

SIUMAR PEDRO TIRONI

**IMPACTO DE HERBICIDAS NA ATIVIDADE MICROBIANA EM SOLO
CULTIVADO COM CANA-DE-AÇÚCAR**

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
2009

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

T

T597i
2009

Tironi, Siumar Pedro, 1983-

Impacto de herbicidas na atividade microbiana em solo
cultivado com cana-de-açúcar / Siumar Pedro Tironi.

– Viçosa, MG, 2009.

ix, 63f. : il. ; 29cm.

Inclui apêndices.

Orientador: Mácio Henrique Perçira Barbosa.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa

Inclui bibliografia.

1. Herbicidas. 2. Herbicidas - Aspectos ambientais. 3. Solos
- Teor de fósforo. 4. Fosfatase ácida. 5. Microorganismo do
solo. 6. Impacto ambiental. I. Universidade Federal de Viçosa.
II. Título.

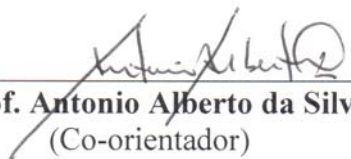
CDD 22.ed. 632.954

SIUMAR PEDRO TIRONI

**IMPACTO DE HERBICIDAS NA ATIVIDADE MICROBIANA EM SOLO
CULTIVADO COM CANA-DE-AÇÚCAR**

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*.

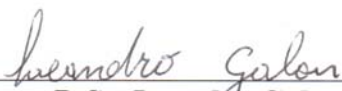
APROVADA: 16 de fevereiro de 2009.




Prof. Antonio Alberto da Silva
(Co-orientador)




Prof. Maurício Dutra Costa
(Co-orientador)



D.Sc. Leandro Galon



Prof. Luiz Alexandre Peternelli



Prof. Marcio Henrique Pereira Barbosa
(Orientador)

*Aos meus pais, Orides e Vilma Terezinha Tironi, e meus
irmãos, Clarice Batistella, Cleonice Signor e Hélivio Tironi,
pelo apoio e incentivo.*

Ofereço e dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus por proporcionar esta oportunidade e por ter me concedido força de vontade para realizar este trabalho.

Aos meus familiares, em especial aos meus pais, Orides Tironi e Vilma Terezinha Tironi, que me educaram para que soubesse atribuir os devidos valores às conquistas.

A Universidade Federal de Viçosa, UFV, representada pelos professores e funcionários que colaboram para a formação pessoal do corpo discente. Principalmente ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, por me conceder a oportunidade de realização desse curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, por fomentar o trabalho e pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Prof. Márcio Henrique Pereira Barbosa, não somente pela excelente orientação, mas pelo incentivo, amizade e confiança.

Ao Prof. Antonio Alberto da Silva, pela co-orientação, amizade, confiança e dedicação, estando sempre presente no desenvolvimento do trabalho.

Ao Prof. Maurício Dutra Costa, pela co-orientação, pela amizade, dedicação e disponibilidade, contribuindo e auxiliando no desenvolvimento deste trabalho.

A todos os amigos e colegas do Laboratório de Herbicida no Solo, pela amizade, pela disponibilidade e pelos aconselhamentos, os quais contribuíram diretamente no desenvolvimento deste trabalho.

Enfim, a todos que, de alguma forma, colaboraram para a realização deste trabalho e para minha formação, expresso meus sinceros agradecimentos.

BIOGRAFIA

SIUMAR PEDRO TIRONI, filho de Orides Tironi e Vilma Terezinha Tironi, nasceu no município de Liberato Salzano, Rio Grande do Sul, em 29 de junho de 1983.

Em Novembro de 2001, formou-se Técnico em Agropecuária pela Escola Agrotécnica Federal de Concórdia, Concórdia - SC.

Em Fevereiro de 2008, graduou-se em Engenharia Agrônômica pela Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS.

Iniciou o curso de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia em março de 2008, na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG, submetendo-se à defesa de dissertação em 16 de fevereiro de 2009.

ÍNDICE

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
LITERATURA CITADA	5
AÇÃO DE HERBICIDAS NA ATIVIDADE DE BACTÉRIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO DA RIZOSFERA DE CANA-DE-AÇÚCAR	9
RESUMO	9
ABSTRACT	10
INTRODUÇÃO	10
MATERIAL E MÉTODOS	12
RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
LITERATURA CITADA.....	16
EFEITO DE HERBICIDAS NA ATIVIDADE MICROBIANA DO SOLO.....	23
RESUMO	23
ABSTRACT	24
INTRODUÇÃO	24
MATERIAL E MÉTODOS	27
RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
LITERATURA CITADA.....	33
IMPACTO DE HERBICIDAS NA BIOMASSA MICROBIANA E NOS MICRORGANISMOS SOLUBILIZADORES DE ORTOFOSFATO DO SOLO RIZOSFÉRICO DE CANA-DE-AÇÚCAR.....	40
RESUMO	40
ABSTRACT	41
INTRODUÇÃO	41
MATERIAL E MÉTODOS	44
RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
LITERATURA CITADA.....	50
APÊNDICES.....	59

RESUMO

TIRONI, Siumar Pedro, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2009.
Impacto de herbicidas na atividade microbiana em solo cultivado com cana-de-açúcar. Orientador: Márcio Henrique Pereira Barbosa. Co-Orientadores: Antonio Alberto da Silva e Maurício Dutra Costa.

Objetivou-se com este trabalho avaliar o impacto de herbicidas na atividade microbiana do solo cultivado com cana-de-açúcar. Para isso foram conduzidos três experimentos. O primeiro foi realizado em laboratório, com dois isolados bacterianos provenientes do solo rizosférico de cana-de-açúcar, Sac 4 e Sac 13, classificados como de alto e baixo potencial de solubilização de fosfato inorgânico, respectivamente. O crescimento e o potencial de solubilização de fosfato desses isolados foram avaliados na presença dos herbicidas trifloxysulfuron-sodium, ametryn e da mistura de trifloxysulfuron-sodium + ametryn. Os isolados bacterianos apresentaram comportamentos diferenciados na presença dos herbicidas. Para o isolado Sac 4, verificou-se redução do crescimento na presença do trifloxysulfuron-sodium + ametryn. No entanto, não se observaram efeitos dos herbicidas no crescimento do isolado bacteriano Sac 13. O potencial de solubilização de fosfato de ambos os isolados não foi alterado na presença dos herbicidas. No segundo experimento, amostras de solo cultivado com cana-de-açúcar foram tratadas com o ametryn, trifloxysulfuron-sodium, e trifloxysulfuron-sodium + ametryn nas doses 0; 1; 2; 4 e 8 vezes a dose referência de 10, 0,112 e 7,315 + 0,185 mg dm⁻³ do ingrediente ativo dos respectivos herbicidas. Após a aplicação dos tratamentos, as amostras de solo foram incubadas por 15 dias, determinando-se a evolução de CO₂ do solo (C-CO₂) em intervalos de três dias. Ao final

do período de incubação, foram avaliados o carbono da biomassa microbiana (CBM), o quociente metabólico (qCO_2), o potencial de solubilização e a solubilização relativa de fosfato. Houve menor evolução de C- CO_2 no tratamento com a maior dose de trifloxysulfuron-sodium, e menor evolução para o ametryn e a mistura, nas maiores doses testadas, comparativamente com a testemunha. O CBM e o qCO_2 foram influenciados negativamente pelos herbicidas ametryn e trifloxysulfuron-sodium + ametryn, com maiores efeitos nas maiores doses. O trifloxysulfuron-sodium pouco influenciou no CBM e causou redução do qCO_2 com o aumento das doses aplicadas. O potencial de solubilização de fosfato apresentou redução com o aumento das doses de do ametryn e da mistura de trifloxysulfuron-sodium + ametryn, em quanto o trifloxysulfuron-sodium estimulou esta variável. O terceiro experimento foi conduzido em campo, sendo os tratamentos constituídos por cultivares de cana-de-açúcar (RB867515 e SP80-1816) e por herbicidas (ametryn, trifloxysulfuron-sodium, trifloxysulfuron-sodium + ametryn e sulfentrazone), além de uma testemunha sem herbicida para cada cultivar. A aplicação dos herbicidas foi realizada em pós-emergência da cultura, quando esta encontrava-se com quatro folhas completamente expandida. Aos 7, 14 e 28 dias após a aplicação dos herbicidas, foi coletado solo rizosférico da cultura e realizadas as avaliações do CBM, potencial de solubilização de fosfato, potencial relativo de solubilização e atividade da enzima fosfomonoesterase ácida. A aplicação do ametryn isolado ou em mistura com trifloxysulfuron-sodium provocou maior redução do CBM do solo. A solubilização potencial e relativa de fosfato diferiram entre os cultivares de cana-de-açúcar, sendo maior na SP 80-1816. Essas foram menores com a aplicação do ametryn e trifloxysulfuron-sodium + ametryn. No entanto, foram estimuladas com a aplicação do trifloxysulfuron-sodium, e não influenciadas pelo sulfentrazone. As enzimas fosfatases não foram influenciadas pelos herbicidas, porém apresentou maior atividade no solo rizosférico da cultivar SP80-1816. Concluiu-se que o ametryn, aplicado isolado ou em mistura ocasionou maior efeito negativo na evolução de C- CO_2 , no CBM, no qCO_2 e na solubilização de fosfato inorgânico. O trifloxysulfuron-sodium promoveu menor influência, ocasionando redução do qCO_2 e aumento na solubilização de fosfato inorgânico.

ABSTRACT

TIRONI, Siumar Pedro, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2009.
Impact of herbicides on the microbial activity of soil cultivated with sugarcane. Adviser: Márcio Henrique Pereira Barbosa. Co-Advisers: Antonio Alberto da Silva and Maurício Dutra Costa.

