (MSFI) (Novais & Smith, 1999; Rodriguez & Fraga, 1999).

Os MSFI são responsáveis pela liberação de ácidos orgânicos como o glucônico, cítrico, glutâmico, oxálico, láctico, fumárico, tartárico e succínico, os quais atuam como fonte de prótons e agentes quelantes dos íons Ca, Al e Fe, favorecendo a solubilização do fosfato inorgânico do solo (Rodriguez & Fraga, 1999). Os MSFI constituem cerca de 5 a 10% da microbiota total dos solos e são encontrados na maioria destes. A diversidade e as populações dos MSFI são consideravelmente superiores em solos circunvizinhos às raízes das plantas, ou seja, solos rizosféricos (Nahas, 1994; Nautiyal, 1999).

Dentre os grupos microbianos com atividade de solubilização de fosfato inorgânico, as bactérias se destacam com o maior potencial de utilização para obtenção de fosfatos solúveis a partir da solubilização biológica de fosfatos insolúveis e como inoculantes para as culturas. Os principais gêneros que executam essa atividade são: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Aereobacter* e *Flavobacterium* (Rodriguez & Fraga, 1999). Além dessa habilidade de solubilizar fosfato inorgânico, esses gêneros bacterianos apresentam capacidade de promoverem o crescimento de plantas pela exsudação de fitormônios, vitaminas e antibióticos, sendo denominados de PGPR (*Rizobactéria Promotora do Crescimento de Plantas*). Alguns gêneros de fungos e actinomicetos também apresentam capacidade de solubilizar fosfato inorgânico (Mikanová & Kubat, 1994; Rodriguez & Fraga, 1999).

Em países como Rússia e Argentina, os respectivos inoculantes Phosphobacterin<sup>®</sup> e Phospho-bacteria<sup>®</sup> são empregados em cultivos agrícolas, por promoverem maior disponibilização de P na solução do solo, crescimento de plantas e maiores produtividades, com a possível utilização de fosfatos naturais e redução de adubações fosfatadas (Mullen, 2005). Investigando os benefícios da utilização de Phosphobacterin+75% da dose de adubação fosfatada recomendada para a cultura de cana-de-açúcar em solos indianos, Sundara et al. (2002) verificaram aumento de 12,16% na produtividade e maior qualidade comercial do caldo de cana. Estudo realizado por Rosas et al. (2006) indicou que a dupla inoculação com bactérias fixadoras de nitrogênio (*Bradyrhizobium japonicum*) e solubilizadoras de fosfato inorgânico (*Pseudomonas putida*) em plantios de soja aumentou o número e a massa seca dos nódulos radiculares, demonstrando a possível influência dos MSFI na interação leguminosa-rizóbio. No entanto, alguns agrotóxicos empregados no manejo fitossanitário de cultivos agrícolas podem interferir na dinâmica populacional e atividade dos MSFI (Congregado et al., 1979; Selvamani & Sandkke, 1993; Das & Mukherjee, 1998; Debnath, 2002; López et al., 2002; Das, 2003).

O 2,4-D é um dos mais antigos e ainda um dos mais importantes herbicidas no manejo de plantas daninhas no mundo, sendo ainda extensivamente utilizado na cultura de cana-de-açúcar para controle de dicotiledôneas. Entretanto, apresenta alta periculosidade para o homem e o ambiente. (Thill, 2003; Rodrigues & Almeida, 2005). Dentre outros herbicidas recomendados para a cana-de-açúcar, destaca-se o ametryn. Este é um dos herbicidas mais empregados para controle de plantas daninhas monocotiledôneas na cana, com baixa toxicidade para animais e humanos. Desde o ano de 2001, esse herbicida vem sendo usado em mistura comercial com trifloxysulfuron-sodium no controle de gramíneas, dicotiledôneas e ciperáceas em canaviais brasileiros, sendo seu comportamento no ambiente pouco relatado (Rodrigues & Almeida, 2005; SYNGENTA, 2006).

A população e a atividade de microrganismos solubilizadores de fosfato estão intimamente relacionadas com o manejo e tipo do solo, sendo considerados indicadores microbiológicos associados ao ciclo do P no solo (Kucey, 1983; Nahas et al., 1994b; Carneiro et al., 2004). A utilização desses MSFI como indicadores microbiológicos da qualidade do solo pode contribuir para adoção de práticas agrícolas menos impactantes ao ambiente. Entretanto, no Brasil, não há estudos

evidenciando possíveis impactos da aplicação de herbicidas sob a dinâmica dos MSFI do solo.

Em face do exposto, neste trabalho objetivou-se avaliar o impacto dos herbicidas ametryn e trifloxysulfuron-sodium, isolados e em mistura, e também do 2,4-D na atividade e dinâmica populacional dos microrganismos solubilizadores de fosfato inorgânico (MSFI) e totais de solo rizosférico da cultura de cana-de-açúcar.

### 3.3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa-UFV, e no Laboratório de Associações Micorrízicas do Departamento de Microbiologia/BIOAGRO/UFV, Viçosa, MG.

O substrato utilizado foi o Latossolo Vermelho-Amarelo, extraído do horizonte B do perfil do solo de área sem histórico de aplicação de agrotóxicos. Para cultivo da cana-de-açúcar utilizaram-se vasos de PVC de coloração preta, preenchidos com 10 L de substrato, com o interior revestido por filme de polietileno. O substrato foi corrigido com calcário dolomítico ( $0,15 \text{ g dm}^{-3}$ ) e adubado com os fertilizantes: sulfato de amônio ( $0,09 \text{ g dm}^{-3}$  de N), superfosfato simples ( $1,8 \text{ g dm}^{-3}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$ ) e cloreto de potássio ( $0,34 \text{ g dm}^{-3}$  de  $\text{K}_2\text{O}$ ). Posteriormente à correção e adubação, o substrato foi analisado física e quimicamente (Tabela 1). O material propagativo de cana-de-açúcar constituiu-se de fragmentos de colmos (tolete contendo uma gema) da variedade RB867515, sendo plantados dois toletes por vaso. Foram também realizadas adubações de cobertura com 100 mL de solução nutritiva contendo: adubo Ouro Verde<sup>®</sup>, N e  $\text{K}_2\text{O}$  nas concentrações de 10, 8 e  $23,2 \text{ g L}^{-1}$ , respectivamente, aos 49 e 64 dias após o plantio.

As unidades experimentais foram representadas pelo sistema solo-cana. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas; nas parcelas avaliaram-se os efeitos dos herbicidas e, nas subparcelas, o efeito do tempo após a aplicação dos herbicidas, com quatro repetições.

Quando as plantas de cana-de-açúcar se encontravam com três a quatro folhas expandidas, as unidades experimentais foram aspergidas com solução dos herbicidas 2,4-D, ametryn, trifloxysulfuron-sodium e ametryn+trifloxysulfuron-sodium com

concentrações equivalentes às doses de 1,30; 1,00; 0,0225 e 1,463+0,0375 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Na aspersão das soluções herbicidas foi utilizado equipamento de aplicação de alta precisão, pressurizado com CO<sub>2</sub> e equipado com pontas TT 11002, calibrado previamente para aplicação de 150 L ha<sup>-1</sup> de calda.

Aos 15, 30, 45 e 60 dias após a aplicação (DAA) das soluções herbicidas, amostras de solos rizosférico e não-rizosférico foram coletadas. A coleta do solo não-rizosférico foi realizada nas unidades experimentais sem presença de plantas. Para a coleta do solo rizosférico, retirou-se a planta+solo e agitou-se de modo que permanecesse somente o solo firmemente aderido às raízes (solo rizosférico), em seguida, agitou-se novamente a fim de coletá-lo. As amostras foram imediatamente analisadas, estimando a densidade populacional de bactérias e fungos, a atividade potencial de solubilização de fosfato inorgânico e o carbono da biomassa microbiana do solo. A umidade atual do solo foi determinada, para posterior conversão dos dados obtidos em base solo seco.

Para estimativa de densidade populacional de microrganismos do solo, adotou-se o método de contagem de células viáveis em placas. Para isso, pesaram-se 10 g de solo e transferiram-se para garrafas de diluição contendo 90 mL de solução salina estéril (0,85% de NaCl). A suspensão de solo foi constantemente agitada manualmente por 1 minuto. Desse modo, obteve-se a diluição 10<sup>-1</sup>, e para obtenção das diluições 10<sup>-2</sup>, transferiu-se 1 mL da diluição anterior para tubo de ensaio contendo 9 mL de solução salina estéril (0,85% de NaCl) e, sucessivamente, para as diluições 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup> e 10<sup>-5</sup>. Em seguida, realizou-se a inoculação das diluições em placas de Petri, seguida de incubação por sete dias a 27 °C.

Nos meios de cultura utilizados para crescimento seletivo de fungos e de bactérias, adicionaram-se 50 mL da solução estéril de KHPO<sub>4</sub> (100 g L<sup>-1</sup>) e 100 mL da solução estéril de CaCl<sub>2</sub> (100 g L<sup>-1</sup>) para formação de fosfato inorgânico insolúvel (CaHPO<sub>4</sub>) de coloração branco leitosa, permitindo a contagem dos microrganismos capazes de solubilizar fosfato inorgânico pela formação de halo transparente ao redor de suas colônias. Os isolados bacterianos capazes de solubilizar fosfato inorgânico foram isolados, reisolados e adicionados à coleção de bactérias solubilizadoras de fosfato inorgânico do Laboratório de Associações Micorrízicas/BIOAGRO/UFV, para posterior identificação, caracterização e testes de sensibilidade *in vitro* a herbicidas.

Para contagem de células bacterianas, utilizaram-se placas de Petri contendo 20 mL de meio de cultura Glicose-Extrato de Levedura (GEL), pH 5,60, composto pelos seguintes reagentes ( $\text{g L}^{-1}$ ): glicose, 10,00; extrato de levedura, 2,00; ágar, 15,00 e cicloeximida, 0,02. Em condições assépticas, as placas de Petri foram inoculadas com alíquotas de 0,1 mL das diluições  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$ , incubadas por sete dias a 27 °C, procedendo-se contagens diárias do número de unidades formadoras de colônia (UFC).

Na contagem da população fúngica, foi utilizado o meio de cultura Martin, pH 5,60, composto pelos seguintes ingredientes ( $\text{g L}^{-1}$ ): glicose, 10,00; peptona, 5,00;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1,00;  $\text{MgSO}_4$ , 0,50; Rosa Bengala, 0,03; ágar, 15,00; e estreptomicina, 0,02 (Martin, 1950). As diluições utilizadas para o plaqueamento foram  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$ , para contagem de células fúngicas. A incubação e a contagem das colônias fúngicas foram feitas da mesma forma já descrita para a contagem de células bacterianas.

Para estimativa do potencial da atividade solubilizadora de fosfato inorgânico em meio líquido, transferiu-se 1 g de solo das amostras de cada repetição para tubo de ensaio com meio líquido NBRI, pH 6,8-7,0, contendo ( $\text{g L}^{-1}$ ): glicose, 10;  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , 5;  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0,5;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,25; KCl, 0,2; e  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0,1 (Nautyal, 1999). Após incubação por 15 dias a 27 °C, a fase líquida foi submetida à centrifugação a 8.000 rpm por 20 min. No sobrenadante, determinou-se a quantidade de P inorgânico pelo método colorimétrico da vitamina C modificado, no comprimento de onda de 725 nm (Braga & De Fellipo, 1974).

Desenvolveu-se o quociente para avaliação da eficiência da atividade de solubilização de fosfato inorgânico, o qual indica a quantidade de P inorgânico liberada por unidade de biomassa microbiana do solo, denominado de solubilização relativa de fosfato inorgânico. Para a determinação da biomassa microbiana, utilizou-se o método descrito por Vance et al. (1987), modificado por Islam & Weil (1998), no qual a fumigação do solo com clorofórmio foi substituída pela irradiação de microondas.

Nas análises estatísticas dos dados, optou-se por um nível de significância de 5%. Para interpretação dos resultados, após a análise de variância, utilizou-se o critério de agrupamento de médias Scott-Knott, para fatores qualitativos, e a análise de regressão, para os fatores quantitativos. A escolha do modelo foi baseada na sua significância e no coeficiente de determinação. Posteriormente, os modelos foram

submetidos ao teste de identidade de modelos (Regazzi, 1993), comparando dois a dois, com modelo testemunha (solo rizosférico sem aplicação de herbicidas).

### 3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As densidades populacionais bacterianas e fúngicas do solo rizosférico (SR) sem aplicação de herbicidas foram superiores às observadas no solo não-rizosférico (SNR), sendo esse fenômeno conhecido como efeito rizosférico (Tabela 2). O efeito rizosférico relaciona-se com exsudação radicular de compostos orgânicos, a exemplo de aminoácidos, ácidos orgânicos, açúcares e vários outros metabólitos secundários, que representam de 5 a 21% do total do carbono fixado fotossinteticamente pela planta. Esses exsudatos são considerados fonte de energia e nutrientes, que proporcionam maior metabolismo e crescimento de microrganismos (Walker, 2003; Marschner, 1995).

Quanto ao efeito dos herbicidas sobre a microbiota do solo, o 2,4-D reduziu a densidade populacional bacteriana em todas as épocas de avaliação (15, 30, 45 e 60 DAA), demonstrando capacidade de intoxicar as bactérias do solo (Tabela 2). Segundo Thill (2003), o 2,4-D interfere na RNA-polimerase de vegetais, com conseqüentes alterações no metabolismo dos ácidos nucleicos e das proteínas. No entanto, o mecanismo de inibição das populações bacterianas do solo é desconhecido.

Após 30 DAA, a mistura comercial ametryn+trifloxysulfuron-sodium causou redução na densidade populacional de bactérias do solo em relação ao ametryn e trifloxysulfuron-sodium isolados (Tabela 2). Além do efeito tóxico dos herbicidas de modo isolado à população bacteriana do solo, pode ocorrer também o efeito sinérgico da mistura ou a ação tóxica de alguns aditivos nas formulações comerciais, como: surfatantes, solventes e agentes molhantes. Santos et al. (2004) verificaram efeitos distintos de formulações comerciais de glyphosate sobre estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio da soja, sugerindo serem decorrentes da ação dos diferentes aditivos nas formulações dos herbicidas.

Os herbicidas reduziram a densidade populacional fúngica do solo avaliada aos 15 DAA. No entanto, os herbicidas 2,4-D e ametryn apresentaram as maiores reduções, ambas análogas às observadas para densidade populacional bacteriana do

solo, também aos 15 DAA (Tabela 2). Os fungos do solo mostraram-se, de modo geral, sensíveis a maiores concentrações dos herbicidas no solo. Provavelmente, esses herbicidas exerceram pressão de seleção sob a população fúngica do solo nos primeiros dias, diminuindo a competição entre si e remanescendo subpopulações fúngicas tolerantes ou resistentes aos herbicidas. Aos 30, 45 e 60 DAA, observou-se o restabelecimento da densidade populacional fúngica do solo, ou pelo ajuste metabólico das subpopulações afetadas pelos herbicidas ou pelo menor efeito das concentrações residuais dos herbicidas no solo.

Analisando o efeito dos herbicidas em cada época de avaliação (DAA), verificou-se que o herbicida 2,4-D e o trifloxysulfuron-sodium favoreceram maiores atividades de solubilização de fosfato inorgânico aos 15 e 30 DAA e aos 15, 30 e 45 DAA, respectivamente (Tabela 3), porém não afetaram a biomassa microbiana do solo (dados não mostrados). De acordo com Moorman (1989), os agrotóxicos pouco afetam a biomassa microbiana do solo, mas as populações e atividades de determinados grupos funcionais são bastante afetadas.

Em razão da dose de trifloxysulfuron-sodium ( $22,5 \text{ g ha}^{-1}$ ) e de seu efeito na atividade dos MSFI, a ação bioestimulante do herbicida e a alteração do padrão de exsudação radicular das plantas após a aplicação dos herbicidas são sugeridas como mecanismo de aumento da solubilização de fosfato. Essa dose do trifloxysulfuron-sodium é insuficiente para promover o crescimento e/ou disponibilizar C e energia para atividade dos microrganismos. Em estudos de fisiologia vegetal, Liz et al. (2004) sugerem que a alteração do padrão de exsudação radicular da planta na presença de herbicidas em sua rizosfera visa à estimulação dos microrganismos degradadores desses compostos. Esses mesmos autores constataram aumento na diversidade e quantidade de microrganismos degradadores de 2,4-D na rizosfera de *Trifolium pratense* após 25 dias da aplicação do 2,4-D.

Aos 60 DAA, os tratamentos equivaleram-se entre si quanto à atividade de solubilização de fosfato inorgânico em solo rizosférico (Tabela 3), indicando que, provavelmente, as concentrações residuais dos herbicidas pouco afetaram a atividade dos microrganismos do solo.