This work aimed at evaluating the impact of herbicides on the microbiological activity of soil cultivated with sugarcane. A first trial was installed in the laboratory with two bacterial isolates from the rhizosphere soil of sugarcane, Sac 4 and Sac 13, presenting, respectively, high and low potential for phosphate (P) solubilization. The growth and capacity of phosphate solubilization was evaluated under the presence of the herbicides trifloxysulfuron-sodium (Envoke[®]), ametryn (Metrimex 500 SC[®]), and trifloxysulfuron-sodium + ametryn (Krismat[®]). The bacterial isolates showed distinct behaviors in relation to the presence of herbicides in the culture medium. For Sac 4, a reduction in growth was observed in the presence of trifloxysulfuron + ametryn. However, the herbicides did not affect Sac 13 growth. Phosphate solubilization activity for both isolates was not modified in the presence of the herbicides. In a second trial, soil samples from a sugarcane plantation were treated with ametryn, trifloxysulfuron-sodium, and the commercial mixture at doses of 0, 1, 2, 4, and 8 times the dose of 10, 0.111, and 7.315 + 0.185 mg dm³ of the active ingredient, respectively. After herbicide application, the soil samples were incubated for 15 days and CO₂ evolution (C-CO₂) was evaluated every three days. After the incubation period, microbial biomass carbon (MBC), the metabolic quotient (qCO₂), the phosphate solubilization potential, and the relative phosphate solubilization were evaluated. C-CO₂ evolution was higher in the

treatment with the highest dose of trifloxysulfuron-sodium and lower in the treatments with ametryn and trifloxysulfuron + ametryn compared to the control treatment. MBC and the $q\text{CO}_2$ were negatively affected by ametryn and trifloxysulfuron-sodium + ametryn. Trifloxysulfuron-sodium did not affect significantly MBC and led to decreases in $q\text{CO}_2$ that were dose-dependent. A third trial was installed under field conditions with treatments composed by two sugarcane varieties, RB867515 and SP80-1816, and the herbicides ametryn, trifloxysulfuron-sodium, trifloxysulfuron-sodium + ametryn, and sulfentrazone (Boral 500 SC[®]). A control treatment with no herbicide application was also included. Herbicide application was done in post-emergence of the sugarcane. The rhizosphere soil was collected at 7, 14, and 28 days after herbicide application (DHA), and MBC, phosphate solubilization potential, relative phosphate solubilization potential, and the activity of phosphomonoesterase were determined. The application of metryn or trifloxysulfuron-sodium + ametryn led to decreases in MBC. The phosphate solubilization potential and relative phosphate solubilization differed for each sugarcane variety tested, with higher values for SP80-1816. These variables were reduced in the presence of ametryn and trifloxysulfuron-sodium + ametryn and stimulated trifloxysulfuron-sodium. Sulfentrazone did not affect phosphate solubilization. Phosphomonoesterase activity was influenced by the herbicides tested and showed higher activity in the rhizosphere of SP80-1816. The herbicide ametryn, applied singly or in combination with trifloxysulfuron-sodium, caused significant effects on the soil microorganisms. Trifloxysulfuron-sodium was shown to be less toxic and, in some cases, promoted beneficial effect for the soil microbiota.

INTRODUÇÃO GERAL

No Brasil, a cana-de-açúcar é considerada a melhor alternativa para a produção de etanol do ponto de vista econômico, energético e ambiental (Andreoli & Souza, 2006). Todavia, para suprir a demanda deste combustível, há necessidade de se aumentar e tecnificar toda a cadeia produtiva ligado ao setor sucroalcooleiro, melhorando a estrutura das usinas, a eficiência de produção e a produtividade e aumentando a área plantada com a cana-de-açúcar (Colombo, 2006).

A produtividade média nacional da cana-de-açúcar está muito aquém do potencial produtivo da cultura. Isso pode ser atribuído a alguns fatores limitantes, dentre eles destaca-se a interferência ocasionada pelas plantas daninhas. Estas, quando não controladas, podem causar perdas de produtividade de, aproximadamente, 40% (Kuva et al., 2003). Além disso, essas plantas quando não controladas, reduzem a qualidade do produto colhido e também a longevidade do canavial (Kuva et al., 2003; Negrisoni et al., 2004).

O método de controle de plantas daninhas mais utilizado nos canaviais é o químico, em razão da praticidade, da alta eficiência e do baixo custo, em comparação aos demais métodos de controle (Christoffoleti et al., 2006). Segundo a SINDAG (2008), na safra de 2007, utilizaram-se 77 mil toneladas de herbicidas para o manejo de plantas daninhas na cana-de-açúcar. Acredita-se que o uso desses produtos, possa causar efeitos diretos e indiretos no crescimento, no desenvolvimento e na produtividade das plantas cultivadas (Das et al., 2003; Rizzardi et al., 2003), sendo estes efeitos dependente da interação entre os herbicidas e o ambiente.

O período crítico de controle de plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar varia de 50 a 130 dias após a brotação das gemas (Kuva et al., 2003 e 2008). Logo, torna-se necessário a utilização de herbicidas de longo efeito residual no solo, para manter a cultura livre da infestação das plantas daninhas. Segundo Procópio et al. (2003), a maioria dos herbicidas utilizados nesta cultura apresenta esta característica, destacando-se o ametryn, o trifloxysulfuron-sodium, a mistura comercial destes (Krismat[®]), o sulfentrazone, entre outros (Rodrigues & Almeida, 2005). O ametryn e o trifloxysulfuron-sodium apresentam alta mobilidade no perfil do solo, principalmente, naqueles arenosos e com baixo teor de matéria orgânica, enquanto o sulfentrazone apresenta baixo potencial de lixiviação (Vivian et al., 2006 e 2007).

Existem poucos relatos sobre o impacto de herbicidas no ambiente. A maioria dos trabalhos focalizam apenas a eficiência dos herbicidas no controle das plantas daninhas (Pires et al., 2005) e a seletividade destes aos genótipos de cana-de-açúcar (Galon, 2008). No entanto, os herbicidas podem influenciar negativamente a microbiota do solo ou causar intoxicação nas culturas semeadas em sucessão à cana-de-açúcar.

Segundo Bunemann (2006), os herbicidas pouco afetam os organismos do solo. No entanto, há trabalhos demonstrando efeitos desses produtos na atividade microbiana do solo, com impactos positivos (Santos et al., 2007; Reis et al., 2008a), negativos (Jakelaitis et al., 2006; Reis et al., 2008b) e nulos (Jakelaitis, 2007; Pereira et al., 2008). Esses efeitos são influenciados pelos herbicidas e suas formulações (Santos et al., 2004; 2007) e pelas características físico-químicas do solo (Mahía et al., 2008). Acredita-se, também, que existam interações entre os herbicidas e as cultivares sobre a atividade dos microrganismos do solo (Souchie & Abboud, 2007).

São vários os indicadores da qualidade do solo, porém a maioria das características químicas e físicas são pouco afetadas pelas perturbações do manejo empregado em curto espaço de tempo, sendo os indicadores bioquímicos e microbiológicos os mais responsivos a estas perturbações (Chaer & Tótola, 2007). Dentre os indicadores do impacto de produtos xenobióticos aos microrganismos de solo, os mais comuns são: a evolução de CO₂ do solo (C-CO₂), o carbono da biomassa microbiana (CBM), o quociente metabólico (qCO₂) (Brookes, 1995; Leita et al., 1995), além do potencial de solubilização de fosfato e da atividade das enzimas fosfatases (Chaer & Tótola, 2007).

A biomassa microbiana é a fração viva da matéria orgânica do solo, sendo responsável pelos processos bioquímicos e biológicos que aí ocorrem (Moreira & Siqueira, 2006). É encontrada em maior concentração no solo rizosférico, em função do

maior aporte de carbono orgânico facilmente assimilável, exsudado pelo sistema radicular das plantas (Nautyal, 1999). O qCO_2 é a relação do C- CO_2 e o CBM (Sylvia et al., 2005), representando a respiração por unidade de biomassa. O qCO_2 tem como princípio avaliar o estado de estresse da biomassa microbiana, partido do princípio que o ambiente quando em equilíbrio não há excessiva atividade microbiana, somente atividade de manutenção, sendo assim maiores valores de qCO_2 são atribuídos a existência de condições estressantes aos microrganismos do solo, e os menores, à maior eficiência da microbiota na incorporação de carbono na biomassa (Sakamoto & Obo, 1994).

Na cana-de-açúcar, Reis et al. (2008b) observaram efeitos negativos no C- CO_2 e no CBM do solo rizosférico após a aplicação do ametryn isolado ou em mistura formulada com trifloxysulfuron-sodium, em ambiente protegido. Também, Reis et al. (2008a) observaram alteração no padrão populacional de fungos e bactérias da rizosfera da cana-de-açúcar após a aplicação dos mesmos herbicidas. O sulfentrazone aplicado em lavoura de cana-de-açúcar apresentou efeitos negativos na evolução de C- CO_2 e CBM do solo (Vivian et al., 2006).

A aplicação da mistura comercial dos herbicidas fluazifop-*p*-butil + fomesafen na cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris*), em sistema de cultivo convencional e plantio direto, causou maior redução na biomassa microbiana do solo em comparação aos herbicidas aplicados isoladamente (Santos et al., 2005), evidenciando efeito sinérgico entre os mesmos.

Os microrganismos solubilizadores de fosfato inorgânico (MSFI) e as enzimas fosfatases são indicadores ligados ao ciclo do fósforo (P) no solo, promovendo a disponibilização deste nutriente, por meio dos processos de solubilização e mineralização, respectivamente. Os MSFI apresentam elevada importância para a produção agrícola, atuando na disponibilização de P complexados, principalmente em solos tropicais, que apresentam grande quantidade de óxidos de ferro (Fe) e alumínio (Al) (Novais & Smyth, 1999).