Solos rizosféricos tratados com os herbicidas ametryn e trifloxysulfuron-sodium isolados apresentaram valores de solubilização relativa de fosfato inorgânico de, respectivamente, 4,80 e 4,45  $\mu\text{g Pi } \mu\text{g}^{-1} \text{ CBM}$  aos 30 DAA, e os tratados com mistura ametryn+trifloxysulfuron-sodium, de 5,60 e 6,22 aos 30 e 45 DAA,

respectivamente. Aos 15 e 60 DAA, não se observou diferença na solubilização relativa de fosfato inorgânico entre os tratamentos (Tabela 3).

Analisando o efeito tempo (DAA) na liberação de P pelos MSFI, os dados da atividade de solubilização e da solubilização relativa de fosfato inorgânico de todos os tratamentos se ajustaram aos modelos lineares de segunda ordem, isto é, com efeito quadrático (Figura 1).

Observou-se que o trifloxysulfuron-sodium estimulou a atividade dos MSFI (valor-p = 0,049) em todo o período de avaliação, com atividade máxima aos 53,92 DAA, obtida pela função da derivada primeira da equação ajustada para liberação de fosfato inorgânico (Figura 1). Em estudos avaliando o efeito dos herbicidas oxadiazon e oxyfluorfen em MSFI, embora os fatores quantitativos não tenham sido analisados por regressão, verificou-se que a atividade máxima de liberação de P se encontra na faixa de 30-60 DAA (Das et al., 2003). Comportamento semelhante foi observado por Debnath et al. (2002) em resultados obtidos avaliando o impacto dos herbicidas butachlor e basalin na solubilização de fosfato inorgânico.

Para os modelos ajustados dos tratamentos ametryn, ametryn+trifloxysulfuron-sodium, 2,4-D em solo rizosféricos e não aplicação de herbicidas em solos não-rizosférico, não se observaram diferenças em relação à testemunha, e ambos os modelos foram agrupados em uma única equação comum e com máxima solubilização aos 53,61 DAA (valor-p < 0,001) (Figura 1).

Contrariamente aos resultados obtidos na análise do efeito tempo na liberação de P, a mistura ametryn+trifloxysulfuron-sodium apresentou-se mais impactante ao se analisar o efeito tempo na solubilização de P relativa (Figura 2). A maior liberação de P pode estar relacionada à acidificação do solo em razão da maior produção de CO<sub>2</sub> em solos tratados com herbicidas. Condições ácidas favorecem a solubilização de fosfatos insolúveis em água. Observou-se que a mistura ametryn+trifloxysulfuron-sodium propiciou maior produção de CO<sub>2</sub> pelo solo dentre os herbicidas estudados (dados não mostrados). Taiwo & Oso (1997) verificaram que o atrazine provocou redução de quase uma unidade de pH no solo e, conseqüentemente, houve acréscimo de quase 5 ppm de Pi na solução do solo.

Com base nos resultados supramencionados, conclui-se que todos os herbicidas estudados provocaram redução na densidade populacional fúngica do solo no período inicial de avaliação. Todavia, para a população de bactérias do solo, apenas o 2,4-D foi tóxico durante todo o período de avaliação. O 2,4-D favoreceu à

atividade dos MSFI até os 30 DAA , ao passo que o trifloxysulfuron-sodium estimulou essa atividade 54 dias da sua aplicação. A solubilização relativa de fósforo inorgânico pelos MSFI foi favorecida pela mistura ametryn+trifloxysulfuron-sodium, indicando alterações no sistema solo. Este trabalho evidenciou que a aplicação dos herbicidas na parte aérea de plantas de cana-de-açúcar afetou o número de microrganismos e a atividade de solubilização de fosfato na rizosfera.

### 3.5. LITERATURA CITADA

ARIAS, M. E.; GONZÁLEZ-PEREZ, J. A. GONZÁLEZ-VILA, F. J.; BALL, A. S. Soil health – a new challenge for microbiologists and chemists. **International Microbiology**, v. 8, p.13-21, 2005.

BOTTOMLEY, P. J. Microbial Ecology. In: SYLVIA, D.M.; FURRMANN, J.J.; HARTEL, P.G.; ZUBERER, D. A. In: **Principles and applications of soil microbiology**. 2ª Ed., New Jersey: Upper Saddle River, 2005. p. 463-488.

CARNEIRO, R. G.; MENDES, I. C.; LOVATO, P. E.; CARVALHO, A. M.; VIVALDI, L. J. Indicadores biológicos associados ao ciclo do fósforo em solos de Cerrado sob plantio direto e plantio convencional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 7, p. 661-669, 2004.

CONGREGADO, F.; SIMON-PUJOL, D.; JUAREZ A. Effect of two organophosphorus insecticides on the phosphate-dissolving soil bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 37, n. 1, p. 169-171, 1979.

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

DAS, A. C.; MUKHERJEE, D. Insecticidal effects on soil microorganisms and their biochemical processes related to soil fertility. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 14, p. 903-909, 1998.

DEBNATH, A., DAS, A.C., MUKHERJEE, D. Persistence and Effect of Butachlor and Basalin on the Activities of Phosphate Solubilizing Microorganisms in Wetland Rice Soil. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 68, p. 766–770, 2002.

DURIGAN, J. C.; TIMOSSI, P. C.; CORREIA, N. M. Integrated management of *Purple nutsedge* on sugar-cane yield. **Planta Daninha**, v. 24, n. 1, p. 77-81, 2006.

ISLAM, K. R. & WEIL, R. R. Microwave irradiation of soil four routine measurement of microbial biomass carbon. **Biology and Fertility of Soils**, v. 27, p. 408-416, 1998.

KUCEY R.M.N. Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 63, n. 4, p. 671-678, 1983.

LÓPEZ, L.; POZO, C.; GÓMEZ, M. A.; CALVO, C.; LÓPEZ, J.G. Studies on the effects of the insecticide aldrin on aquatic microbial populations. **International biodeterioration & Biodegradation**, v. 50, p. 83-87, 2002.

MARSCHNER, H. **Mineral Nutrition of Higher Plants**, 2ª Ed. London: Academic Press, 1995. 889p.

MARTIN, J. P. Use of acid, rose bengal, and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. **Soil Science Society of America Journal**, v.69, p.215-232, 1950.

MIKANOVÁ, O.; NOVÁKOVÁ, J. Phosphorus solubilization from hardly soluble phosphates by soil microflora.. **Rostlinná Výbora**, v. 40, p. 833-844, 2002.

MOORMAN, T.B. A review of pesticide effects on microorganisms and microbial processes related to soil fertility. **Journal of Crop Production**, v. 2, p.14-23, 1989.

MULLEN, M.D. Phosphorus and others elements. In: SYLVIA, D.M.; FURRMANN, J.J.; HARTEL, P.G.; ZUBERER, D. A. In: **Principles and applications of soil microbiology**. 2ª Ed., New Jersey: Upper Saddle River, 2005. p. 463-488.

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

NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiology Letters**, v. 170, p. 265-270, 1999.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J.(Eds) **Fósforo em solo e planta em condições tropicais**. Viçosa: UFV, 1999. 399p.

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

REGAZZI, A.J. Teste para verificar a igualdade de modelos de regressão e a igualdade de alguns parâmetros num modelo polinomial ortogonal. **Revista Ceres**, v. 40, n. 228, p. 176-195, 1993.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.R. **Guia de herbicidas**. 5ª ed, Londrina: Edição dos Autores, 2005. 591p.

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

ROSAS, S. B.; ANDRÉS, J. A.; ROVERA, M.; CORREA, N.S. Phosphate-solubilizing *Pseudomonas putida* can influence the rizobia-legume symbiosis **Soil Biology & Biochemistry**. v. 38, n.12, p. 3502-3505, 2006.

SANTOS, J.B., JACQUES, R.J.S., PROCOPIO, S.O. KASUYA, M. C. M, SILVA, A. A., SANTOS, E. A. Efeitos de diferentes formulações comerciais de glyphosate sobre estirpes de *Bradyrhizobium*. **Planta Daninha**, v. 22, n. 2, p. 293-299, 2006.

SELVAMANI, S., SANKARAN, S. Soil microbial population as affected by herbicides. **Madras Agriculture Journal**, v. 80, p. 397-399, 1993.

SHAW, L. J.; BURNS, R. G. Enhanced Mineralization of [U-14C]2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid in Soil from the Rhizosphere of *Trifolium pratense* **Applied And Environmental Microbiology**, v. 70, n. 8, p. 4766–4774, 2004.

SILVA, A.A.; SILVA, J.F. (Editores). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG. Ed. UFV, 2007. 367p.

SUNDARA, B; NATARAJAN, V; HARI, K. Influence de phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields **Field Crop Research**, v. 70, p. 43-49, 2002.

SYNGENTA, **Syngenta Foundation**. Disponível em: < [http://www.syngenta.com/en/products\\_services/krismat\\_page.aspx](http://www.syngenta.com/en/products_services/krismat_page.aspx) >. Acesso em: 30/11/2006.

TAIWO, L.B.; OSO, B.A. The influence of some pesticides on soil microbial flora in relation to changes in nutrient level, rock phosphate solubilization and P release under laboratory conditions. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 65, p. 59-68, 1997.

THILL, D. Growth regulator herbicides. In: **Herbicide action course**. West Lafayette: Purdue University, 2003. p. 267-291.

TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: VENEGAS, V.H.A., SCHAEFER, C.E.G.R., BARROS, N.F., MELLO, J.W.V., COSTA, L.M. (Eds.). **Tópicos em Ciência do Solo**. v.II (2002) – Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002. p. 195-276.

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

WALKER, T. S.; BAIS, H. P.; GROTEWOLD, E.; VIVANCO, J. M. Root Exudation and Rhizosphere Biology. **Plant Physiology**, v. 132, p. 44-51, 2003.

**Tabela 1** – Características físico-químicas do solo Latossolo Vermelho-Amarelo utilizado no experimento, após correção e adubação. Viçosa-MG, 2006

<b>Análise granulométrica (dag kg<sup>-1</sup>)</b>										
Argila	Silte	Areia fina	Areia grossa	Classe textural						
36	5	10	49	Argilo-Arenosa						
<b>Análise Química</b>										
pH	P	K <sup>+</sup>	H+Al	Al <sup>3+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	T	V	m	MO
H <sub>2</sub> O	mg dm <sup>-3</sup>		cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>					%		dag kg <sup>-1</sup>
5,6	29,5	116,0	5,28	0,0	6,20	0,80	12,58	58,0	0	2,18

Análises realizadas nos Laboratórios de Análises Físicas e Químicas de Solo do Departamento de Solos da UFV.

**Tabela 2** – Densidade populacional de bactérias e fungos do solo obtidos a partir da contagem de células viáveis de amostras de solo não-rizosférico (SNRSH) e de solos tratados com ametryn (SRA), trifloxysulfuron-sodium (SRT), ametryn+trifloxysulfuron-sodium (SRA+T), 2,4-D (SR2,4-D) e sem herbicida (SRSH), aos 15, 30, 45 e 60 dias após aplicação dos herbicidas (DAA). Viçosa-MG, 2006

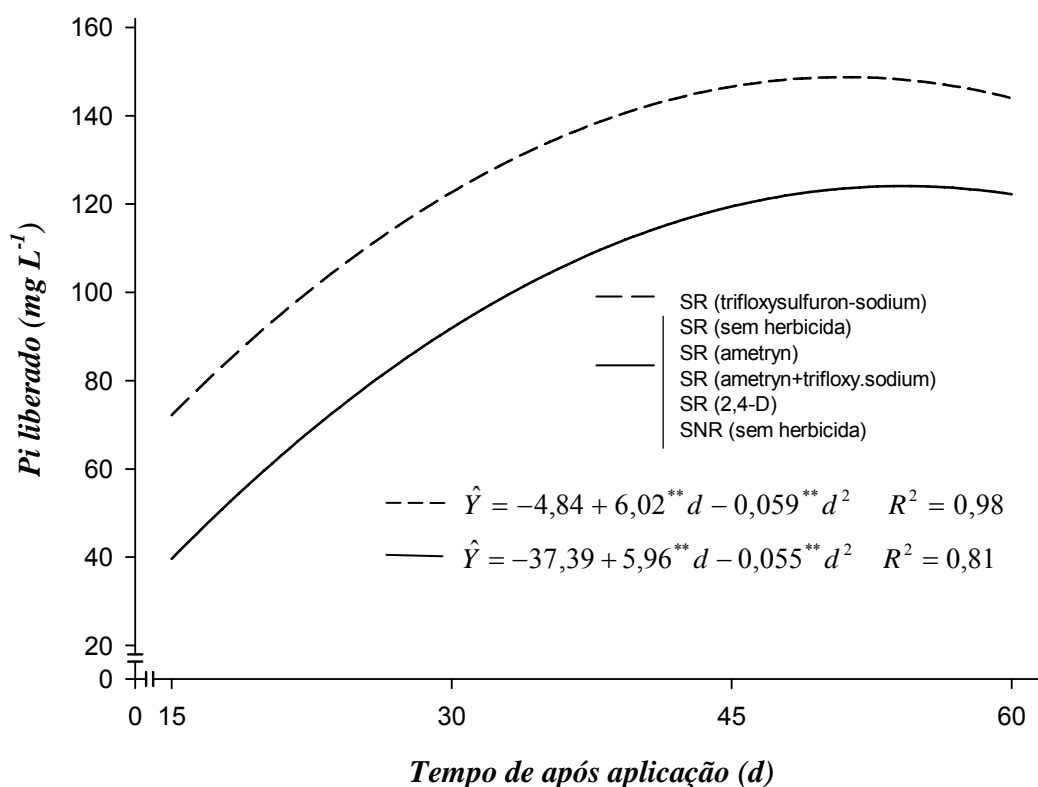
Tratamentos	DAA			
	15	30	45	60
<b>Bactérias</b> (log UFC g <sup>-1</sup> de solo seco) – CV parcela (%)= 1,48				
SNRSH	6,19 c <sup>I/</sup>	6,54 a	6,47 b	6,30 c
SRSH	6,51 a	6,60 a	6,68 a	6,66 a
SRA	6,35 b	6,47 a	6,23 c	6,50 b
SRT	6,54 a	6,45 a	6,62 a	6,49 b
SRA+T	6,59 a	6,37 b	6,26 c	6,37 c
SR2,4-D	6,32 b	6,32 c	5,98 d	6,37 c
<b>Fungos</b> (log UFC g <sup>-1</sup> de solo seco) – CV parcela (%)= 2,08				
SNRSH	4,41 d	4,96 b	5,24 a	4,20 c
SRSH	5,49 a	5,10 a	5,23 a	5,27 a
SRA	5,11 c	5,19 a	5,29 a	5,15 b
SRT	5,27 b	5,10 a	5,33 a	5,28 a
SRA+T	5,31 b	5,07 a	5,24 a	5,41 a
SR2,4-D	5,01 c	5,07 a	5,29 a	5,35 a

<sup>I/</sup> Médias seguidas pela mesma letra na coluna e para cada grupo microbiano não diferem entre si pelo critério de Scott-Knott (P < 0,05).

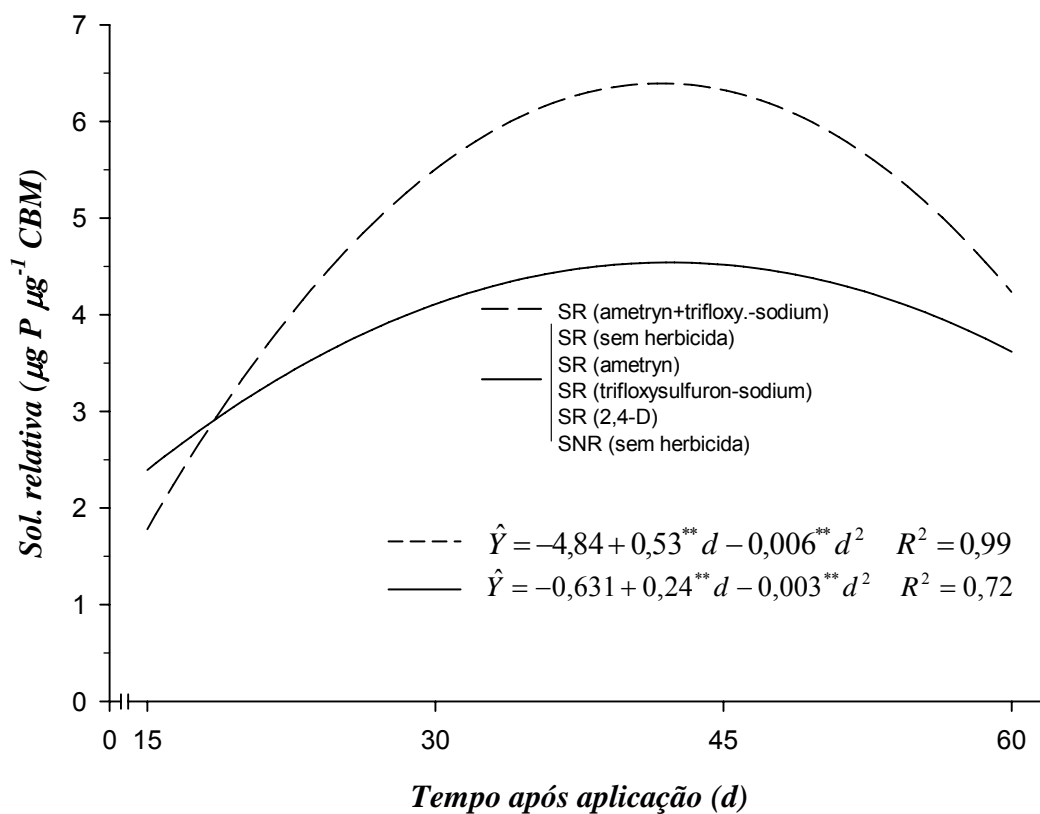
**Tabela 3** – Quantidade de Pi liberado pela atividade de solubilização microbiológica de  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  e solubilização relativa de  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  (quantidade de Pi liberado por unidade de carbono da biomassa microbiana) a partir de amostras de solo não-rizosférico sem aplicação de herbicida (SNRSH) e de solos rizosféricos tratados com ametryn (SRA), trifloxysulfuron-sodium (SRT), ametryn+trifloxysulfuron-sodium (SRA+T), 2,4-D (SR2,4-D) e sem herbicida (SRSH), aos 15, 30, 45 e 60 dias após aplicação dos herbicidas (DAA). Viçosa-MG, 2006.