A enzima fosfatase atua na mineralização de P constituinte da fração orgânica do solo, fonte de P que tem elevada importância em solos com baixa disponibilidade do nutriente na forma mineral (Rheinheimer et al., 2008), podendo suprir 80% da exigência desse nutriente em solos intemperizados (Tiessen et al., 1984). A atividade enzimática é influenciada por vários fatores, inclusive por cultivares de uma mesma espécie, como observado na cultura do arroz por Machado et al. (2006). Alguns estudos demonstraram que não há interferência de herbicidas na atividade das enzimas fosfatases (Machado et al., 2006; Kucharski & Wyszowska, 2008).

Como as demais características microbianas, a diversidade e a população dos MSFI são consideravelmente superiores no solo rizosférico (Nahas, 1994; Nautiyal, 1999), estes que apresentaram maior potencial solubilização de P em solo rizosférico de cana-de-açúcar, comparativamente ao solo não rizosférico (Reis et al., 2008a), em função da maior disponibilidade de carbono de cadeia simples liberado pelas raízes das plantas.

Os MSFI são influenciados pelo uso de herbicidas. Reis et al., (2008a) observaram estímulo do potencial de solubilização de fosfato inorgânico no solo rizosférico da cana-de-açúcar após a aplicação de trifloxysulfuron-sodium. Entretanto, a maioria dos trabalhos demonstra efeitos negativos dos herbicidas na dinâmica populacional e na atividade dos MSFI (Das & Mukherjee, 1998; López et al., 2002; Das et al., 2003).

Desse modo, ao optar pelo método de controle químico das plantas daninhas em cana-de-açúcar, deve-se conhecer, além da eficiência de controle das espécies infestantes e da seletividade à cultura, os efeitos que estes herbicidas podem vir a causar aos microrganismos do solo. Particularmente aos microrganismos associados às plantas, que apresentam relação benéfica a cultura, e aliados a outros fatores são responsáveis pelo crescimento e desenvolvimento da mesma.

Objetivou-se com o trabalho avaliar os efeitos de herbicidas utilizados na cultura da cana-de-açúcar sobre os microrganismos do solo, na microbiota associada à rizosfera da cana-de-açúcar e nos isolados bacterianos solubilizadores de fosfato inorgânico associados a cultura.

LITERATURA CITADA

ANDREOLI, C.; SOUZA, P. S. Cana-de-açúcar; a melhor alternativa para conversão de energia solar e fóssil em etanol. **Economia & Energia**, v.59, n.1, p. 26-33, 2006.

BROOKES, P.C. The use of microbial parameters in monitoring soil. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy-metals. **Biol. Fert. Soils**, v.19, n.4, p.269-279, 1995.

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

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

CHAER, M.C.; TÓTOLA, M.R. Impacto do manejo de resíduos orgânicos durante a reforma de plantios de eucalipto sobre indicadores de qualidade do solo. **R. Bras. Ci. Solo**, v.31, n.6, p.1381-1396, 2007.

CHRISTOFFOLETI, P.J. et al. Carfentrazone-ethyl aplicado em pós-emergência para o controle de *Ipomoea* spp. e *Commelina benghalensis* na cultura da cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v.24, n.1, p.83-90, 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, n.2, p.217-221, 2003.

DAS, A. C.; MUKHERJEE, D. Inseticidal effects on soil microorganisms and their biochemical processes related to soil fertility. **World J. Microbiol. Biotechnol.**, v.14, n.6, p.903-909, 1998.

GALON, L. **Tolerância de genótipos de cana-de-açúcar a herbicidas**. 2008. 88f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2008.

JAKELAITIS, A. et al. Atividade microbiana e produção de milho (*Zea mays*) e de *Brachiaria brizantha* sob diferentes métodos de controle de plantas daninhas. **Planta Daninha**, v.25, n.1, p.71-78, 2007.

KUCHARSKI, J.; WYSZKOWSKA, J. Biological properties of soil contaminated with the herbicide Apyros 75 WG. **J. Elementology**, v.13, n.3, p.357-371, 2008.

KUVA, M.A. et al. Padrões de infestação de comunidades de plantas daninhas no agroecossistema de cana-crua. **Planta Daninha**, v.26, n.3, p.549-557, 2008.

KUVA, M.A. et al. Período de interferência de plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar. III – capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) e capim-colonião (*Panicum maximum*). **Planta Daninha**, v.21, n.1, p.37-44, 2003.

LEITA, L. et al. Bioavailability and effects of heavy-metals on soil microbial biomass survival during laboratory incubation. **Biol. Fert. Soils**, v.19, n.2, p.103-108, 1995.

LÓPEZ, L. et al. Studies on the effects of the insecticide aldrin on aquatic microbial populations. **Int. Biodeter. Biodegrad.**, v.50, n.1, p.83-87, 2002.

MACHADO, R.F. et al. Reflexos do mecanismo de ação de herbicidas na qualidade fisiológica de sementes e na atividade enzimática em plântulas de arroz. **Rev. Bras. Sementes**, v.28, n.3, p.151-160, 2006.

MAHÍA, J; et al. Microbial biomass and C mineralization in agricultural soils as affected by atrazine addition. **Biol Fert Soil**. v.45, n.1, p.99-105, 2008.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2º Ed. Editora UFLA: Lavras-MG, 2006. 729p.

NAHAS, E.; CENTURION, J.F.; ASSIS, L.C. Microrganismos solubilizadores de fosfato e produtores de fosfatases de vários solos. **R. Bras. Ci. Solo**, v.18, n.1, p.43-48, 1994.

NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiology Letters**, v.170, n.1, p.265-270, 1999.

NEGRISOLI, E. et al. Seletividade de herbicidas aplicados em pré-emergência na cultura da cana-de-açúcar tratada com nematicidas. **Planta Daninha**, v.22, n.4, p.567-575, 2004.

NOVAIS, R.F.; SMYTH, T.J. (Editores). **Fósforo em solo e planta em condições tropicais**. Viçosa, UFV, 1999. 268p.

PEREIRA, J.L et al. Effects of glyphosate and endosulfan on soil microorganisms in soybean crop. **Planta Daninha**, v.26, n.4, p.825-830, 2008.

PIRES, F.R.; SOUZA, C.M.; CECON, P.R.; et al. Rhizospheric activity of potentially phytoreme-diative species for tebuthiuron-contaminated soil. **R. Bras. Ci. Solo**, v.29, n.4, p.627-634, 2005.

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

REIS, M.R. et al. Ação de Herbicidas sobre microrganismos solubilizadores de fosfato inorgânico em solo rizosférico de cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v.26, n.2, p.333-341, 2008a.

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

RHEINHEIMER, D.S.; GATIBONI, L.C.; KAMINSKI, J. Fatores que afetam a disponibilidade do fósforo e o manejo da adubação fosfatada em solos sob sistema plantio direto. **Ciência Rural**, v.38, n.4, p.576-586, 2008.

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.

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 CO₂ evolution and total soil microbial biomass. **Biol. Fert. Soils**, v.17, n.1, p.39-44, 1994.

SANTOS, J.B. et al. Efeitos de diferentes formulações comerciais de glyphosate sobre estirpes de *Bradyrhizobium*. **Planta Daninha**, v.22, n.2, p.293-299, 2004

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.

SANTOS, J.B. Avaliação de formulações de glyphosate sobre soja Roundup Ready. **Planta Daninha**, v.25, n.1, p.165-171, 2007.

SILVA, A.A. et al. Herbicidas: Classificação e mecanismo de ação. In: SILVA, A.A. & SILVA, J.F. (Editores). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG. Ed. UFV, 2007. p.83-148.

SINDAG – **Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola**, 2008. Disponível em: <<http://www.sindag.com.br>>. Acesso em: 20/12/2008.

SOUCHIE, E.L.; ABBOUD, A.C.S. Solubilização de fosfato por microrganismos rizosféricos de genótipos de Guandu cultivados em diferentes classes de solo. **Ciências Agrárias**, v.8, n.1, p.11-18, 2007.

SYLVIA, D.M. et al. **Principles and Applications of Soil Microbiology**. 2 Ed., New Jersey, 2005. 640p.

TIESSEN, H.; STEWART, J.W.B.; COLE, C.V. Pathways of phosphorus transformations in soils of differing pedogenesis. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, v.48, n.6, p.853-858, 1984.

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

VIVIAN, R. et al. Persistência e lixiviação de ametryn e trifloxysulfuron-sodium em solo cultivado com cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v. 25, n.1 p. 111-124, 2007.

AÇÃO DE HERBICIDAS NA ATIVIDADE DE BACTÉRIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO DA RIZOSFERA DE CANA-DE-AÇÚCAR

RESUMO

Objetivou-se com este trabalho avaliar a ação de herbicidas na atividade e no crescimento de isolados bacterianos solubilizadores de fosfato, provenientes da rizosfera de plantas de cana-de-açúcar. Dois isolados bacterianos, Sac 4 e Sac 13, classificados como de alta e de baixa capacidade de solubilização de fosfato inorgânico, respectivamente, foram usados no experimentos. O crescimento e a atividade dos isolados solubilizadores foram avaliados na presença dos herbicidas trifloxysulfuron-sodium, ametryn e trifloxysulfuron-sodium + ametryn, nas doses de 0, $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{4}$, 1 e 2 vezes a dose de referência (0,45, 60, 0,74 + 30 mg L⁻¹, respectivamente). O isolado Sac 4, teve seu crescimento reduzido na presença dos herbicidas ametryn e do trifloxysulfuron-sodium + ametryn, sendo a maior redução na presença da mistura (92,43%). Não se observou efeitos dos herbicidas no crescimento do isolado bacteriano Sac 13. A atividade solubilizadora de fosfato inorgânico de ambos os isolados não foi alterada na presença dos herbicidas, indicado que estes compostos apresentam seletividade a algumas populações de microrganismos do solo.

Palavras-chave: trifloxysulfuron-sodium, ametryn, microrganismos do solo.