Tratamentos	DAA			
	15	30	45	60
<b>Solubilização de fosfato inorgânico (mg L<sup>-1</sup>) – CV parcela = 12,79%</b>				
SNRSH	36,61 (85,83) b <sup>1/</sup>	63,35 (76,52) c	81,89 (65,16) c	96,24 (77,71) b
SRSH	42,65 (100) b	82,78 (100) b	125,66 (100) b	123,83 (100) a
SRA	30,18 (70,76) b	104,10 (125,75) a	124,41 (99,00) b	133,33 (107,67) a
SRT	72,97 (171,09) a	120,55 (145,62) a	148,91 (118,50) a	143,36 (115,77) a
SRA+T	28,22 (66,16) b	113,08 (136,60) a	137,66 (109,54) a	126,33 (102,01) a
SR2,4-D	57,93 (135,89) a	98,68 (119,20) a	114,16 (90,84) b	119,11 (96,18) a
<b>Solubilização relativa de fosfato inorgânico (µg Pi µg<sup>-1</sup> CBM) – CV parcela = 30,51%</b>				
SNRSH	2,75 (147,05) a	4,39 (131,43) a	4,57 (107,78) b	3,99 (126,66) a
SRSH	1,87 (100) a	3,34 (100) b	4,24 (100) b	3,15 (100) a
SRA	1,69 (90,37) a	4,45 (133,23) a	4,78 (112,73) b	4,11 (130,47) a
SRT	2,88 (154,01) a	4,80 (143,71) a	5,06 (119,33) b	3,97 (126,03) a
SRA+T	1,74 (93,04) a	5,60 (167,66) a	6,22 (146,69) a	4,27 (135,55) a
SR2,4-D	2,66 (142,24) a	3,86 (115,56) b	3,60 (84,90) b	2,94 (93,33) a

( ) - Valores entre parênteses se referem à porcentagem em relação ao SRSH adotado como referência (100%). <sup>1/</sup> Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo critério Scott-Knott (P<0,05).



**Figura 1** – Quantidade de fósforo inorgânico (Pi) liberado da solubilização de  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  pelos microrganismos solubilizadores de fosfato do solo das amostras de solos tratados com ametryn, trifloxysulfuron-sodium, ametryn + trifloxysulfuron-sodium, 2,4-D e sem herbicida, aos 15, 30, 45 e 60 dias após aplicação dos herbicidas (DAA). SR= solo rizosférico e SNR= solo não-rizosférico. \*\* - significativo ( $P < 0,01$ ). Viçosa-MG, 2006.



**Figura 2** – Solubilização relativa de  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  (quantidade de Pi liberada por unidade de biomassa microbiana) estimada das amostras de solos tratados com ametryn, trifloxysulfuron-sodium, ametryn + trifloxysulfuron-sodium, 2,4-D e sem herbicida, decorrido 15, 30, 45 e 60 dias após aplicação dos herbicidas (DAA). SR= solo rizosférico e SNR= solo não-rizosférico. \*\* - significativo ( $P < 0,01$ ). Viçosa-MG, 2006.

## **4. ATIVIDADE MICROBIANA EM SOLO CULTIVADO COM CANA-DE-AÇÚCAR APÓS APLICAÇÃO DE HERBICIDAS**

### **4.1. RESUMO**

Objetivou-se neste trabalho avaliar o impacto de herbicidas na atividade respiratória da microbiota, na biomassa microbiana e no quociente metabólico em solo cultivado com plantas de cana-de-açúcar (var. RB867515). Para isso, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado no esquema de parcelas subdivididas, com quatro repetições. Nas parcelas, avaliou-se o efeito dos herbicidas e, nas subparcelas, o efeito tempo, expresso em dias após aplicação dos herbicidas (DAA). Os herbicidas utilizados foram: 2,4-D ( $1,30 \text{ kg ha}^{-1}$ ), ametryn ( $1,00 \text{ kg ha}^{-1}$ ), trifloxysulfuron-sodium ( $0,0225 \text{ kg ha}^{-1}$ ) e a mistura ametryn+trifloxysulfuron-sodium ( $1,463+0,0375 \text{ kg ha}^{-1}$ , respectivamente). Realizou-se a aspersão dos herbicidas, em pós-emergência, aos 60 dias após a brotação das gemas do material propagativo de cana-de-açúcar. Aos 15, 30, 45 e 60 DAA, amostras de solo rizosférico foram coletadas e imediatamente analisadas em relação às seguintes características microbiológicas: taxa respiratória (TR), carbono da biomassa microbiana (BM), quociente metabólico ( $q\text{CO}_2$ ) e acúmulo total de C- $\text{CO}_2$  evoluído do solo (ATC). A TR do solo foi influenciada pela aplicação dos herbicidas avaliados, porém, a sua resposta foi muito variável. O ametryn aplicado isolado ou em mistura com trifloxysulfuron-sodium propiciou maiores TRs, ao passo que o 2,4-

D pouco influenciou na TR do solo. Maiores acúmulos de C-CO<sub>2</sub> aos 60 DAA foram verificados em solos que receberam aplicação de trifloxysulfuron-sodium, ametryn e da mistura de ambos os produtos. A BM do solo foi sensível à aplicação dos herbicidas, sendo reduzida aos 15 DAA e dos 15 aos 60 DAA pela presença do ametryn isolado ou em mistura, respectivamente. Esses tratamentos resultaram em maiores valores de, qCO<sub>2</sub> aos 45 e 60 DAA, respectivamente, indicando efeito negativo sobre o equilíbrio do solo. Evidenciou-se neste trabalho que a aplicação de herbicidas na parte aérea das plantas de cana-de-açúcar afeta a taxa respiratória, a biomassa microbiana e o quociente metabólico na rizosfera.

**Palavras-chave:** *Saccharum* spp., biomassa microbiana, quociente metabólico, ametryn, trifloxysulfuron-sodium, 2,4-D.

## 4.2. INTRODUÇÃO

No Brasil, o cultivo da cana-de-açúcar destaca-se como uma das mais antigas atividades agroeconômicas, sendo o açúcar e o álcool combustível os seus principais subprodutos. Atualmente, é considerada a cultura com maior percentual de crescimento de área cultivada, devido à demanda mundial por combustíveis ambientalmente corretos e ao seu potencial no mercado de créditos de carbono. Na safra de 2005/06, as lavouras canavieiras ocuparam quase seis milhões de hectares, com estimativa de duplicação da área plantada até o ano de 2030 (Magalhães, 2005). No entanto, a expansão de áreas agrícolas, associada a determinados tipos de manejo do solo e fitossanitário (como a aplicação de agrotóxicos), pode comprometer algumas propriedades biológicas do solo (Santos et al., 2005; Tuffi Santos et al., 2005; Vivian et al., 2006).

Algumas técnicas têm-se mostrado eficientes para a avaliação dos impactos dos cultivos agrícolas sobre o meio, a exemplo do emprego de indicadores microbiológicos para averiguação da qualidade do solo. Normalmente, pequenas alterações na qualidade do solo estão associadas com mudanças em suas propriedades microbiológicas, as quais apresentam alta sensibilidade a perturbações advindas do manejo (Pankhurst & Doube, 1997; Tótola et al., 2002).

Dentre os indicadores microbiológicos de qualidade do solo, destacam-se a taxa respiratória (TR), a biomassa microbiana (BM) e o quociente metabólico (qCO<sub>2</sub>). A TR do solo consiste na medida da produção de CO<sub>2</sub> resultante da atividade

metabólica dos macro e microrganismos (Doran & Parkin, 1994). A atividade desses organismos no solo é considerada um atributo positivo para a qualidade do solo e vem sendo usada como indicador por ser mais genérica e englobar a atividade de comunidades e consórcios presentes, apresentando melhor reprodutividade (Moorman, 1994; Schinner et al., 1996). Altas TRs do solo podem indicar tanto distúrbio ecológico (exemplo, aplicação de agrotóxicos) como alto nível de produtividade do ecossistema solo (Islam & Weil, 2000). A aplicação de agrotóxicos interfere positiva ou negativamente na atividade dos organismos do solo, fato que indica respectivamente a metabolização desses produtos pelos organismos e a capacidade de os agrotóxicos intoxicarem a biota do solo (Santos et al., 2005; Tuffi Santos et al., 2005; Vivian et al., 2006).

A biomassa microbiana do solo é considerada a parte viva da matéria orgânica do solo e inclui bactérias, actinomicetos, fungos, protozoários e algas. Em geral, as estimativas de biomassa são mais abrangentes, pois levam em consideração as populações microbianas cultiváveis e não-cultiváveis (Lin & Brookes, 1999). Representando a fração viva do solo, a BM está diretamente envolvida na degradação da matéria orgânica, na transformação e disponibilidade dos nutrientes e na degradação de agrotóxicos no solo (Angers et al., 1993; Moorman, 1994).

A degradação de agrotóxicos pela BM do solo é amplamente relatada na literatura; no entanto, parte da BM (organismos não adaptados) pode ser afetada pelos agrotóxicos. Desse ponto de vista, a BM destaca-se como importante indicador de qualidade do solo.

Outro indicador utilizado na avaliação de distúrbios no solo é o quociente metabólico ( $qCO_2$ ), que consiste na taxa respiratória por unidade de BM do solo. Maiores valores de  $qCO_2$  sugerem condições desfavoráveis aos organismos do solo, ao passo que menores valores indicam maior eficiência da BM na utilização dos recursos do ecossistema, ou seja, menos carbono (C) é perdido como  $CO_2$  e maior proporção de C é incorporada nas células microbianas (Sakamoto & Obo, 1994). O  $qCO_2$  pode ser considerado o indicador mais adequado para avaliar o efeito das condições de estresse sobre a atividade da BM do solo (Anderson & Domsch, 1993).

A sensibilidade desses indicadores microbiológicos aos herbicidas foi comprovada em diversos estudos sobre impactos ambientais em solos de clima tropical nas culturas de feijão, cana-de-açúcar e eucalipto (Santos et al., 2005; Tuffi Santos et al., 2005; Vivian et al., 2006).

Do total de herbicidas consumidos no Brasil, aproximadamente 20% (15 t) são utilizados na cultura da cana-de-açúcar (SINDAG, 2005). Dos herbicidas recomendados para essa cultura, destacam-se o 2,4-D e ametryn dentre os empregados em maiores quantidades.

O 2,4-D é utilizado no controle de plantas daninhas dicotiledôneas na cultura da cana-de-açúcar. É classificado como altamente tóxico a humanos e como produto perigoso ao ambiente (ANVISA, 2007). Seu efeito sobre a biota do solo foi relatado por Shaw & Burns (2004), os quais verificaram, por meio de técnicas moleculares, mudanças na composição de bactérias, com o surgimento e o desaparecimento de algumas espécies após a aplicação do produto.

Para controle de monocotiledôneas na cana-de-açúcar utiliza-se o ametryn, que é classificado como medianamente tóxico a humanos e como produto muito perigoso ao ambiente (ANVISA, 2007). Este herbicida, em mistura com o trifloxysulfuron-sodium, encontra-se disponível para controle de plantas daninhas mono e dicotiledôneas desde 2001; portanto, há poucas informações do comportamento dessa mistura no ambiente (SYNGENTA, 2006).

Considerando a expansão da área plantada com cana-de-açúcar, a alta quantidade de herbicidas utilizados e as poucas informações, no Brasil, a respeito do comportamento de herbicidas no ambiente, ressalta-se a importância da avaliação dos efeitos desses produtos sobre a qualidade do solo.

Neste trabalho, objetivou-se avaliar o impacto dos herbicidas ametryn e trifloxysulfuron-sodium, isolados e em mistura, e 2,4-D na atividade microbiana do solo, utilizando para isso os indicadores microbiológicos.

### **4.3. MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa - UFV, e as análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Herbicida no Solo do Departamento de Fitotecnia/UFV, Viçosa, MG.

O substrato utilizado foi o Latossolo Vermelho-Amarelo, extraído do horizonte B do perfil do solo de área sem histórico de aplicação de agrotóxicos. Para cultivo da cana-de-açúcar utilizaram-se vasos de PVC de coloração preta, preenchidos com 10 L de substrato, com o interior revestido por filme de polietileno.

O substrato foi corrigido com calcário dolomítico ( $0,15 \text{ g dm}^{-3}$ ) e adubado com os fertilizantes: sulfato de amônio ( $0,09 \text{ g dm}^{-3}$  de N), superfosfato simples ( $1,8 \text{ g dm}^{-3}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$ ) e cloreto de potássio ( $0,34 \text{ g dm}^{-3}$  de  $\text{K}_2\text{O}$ ). Posteriormente à correção e adubação, o substrato foi analisado física e quimicamente (Tabela 1). O material propagativo de cana-de-açúcar constituiu-se de fragmentos de colmos (tolete contendo uma gema) da variedade RB867515, sendo plantados dois toletes por vaso. Foram também realizadas adubações de cobertura com 100 mL de solução nutritiva contendo: adubo Ouro Verde<sup>®</sup>, N e  $\text{K}_2\text{O}$  nas concentrações de 10, 8 e  $23,2 \text{ g L}^{-1}$ , respectivamente, aos 49 e 64 dias após o plantio.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas; nas parcelas avaliaram-se os efeitos dos herbicidas e, nas subparcelas, o efeito do tempo após a aplicação dos herbicidas, com quatro repetições.

Quando as plantas de cana-de-açúcar se encontravam com três a quatro folhas expandidas, as unidades experimentais foram aspergidas com solução dos herbicidas 2,4-D, ametryn, trifloxysulfuron-sodium e ametryn+trifloxysulfuron-sodium com concentrações equivalentes às doses de 1,30; 1,00; 0,0225 e  $1,463+0,0375 \text{ kg ha}^{-1}$ , respectivamente. Na aspersão das soluções herbicidas foi utilizado equipamento de aplicação de alta precisão, pressurizado com  $\text{CO}_2$  e equipado com pontas TT 11002, calibrado previamente para aplicação de  $150 \text{ L ha}^{-1}$  de calda.

Aos 15, 30, 45 e 60 dias após a aplicação das soluções herbicida (DAA), coletaram-se amostras de solos rizosférico e não-rizosférico. A coleta do solo não-rizosférico foi realizada nas unidades experimentais sem presença de plantas. Para a coleta do solo rizosférico, retirou-se a planta+solo e agitou-se de modo que permanecesse somente o solo firmemente aderido às raízes (solo rizosférico), em seguida, agitou-se novamente a fim de coletá-lo. Nessas amostras, estimaram-se a taxa respiratória, o carbono da biomassa microbiana e o quociente metabólico do solo. A umidade atual do solo foi determinada para posterior conversão dos dados obtidos para base solo seco.

Na avaliação da taxa respiratória, utilizou-se o método respirométrico de avaliação do C- $\text{CO}_2$  evoluído do solo, no qual amostras de 100 g de solo úmido (60% da capacidade de campo) e peneirado foram incubadas durante 28 dias em frascos hermeticamente fechados. O C- $\text{CO}_2$  liberado do solo foi carregado por fluxo contínuo de ar (isento de  $\text{CO}_2$ ) até outro frasco contendo 100 mL de solução de NaOH  $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ . Em intervalos de sete dias, estimou-se o C- $\text{CO}_2$  evoluído a partir da titulação

de 10 mL da solução de NaOH com solução de HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>, preenchendo-se novamente os frascos com 100 mL de solução de NaOH 0,25 mol L<sup>-1</sup>. No controle da qualidade do ar carregado, utilizou-se frasco sem solo, servindo como amostra “branco” em relação às demais. A temperatura da sala foi de 25 ± 2 °C.