ACTION OF HERBICIDES ON THE ACTIVITY OF PHOSPHATE SOLUBILIZING BACTERIA ISOLATED FROM THE RHIZOSPHERE OF SUGARCANE

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effects of herbicides on the phosphate solubilizing activity and growth of bacteria isolated from the sugarcane rhizosphere. Two bacterial isolates, Sac 4 and Sac 13, classified as being of high and low capacity of solubilizing inorganic phosphate, respectively, were used in the experiments. The growth and phosphate solubilizing activity were evaluated in the presence of trifloxysulfuron-sodium, ametryn, and trifloxysulfuron-sodium + ametryn, at 0, $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{4}$, 1, and 2 times the reference dose (0.45, 60, 0.74 + 30 mg L⁻¹, receptivity). For Sac 4, the herbicides ametryn and trifloxysulfuron-sodium + ametryn reduced growth, with the largest reduction observed for trifloxysulfuron-sodium + ametryn, while for Sac 13, no effect of the herbicides was observed. The phosphate solubilizing activity of both bacterial isolates was not affected by the herbicides tested, indicating that the impact of these compounds on the soil microorganisms is selective to certain populations.

Keywords: trifloxysulfuron-sodium, ametryn, soil microorganisms.

INTRODUÇÃO

A disponibilidade de nutrientes é um dos fatores determinantes para o desenvolvimento vegetal, sendo o fósforo (P) considerado o mais crítico (Siqueira et al., 2004). As formas insolúveis de P presentes no solo podem ser divididas em formas orgânicas, que estão ligadas aos complexos de matéria orgânica, e em formas inorgânicas, que podem se encontrar precipitadas com íons Ca²⁺, Fe³⁺ e Al³⁺ ou adsorvidas à superfície de partículas minerais do solo (Moreira & Siqueira, 2006).

A liberação do P insolúvel na forma orgânica geralmente envolve a ação de enzimas denominadas de maneira geral como fosfatases. Quando na forma inorgânica, a liberação do fosfato procede-se por fatores estritamente físico-químicos, e alterações nesses fatores promovem o deslocamento do equilíbrio para um ou outro compartimento (Novais et al., 2007). O deslocamento do equilíbrio no sentido dos produtos solúveis é obtido pelas alterações de fatores como o potencial hidrogeniônico (pH) do solo, onde menores valores de pH favorecem a solubilização do fosfato inorgânico e a quelatação de

cátions por ácidos orgânicos. Desse modo, a maior solubilização de fosfato inorgânico ocorre na rizosfera das plantas, devido à acidificação, em decorrência da liberação de prótons pela planta e de ácidos orgânicos pelos microrganismos, sendo esses denominados de microrganismos solubilizadores de fosfato inorgânico (MSFI) (Rodríguez & Fraga, 1999).

Vários trabalhos têm demonstrado a importância dos MSFI do solo rizosférico das culturas no suprimento de P e, também, na promoção de crescimento de plantas (Freitas et al., 1997; Gyaneshwar et al., 2002; Sundara et al., 2002). A efetividade dos MSFI depende da interação destes com a planta hospedeira e de sua microbiota associada. Vários fatores influenciam a capacidade de solubilização desses microrganismos, como a fonte de carbono e nitrogênio disponíveis (Nautiyal et al., 2000), a espécie cultivada (Grayston et al., 1996), a fonte de fosfato a ser solubilizado (Nahas, 1996; Barroso & Nahas, 2005), entre outros, como a presença de agrotóxicos – inseticidas, fungicidas e herbicidas (Das & Mukherjee, 1998; Debnath, 2002; Das, 2003; Reis et al., 2008a).

A utilização de herbicidas em cultivos comerciais tem grande importância no manejo das plantas daninhas, as quais competem com as culturas por água, luz e nutrientes, ocasionando perdas de produtividade. Além disso, quando não controladas adequadamente em canaviais, as plantas daninhas podem reduzir a qualidade do produto colhido e, também, a longevidade dos mesmos (Negrisoli et al., 2004). Para o manejo das plantas daninhas em lavouras de cana-de-açúcar no Brasil, o uso da mistura comercial dos herbicidas ametryn e trifloxysulfuron-sodium, desde 2001, tem-se expandido em função do amplo espectro de ação e do controle eficiente da tiririca (*Cyperus rotundus*), considerada uma espécie daninha de difícil controle (Reis et al., 2008c). No entanto, o ametryn, o trifloxysulfuron-sodium e a mistura de ambos, podem interferir na atividade microbiana da rizosfera de plantas de cana-de-açúcar, quando cultivadas em casa de vegetação (Reis et al., 2008a). O trifloxysulfuron-sodium apresenta ação sistêmica, sendo translocado por todas as partes da planta (Silva et al., 2007). Ao contrário, o ametryn apresenta somente translocação acrópeta nas plantas, sendo, portanto, pouco provável sua presença nos exsudatos radiculares. No entanto, acredita-se que este herbicida possa atingir a rizosfera pela percolação no solo. De acordo com Law (2001), cerca de 70% do herbicida atinge o solo no momento da sua aplicação. O ametryn e o trifloxysulfuron-sodium apresentam alta mobilidade no perfil do solo, principalmente, em solos arenosos e com baixo teor de matéria orgânica

(Vivian et al., 2007), desse modo, podem atingir com facilidade a rizosfera das plantas cultivadas.

Na literatura foram encontrados poucos relatos de trabalhos realizados para avaliar a toxicidade *in vitro* de herbicidas sobre bactérias solubilizadoras de fosfato inorgânico. De acordo com Alves et al. (1998) os estudos *in vitro* têm a vantagem de expor ao máximo o microrganismo à ação do agrotóxico, fato que não ocorre em condições de campo, onde vários fatores servem de obstáculo a essa exposição. Desse modo, a não toxicidade de um produto ao microrganismo em laboratório, confirma sua a sua seletividade no campo. Todavia, a alta toxicidade de um composto *in vitro* nem sempre indica a sua elevada toxicidade em campo, mas sim a possibilidade da ocorrência de danos dessa natureza. Nóbrega et al. (2004) acrescentam que os testes *in vitro* são rápidos e de custo relativamente baixo.

Objetivou-se, com este trabalho avaliar o efeito dos herbicidas ametryn, trifloxysulfuron-sodium e a mistura comercial desses no crescimento e na atividade de isolados bacterianos solubilizadores de fosfato inorgânico obtidos de solo rizosférico de plantas de cana-de-açúcar.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de solo rizosférico de cinco lavouras de cana-de-açúcar foram coletadas e caracterizadas quimicamente (Tabela 1). Todas as lavouras localizam-se no município de Viçosa-MG e não apresentavam histórico de aplicação de herbicidas.

Para obtenção dos isolados bacterianos solubilizadores de fosfato, foram preparadas diluições seriadas até a 10^{-5} , a partir da suspensão de 10 g de solo rizosférico de plantas de cana-de-açúcar em 90 mL de solução salina (NaCl 0,85%), com três repetições. Aliquotas de 0,1 mL das diluições 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} foram inoculadas na superfície do meio Glicose-Extrato de Levedura (GEL), suplementado com fosfato de cálcio. Após sete dias de incubação a 30 °C, as bactérias solubilizadoras de fosfato inorgânico foram selecionadas pela presença de halos de solubilização em torno da colônia.

Cada isolado foi inoculado e reinoculado na superfície do meio GEL e ambas as inoculações incubadas por sete dias a 30 °C. Posteriormente, foi determinado o índice de solubilização (IS) de fosfato de cálcio, obtido pela razão entre o diâmetro do halo e o diâmetro da colônia, conforme descrito por Kumar & Narula (1999), sendo a capacidade

de solubilização de fosfato classificada em baixa ($IS < 2$), média ($2 < IS < 3$) e alta ($IS > 3$), de acordo com Silva Filho & Vidor (2000).

Vinte isolados bacterianos solubilizadores de fosfato inorgânico foram obtidos da rizosfera de cana-de-açúcar, das lavouras canavieiras do município de Viçosa-MG (Tabela 2). Tais isolados diferiram quanto à capacidade de solubilizar fosfato de cálcio *in vitro*, apresentando índices de solubilização (IS) entre 1,26 e 3,66 (Tabela 2).

Para avaliação de crescimento, foram selecionados dois isolados bacterianos, o Sac 4 e o Sac 13, classificados como de alta e baixa capacidade de solubilização, respectivamente (extremos das amostras coletadas). O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições. Os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial ($3 \times 5 \times 48$) para cada isolado bacteriano, sendo o fator A composto pelos herbicidas Envoke[®] (trifloxysulfuron-sodium - $0,45 \text{ mg L}^{-1}$), Metrimex 500 SC[®] (ametryn - 60 mg L^{-1}) e Krismat[®] (ametryn + trifloxysulfuron-sodium - $30 + 0,74 \text{ mg L}^{-1}$); o fator B pelas doses de 0, $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{4}$, 1 e 2 vezes a de referência (correspondente as doses comerciais recomendadas); e o fator C pelos períodos de avaliação, com intervalo de 1 hora durante 48 horas. O ensaio foi conduzido em placas de Elisa contendo $150 \mu\text{L}$ de meio Caldo Nutriente, suplementado com as doses de herbicidas, onde foram inoculados isolados Sac 4 e Sac 13, previamente cultivadas por 24 h a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ em meio Caldo Nutriente. As placas foram incubadas a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ por 48 h, sendo as taxas de crescimento dos isolados avaliadas em intervalos de uma hora por meio de leituras em espectrofotômetro com filtro de 560 nm. O crescimento relativo dos isolados foram comparados nos tratamentos com os herbicidas na dose de referência, considerando o tratamento com a dose zero como o crescimento padrão (100%). As demais avaliações foram realizadas comparando o crescimento dos isolados bacterianos em cada tratamento com herbicidas e doses ao longo do tempo.