Após 28 dias de incubação, o solo foi retirado dos frascos, tomando-se 20 g de cada frasco para determinação do carbono da biomassa microbiana (CBM). Utilizou-se o método descrito por Vance et al. (1987), modificado por Islam & Weil (1998), no qual as amostras foram tratadas com radiação de microondas por tempo previamente calculado (60 + 60 seg.) em vez da fumigação com clorofórmio. O CBM foi extraído das amostras (irradiadas e não irradiadas) de solo com 80 mL da solução de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 mol L<sup>-1</sup>; em seguida, as amostras foram submetidas à agitação por 30 min, em mesa agitadora horizontal, permanecendo em repouso durante mais 30 minutos. Após o repouso, as amostras foram filtradas em filtros de papel Whatman n° 42. Em tubo digestor, tomaram-se 10 mL do filtrado, os quais foram adicionados os reagentes: 2 mL de solução de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 0,0667 mol L<sup>-1</sup>, 5 mL de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> concentrado e 10 mL de solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,2 mol L<sup>-1</sup>. Posteriormente, os tubos foram aquecidos por 30 min a 100 °C, deixando-se esfriar em seguida. O volume foi completado para 100 mL em proveta calibrada. Transferiu-se a amostra para frascos erlenmeyers de 250 mL, adicionando-se o indicador difenilamina (cinco gotas), sendo titulado com solução 0,033 mol L<sup>-1</sup> de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> até mudança da cor azul-escura para verde. A partir dos valores obtidos da evolução do C-CO<sub>2</sub> e CBM, calculou-se o qCO<sub>2</sub> (µg g<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> de C-CO<sub>2</sub>), dividindo-se a média diária do C-CO<sub>2</sub> evoluído do solo pelo CBM determinado no solo.

Para estimativa da taxa respiratória do solo, utilizou-se o coeficiente β<sub>1</sub> das equações polinomiais (Y= β<sub>0</sub>+ β<sub>1</sub>x) de primeiro grau ajustadas e testadas quanto à identidade de modelos. O β<sub>1</sub>, denominado de coeficiente angular da equação representa a inclinação da reta, sendo matematicamente descrito por: β<sub>1</sub>= ΔY/ΔX. Neste trabalho, o coeficiente β<sub>1</sub> é descrito por: β<sub>1</sub>= ΔC-CO<sub>2</sub>/Δd, representando a taxa respiratória do solo, expressa em: µg g<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> de C-CO<sub>2</sub>.

Decorrido o período de incubação, retiraram-se 20 g de solo em cada frasco incubado por 28 dias, para determinação do carbono da biomassa microbiana (CBM). Utilizou-se o método descrito por Vance et al. (1987), modificado por Islam & Weil (1998), no qual a fumigação do solo com clorofórmio foi substituída pela irradiação de microondas. A partir dos valores obtidos da taxa respiratória e CBM do solo,

calculou-se o  $qCO_2$  ( $\mu g \mu g^{-1} d^{-1}$  de C- $CO_2$ ), dividindo-se a média diária da taxa respiratória pelo CBM determinado no solo, denominado de quociente metabólico.

Nas análises estatísticas optou-se por um nível de significância de 5%. Os dados foram submetidos à análise de variância, e quando os efeitos foram significativos procedeu-se ao critério de agrupamento de médias Scott-Knott, para fatores qualitativos, e a análise de regressão, para os fatores quantitativos. A escolha do modelo foi baseada na sua significância e no coeficiente de determinação. Posteriormente, os modelos foram submetidos ao teste de identidade de modelos (Regazzi, 1993), ambos comparados, dois a dois, com o modelo testemunha (solo rizosférico sem aplicação de herbicidas).

#### 4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A evolução de C- $CO_2$  dos solos em função dos tratamentos apresentou resposta linear (valor-p < 0,05) ao longo do período de incubação (28 dias). Pelo teste de identidade de modelos, verificou-se que as menores taxas respiratórias ( $\beta_1$ ) foram observadas em amostras do solo não-rizosféricos sem aplicação de herbicidas aos 15, 30, 45 e 60 dias após aplicação (DAA) dos tratamentos (Figura 1). Em solos não-rizosférico encontra-se menor quantidade de microrganismos em relação aos solos rizosféricos, pelo fato de não haver fornecimento de C e energia via exsudação radicular das plantas. Portanto, espera-se que a atividade metabólica nos solos não-rizosféricos seja menor (Sandmann & Loos, 2004).

Solos rizosféricos tratados com trifloxysulfuron-sodium e ametryn+ trifloxysulfuron-sodium e testemunha não diferiram quanto à taxa respiratória do solo aos 15 DAA, portanto, as taxas respiratórias deles foram representadas por única taxa respiratória comum. Para os solos tratados com ametryn e 2,4-D, as taxas respiratórias foram menores em comparação com a da testemunha (Figura 1). Em solos tratados com os herbicidas aos 30 DAA, as taxas respiratórias não diferiram entre si e foram representadas por uma única taxa comum, porém, superior à da testemunha (Figura 1). Todos os herbicidas, exceto o 2,4-D, estimularam a respiração dos solos, comparados à testemunha, aos 45 DAA. O mesmo comportamento, incluindo o 2,4-D, foi observado aos 60 DAA (Figura 1). As respostas das taxas respiratórias do solo na presença de herbicidas foram variáveis.

Solos tratados com ametryn, atrazine e glyphosate apresentaram maiores taxas respiratórias em relação ao controle, indicando a possível metabolização desses herbicidas pela biota do solo (Costa et al., 1997; Haney et al., 2000; Moreno, 2006).

Na Figura 2, verificou-se menor acúmulo de C-CO<sub>2</sub> evoluído do solo não-rizosférico, fato explicado pela menor quantidade de organismos presentes. Maiores quantidades de C-CO<sub>2</sub> evoluído foram observadas em solos rizosféricos tratados com ametryn, trifloxysulfuron-sodium e ametryn+trifloxysulfuron-sodium. Esses herbicidas provavelmente provocam desequilíbrio na comunidade microbiana, inibindo determinadas populações microbianas; conseqüentemente a BM utiliza essas células mortas como fonte de C e energia no seu metabolismo (Sakamoto & Obo, 1994). Desse modo, justifica-se, em parte, o aumento da produção de C-CO<sub>2</sub>.

Em solos tratados com 2,4-D, não houve diferença no acúmulo de C-CO<sub>2</sub> em relação à testemunha (Figura 2). Sandmann & Loos (2004) utilizaram o método NMP (Número Mais Provável) para determinar os valores de R:NR (solo rizosférico: solo não-rizosférico) de degradadores do 2,4-D na rizosfera de cana-de-açúcar. Esses autores encontraram valor de R:NR igual a 105 em solos rizosféricos de cana-de-açúcar. Diante disso, sugere-se que a maior concentração de degradadores do 2,4-D na rizosfera da cana-de-açúcar favorece a degradação e incorporação do C desse produto em células microbianas.

Os valores de BM do solo encontrados neste trabalho concordam com os obtidos por Santos et al. (2006) para solo cultivado com feijão e por Vivian et al. (2006) para solo cultivado com cana-de-açúcar; ambos os autores estimaram a biomassa microbiana pelo método utilizado neste trabalho. Todavia, estimativas de biomassa microbiana obtidas pelo mesmo método em solo cultivado com cana-de-açúcar foram, em média, o dobro das obtidas neste trabalho. Ressaltando-se que as amostras de solo foram coletadas em condições de campo em oito diferentes canaviais australianos e utilizado o método de Amato & Ladd (1998) para estimativas da BM do solo (Holt & Mayer, 1998).

A comparação de parâmetros microbiológicos do solo deve ser cautelosa em razão da não-padronização dos métodos utilizados. Na comparação de métodos para determinação da biomassa microbiana do solo, Andréa & Hollweg (2004) utilizaram combinações de cinco processos de digestão com oito formas de cálculos do C-microbiano. Esses autores observaram variação de até 1.500% nos valores de biomassa microbiana obtidos para um mesmo solo arenoso e de quase 900% em um

mesmo solo argiloso. Também, concluíram que o método de Vance et al. (1987), utilizado neste trabalho com algumas modificações, é adequado para boa comparação entre os solos e dados da literatura.

A aplicação de herbicidas pode alterar a BM do solo, porém essa apresenta resposta variável e depende do herbicida aplicado, tipo do solo, da espécie da planta e da microbiota e suas interações. A interação herbicida-solo-microrganismo é demonstrada em alguns trabalhos, onde, por exemplo, o atrazine não provocou alterações na BM de solo arenosos (Ghani et al., 1996) e, por outro lado, favoreceu o aumento da BM em solo argiloso e com alto teor de matéria orgânica, (Moreno, 2007), no entanto, em ambos os trabalhos não houve o cultivo de plantas.

A biomassa microbiana do solo não-rizosférico foi, em média, 45,78% inferior em relação ao solo rizosférico sem aplicação de herbicida aos 15, 30, 45 e 60 DAA (Tabela 1). O 2,4-D e o trifloxysulfuron-sodium não influenciaram a BM do solo. No entanto, Voos & Groffman (1997), avaliando os efeitos do 2,4-D no solo evidenciaram aumento na BM até os 20 DAA, com a estabilização dos 20 aos 80 DAA.

Evidenciou-se o efeito redutivo na BM em relação à testemunha, nas amostras de solos tratados com a mistura ametryn+trifloxysulfuron-sodium dos 15 aos 60 DAA (redução média de 23,60%) e com ametryn aos 15 DAA (redução média de 14,17%) (Tabela 2). Esse efeito redutivo devido à aplicação de ametryn, isolado ou em mistura, é contrastante pelo fato de este ser inibidor do fotossistema II e de a maioria dos microrganismos do solo não ser fotoautotrófica, ou seja, não apresentar capacidade de fixar CO<sub>2</sub> atmosférico. Todavia, possíveis efeitos do ametryn sob células microbianas são desconhecidos. Dessa forma, uma provável ação sinérgica dos herbicidas ou possivelmente a intoxicação dos microrganismos por alguns aditivos da formulação comercial pode ter contribuído na redução da BM do solo. Santos et al. (2006) avaliaram o efeito dos herbicidas fluazifop- $\rho$ -butil e fomesafen, isolados e em mistura, nos atributos biológicos de qualidade do solo cultivados com feijão (*Phaseolus vulgaris*) em sistema de cultivo convencional e plantio direto. Em ambos os cultivos constataram-se maiores reduções na biomassa microbiana do solo tratado com a mistura de fluazifop- $\rho$ -butil e fomesafen.

De modo geral, os herbicidas podem influenciar positiva e negativamente a microbiota do solo, podendo afetar duas ou mais características biológicas do solo de modo divergente – por exemplo, redução da biomassa microbiana e acréscimo da

taxa respiratória – ou de modo convergente – nesse caso, redução ou acréscimo de ambas. Essas condições mencionadas podem dificultar a interpretação correta dos efeitos de estresse sobre a biota do solo. Assim, para estimativas mais representativas desses efeitos, pode-se obter o  $qCO_2$ , que relaciona a taxa respiratória com a biomassa microbiana.

Os valores de  $qCO_2$  em solos não-rizosférico foram, de modo geral, 68,66% maiores nas respectivas avaliações, demonstrando condições de estresse e a limitação de carbono e energia nos solos não-rizosféricos, não proporcionando, desse modo, o pleno crescimento e desenvolvimento dos microrganismos do solo (Sakamoto & Obo, 1994).

Não se observaram diferenças nos valores de  $qCO_2$  das amostras de solos rizosféricos tratadas com herbicidas em relação à testemunha aos 15 e 30 DAA. No entanto, aos 45 e 60 DAA verificou-se aumento do  $qCO_2$  em solos rizosféricos tratados com ametryn, isolado e em mistura, sendo devido à redução média de 14,8% e 25,75% na BM do solo, respectivamente (Tabela 1).

Analisando o efeito do tempo após aplicação dos herbicidas, os dados de CBM ajustaram-se aos modelos polinomiais de primeiro ou segundo grau e apresentaram coeficientes de determinação acima de 85%, porém os coeficientes das equações não foram significativos. Assim, ao analisar o solo rizosférico sem herbicida, constatou-se que a BM foi estável ao longo do tempo. Esse fato a torna um bom indicador de qualidade do solo, ou seja, não houve variação da BM do solo com o desenvolvimento da cultura. Segundo Stenberg (1999), um dos critérios para seleção de indicadores de qualidade do solo é que estes sejam sensíveis a variações em longo prazo no manejo e no clima, mas resistentes a flutuações em curto prazo devidas as mudanças climáticas e o desenvolvimento da cultura. Para solos rizosféricos tratados com herbicidas, a não-significância dos coeficientes da equação evidencia que, uma vez afetada a BM do solo pela aplicação desses herbicidas não houve seu restabelecimento no período de 60 dias da aplicação, demonstrando a não-resiliência desse solo.

No entanto, para o  $qCO_2$ , os dados não se ajustaram aos modelos polinomiais de primeiro e segundo grau, sendo, submetidos à análise estatística descritiva (Figura 3). Nos tratamentos solo não-rizosférico e solo rizosférico sem herbicida, foi observada a tendência decrescente do  $qCO_2$  até os 30 DAA e, posteriormente, sua estabilização. Constatação semelhante foi feita em solos rizosféricos com 2,4-D,

provavelmente pelo fato de este herbicida não estar mais afetando TR, em razão da sua degradação no solo. A dissipação do 2,4-D em solos de clima tropical é relativamente rápida, apresentando meia-vida de quatro semanas (Procópio et al., 2003). Para os herbicidas ametryn e trifloxysulfuron-sodium, isolados e em mistura, observou-se que o  $qCO_2$  alterou-se de forma distinta da de outros tratamentos, apresentando tendência crescente até os 30 DAA, com redução aos 45 DAA e posterior aumento aos 60 DAA.

De acordo com os resultados supracitados, conclui-se que os herbicidas avaliados influenciam a taxa respiratória e, conseqüentemente, o C- $CO_2$  acumulado do solo. Ressalta-se que o ametryn foi o que mais estimulou a taxa respiratória do solo. Os herbicidas pouco afetaram a biomassa microbiana, com exceção da mistura ametryn+trifloxysulfuron-sodium afetando-a por todo o período de avaliação. Pela análise do  $qCO_2$ , ressaltam-se condições estressantes para a microbiota do solo em solos tratados com ametryn isolado e em mistura com trifloxysulfuron-sodium. De modo geral, o 2,4-D e trifloxysulfuron-sodium são os herbicidas menos prejudiciais à microbiota do solo conforme os parâmetros microbiológicos avaliados. Entretanto, esses podem afetar outros parâmetros menos genéricos como a diversidade e densidade populacional de microrganismos, atividade de fixação de N atmosférico e atividade enzimática do solo.

#### 4.5. LITERATURA CITADA

ANDERSON, J.P.; DOMSCH, K.H. The metabolic quotient for  $CO_2$  ( $qCO_2$ ) as a specific activity parameter to asses the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.25, p. 393-395, 1993.

ANGERS, D.A. et al. Tillage-induced differences in organic matter of particle-size fractions and microbial biomass. **Soil Science Society American Journal**, v. 57, p. 512-516, 1993.

ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Disponível em: <<http://www4.anvisa.gov.br/agrosia/asp/default.asp>>. Acesso em: 01/03/2007.

COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A. (eds). Defining soil quality for a sustainable environment. SSSAJ, Madison, (Publication Number 35), 1994. p.3-22.

CONAB – **Companhia Nacional de Abastecimento**. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/2\\_levantamento\\_cana\\_safra\\_2006\\_07.pdf](http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/2_levantamento_cana_safra_2006_07.pdf)> Acesso em: 010/01/2007.

COSTA, M.A.; MONTEIRO, R.T.R.; TORNISIELO, V.L.. Influência da adição de palha de cana-de-açúcar na degradação de <sup>14</sup>C-ametrina em solo areia quartzosa. **Scientia Agricola**, v. 54, n. 3, 1997. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sciarttext&pid=S0103-90161997000200001&lng=en&nrm=iso>>. Acesso em: 04 Mar 2007.

DORAN, J.W.; PARKIN, T.B. Defining and assessing soil quality. In: Doran, J. M.; Coleman, D. C.; Bezdicek, D. F.; Stewart, B. A. (ed.). **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p.3-21. Special Publication, 35.

GHANI, G. et al. Interactions between <sup>14</sup>C-labelled atrazine and the soil microbial biomass in relation to herbicide degradation. **Biology and Fertility of Soils**, v. 21, n. 1, p. 17-22, 1996.

HOLT, J.A.; MAYER, R.J. Changes in microbial and protease activities of soil associated with long-term sugarcane monoculture. **Biology and Fertility of Soils**, v. 27, p. 127-131, 1998.