Também foi avaliado o potencial de solubilização de fosfato dos isolados bacterianos, perfazendo um tratamento fatorial (2×4), onde o primeiro fator foi composto pelos isolados bacterianos Sac 4 e Sac 13; e o segundo pelos herbicidas ametryn, ametryn + trifloxysulfuron-sodium e trifloxysulfuron-sodium, na doses de referência, além de um tratamento sem aplicação de herbicidas. Ambos os isolados foram inoculados em erlenmeyers contendo 50 mL de meio NBRIP líquido (Nautiyal, 1999), com adição de fosfato de cálcio ($\text{Ca}_5\text{P}_3\text{HO}_{13}$), em quantidade equivalente a 5 g de P L^{-1} , suplementado com os herbicidas. Os erlenmeyers contendo os tratamentos foram submetidos a agitação (200 rpm) por três dias, a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ (três repetições por tratamento).

A inoculação foi realizada por meio de uma alçada, transferindo-se células previamente cultivadas por 24 h a 30 °C em tubos de Ágar Nutriente inclinado. Após a incubação, determinou-se o potencial hidrogeniônico (pH) do meio e, posteriormente realizou-se a centrifugação por 20 minutos a 8.000 rpm, realizando-se a determinação do fósforo solúvel do sobrenadante pelo método colorimétrico descrito por Braga & De Fellipo (1974).

Os dados foram submetidos à análise de variância (F), em sendo significativos, os fatores qualitativos foram comparados por meio de contrastes ortogonais (Tabela 3) utilizando o software estatístico SAS. Os quantitativos avaliados por regressão, utilizando as médias de cada tratamento, onde a escolhas dos modelos foram baseados na significância estatística (teste F e $R^2 = \text{S.Q. Regressão} / \text{S.Q. Tratamento}$) e na explicação biológica, conforme o modelo utilizado por Massenssini et al. (2008). As regressões foram comparadas pelo teste de identidade de modelos, onde os completos foram comparados com o modelo reduzido (Regazzi & Silva, 2004). Em todos os testes utilizou-se o nível de 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que o isolados bacteriano Sac 13 apresentou maior crescimento relativo, em relação ao Sac 4, em todos os tratamentos (Tabela 4). Observou-se estímulo ao crescimento com os tratamentos para o sac 13 (101,46%) enquanto o Sac 4 foi prejudicado pelos herbicidas.

Comparando os tratamentos com herbicidas com a testemunha, para o isolado Sac 4, não se observaram efeitos dos tratamentos no crescimento bacteriano. Porém entre os herbicidas, observou-se maior crescimento quando tratado com o trifloxysulfuron-sodium. Comparando os tratamentos com ametryn e a mistura de trifloxysulfuron-sodium + ametryn não observou-se diferença (Tabela 4). Reis et al. (2008a), ao avaliarem os efeitos de herbicidas sobre atividade microbiana da rizosfera de plantas de cana-de-açúcar verificaram que o trifloxysulfuron-sodium não foi prejudicial aos microrganismos do solo, ao passo que o ametryn, o 2,4-D e a mistura comercial de trifloxysulfuron-sodium + ametryn influenciaram negativamente a microbiota do solo.

A interferência do ametryn e do trifloxysulfuron-sodium + ametryn aos microrganismos do solo são atribuídos, em parte, não aos ingredientes ativos, mas de outros compostos presentes nas formulações. Alguns autores associam os efeitos dos

herbicidas sobre os microrganismos aos solventes, surfatantes e agentes molhantes presentes nas formulações (Malkones, 2000; Santos et al., 2004).

Na avaliação do crescimento relativo do isolado bacteriano Sac 13, não foram observadas diferenças ao se comparar a testemunha sem herbicida contra os tratamentos com herbicidas (Tabela 4). Também não foram observadas diferenças quando comparados os tratamentos herbicidas entre si (Tabela 4). Desse modo evidencia-se a menor influência dos herbicidas no crescimento do Sac 13. Estes resultados corroboram com os encontrados por Massenssini et al. (2008), os quais verificaram que as formulações de glyphosate reduziram, *in vitro*, o crescimento relativo em 50 e 14% de bactérias de alta e baixa capacidade de solubilização de fosfato inorgânico, respectivamente.

Houve diferença na atividade de solubilização de fosfato inorgânico ao contrastar os dois isolados bacterianos entre si, em todos os tratamentos, onde maiores valores foram observados no Sac 4, comprovando assim o maior potencial de solubilização de fosfato inorgânico desse isolado (Tabela 4).

Para o isolado Sac 4 não foram observadas diferenças entre a testemunha e os tratamentos com herbicidas no potencial de solubilização de fosfato inorgânico (Tabela 4). No entanto, maior valor foi observado no tratamento com trifloxysulfuron-sodium em relação aos demais herbicidas. Não constatou-se distinção na variável estudada ao comparar os tratamentos com ametryn e a mistura sobre o isolado Sac 4 (Tabela 4). Este resultado está de acordo com o encontrado por Reis et al. (2008b) que observaram redução do potencial de solubilização de fosfato inorgânico pela microbiota do solo rizosférico de cana-de-açúcar após a aplicação do ametryn isolado ou em mistura com o trifloxysulfuron-sodium. Madhaiyan et al. (2006) relataram que o atrazine (mesmo grupo químico do ametryn), inibidor do fotossistema II, reduziu pela metade a atividade solubilizadora de fosfato inorgânico da bactéria *Gluconoacetobacter diazotrophicus*.

Para o Sac 13, não foram observadas diferenças quando comparado os tratamentos com aplicação dos herbicidas com a testemunha, e nem entre os tratamentos com herbicidas entre si, para a variável potencial de solubilização de fosfato inorgânico (Tabela 4). Demonstrando assim, menor sensibilidade deste isolado aos herbicidas testados.

De acordo com o teste de identidade de modelos, observou-se que a aplicação dos herbicidas nas diferentes doses afetou a taxa de crescimento dos isolados bacterianos de forma diferenciada, verificado pela não sobreposição das curvas de presença e ausência dos herbicidas (Figura 1 e 2).

Para o isolado bacteriano Sac 4, verificou-se que o crescimento na presença dos herbicidas foi afetado em todas as doses testadas (Figura 1 B e C), com exceção do trifloxysulfuron-sodium (Figura 1A). Apesar de bactérias possuírem a enzima acetolactato sintase (ALS), o trifloxysulfuron-sodium, inibidor dessa enzima, não se mostrou prejudicial. As curvas dos tratamentos com $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{4}$ e 1 vez a dose de ametryn não diferiram entre si, porém, diferentes da curva sem aplicação do herbicida e da curva de dose 2 vez, evidenciando-se que a metade da dose apresenta o mesmo potencial de risco dose de referência, porém, menor que o dobro da dose (figura 1B). O trifloxysulfuron-sodium + ametryn apresentou efeito negativo no crescimento desse isolado em todas as doses testadas (Figura 1C). Na dose de referência todos os herbicidas não afetaram a taxa de crescimento em relação a tratamento sem herbicida (Figura 1D).

Verificou-se que o crescimento do isolado Sac 13 na presença dos herbicidas foi afetado em todas as doses testadas (Figura 2 A, B e C), com exceção das $\frac{3}{4}$ e 1 vez a dose de referência de trifloxysulfuron-sodium, sendo representadas por único modelo (Figura 2 A). O ametryn apresentou maior efeito no crescimento desse isolado, uma vez que o modelo não foi significativo para as doses $\frac{3}{4}$, 1 e 2 vez a dose recomendada (Figura 2 B). Na dose de referência os herbicidas afetaram a taxa de crescimento bacteriano em relação a testemunha, indicando que esse isolado é mais sensível aos herbicidas, em relação ao isolado Sac 4 (Figura 2 D).

Conclui-se que, independentemente do herbicida avaliado, o crescimento relativo e a taxa de crescimento *in vitro* das bactérias provenientes da rizosfera de cana-de-açúcar são afetados de forma diferenciada. No entanto, a atividade solubilizadora de fosfato inorgânico foi pouco influenciada pela presença dos herbicidas. Dentre os herbicidas testados e as características avaliadas, o trifloxysulfuron-sodium demonstra ser pouco tóxico às bactérias solubilizadoras de fosfato inorgânico.

LITERATURA CITADA

ALVES, S.B.; MOINO Jr., A.; ALMEIDA, J.E.M. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. In ALVES, S.B. (Eds.). **Controle microbiano de insetos**. São Paulo, Fealq, 1998. p.217-238

BARROSO, C.B.; NAHAS, E. The status of soil phosphate fractions and the ability of fungi to dissolve hardly soluble phosphates. **Appl. Soil. Ecol.**, v.29, n.1, p.73-83, 2005.

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

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, n.3, p.217–221, 2003.

DAS, A.C.; MURKHERJEE, D. Insecticidal effects on soil microorganisms and their biochemical processes related to soil fertility. **World J. Microbiol. & Biotechnol.**, v.14, n.6, 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, n.5, p.766-770, 2002.

FREITAS J.R.; BANERJEE, M.R.; GERMIDA, J.J. Phosphate solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not uptake of canola (*Brassica napus* L.). **Biol. Fert. Soils**, v.24, n.4, p.358-364, 1997.

GRAYSTON, S.J.; VAUGHAN, D., JONES, D. Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with annual plants: the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. **Appl. Soil. Ecol.**, v.5, n.1, p.29-56, 1996.

GYANESHWAR, P. et al. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. **Plant and Soil**, v.245, n.1 p.83-93, 2002.

KUMAR, V., NARULA, N. Solubilization of inorganic phosphates and growth emergence of wheat as affected by *Azotobacter chroococcum* mutants. **Biol. Fert. Soils**, v.28, n.3, p.301-305, 1999.

LAW, S. E. Agricultural electrostatic spray application: a review of significant research and development during de 20th century. **J. Electrostat.**, v.51, n.1, p.25-42, 2001.

MADHAIYAN, M. et al. Influence of pesticides on the growth rate and plant-growth promoting traits of *Gluconacetobacter diazotrophicus*. **Pestic. Biochem. Phys.**, v.84, n.2, p.143-154, 2006.

MALKONES, H. P. Comparison of the effects of differently formulated herbicides on soil microbial activities a review. **J. Plant Dis. Protect.**, v.8, n.5, p.781-789, 2000.

MASSENSINI, A.M. et al. Atividade de isolados bacterianos solubilizadores de fosfato na presença de formulações comerciais de glyphosate. **Planta Daninha**, v.26, n.4, p.815-823, 2008.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2° Ed. Editora UFLA: Lavras-MG, 2006. 729p.

NAHAS, E. Factors determining rock phosphate solubilization by microorganisms isolated from soil. **World J. Microbiol. & Biotecnol.**, v.12, n.6, p.567-572, 1996.

NAUTIYAL, C.S. et al. Stress induced phosphate solubilization in bacteria isolated from alkaline soils. **FEMS Microbiol. Lett.**, v.182, n.2, p.291-296, 2000.

- NEGRISOLI, E. et al. Seletividade de herbicidas aplicados em pré-emergência na cultura da cana-de-açúcar tratada com nematicidas. **Planta Daninha**, v.22, n.4, p.567-575, 2004.
- NÓBREGA, R.S.A. et al. Tolerância de bactérias diazotróficas simbióticas à salinidade *in vitro*. **Ciênc. agrotec.**, v.28, n.4, p.899-905, 2004.
- NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J.; NUNES, F.N. Fósforo. In: NOVAIS, R.F et al. (Eds.) **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2007. p. 472-550
- REGAZZI, A.J.; SILVA, C.H.O. Teste para verificar a igualdade de parâmetros e a identidade de modelos de regressão não-linear. I dados no delineamento inteiramente casualizado. **Rev. Mat. Estat.**, v.22, n.3, p.33-45, 2004.
- REIS, M.R. et al. Ação de herbicidas sobre microrganismos solubilizadores de fosfato inorgânico em solo rizosférico de cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v.26, n.2, p.333-341, 2008a.
- REIS, M. R. et al. Atividade microbiana em solo cultivado com cana-de-açúcar após aplicação de herbicidas. **Planta Daninha**, v.26, n.2, p.323-331, 2008b.
- REIS, M.R. et al. Dinâmica de nutrientes em tecidos foliares de cana-de-açúcar após aplicação de herbicidas. **Planta Daninha**, v.26, n.1, p.175-184, 2008c.
- RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnol. Adv.**, v.17, n.4, p.319-339, 1999.
- SANTOS, J. B. et al. Efeitos de diferentes formulações comerciais de glyphosate sobre estirpes de *Bradyrhizobium*. **Planta Daninha**, v.22, n.2 p.293-299, 2004.
- SIQUEIRA, J.O.; ANDRADE, A.T.; FAQUIN, V. O papel dos microrganismos na disponibilização e aquisição de fósforo pelas plantas. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S.R.S. (Eds.) **Fósforo na Agricultura Brasileira**. Piracicaba-SP: ESALQ/USP, 2004. p.117-156.
- SILVA, A.A. et al. Herbicidas: Classificação e mecanismo de ação. In: SILVA, A.A. & SILVA, J.F. (Editores). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG. Ed. UFV, 2007. p.83-148.
- SILVA FILHO, G.N; VIDOR, C. Solubilização de fosfatos por microrganismos na presença de fontes de carbono. **R. Bras. Ci. Solo**, v.24, n.2, p.311-319, 2000.
- 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 Res.**, v.70, n.1, p.43-49, 2002.
- VIVIAN, R. et al. Persistência e lixiviação de ametryn e trifloxysulfuron-sodium em solo cultivado com cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v.25, n.1, p.111-124, 2007.

Tabela 1. Características químicas das amostras (0-10 cm) de solo coletadas em lavouras canavieiras do município de Viçosa - MG. Viçosa-MG, 2008

Local ²	Características químicas ¹										
	pH	P	K ⁺	H+Al	Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	T	V	m	MO
	H ₂ O	mg dm ⁻³		cmol _c dm ⁻³				%		dag kg ⁻¹	
01	5,9	3,4	52	3,47	0,0	1,7	1,0	6,3	45	0,0	1,9
02	6,5	10,9	126	1,98	0,0	4,9	1,5	8,7	77	0,0	2,6
03	6,4	9,6	58	1,32	0,0	2	1,2	4,67	72	0,0	1,1
04	5,4	10,4	138,0	5,78	0,1	2,40	0,80	9,33	38,0	3	1,70
05	5,8	2,2	42	4,95	0,0	2,2	1,0	8,26	40	0,0	2,4

¹ Análises realizadas nos Laboratórios de Análises Físicas e Químicas de Solo do Departamento de Solos da UFV; ² Local de coleta: 01) Fazenda Bom Sucesso; 02) Fazenda Hipoteca; 03) Fazenda Morro Grande; 04) Fazenda Recanto de Maria e 05) Viveiro Jurandir; T: Capacidade da troca de cátions (pH 7); V: Saturação de bases; m: Saturação de alumínio; MO: matéria orgânica.

Tabela 2. Isolados bacterianos solubilizadores de fosfato inorgânico, índice de solubilização (IS) e procedência (local de coleta). Viçosa – MG, 2008

Número	Isolado	IS	Local de coleta
01	Sac 8	3,22	Fazenda Bom Sucesso
02	Sac 20	1,26	Fazenda Bom Sucesso
03	Sac 1	2,31	Fazenda Hipoteca
04	Sac 6	2,02	Fazenda Hipoteca
05	Sac 7	3,28	Fazenda Hipoteca
06	Sac 9	1,67	Fazenda Hipoteca
07	Sac 3	2,90	Fazenda Morro Grande
08	Sac 5	3,17	Fazenda Morro Grande
09	Sac 11	2,44	Fazenda Morro Grande
10	Sac 17	2,37	Fazenda Morro Grande
11	Sac 13	1,44	Fazenda Recanto de Maria
12	Sac 2	3,23	Viveiro Jurandir
13	Sac 4	3,66	Viveiro Jurandir
14	Sac 10	1,32	Viveiro Jurandir
15	Sac 12	2,57	Viveiro Jurandir
16	Sac 14	3,00	Viveiro Jurandir
17	Sac 15	1,33	Viveiro Jurandir
18	Sac 16	3,42	Viveiro Jurandir
19	Sac 18	3,23	Viveiro Jurandir
20	Sac 19	3,00	Viveiro Jurandir

Tabela 3. Estimativa dos contrastes ortogonais de crescimento relativo (%) e potencial de solubilização de fosfato inorgânico dos isolados bacterianos, tratados com a dose de referência dos herbicidas

Tratamento	Contraste ortogonal						
	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇
1. Sac 4 Testemunha	+	+					
2. Sac 4 HA ¹	+	-	+				
3. Sac 4 HB ²	+	-	-	+			
4. Sac 4 HC ²	+	-	-	-			
5. Sac 13 Testemunha	-				+		
6. Sac 13 HA ¹	-				-	+	
7. Sac 13 HB ²	-				-	-	+
8. Sac 13 HC ²	-				-	-	-

¹ HA: trifloxysulfuron-sodium, marca comercial Envoke[®]; ²HB: ametryn, marca comercial Metrimex 500 SC[®]; ³HC: trifloxysulfuron-sodium + ametryn, marca comercial Krismat[®].

Tabela 4. Crescimento relativo e fósforo liberado pelos isolados bacterianos da rizosfera de cana-de-açúcar cultivados em meio líquido NBRIP, suplementado com os herbicidas trifloxysulfuron-sodium, ametryn e trifloxysulfuron-sodium + ametryn, na dose de referência, por 48 h a 30 °C e por 3 dias a 30 °C, respectivamente. Viçosa, 2008

Variável avaliada	Contrastes ortogonais ¹						
	C ₁ (1 a 4) x (5 a 8) ¹	C ₂ (1) x (3 a 4)	C ₃ (2) x (3 + 4)	C ₄ (3) x (4)	C ₅ (5) x (6 a 8)	C ₆ (6) x (7 + 8)	C ₇ (7) x (8)
Crescimento (%)	98,00*	100	103,50*	96,09	100,00	101,09	102,32
	101,46	97,33	94,25	92,40	101,95	102,28	102,45
							18887,4
P liberado (µg L ⁻¹)	29459,62*	29523,33	30231,85*	28947,40	19189,99	18851,85	0
	18981,29	29438,39	29041,66	29135,92	18911,72	18941,66	2

* Contrastes significativos a 5% de probabilidade. ¹ Tratamentos: 1 e 5 - sem aplicação de herbicidas, 2 e 6 - trifloxysulfuron-sodium, 3 e 7 - ametryn, 4 e 8 - trifloxysulfuron-sodium + ametryn, avaliados respectivamente sobre os isolados bacterianos Sac 4 e Sac 13.