ISLAM, K. R. & WEIL, R. R. Microwave irradiation of soil four routine measurement of microbial biomass carbon. **Biology and Fertility of Soils**, v. 27, p. 408-416, 1998.

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

MAGALHÃES, P.G. In: BARBIERI, J. 30 anos do Proálcool no centro do debate. **Jornal da Unicamp**. ed. 309, p. 11, 2005.

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

MORENO, J.L. et al. Effects of atrazine on microbial activity in semiarid soil. **Applied Soil Ecology**, v.35, p. 120-127, 2007.

OMETO, A.R.; MIRANDA, E.E.; MANGABEIRA, J.F.C. Perfil tecnológico e sócioeconômico das principais atividades agrossilvopastoris do Nordeste Paulista. Campinas – SP: **Embrapa monitoramento por satélite**, 2005. 61p.

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

PROCÓPIO S.O. et al. **Manejo de plantas daninhas na cultura da cana de açúcar**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, p.150, 2003.

REGAZZI, A.J. Teste para verificar a igualdade de modelos de regressão e a igualdade de alguns parâmetros num modelo polinomial ortogonal. **Revista Ceres**, v.40, n.228, p. 176-195, 1993.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.R. **Guia de herbicidas**. 5ª ed, Londrina: Edição dos Autores, 2005. 591p.

SAKAMOTO, K.; OBO, Y. Effects of fungal to bacterial ratio on the relationship between CO<sub>2</sub> evolution and total soil microbial biomass. **Biology and Fertility of Soils**, v. 17, p. 39-44, 1994.

SANDMANN, E. R.; LOOS M. A. Enumeration of 2,4-D-degrading microorganisms in soils and crop plant rhizospheres using indicator media: high populations associated with sugarcane (*Saccharum officinarum*). **Chemosphere**, v. 13, p. 1073–1084, 1984.

SANTOS, J.B. et al. Atividade microbiana do solo após aplicação de herbicidas em sistemas de plantio direto e convencional. **Planta Daninha**. v.23, n.4, p.683-691, 2005.

SCHINNER, F.; ÖHLINGER, R.; KANDELER, E. & MARGESIN, R., eds. Indirect estimation of microbial biomass. In: **Methods in soil biology**. Heidelberg, Springer-Verlag, 1996. p.47-75.

SHAW, L. J.; BURNS, R. G. Enhanced Mineralization of [U-14C]2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid in Soil from the Rhizosphere of *Trifolium pratense* **Applied And Environmental Microbiology**, v.70, n.8, p. 4766–4774, 2004.

SINDAG – **Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola** Disponível em: <<http://www.sindag.com.br/upload/compimp0105.xls>> Acesso em: 10/02/2007.

STENBERG, B. Monitoring soil quality of arable land: microbiological indicators. **Soil Plant Science**, v. 49, p. 1-24, 1999.

SYNGENTA, **Syngenta Foundation**. Disponível em: < [http://www.syngenta.com/en/products\\_services/krismat\\_page.aspx](http://www.syngenta.com/en/products_services/krismat_page.aspx) >. Acesso em: 30/11/2006.

TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: VENEGAS, V.H.A., SCHAEFER, C.E.G.R., BARROS, N.F., MELLO, J.W.V., COSTA, L.M. (Eds.). **Tópicos em Ciência do Solo**. v.II (2002) – Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002. p.195-276.

TUFFI SANTOS, L.D. et al. Exsudação radicular do glyphosate por *brachiaria decumbens* e seus efeitos em plantas de eucalipto e na respiração microbiana do solo. **Planta Daninha**, v. 23, n. 1, p. 143-152, 2005.

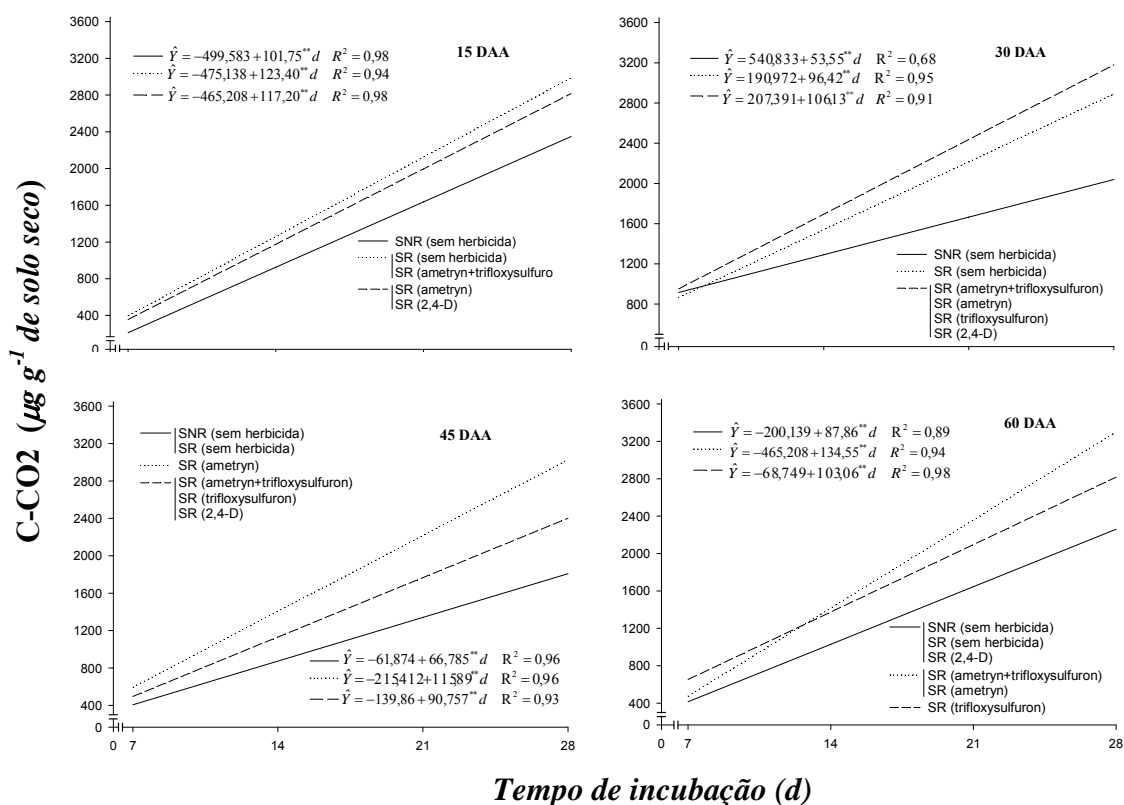
VANCE, E.D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 19, p. 703-707, 1987.

VIVIAN, R. et al. Persistência de sulfentrazone em Latossolo vermelho-amarelo cultivado com cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v. 24, n. 4, p. 741-750, 2006.

**Tabela 1** – Características físico-químicas do solo Latossolo Vermelho-Amarelo utilizado no experimento, após correção e adubação. Viçosa-MG, 2006

<b>Análise granulométrica (dag kg<sup>-1</sup>)</b>										
Argila	Silte	Areia fina	Areia grossa	Classe textural						
36	5	10	49	Argilo-Arenosa						
<b>Análise Química</b>										
pH	P	K <sup>+</sup>	H+Al	Al <sup>3+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	T	V	m	MO
H <sub>2</sub> O	mg dm <sup>-3</sup>		cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>					%		dag kg <sup>-1</sup>
5,6	29,5	116,0	5,28	0,0	6,20	0,80	12,58	58,0	0	2,18

Análises realizadas nos Laboratórios de Análises Físicas e Químicas de Solo do Departamento de Solos da UFV.

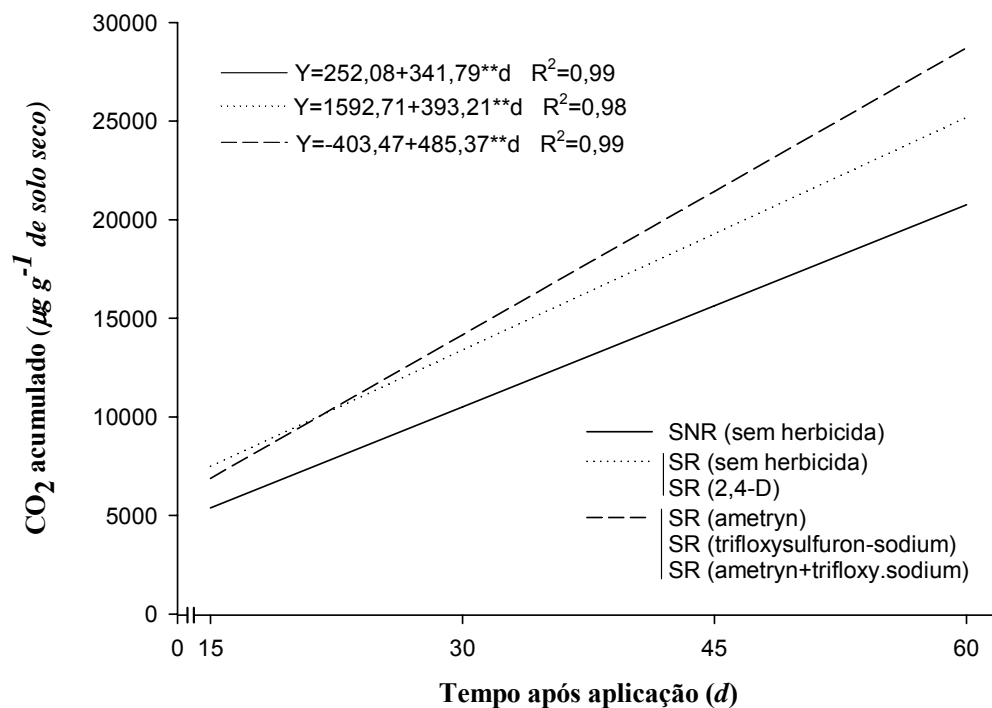


**Figura 1** – Taxas respiratórias ( $\beta_1$ ), após 28 dias de incubação, das amostras de solo rizosférico (SR) de cana-de-açúcar aos 15, 30, 45 e 60 dias da aplicação dos herbicidas 2,4-D, ametryn, trifloxysulfuron-sodium e ametryn+trifloxysulfuron-sodium e das amostras de SR e solo não-rizosférico (SRN) sem aplicação de herbicidas. Viçosa-MG, 2006.

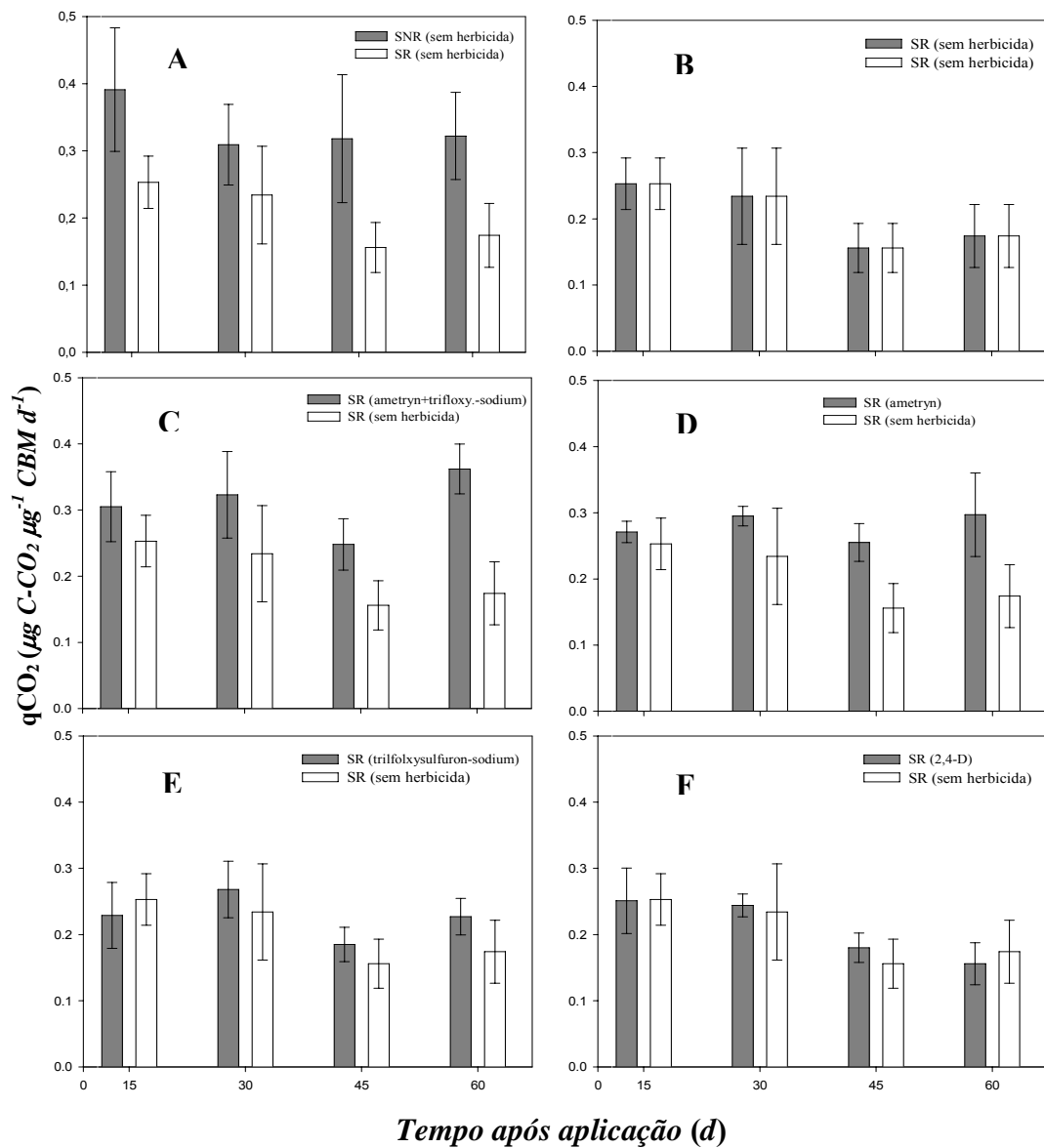
**Tabela 2** – Carbono da biomassa microbiana (CBM) e quociente metabólico (qCO<sub>2</sub>) estimados a partir de amostras de solo não-rizosférico sem aplicação de herbicida (SNRSH) e de solos rizosféricos tratados com ametryn (SRA), trifloxysulfuron-sodium (SRT), ametryn + trifloxysulfuron-sodium (SRA+T), 2,4-D (SR2,4-D) e sem herbicida (SRSH), aos 15, 30, 45 e 60 dias após aplicação dos herbicidas (DAA). Viçosa-MG, 2006.

Tratamentos	DAA			
	15	30	45	60
<b>CBM (<math>\mu\text{g CBM g}^{-1}</math> de solo) – CV parcela= 17,41 %</b>				
SNRSH	236,73 (52,7)* c <sup>1/</sup>	239,36 (54,6) c	237,98 (52,7) c	261,57 (56,7) c
SRSH	449,02 (100,0) a	438,14 (100,0) a	451,21 (100,0) a	460,65 (100,0) a
SRA	377,15 (83,9) b	390,33 (89,0) a	389,28 (86,2) a	388,32 (84,2) a
SRT	446,86 (99,5) a	421,73 (96,2) a	442,34 (98,0) a	439,60 (95,4) a
SRA+T	348,90 (77,7) b	335,67 (76,6) b	329,84 (73,1) b	347,50 (75,4) b
SR2,4-D	415,90 (92,6) a	430,45 (98,2) a	472,01 (104,6) a	469,45 (101,9) a
<b>qCO<sub>2</sub> (<math>\mu\text{g C-CO}_2 \mu\text{g}^{-1} \text{CBM d}^{-1}</math>) – CV parcela = 29,58 %</b>				
SNRSH	0,391 (154,5) a	0,309 (132,0) a	0,318 (203,8) a	0,322 (185,0) a
SRSH	0,253 (100,0) b	0,234 (100,0) a	0,156 (100,0) b	0,174 (100,0) b
SRA	0,271 (107,1) b	0,295 (126,0) a	0,255 (163,4) a	0,297 (170,6) a
SRT	0,229 (90,5) b	0,268 (114,5) a	0,185 (118,5) b	0,227 (130,4) b
SRA+T	0,305 (120,5) b	0,323 (138,0) a	0,248 (158,9) a	0,362 (208,0) a
SR2,4-D	0,251 (99,2) b	0,244 (104,2) a	0,180 (115,3) b	0,156 (89,6) b

\* Valores entre parênteses se referem a porcentagem em relação ao SRSH adotado como referência (100%); <sup>1/</sup> Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo critério Scott-Knott (P < 0,05).



**Figura 2** – Acúmulo de C-CO<sub>2</sub> evoluído nas amostras de solo rizosférico (SR) de cana-de-açúcar após período de 60 dias da aplicação dos herbicidas 2,4-D, ametryn, trifloxysulfuron-sodium e ametryn + trifloxysulfuron-sodium e nas amostras de SR e solo não-rizosférico (SRN) sem aplicação de herbicidas. \*\* Significativo (P<0,01). Viçosa-MG, 2006.



**Figura 3** – Valores de  $qCO_2$  de amostras de solo não rizosférico (SNR) (A) e solo rizosférico (SR) (B) sem aplicação de herbicidas e de amostras de SR tratados com ametryn (C), trifloxysulfuron-sodium (D), ametryn + trifloxysulfuron-sodium (E) e 2,4-D (F) comparados com os valores de  $qCO_2$  de SR no período de 60 dias após aplicação dos herbicidas. Viçosa-MG, 2006

## **5. DINÂMICA DE NUTRIENTES EM TECIDOS FOLIARES DE CANA-DE-AÇÚCAR APÓS APLICAÇÃO DE HERBICIDAS**

### **5.1. RESUMO**

Avaliaram-se, neste trabalho, os efeitos dos herbicidas ametryn, 2,4-D, trifloxysulfuron-sodium e da mistura ametryn+trifloxysulfuron-sodium na nutrição mineral e no crescimento da cana-de-açúcar. Para isso, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado no esquema de parcelas subdivididas, com quatro repetições. Os efeitos dos herbicidas foram avaliados nas parcelas, e o efeito do tempo, expresso em dias após aplicação dos herbicidas (DAA), considerando as diversas amostragens nas subparcelas. Os herbicidas foram aplicados em pós-emergência, quando as plantas de cana-de-açúcar apresentavam-se com três a quatro folhas. As características avaliadas foram: a altura e biomassa seca da parte aérea, o número de folhas, o número de perfilhos e as concentrações de macro e micronutrientes nos tecidos foliares das plantas. As concentrações de N, P e Mg nos tecidos foliares não foram afetadas pelo uso dos herbicidas independentemente da época de avaliação (15, 30, 45 e 60 DAA). Todavia, quando se avaliou o efeito dos herbicidas ao longo do tempo, constatou-se acréscimo da taxa de acúmulo (coeficiente  $\beta_0$ ) dos nutrientes catiônicos Ca, Mg e K em plantas tratadas com ametryn+trifloxysulfuron-sodium. Quando o 2,4-D foi aplicado, verificou-se redução na taxa de acúmulo de S e alteração na dinâmica dos nutrientes Mg, Ca e K,

comparado aos demais tratamentos. Os herbicidas provocaram redução na concentração de Fe nessa cultura aos 15 DAA, na seguinte ordem: ametryn+trifloxysulfuron-sodium > ametryn > trifloxysulfuron-sodium > 2,4-D. Em relação às plantas de cana-de-açúcar não-tratadas com herbicida (testemunha), o herbicida trifloxysulfuron-sodium provocou acréscimo de 22,10% no acúmulo de massa seca da sua parte aérea aos 60 DAA. O número de perfilhos foi uma vez superior em plantas tratadas com trifloxysulfuron-sodium em relação às tratadas com ametryn, evidenciando efeito negativo do ametryn nessa característica. Evidenciou-se neste trabalho que a aplicação de herbicidas afeta a concentração dos nutrientes e o crescimento das plantas de cana-de-açúcar.

**Palavras-chave:** 2,4-D, ametryn, trifloxysulfuron-sodium, macronutrientes, micronutrientes.

## 5.2. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, gerando mais de 400 milhões de toneladas por ano, com cerca de seis milhões de hectares de área cultivada (Magalhães, 2005). Em áreas produtoras de cana-de-açúcar do Brasil, uma das variedades de cana-de-açúcar mais plantadas é a RB867515, a qual apresenta boa produtividade e tolerância a importantes doenças da cultura (PMGCA, 2005).

A cultura da cana-de-açúcar, como outras culturas, é suscetível à interferência das plantas daninhas. Estima-se que mais de mil espécies de plantas daninhas habitam o agroecossistema da cana-de-açúcar nas distintas regiões produtoras do mundo, competindo com a cultura por água, luz, nutrientes e espaço, causando perdas significativas no rendimento, evidenciadas em diversos trabalhos de pesquisa no País e no exterior (Arévalo & Bertoncini, 1995; Kuva, 2001; Durigan, 2005).

Para manejo dessas plantas que interferem no desenvolvimento da cana-de-açúcar, os herbicidas tornaram-se ferramentas indispensáveis. Isso ocorre porque esses produtos são altamente eficientes e permitem rapidez na operação de controle, tornando possível o cultivo de grandes áreas com pouca dependência de mão-de-obra. Além disso, o custo do controle químico de plantas daninhas na cana-de-açúcar é equivalente ou inferior ao dos outros métodos (Silva & Silva, 2007). Atualmente, no Brasil, encontram-se disponíveis 135 herbicidas (produto comercial) registrados para controle de plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar (ANVISA, 2006).

Dentre esses, destaca-se o 2,4-D, pertencente ao grupo químico dos fenoxiacéticos. Este herbicida é utilizado no controle de dicotiledôneas, apresentando baixos níveis de intoxicação à cultura (Procópio et al., 2003). Outro herbicida também utilizado é o ametryn. Este inibidor do fotossistema II é bem tolerado pela cultura da cana-de-açúcar e controla com eficiência diversas espécies daninhas mono e dicotiledôneas podendo ser aplicado em pré ou em pós-emergência inicial das plantas daninhas (Silva & Silva, 2007).

Dentre os herbicidas desenvolvidos para a cana-de-açúcar, atualmente destaca-se o trifloxysulfuron-sodium, o qual pertence ao grupo químico das sulfoniluréias e inibe a ação da enzima acetolactato sintase (ALS) em plantas suscetíveis (Hudetz, 2000). O trifloxysulfuron-sodium controla com eficiência diversas dicotiledôneas, gramíneas e *Cyperus rotundus*, podendo ser usado em pós-emergência isolado ou em mistura com ametryn – mistura comercial denominada Krismat<sup>®</sup> (Procópio et al., 2003). Em consequência da boa tolerância da cultura a essa mistura e também pelo amplo espectro de ação (Freitas et al., 2004; Durigan, 2005; Durigan, 2006), o uso do Krismat<sup>®</sup> tem-se expandido rapidamente nas áreas cultivadas com cana-de-açúcar em todo o Brasil. Todavia, apesar de a maioria das variedades de cana-de-açúcar, inclusive a variedade RB867515, apresentar boa tolerância ao Krismat, são comuns sintomas de intoxicação da cana-de-açúcar com esses herbicidas (Ferreira et al., 2005).

Considerando que a intoxicação de plantas por herbicidas pode afetar o potencial destas em absorver e utilizar os nutrientes disponíveis na solução do solo, acredita-se que a tolerância de uma cultura a herbicidas, pragas e doenças seja também influenciada pelo seu estado nutricional (Chaboussou, 1999). Essa teoria foi confirmada por Mishra & Kurchania (2001) e Rana (2000), os quais verificaram alterações nas concentrações de macronutrientes em tecidos foliares de arroz e mostarda em consequência de aplicações dos herbicidas butachlor na cultura do arroz e isoproturon e oxadiazon em mostarda. Segundo Peros (1990), altas concentrações de nitrogênio e baixas concentrações de potássio, em relação às concentrações normais da cultura da cana-de-açúcar, favoreceram a ocorrência de ferrugem (*Puccinia melanocephala*). Também Lara (1991) afirma que tanto os macro quanto os micronutrientes podem influenciar a tolerância e resistência da espécie a pragas e doenças.

Neste trabalho, objetivou-se avaliar o efeito dos herbicidas 2,4-D, ametryn, trifloxysulfuron-sodium e da mistura comercial ametryn+trifloxysulfuron-sodium na nutrição mineral e no crescimento de plantas de cana-de-açúcar da variedade RB 867515.

### 5.3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa - UFV, e no Laboratório de Nutrição Mineral/UFV, Viçosa, MG.

O substrato utilizado foi o Latossolo Vermelho-Amarelo, extraído do horizonte B do perfil do solo de área sem histórico de aplicação de agrotóxicos. Para cultivo da cana-de-açúcar utilizaram-se vasos de PVC de coloração preta, preenchidos com 10 L de substrato, com o interior revestido por filme de polietileno. O substrato foi corrigido com calcário dolomítico ( $0,15 \text{ g dm}^{-3}$ ) e adubado com os fertilizantes: sulfato de amônio ( $0,09 \text{ g dm}^{-3}$  de N), superfosfato simples ( $1,8 \text{ g dm}^{-3}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$ ) e cloreto de potássio ( $0,34 \text{ g dm}^{-3}$  de  $\text{K}_2\text{O}$ ). Posteriormente à correção e adubação, o substrato foi analisado física e quimicamente (Tabela 1). O material propagativo de cana-de-açúcar constituiu-se de fragmentos de colmos (tolete contendo uma gema) da variedade RB867515, sendo plantados dois toletes por vaso. Foram também realizadas adubações de cobertura com 100 mL de solução nutritiva contendo: adubo Ouro Verde<sup>®</sup>, N e  $\text{K}_2\text{O}$  nas concentrações de 10, 8 e  $23,2 \text{ g L}^{-1}$ , respectivamente, aos 49 e 64 dias após o plantio.

As unidades experimentais foram representadas pelo sistema solo-cana. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas; nas parcelas avaliaram-se os efeitos dos herbicidas e, nas subparcelas, o efeito do tempo após a aplicação dos herbicidas, com quatro repetições.

Quando as plantas de cana-de-açúcar se encontravam com três a quatro folhas expandidas, as unidades experimentais foram aspergidas com solução dos herbicidas 2,4-D, ametryn, trifloxysulfuron-sodium e ametryn+trifloxysulfuron-sodium com concentrações equivalentes às doses de 1,30; 1,00; 0,0225 e  $1,463+0,0375 \text{ kg ha}^{-1}$ , respectivamente. Na aspersão das soluções herbicidas foi utilizado equipamento de aplicação de alta precisão, pressurizado com  $\text{CO}_2$  e equipado com pontas TT 11002, calibrado previamente para aplicação de  $150 \text{ L ha}^{-1}$  de calda.

Aos 15, 30, 45 e 60 dias após a aplicação (DAA) foram avaliados: a altura das plantas, o número de folhas, o número de perfilhos, a biomassa seca da parte aérea e a concentração dos nutrientes nos tecidos foliares.

Para avaliação do estado nutricional das plantas de cana-de-açúcar foram coletadas amostras das folhas +3 (terceira folha a partir do ápice das plantas), sendo excluída a nervura principal destas, de acordo com metodologia proposta por Malavolta (1997). Após secagem das amostras a 65 °C até atingirem peso constante, procedeu-se à moagem destas em moinho de lâminas do tipo Wiley, equipado com peneira fina (40 mesh), visando maior homogeneização do material. Amostras desse material vegetal moído foram submetidas à digestão nitro-perclórica. Em seguida foram determinadas as concentrações de fósforo (P), pelo método da vitamina C modificado (Braga & De Felipo, 1974); de potássio (K), por fotometria de chama (Sarruge & Haag, 1974); de enxofre (S), por turbidimetria do sulfato (Jackson, 1958); e de cálcio (Ca), magnésio (Mg), ferro (Fe), zinco (Zn), manganês (Mn), cobre (Cu), por espectrofotometria de absorção atômica (AOAC, 1975). A digestão sulfúrica do material vegetal foi realizada, para determinação da concentração de nitrogênio total (N) pelo método Kjeldahl.

Para interpretação dos dados, foi empregada a análise de variância ( $P \leq 0,05$ ); quando as fontes de variação foram significativas, aplicou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparações das médias dos fatores qualitativos. Foi usada a análise de regressão, a 5 % de probabilidade, para os fatores quantitativos, com a escolha dos modelos baseada na significância dos coeficientes de regressão, utilizando-se o teste “t”, no coeficiente de determinação e no fenômeno biológico. Para comparação dos modelos, utilizou-se o método de identidade de modelos proposto por Regazzi (1993).

#### **5.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

As concentrações de macro e micronutrientes observadas nas folhas encontraram-se dentro dos limites da faixa adequada de nutrientes estabelecidos por Malavolta (1997) para cultura de cana-de-açúcar, exceto as concentrações de K e Mn, ambos superiores aos respectivos limites de máximo da faixa.

A concentração de N variou de 18,98 a 27,95 g kg<sup>-1</sup>, porém essa variação não foi devido à aplicação dos herbicidas ( $P < 0,05$ ) (Tabela 2). Victória Filho & De

Camargo (1980) realizaram um trabalho para verificar possíveis efeitos de herbicidas isolados e em mistura sob a dinâmica de nutrientes na cultura de cana-de-açúcar. Esses autores não constataram alteração na concentração de N nas folhas de cana-de-açúcar após a aplicação de herbicidas.

Os herbicidas, exceto o 2,4-D, não influenciaram a concentração de K aos 15 e 30 DAA ( $P < 0,05$ ). O 2,4-D favoreceu o aumento de 35 e 41,8% na concentração de K aos 45 e 60 DAA, respectivamente (Tabela 2).

Quanto aos efeitos dos herbicidas nas concentrações de Ca em plantas de cana-de-açúcar, observaram-se diferenças entre os tratamentos aos 30 DAA ( $P < 0,05$ ) (Tabela 2). Aos 30 DAA, as concentrações de Ca (4,89 e 5,51 g kg<sup>-1</sup>) foram superiores em plantas tratadas com trifloxysulfuron-sodium e 2,4-D, respectivamente.

Ao contrário do observado para o K e Ca, verificou-se que 2,4-D provocou redução na concentração de S (Tabela 2). Aos 15 DAA observou-se redução de 30% na concentração de S em plantas tratadas com 2,4-D, ao passo que o ametryn favoreceu o aumento de 48% na concentração de S (4,15 g kg<sup>-1</sup>).

No período de 60 DAA, verificaram-se variações de 0,93 a 2,08 g kg<sup>-1</sup> na concentração de P e de 13,96 a 25,44 g kg<sup>-1</sup> na concentração de Mg. No entanto, essas variações não decorreram da aplicação dos herbicidas ( $P < 0,05$ ) (Tabela 2). Em trabalhos realizados nas culturas de trigo, milho e amendoim, não foram detectadas alterações nas concentrações foliares dos minerais P e Mg em decorrência da aplicação de herbicidas (Deuber et al., 1978; Sharma, 2001; Jakelaitis et al., 2005).

Em relação à testemunha, aos 15 DAA, os herbicidas provocaram redução nas concentrações de Fe nos tecidos foliares, na seguinte ordem: 2,4-D  $\geq$  trifloxysulfuron-sodium  $\geq$  ametryn  $>$  ametryn+trifloxysulfuron-sodium  $>$  testemunha (Tabela 3). Em folhas de plantas tratadas com ametryn verificou-se redução de 40 e de 8% na concentração de Fe em relação à testemunha aos 15 e 45 DAA, respectivamente.

No que se refere aos efeitos dos tratamentos nas concentrações de Zn, não se observou diferenças ( $P < 0,05$ ) em relação à testemunha (Tabela 3). Com exceção dos 60 DAA, as concentrações de Mn não foram influenciadas pelo tratamento das plantas com herbicidas. O trifloxysulfuron-sodium proporcionou maiores acúmulos de Mn, sendo observado acréscimo de 42% na concentração deste, em relação à testemunha.

Nos tecidos foliares de plantas tratadas com trifloxysulfuron-sodium aos 30 DAA houve redução de 57% na concentração de Cu, enquanto com o 2,4-D constatou-se aumento de 123% na concentração de Cu aos 45 DAA, ambas as comparações em relação à testemunha (Tabela 3).

Analisando o efeito do tempo na dinâmica nutricional observou-se decréscimo nas concentrações dos macronutrientes, exceto na do Ca (Tabela 4 e Figura 1). Esse fato foi verificado por Victória Filho & De Camargo (1980) ao avaliarem os efeitos de herbicidas aplicados em pós-emergência na nutrição mineral da cana-de-açúcar. Segundo Malavolta (1997), as concentrações dos macronutrientes em tecidos foliares, de maneira geral, reduzem com a idade da planta, enquanto a concentração de Ca aumenta na cultura da cana-de-açúcar. Essas reduções podem ser explicadas pelo efeito diluição, isto é, as concentrações dos nutrientes são diluídas com o crescimento da planta (Jarrell & Beverly, 1981; Mishra & Kurchania, 2001).

Pelo método de identidade de modelos, não houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) dos coeficientes de regressão ( $\beta_1$ ) entre modelos ajustados para a concentração de P no período de avaliação, sendo estes agrupados em um único modelo comum (Tabela 4 e Figura 1A, B). De modo similar, as concentrações de N não foram alteradas ao longo do período de avaliação.

A dinâmica das concentrações dos macronutrientes catiônicos (K, Ca e Mg) apresentou comportamento diferenciado (modelo quadrático) diferente em plantas tratadas com 2,4-D no período de 15 a 60 DAA em relação à testemunha (Tabela 4 e Figura 1D, E, F). A mistura ametryn+trifloxysulfuron-sodium propiciou maiores taxas de acúmulo ( $\beta_1$ ) de K, Ca e Mg.