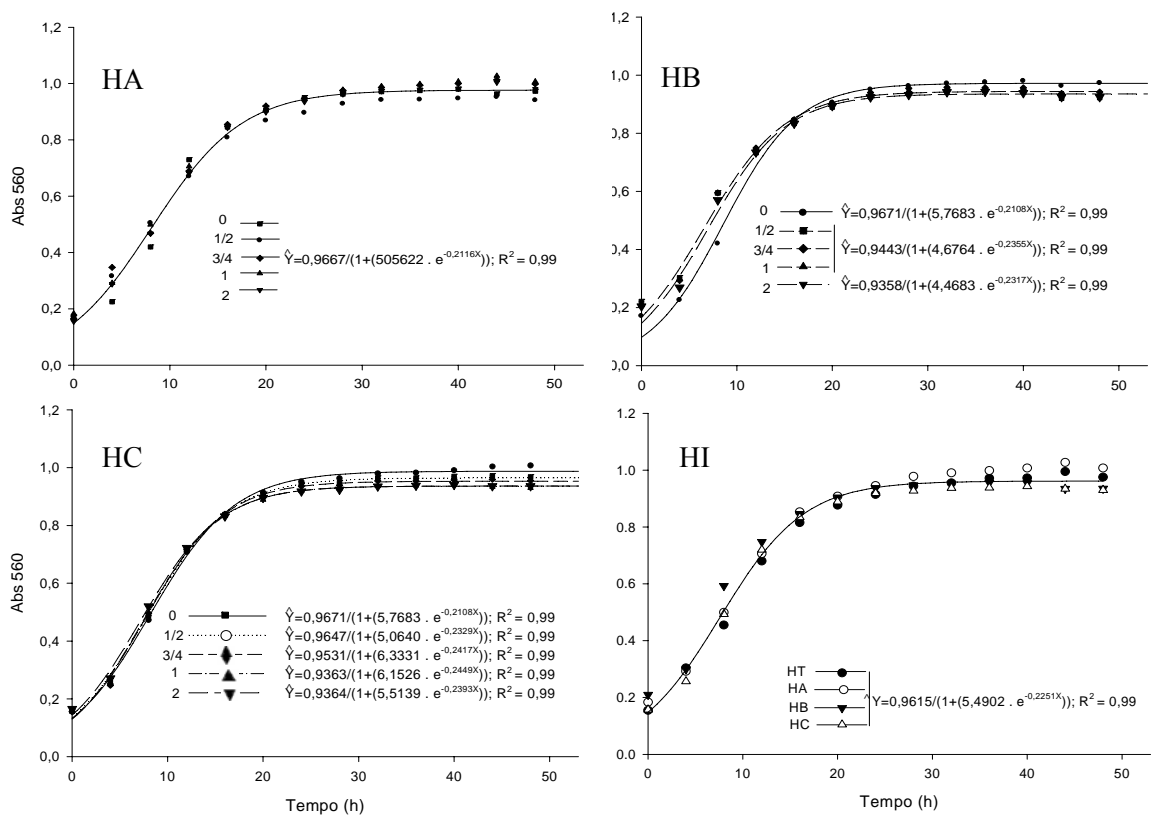


Figura 01. Curvas de crescimento do isolado bacteriano (Sac 4) da rizosfera de cana-de-açúcar, cultivado em meio caldo nutriente por 48 h a 30 °C, na presença dos herbicidas trifloxysulfuron-sodium (HA), ametryn (HB) trifloxysulfuron-sodium + ametryn (HC), nas doses de 0, 1/2, 3/4, 1 e 2 vezes a dose de referência, e de todas as formulações na dose de referência (HI). Viçosa, 2008.

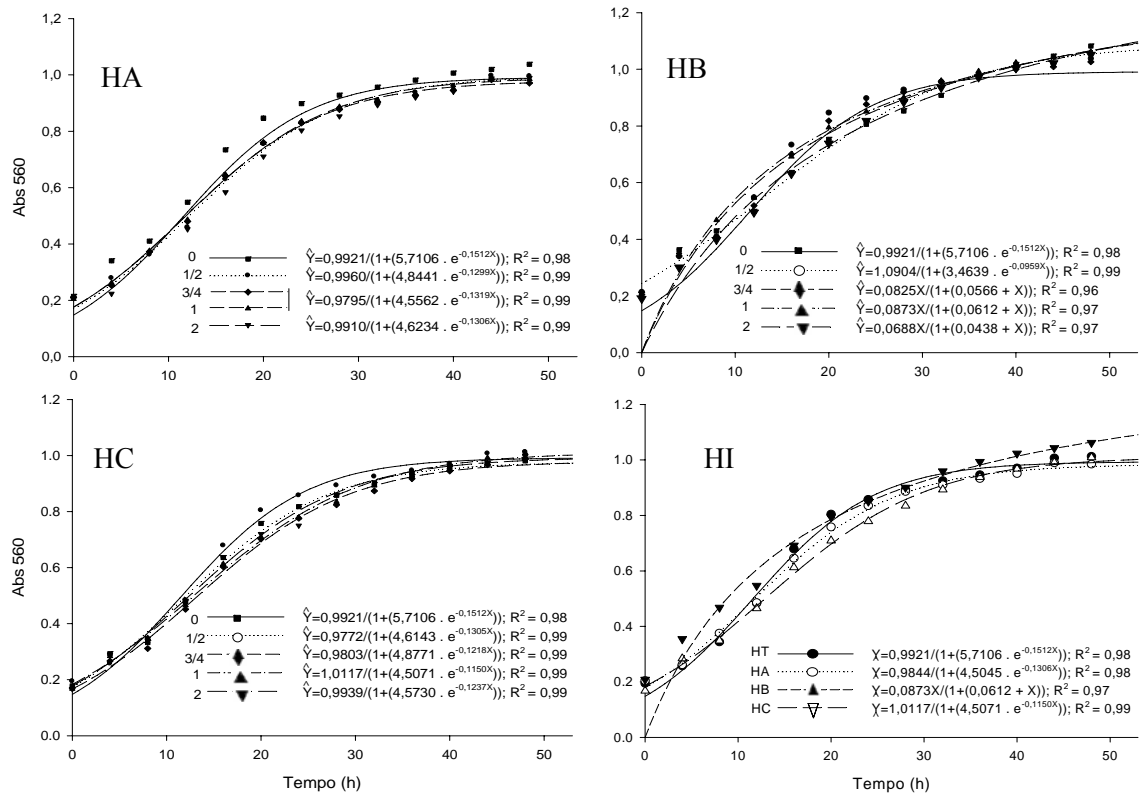


Figura 02 - Curvas de crescimento do isolado bacteriano (Sac 13) da rizosfera de cana-de-açúcar, cultivado em meio caldo nutriente por 48 h a 30 °C, na presença dos herbicidas trifloxysulfuron-sodium (HA), ametryn (HB) e trifloxysulfuron-sodium + ametryn (HC), nas doses de 0, 1/2, 3/4, 1 e 2 vezes a dose de referência, e de todas as formulações na dose de referência (HI). Viçosa, 2008.

EFEITO DE HERBICIDAS NA ATIVIDADE MICROBIANA DO SOLO

RESUMO

Objetivou-se com o trabalho avaliar os efeitos de herbicidas e doses na atividade microbiana e no potencial de solubilização de fosfato inorgânico de solo cultivado com cana-de-açúcar. Os tratamentos foram constituídos pelos herbicidas ametryn, trifloxysulfuron-sodium e a mistura (ametryn + trifloxysulfuron-sodium) aplicados nas doses 0, 1, 2, 4 e 8 vezes a dose referência de 10, 0,112 e 7,315 + 0,185 mg dm⁻³ do ingrediente ativo dos respectivos herbicidas. Após aplicação dos tratamentos as amostras de solo foram incubadas por 15 dias, realizando-se as avaliações da evolução de CO₂ do solo (C-CO₂) em intervalos de três dias. Ao final do período de incubação foram realizadas análises do carbono da biomassa microbiana (CBM), quociente metabólico (qCO₂), potencial de solubilização e solubilização relativa de fosfato inorgânico do solo. A evolução de C-CO₂ foi influenciada com as maiores doses dos herbicidas, sendo reduzida com aplicação do trifloxysulfuron-sodium (10,31%) e elevada com os demais herbicidas, com maiores efeitos logo após a aplicação. O CBM e o qCO₂ foram influenciados negativamente pelos herbicidas ametryn e trifloxysulfuron-sodium + ametryn, com maiores efeitos quanto maior as doses. O trifloxysulfuron-sodium provocou à redução do CBM nas menores doses e incremento do mesmo nas maiores, promovendo a redução do qCO₂. A solubilização potencial de fosfato inorgânico decresceu com a aplicação do ametryn (47,20%) e da mistura (13,55%), sendo estimulada pelo trifloxysulfuron-sodium (25,48%). O potencial de solubilização relativa teve comportamento semelhante.

Palavras-chave: biomassa microbiana, solubilização de fosfato, ametryn, trifloxysulfuron-sodium.

EFFECTS OF HERBICIDES ON THE MICROBIAL ACTIVITY OF THE SOIL

ABSTRACT

This work aimed at evaluating the effects of herbicides applied at increasing doses on the microbial activity and inorganic phosphate solubilization potential of a soil cultivated with sugarcane. The treatments were composed by the herbicides ametryn, trifloxysulfuron-sodium, and ametryn + trifloxysulfuron-sodium at 0, 1, 2, 4, and 8 times the reference doses of 10, 0.112, and 7.315 + 0.185 mg dm³ of the active ingredient, respectively. After herbicide application, soil samples were incubated for 15 days and CO₂ evolution (C-CO₂) was evaluated every three days. At the end of incubation, the microbial biomass carbon (MBC), the metabolic quotient (*q*CO₂), the phosphate solubilization potential, and the relative phosphate solubilization were evaluated for the treatments tested. C-CO₂ evolution was affected by the herbicides and increasing application doses. Trifloxysulfuron-sodium caused a reduction in C-CO₂ evolution of 10.3% in comparison to the control. MBC and *q*CO₂ were negatively affected by the herbicides ametryn and trifloxysulfuron-sodium + ametryn. Trifloxysulfuron-sodium reduced MBC when applied at decreasing doses; the reverse was observed for *q*CO₂. The phosphate solubilization potential was reduced with the application of ametryn (47.20 %) and trifloxysulfuron-sodium + ametryn (13.55 %), while trifloxysulfuron-sodium applied singly stimulated this activity in the soil (25.48 %). Similar behavior was observed for the relative phosphate solubilization.

Keywords: microbial biomass, phosphate solubilization, ametryn, trifloxysulfuron-sodium.