Para o S, observou-se menor coeficiente de regressão ( $\beta_1$ ), indicando menor taxa de acúmulo deste em plantas tratadas com 2,4-D (Figura 1C).

Os tratamentos herbicidas não influenciaram as concentrações de Cu dos 15 aos 60 DAA em relação ao tratamento sem aplicação de herbicida, sendo representados por uma única equação comum (Figura 2A). No entanto, nesse mesmo período, os modelos ajustados para Fe foram diferentes em plantas tratadas com ametryn, trifloxysulfuron-sodium e 2,4-D (Tabela 5 e Figura 2B).

Todos os herbicidas avaliados, com exceção da mistura ametryn+trifloxysulfuron-sodium, interferiram nas concentrações de Zn no período avaliado (Figura 1C). De modo similar, sem a exceção da mistura

ametryn+trifloxysulfuron-sodium, as concentrações de Mn foram alteradas por todos os herbicidas estudados (Figura 1D).

Na Tabela 6, verificou-se incrementos de 18,10 e 12,57% na altura de plantas tratadas com ametryn aos 15 e 60 DAA, respectivamente. Constatação semelhante foi observada na altura de plantas tratadas com ametryn+trifloxysulfuron-sodium aos 45 DAA (11,33%). Sugere-se que a presença do ametryn influencia o crescimento de plantas de cana-de-açúcar. De acordo com Victória Filho & De Camargo (1980), há evidências de que herbicidas pertencentes ao grupo das triazinas estimulam o crescimento de plantas de cana-de-açúcar. Verificou-se redução na altura de plantas tratadas com 2,4-D aos 30 e 45 DAA (Tabela 6). No tratamento trifloxysulfuron-sodium, constatou-se aumento da massa seca das plantas aos 60 DAA de 22,10%, em relação às plantas sem aplicação de herbicida (Tabela 6). Essa maior produção de MS pode ser atribuída ao maior número de folhas observado em plantas tratadas com ametryn+trifloxysulfuron-sodium aos 30 DAA. Nos demais tratamentos não houve diferença ( $P < 0,05$ ) em relação à testemunha quanto a MS produzida. O número de perfilhos de plantas não foi influenciado pelos herbicidas em relação à testemunha no período de avaliação (Tabela 6).

De maneira geral, as concentrações de macronutrientes nas plantas não foram influenciadas pela aplicação de ametryn e trifloxysulfuron-sodium aplicados isoladamente ou em mistura e houve pouca influência pela aplicação do 2,4-D em relação à testemunha, nas respectivas épocas de avaliação. No entanto, a dinâmica dos nutrientes catiônicos K, Ca e Mg, ao longo do tempo da avaliação, foram influenciados com a aplicação do 2,4-D e também pela mistura ametryn+trifloxysulfuron-sodium. As concentrações de micronutrientes dos tecidos foliares foram pouco influenciadas pelos herbicidas, com exceção do micronutriente Fe aos 15 DAA. O tratamento 2,4-D apresentou maiores diferenças na dinâmica dos micronutrientes no período de avaliação, exceto na do Fe. Os mecanismos de absorção de macro e micronutrientes ainda são pouco esclarecidos (Buchanan, 2000) e o comportamento dos herbicidas na planta bastante complexos e pouco elucidados, impossibilitando inferências sobre a influência dos herbicidas na absorção diferenciada dos nutrientes pelas plantas.

## 5.5. LITERATURA CITADA

ANVISA – **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Disponível em: <<http://www4.anvisa.gov.br/agrosia/asp/default.asp>>. Acesso em: 01/07/2006.

AOAC- Association of official analytical chemists. **Official methods of analysis**. 12 ed. Washington, D. C., 1975, 1094 p.

ARÉVALO, R.A.; BERTONCINI, E.I. Efeito e manejo de *Cyperus rotundus* (tiririca) na agricultura brasileira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 20, 1995, Florianópolis. **Resumo de Palestra...** Florianópolis: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, p. 45-66, 1995.

BRAGA, J.M.; DE FELIPO, B.V. Determinação espectrofotométrica de fósforo em extratos de solos e plantas. **Revista Ceres**, v. 21, n. 113, p. 73-85, 1974.

BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. **Biochemistry and biology molecular of plants**. ASPP, Rockville, Maryland, USA, 2000. 1408 p.

CHABOUSSOU, F. **Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos: a teoria da trofobiose**. 2º ed. Porto Alegre: L &PM, 1999. 272p.

COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS – CFSEMG. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais – 5ª aproximação**. Viçosa-MG: UFV, 1999. 359 p.

DEUBERT, R.; SAVY F, A.; BATAGLIA, O.C. Efeito de herbicidas no desenvolvimento e na concentração de nutrientes em amendoim (*Arachis hypogaea* L.). **Planta Daninha**, v. 1, n. 1, p. 19-24, 1978.

DURIGAN, J.C.; TIMOSSI, P.C.; CORREIA, N.M. Densidades e manejo químico da tiririca na produtividade de cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v. 23, n. 3, p. 463-469, 2005.

DURIGAN, J.C.; TIMOSSI, P.C.; CORREIA, N.M. Manejo integrado da tiririca na produtividade de cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v. 24, n. 1, p. 77-81, 2006.

FERREIRA, E.A., SANTOS, J.B., SILVA, A.A. *et al.* Sensibilidade da cana-de-açúcar à mistura trifloxysulfuron-sodium + ametryn. **Planta Daninha**, v. 23, n. 1, p. 93-99, 2005.

FREITAS, S.P., OLIVEIRA, A.R., FREITAS, S.J. *et al.* Chemical control of *Rottboellia exaltata* in sugarcane. **Planta Daninha**, v. 22, n. 3, p. 461-466, 2004.

HUDETZ, M.; W. FOERY, J. W.; SOARES, J. E. CGA 362622, a new low rate Novartis post-emergent herbicide for cotton and sugarcane. **Proceedings. Southern. Weed Science. Society.**, v. 53, p. 163-166, 2000.

JACKSON, M.L. **Soil chemical analysis**. New Jersey, Prentice Hall, Inc., 1958. 498 p.

JAKELAITIS, A., SILVA, A.F., SILVA, A.A. *et al.* Influência de herbicidas e sistemas de semeadura de *Brachiaria Brizantha* consorciada com milho. **Planta Daninha**, v. 23, n. 1, p. 59-67, 2005.

JARRELL, W.M.; BEVERLY, R.B. The dilution effect in plant nutrition studies. **Advances Agronomy**, v. 34, p. 197-224, 1981.

KUVA, M.A. *et al.* Períodos de interferência das plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar. ii – capim-braquiária (*brachiaria decumbens*). **Planta Daninha**, v. 19, n. 3, p. 323-330, 2001.

LARA, F. M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. São Paulo: Ícone, 1991. 336p.

MAGALHÃES, P.G. In: BARBIERI, J. 30 anos do Proálcool no centro do debate. **Jornal da Unicamp**. ed. 309, p. 11, 2005.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C. & OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do Estado Nutricional das Plantas**. 2ª ed. Potafos, Piracicaba, SP. 1997, 319p.

MISHRA, J.S; KURCHANIA, S.P. Nutrient content in mustard and associated weeds as influenced by nitrogen levels, planting geometry and weed control methods. **Indian Journal Plant Physiology**, v. 6, n. 4, p. 386-389, 2001.

PEROS, J.P. Relationships between the mineral contents of sugarcane leaf laminae and *Puccinia melanocephala* infection. **Agronomie Tropical**, v. 45, n. 3, p. 205-212, 1990.

PMGCA - **Programa de melhoramento genético de cana-de-açúcar**. Disponível em: <<http://www.ufv.br/dft/cana/cana.htm>> Acesso em: 10/11/2005.

PROCÓPIO, S.O. *et al.* **Manejo de plantas daninhas na cultura da cana de açúcar**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, p. 150, 2003.

RANA, S.S; ANGIRAS, N.N.; SHARMA, G.D. Effect of herbicides and interculture on nutrient uptake by puddle seeded rice and associated weeds. **Indian Journal Weed Science**, v. 32, n. 1, p. 70-73, 2000.

REGAZZI, A.J. Teste para verificar a igualdade de modelos de regressão e a igualdade de alguns parâmetros num modelo polinomial ortogonal. **Revista Ceres**, v. 40, n. 228, p. 176-195, 1993.

SHARMA, R.; PAHUJA, S.S. Effect of weed control measures on nutrient uptake by crop and weeds in wheat (*Triticum aestivum* L.) **Indian Journal Weed Science**, v. 33, n. 3, p. 174-176, 2001.

SILVA, A.A.; SILVA, J.F. (Editores). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG. Ed. UFV, 2007. 367p.

VICTÓRIA FILHO, R.; DE CAMARGO, P.N. Efeitos de herbicidas nos concentrações de macronutrientes e nas características tecnológicas da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). I-Misturas de herbicidas em pós-emergência. **Planta Daninha**, v. 3, n. 2, p. 96-107, 1980.

**Tabela 1** – Características físico-químicas do solo Latossolo Vermelho-Amarelo utilizado no experimento, após correção e adubação. Viçosa-MG, 2006

<b>Análise granulométrica (dag kg<sup>-1</sup>)</b>										
Argila	Silte	Areia fina	Areia grossa	Classe textural						
36	5	10	49	Argilo-Arenosa						
<b>Análise Química</b>										
pH	P	K <sup>+</sup>	H+Al	Al <sup>3+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	T	V	m	MO
H <sub>2</sub> O	mg dm <sup>-3</sup>		cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>					%		dag kg <sup>-1</sup>
5,6	29,5	116,0	5,28	0,0	6,20	0,80	12,58	58,0	0	2,18

**Tabela 2** - Concentrações de macronutrientes foliares de cana-de-açúcar sem aplicação de herbicida (TFSH) e com aplicação de ametryn + trifloxysulfuron-sodium (TFA+T), ametryn (TFRA), trifloxysulfuron-sodium (TFT), 2,4-D (TF2,4D), aos 15, 30, 45 e 60 dias após aplicação dos herbicidas (DAA). Viçosa-MG, 2006.

Tratamentos	Concentrações de macronutrientes (g kg <sup>-1</sup> )					
	N	K	Ca	S	P	Mg
15 DAA						
TFSH	26,23 ab <sup>1/</sup>	21,66 a	3,17 a	5,97 a	2,08 a	21,66 a
TFA+T	27,95 a	23,54 a	2,16 a	5,57 a	1,94 a	23,55 a
TFA	24,33 b	22,44 a	2,74 a	5,45 ab	1,76 a	22,45 a
TFT	25,36 ab	22,44 a	3,04 a	6,49 a	1,87 a	22,45 a
TF2,4-D	24,33 b	21,19 a	3,21 a	4,15 b	1,86 a	21,19 a
30 DAA						
TFSH	22,95 a	22,29 a	3,17 c	3,06 b	1,47 a	22,29 a
TFA+T	23,29 a	21,50 a	3,47 bc	3,03 b	1,60 a	21,51 a
TFA	23,81 a	20,87 a	3,89 bc	4,54 a	1,51 a	20,88 a
TFT	24,15 a	18,83 a	4,89 ab	3,03 b	1,40 a	18,84 a
TF2,4-D	22,86 a	21,03 a	5,51 a	2,95 b	1,56 a	21,04 a
45 DAA						
TFSH	21,91 a	18,83 b	4,85 ab	2,75 a	1,13 a	18,84 a
TFA+T	21,39 a	21,03 b	4,91 ab	2,75 a	1,26 a	21,04 a
TFA	21,57 a	19,77 b	6,07 a	2,90 a	1,17 a	19,78 a
TFT	20,19 a	21,34 b	4,23 b	2,84 a	1,09 a	21,35 a
TF2,4-D	19,84 a	25,43 a	5,56 ab	2,41 a	1,59 a	25,44 a
60 DAA						
TFSH	18,98 a	14,27 b	5,62 ab	2,56 a	0,93 a	14,28 a
TFA+T	19,50 a	14,59 b	6,19 ab	2,34 a	1,09 a	20,88 a
TFA	20,19 a	16,32 ab	6,32 a	2,97 a	1,09 a	16,32 a
TFT	20,36 a	13,96 b	6,69 a	2,37 a	1,25 a	13,96 a
TF2,4-D	19,67 a	20,24 a	4,78 b	2,38 a	1,08 a	20,25 a
TRAT*DAA	n.s.	**	**	**	n.s.	n.s.
CV(%) parcela	5,39	10,32	12,72	21,26	10,89	21,8
CV(%) subparcela	8,28	10,02	17,360	17,75	11,11	19,66

<sup>1/</sup> Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey (P < 0,05). n.s. - não significativo e \* e \*\* – significativos a P < 0,01 e P < 0,05, respectivamente.

**Tabela 3** - Concentrações dos micronutrientes foliares de cana-de-açúcar sem aplicação de herbicida (TFSH) e com aplicação de ametryn + trifloxysulfuron-sodium (TFA+T), ametryn (TFRA), trifloxysulfuron-sodium (TFT), 2,4-D (TF2,4D), aos 15, 30, 45 e 60 dias após aplicação dos herbicidas (DAA). Viçosa-MG, 2006.

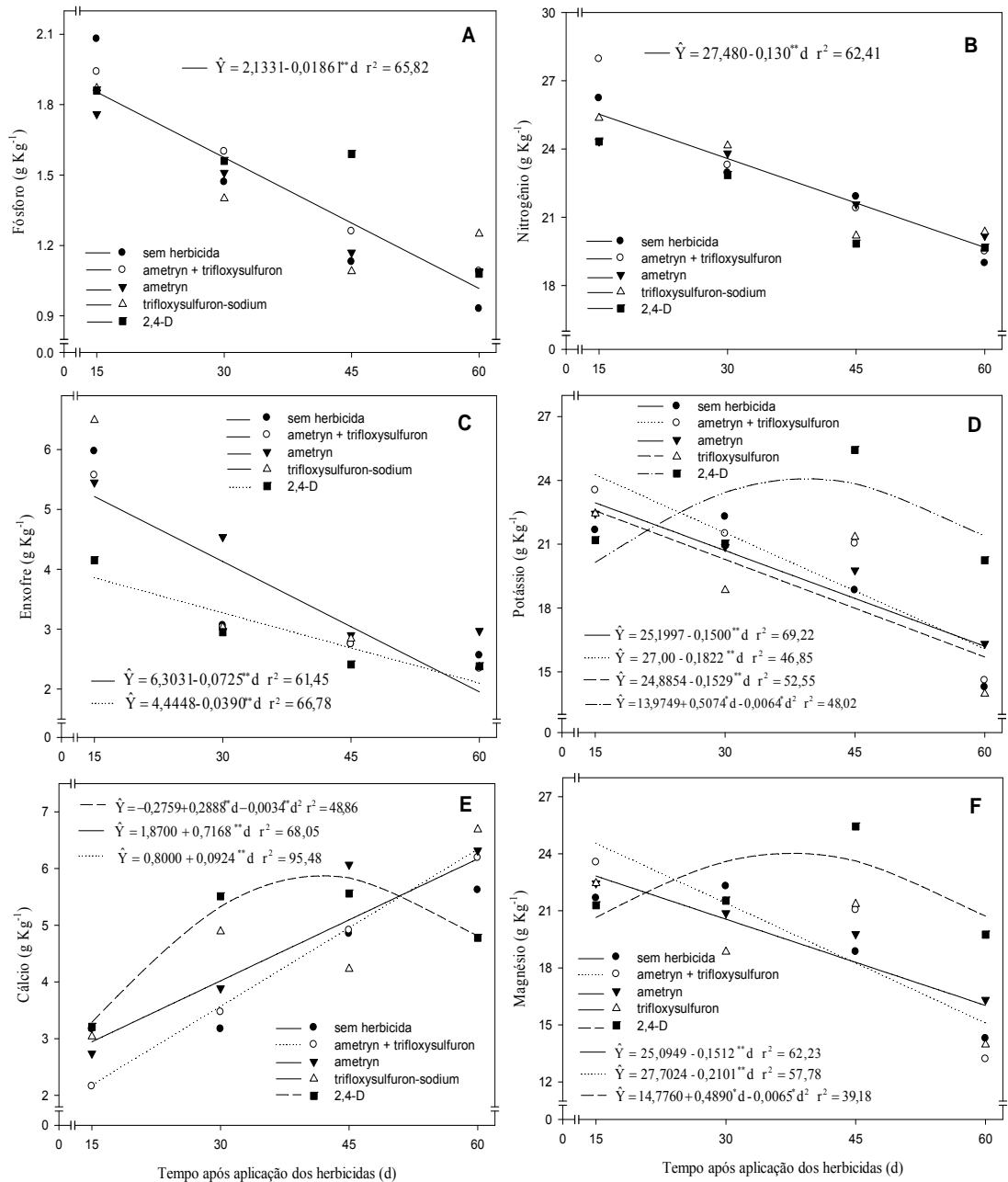
Tratamentos	Concentração de micronutrientes (mg kg <sup>-1</sup> )			
	Fe	Zn	Mn	Cu
<b>15 DAA</b>				
TFSH	163,77 a <sup>1/</sup>	17,36 ab	227,87 a	7,18 a
TFA+T	117,65 b	19,83 a	140,00 a	5,77 a
TFA	98,75 c	16,40 b	198,18 a	6,02 a
TFT	83,63 cd	17,76 ab	233,00 a	5,97 a
TF2,4-D	77,52 d	18,88 ab	220,00 a	5,65 a
<b>30 DAA</b>				
TFSH	73,31 ab	14,50 a	271,68 a	5,31 a
TFA+T	85,85 a	15,37 a	250,87 a	4,63 ab
TFA	64,08 b	15,18 a	338,43 a	3,17 ab
TFT	62,16 b	16,61 a	342,31 a	3,05 b
TF2,4-D	71,61 ab	17,51 a	359,50 a	4,42 ab
<b>45 DAA</b>				
TFSH	68,80 a	14,55 a	354,37 ab	2,33 b
TFA+T	57,43 ab	12,53 a	289,93 b	2,61 b
TFA	52,90 b	13,28 a	418,25 a	2,23 b
TFT	55,02 ab	12,46 a	301,00 b	2,61 b
TF2,4-D	70,11 a	14,71 a	296,37 b	5,21 a
<b>60 DAA</b>				
TFSH	61,48 a	13,56 a	393,87 bc	3,48 a
TFA+T	60,81 a	12,96 a	374,93 bc	3,16 a
TFA	51,58 a	13,35 a	470,87 ab	2,67 a
TFT	55,30 a	14,15 a	533,12 a	2,30 a
TF2,4-D	50,15 a	16,01 a	325,00 c	3,26 a
TRAT*DAA	**	n.s.	n.s.	**
CV parcela (%)	12,21	8,18	15,45	34,45
CV subparcela (%)	9,74	10,61	18,38	32,88

<sup>1/</sup> Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey (P < 0,05). n.s. - não significativo, \* e \*\* - significativos a P < 0,01 e P < 0,05, respectivamente.

**Tabela 4** – Equações ajustadas para a dinâmica dos macronutrientes foliares de cana-de-açúcar sem aplicação de herbicida (TFSH) e com aplicação de ametryn+trifloxysulfuron-sodium (TFA+T), ametryn (TFRA), trifloxysulfuron-sodium (TFT), 2,4-D (TF2,4D), aos 15, 30, 45 e 60 dias após aplicação dos herbicidas (DAA). Viçosa-MG, 2006.

Macronutrientes	Tratamentos	Equações ajustadas	R <sup>2</sup>
Fósforo	TFSH	$\hat{Y}=2,3525-0,0252^{**}x$	0,90
	TFA+T	$\hat{Y}=2,2037-0,0194^{**}x$	0,75
	TFA	$\hat{Y}=1,9762-0,0157^{**}x$	0,82
	TFT	$\hat{Y}=2,0406-0,0180^{**}x$	0,77
	TF2,4-D	$\hat{Y}=2,0862-0,0146^{**}x$	0,34
	$\hat{Y}$ comum	$\hat{Y}_c=2,1331-0,0186^{**}x$	0,65
Nitrogênio	TFSH	$\hat{Y}=28,2148-0,1518^{**}x$	0,76
	TFA+T	$\hat{Y}=29,8542-0,1817^{**}x$	0,71
	TFA	$\hat{Y}=26,1440-0,0977^{**}x$	0,62
	TFT	$\hat{Y}=27,2657-0,1265^{**}x$	0,63
	TF2,4-D	$\hat{Y}=25,9283-0,1133^{**}x$	0,55
	$\hat{Y}$ comum	$\hat{Y}_c=27,4814-0,1342^{**}x$	0,62
Enxofre	TFSH	$\hat{Y}=6,2325-0,0704^{**}x$	0,67
	TFA+T	$\hat{Y}=5,9153-0,0663^{**}x$	0,64
	TFA	$\hat{Y}=6,2428-0,0605^{**}x$	0,59
	TFT	$\hat{Y}=6,8239-0,0836^{**}x$	0,64
	$\hat{Y}$ comum	$\hat{Y}_c=6,3031-0,0725^{**}x$	0,61
	TF2,4-D	$\hat{Y}=4,4448-0,0390^{**}x$	0,67
Potássio	TFSH	$\hat{Y}=25,6711-0,1707^{**}x$	0,69
	TFA	$\hat{Y}=24,7283-0,1299^{**}x$	0,75
	$\hat{Y}$ comum	$\hat{Y}_c=25,1997-0,1500^{**}x$	0,69
	TFA+T	$\hat{Y}=27,0000-0,1822^{**}x$	0,47
	TFT	$\hat{Y}=24,8854-0,1529^{**}x$	0,52
	TF2,4-D	$\hat{Y}=13,9749+0,5074^{*}x-0,0064^{*}x^2$	0,48
Cálcio	TFSH	$\hat{Y}=1,9489+0,0602^{**}x$	0,67
	TFA	$\hat{Y}=1,5287+0,0861^{**}x$	0,73
	TFT	$\hat{Y}=2,1420+0,0686^{**}x$	0,73
	$\hat{Y}$ comum	$\hat{Y}_c=1,8700+0,0716^{**}x$	0,68
	TFA+T	$\hat{Y}=0,0814+0,0924^{**}x$	0,95
	TF2,4-D	$\hat{Y}=-0,2759+0,2888^{*}x-0,0034^{*}x^2$	0,49
Magnésio	TFSH	$\hat{Y}=25,6711-0,1707^{**}x$	0,69
	TFA	$\hat{Y}=24,7283-0,1299^{**}x$	0,75
	TFT	$\hat{Y}=24,8854-0,1529^{**}x$	0,53
	$\hat{Y}$ comum	$\hat{Y}_c=25,0949-0,1512^{**}x$	0,62
	TFA+T	$\hat{Y}=27,7024-0,2101^{**}x$	0,58
	TF2,4-D	$\hat{Y}=14,7760+0,4890^{*}x-0,0065^{*}x^2$	0,39

\* e \*\* - significativos a  $P < 0,01$  e  $P < 0,05$ , respectivamente.

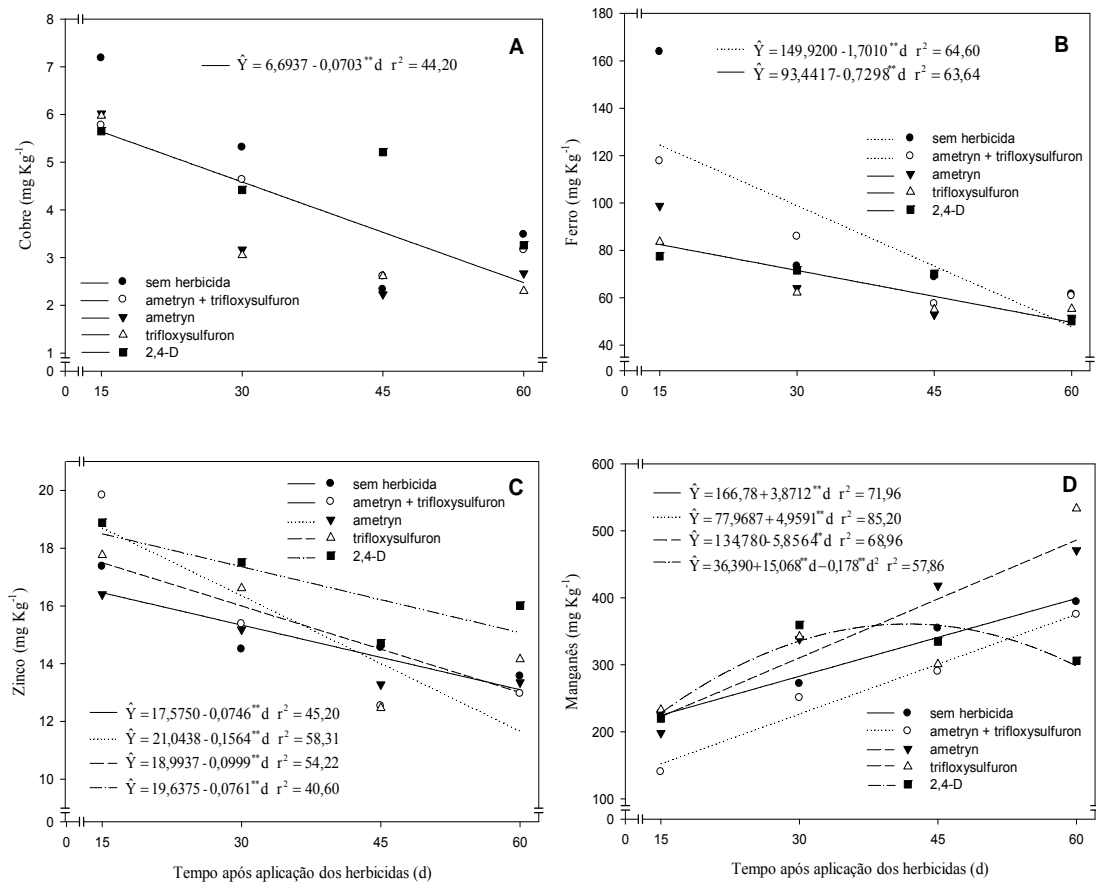


**Figura 1** - Dinâmica de Fósforo (A), Nitrogênio (B), Enxofre (C), Potássio (D), Cálcio (E) e Magnésio (F) nos tecidos foliares de cana-de-açúcar durante 60 dias da aplicação dos herbicidas ametryn+trifloxysulfuron-sodium, ametryn, trifloxysulfuron-sodium e 2,4-D. \* e \*\* Significativos a  $P < 0,01$  e  $P < 0,05$ , respectivamente. Viçosa-MG, 2006.

**Tabela 5** – Equações ajustadas, para a dinâmica dos micronutrientes foliares de cana-de-açúcar sem aplicação de herbicida (TFSH) e com aplicação de ametryn + trifloxysulfuron-sodium (TFA+T), ametryn (TFRA), trifloxysulfuron-sodium (TFT), 2,4-D (TF2,4D), aos 15, 30, 45 e 60 dias após aplicação dos herbicidas (DAA). Viçosa-MG, 2006.

Micronutrientes	Tratamento	Equações ajustadas	R <sup>2</sup>
Cobre	TFSH	$\hat{Y}=8,1000-0,0938^{**}x$	0,44
	TFA+T	$\hat{Y}=6,5125-0,0675^{**}x$	0,65
	TFA	$\hat{Y}=6,2750-0,0732^{**}x$	0,58
	TFT	$\hat{Y}=6,3500-0,0764^{**}x$	0,59
	$\hat{Y}$ comum	$\hat{Y}_c=6,8093-0,0773^{**}x$	0,49
	TF2,4-D	$\hat{Y}=6,2312-0,0525^{**}x$	0,72
Ferro	TFSH	$\hat{Y}=169,688-2,075^{**}x$	0,67
	TFA+T	$\hat{Y}=130,169-1,326^{**}x$	0,78
	$\hat{Y}$ comum	$\hat{Y}_c=149,920-1,7010^{**}x$	0,65
	TFA	$\hat{Y}=105,000-1,017^{**}x$	0,74
	TFT	$\hat{Y}=87,068-0,614^{**}x$	0,71
	TF2,4-D	$\hat{Y}=88,256-0,557^{**}x$	0,55
$\hat{Y}$ comum	$\hat{Y}_c=93,441-0,729^{**}x$	0,64	
Manganês	TFSH	$\hat{Y}=166,781+3,871^{**}x$	0,72
	TFA+T	$\hat{Y}=77,968+4,959^{**}x$	0,85
	TFA	$\hat{Y}=131,969+5,985^{**}x$	0,69
	TFT	$\hat{Y}=137,594+5,727^{**}x$	0,69
	$\hat{Y}$ comum	$\hat{Y}_c=134,780-5,856^{**}x$	0,68
	TF2,4-D	$\hat{Y}=36,390+15,068^{**}x-0,178^{**}x^2$	0,58
Zinco	TFSH	$\hat{Y}=17,8313-0,0756^{**}x$	0,42
	TFA+T	$\hat{Y}=21,0438-0,1564^{**}x$	0,58
	$\hat{Y}$ comum	$\hat{Y}_c=17,5750-0,0746^{**}x$	0,45
	TFA	$\hat{Y}=17,3188-0,0736^{**}x$	0,50
	TFT	$\hat{Y}=18,9937-0,0999^{**}x$	0,54
	TF2,4-D	$\hat{Y}=19,6375-0,0761^{**}x$	0,41

\* e \*\* - significativos a  $P < 0,01$  e  $P < 0,05$ , respectivamente.



**Figura 2** - Dinâmica de Cobre (A), Ferro (B), Zinco (C) e Manganês (D) nos tecidos foliares de cana-de-açúcar, durante 60 dias da aplicação dos herbicidas ametryn+trifloxysulfuron-sodium, ametryn, trifloxysulfuron-sodium e 2,4-D. Viçosa-MG, 2006.

**Tabela 6** – Altura de plantas, massa seca da parte aérea, número de folhas e número de perfilhos de plantas de cana-de-açúcar sem aplicação de herbicida (PSH) e com aplicação de ametryn + trifloxysulfuron-sodium (PA+T), ametryn (PA), trifloxysulfuron-sodium (PTS), 2,4-D (P2,4D), aos 15, 30, 45 e 60 dias após aplicação dos herbicidas (DAA). Viçosa-MG, 2006.

Tratamentos	Dias após aplicação dos herbicidas			
	15	30	45	60
<b>Altura de plantas - CV parcela= 7,49%</b>				
PSH	1,16 bc <sup>1/</sup>	1,60 a	1,65 b	1,75 bc
PA+T	1,10 c	1,59 a	1,87 a	<b>1,82 ab</b>
PA	1,37 a	1,52 a	1,66 b	1,97 a
PTS	1,36 ab	1,43 ab	1,63 b	1,69 bc
P2,4-D	1,18 abc	1,25 b	1,36 c	1,59 c
<b>Massa seca parte aérea - CV parcela= 14,06%</b>				
PSH	9,69 a	19,38 a	24,92 a	36,42 b
PA+T	6,39 a	16,50 a	24,35 a	33,37 b
PA	10,49 a	17,80 a	27,77 a	38,91 ab
PTS	9,07 a	18,29 a	26,95 a	44,47 a
P2,4-D	7,41 a	16,95 a	27,12 a	38,73 ab
<b>Número de folhas - CV parcela= 6,07%</b>				
PSH	7,50 a	8,25 b	10,87 a	11,75 a
PA+T	7,50 a	10,12 a	11,37 a	10,50 ab
PA	7,37 a	8,87 ab	10,50 a	10,87 ab
PTS	7,87 a	9,25 ab	10,62 a	10,25 b
P2,4-D	7,12 a	9,00 ab	10,50 a	10,62 ab
<b>Número de perfilhos - CV parcela=32,31%</b>				
PSH	1,62 a	1,75 a	1,75 a	2,87ab
PA+T	0,5 a	1,37 a	1,37 a	2,00 b
PA	1,62 a	1,25 a	2,25 a	1,75 b
PTS	1,75 a	1,62 a	2,12 a	3,50 a
P2,4-D	0,87 a	1,50 a	2,12 a	2,50 ab

<sup>1/</sup> Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey (P < 0,05).

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando os resultados obtidos neste trabalho, verificou-se que todos os herbicidas estudados provocaram redução na densidade populacional fúngica do solo no período inicial de avaliação. Todavia, para a população de bactérias do solo, apenas o 2,4-D foi tóxico durante todo o período de avaliação. Observaram-se, pelo quociente metabólico, condições estressantes para a microbiota do solo quando este foi tratado com ametryn isolado e em mistura com trifloxysulfuron-sodium, sendo o ametryn mais impactante no que se refere às características microbiológicas avaliadas, em relação aos demais herbicidas estudados. Quanto à atividade dos microrganismos solubilizadores de fosfato inorgânico (MSFI), observou-se que o 2,4-D favoreceu essa atividade até os 30 dias da sua aplicação e que o trifloxysulfuron-sodium estimulou essa atividade em todo o período de avaliação. De maneira geral, as concentrações de macro e micronutrientes nos tecidos foliares das plantas de cana-de-açúcar não foram afetadas pela aplicação dos herbicidas avaliados. Conclui-se que a microbiota do solo rizosférico foi sensível à aplicação dos herbicidas na parte aérea das plantas de cana-de-açúcar, portanto, podendo ser afetada quantitativamente – biomassa microbiana e número de fungos e bactérias – e qualitativamente – atividade dos MSFI. Podendo essa ser utilizada como indicador microbiológico do solo, contribuindo para adoção de práticas agrícolas de menor impacto ao ambiente.