INTRODUÇÃO

No Brasil, a área cultivada com cana-de-açúcar vem se expandindo rapidamente nos últimos anos, com perspectivas de maior crescimento nas próximas safras (IBGE, 2008). A produção da cana-de-açúcar está sendo estimulada principalmente para suprir a crescente demanda de etanol, usado como combustível. Essa cultura é de grande

importância para a economia Brasileira, tendo em vista que é a mais utilizada para a produção de açúcar e álcool (Christoffoleti et al., 2006).

O aumento da demanda de álcool leva à necessidade de se elevar a produtividade da cana-de-açúcar. No entanto, existem alguns fatores limitantes, a exemplo da baixa fertilidade do solo (Reis Jr. & Monnerat, 2002) e da interferência causada pelas plantas daninhas, que podem frustrar os esforços para o aumento da produtividade (Kuva et al., 2003). Entre os nutrientes limitantes para a produtividade da cana-de-açúcar destaca-se o potássio (K), fósforo (P) e enxofre (S) (Reis Jr. & Monnerat, 2002). As plantas daninhas competem com a cultura pelos recursos escassos do meio, inclusive por nutrientes, causando perdas expressivas na produtividade, na qualidade do produto colhido e também na longevidade do canavial (Kuva et al., 2003; Negrisoni et al., 2004).

A dinâmica dos nutrientes no solo é influenciada pela atividade microbiana, que promove a decomposição da matéria orgânica (mineralização) e solubilização de nutrientes contidos na fase sólida do solo, com destaque para o P (Tótola & Chaer, 2002; Bottomley, 2005). Esses microrganismos também desempenham outras funções importantes como a supressão de patógenos, produção de fitormônios, decomposição de compostos xenobióticos, dentre eles, os agrotóxicos (Bottomley, 2005).

A utilização de agrotóxicos, em especial os herbicidas, podem influenciar a dinâmica dos microrganismos do solo (Santos et al., 2005; Jakelaitis et al., 2007; Reis et al., 2008a), podendo apresentar efeitos maléficos, benéficos (Reis et al., 2008b) ou nulos (Pereira et al., 2008). Dentre os indicadores do impacto de produtos xenobióticos sobre os microrganismos de solo, os mais comuns são: a evolução de CO₂ do solo (C-CO₂), o carbono da biomassa microbiana (CBM) e o quociente metabólico (qCO₂) (Brookes, 1995), e o potencial de solubilização de fosfato inorgânico, usado como indicador da dinâmica do P no solo (Leita et al., 1995). A biomassa microbiana do solo é a fração viva da matéria orgânica, responsável por processos bioquímicos e biológicos (Moreira & Siqueira, 2003), encontrada em maior concentração no solo rizosférico, em função do maior aporte de carbono orgânico facilmente assimilável, exsudado pelo sistema radicular das plantas (Nautyal, 1999). O qCO₂ representa a respiração por unidade de biomassa, em que os maiores valores são atribuídas às condições estressantes aos microrganismos, e os menores à maior eficiência desses na incorporação de carbono à biomassa (Sakamoto & Obo, 1994).

Os microrganismos solubilizadores de fosfato inorgânico (MSFI) são considerados indicadores de impactos ao ambiente e importantes para a produção agrícola. Os MSFI têm maior importância em solos tropicais, os quais apresentam

grande quantidade de P complexados com óxidos de ferro (Fe) e alumínio (Al) (Novais & Smyth, 1999). Alguns trabalhos demonstram a importância dos MSFI encontrados no solo rizosférico no suprimento de P e, conseqüentemente, na promoção de crescimento das plantas (Freitas et al., 1997; Gyaneshwar et al., 2002), em conseqüência da interação com as plantas. Todavia, vários fatores influenciam a atividade dos microrganismos do solo, e a solubilização de fosfato inorgânico, tais como a fonte de carbono e nitrogênio disponíveis (Nautiyal et al., 2000), a espécie de planta cultivada (Grayston et al., 1996), a fonte de fosfato (Barroso & Nahas, 2005), e a presença de agrotóxicos (inseticidas, fungicidas e herbicidas) (Das, 2003; Reis et al., 2008a).

O manejo do solo pode interferir na qualidade deste, comprometendo a estabilidade e a sustentabilidade do sistema (Franzluebbers, 2007). Todavia, a maioria das características físico-químicas do solo são pouco alteradas pelo sistema de manejo adotado em curto espaço de tempo. Os indicadores mais responsivos no curto prazo são os critérios bioquímicos e microbiológicos em função da maior sensibilidade às perturbações (Chaer & Tótola, 2007), estes de grande importância ao sistema agrícola. Souza et al. (2008) ao investigarem os indicadores da qualidade do solo em relação a intensidade de pastejo não observaram redução do carbono total do solo, porém denotaram alterações no carbono e no P da biomassa microbiana. Reis et al. (2008a) observaram estímulo de solubilização de fosfato inorgânico do solo rizosférico de cana-de-açúcar cultivada em ambiente protegido, ao aplicaram o trifloxysulfuron-sodium sobre a cultura. Entretanto, Vivian et al. (2006) e Reis et al. (2008b) verificaram que outros herbicidas utilizados na cultura influenciaram negativamente o CBM, o qCO_2 e outros indicadores microbiológicos da qualidade do solo na cana-de-açúcar.

O método de manejo das plantas daninhas mais utilizado em lavouras de cana-de-açúcar é o químico, com o uso de herbicidas (Christofoletti, 2006). Para esta cultura, são utilizados herbicidas de alta persistência no solo, para controlar o estabelecimento das plantas daninhas por longo espaço de tempo, em função do período crítico de controle das plantas daninhas da cultura ser logo, variando de 50 a 130 dias após a emergência (Procópio et al., 2003; Kuva et al., 2003). Dentre os herbicidas utilizados na cultura da cana-de-açúcar destacam-se o ametryn e o trifloxysulfuron-sodium, classificados como muito tóxico e tóxico, para o ambiente (Agrofit, 2008). Estes herbicidas podem ser aplicados isoladamente ou em mistura comercial, aumentando assim o espectro de controle (Syngenta, 2006).

Objetivou-se com o trabalho avaliar o efeito de doses dos herbicidas ametryn, trifloxysulfuron-sodium e trifloxysulfuron-sodium + ametryn sobre a evolução de CO_2

do solo (C-CO₂), carbono da biomassa microbiana (CBM), quociente metabólico (qCO₂) e no potencial de solubilização de fosfato inorgânico de solo cultivado com cana-de-açúcar.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Herbicida no Solo do Departamento de Fitotecnia e no Laboratório de Associações Micorrízicas do Departamento de Microbiologia/BIOAGRO, ambos da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa-MG. Amostras de solo foram coletados em área cultivada com cana-de-açúcar, na Estação Experimental da Horta Nova, pertencente à UFV, no Município de Viçosa-MG. As amostras de solo coletadas foram peneiradas (malha de 2 mm), e armazenadas a 4 °C, por um dia, sendo realizado a análise de equivalente umidade e das características físicas e químicas (Tabela 1). A seguir, amostras de 100 g de solo a 60% da capacidade de campo foram acondicionadas em frascos, realizando-se a aplicação dos tratamentos, seguida da incubação por 15 dias a 22°C (±2). O experimento foi realizado em delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições. Cada frasco correspondeu a uma unidade experimental. Os tratamentos foram constituídos de um esquema fatorial (3 x 5), sendo o fator A constituído pelos herbicidas formulados Metrimex 500 SC[®] (ametryn - 10 mg dm⁻³), Envoke[®] (trifloxysulfuron-sodium - 0,112 mg dm⁻³) e Krismat[®] (ametryn + trifloxysulfuron-sodium - 7,315 + 0,185 mg dm⁻³) e o fator B pelas doses 0, 1, 2, 4 e 8 vezes a dose referência de cada herbicida (proporcional a recomendada).

Para avaliação da taxa respiratória utilizou-se o método respirométrico de avaliação do C-CO₂ evoluído do solo. As amostras foram incubadas durante 15 dias em frascos hermeticamente fechados. O C-CO₂ liberado do solo foi carregado por fluxo contínuo de ar (isento de CO₂) até um tubo contendo 30 mL de solução de NaOH 0,25 mol L⁻¹. Em intervalos de três dias estimou-se o C-CO₂ evoluído a partir da titulação de 10 mL da solução de NaOH com solução de HCl 0,1 mol L⁻¹, preenchendo-se novamente os tubos com 30 mL de solução de NaOH 0,25 mol L⁻¹. Como padrão de comparação, indicando a qualidade do ar, utilizou-se frascos sem solo, chamado de amostra “em branco” em relação às demais.

Após o período de incubação foi determinada a análise do carbono da biomassa microbiana (CMB), seguindo o método descrito por Vance et al. (1987), modificado por Islam & Weil (1998). Foram retiradas duas porções de solo de cada tratamento (18 g),

uma foi submetida a radiação de microondas por tempo previamente calculado (60 s + 60 s) substituindo a fumigação com clorofórmio. Foram adicionados às amostras de solo 80 mL de K_2SO_4 0,5 mol L^{-1} . Em seguida as amostras foram agitadas por 30 minutos em mesa agitadora horizontal, permanecendo em repouso por mais 30 minutos para decantação. Posteriormente a fase superior foi filtrada em filtro de papel Whatman nº 42. Foram adicionados 10 mL do filtrado em tubos digestores, e após adicionados os reagentes: 2 mL de solução $K_2Cr_2O_7$ 0,0667 mol L^{-1} ; e 10 mL de H_2SO_4 concentrado. Após o resfriamento, a solução foi completada para 100 mL com água destilada e adicionado o indicador de difenilamina (seis gotas), procedendo em seguida a titulação com solução 0,333 mol L^{-1} de $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2$ até a mudança de coloração para vermelho-tijolo. O CBM foi estimado pela diferença entre a amostra irradiada da não irradiada. Com a relação entre os valores de C-CO₂ e do CBM determinou-se o quociente metabólico (qCO_2), que representa a quantidade de evolução de CO₂ diário por unidade de biomassa.

Após o período de incubação, determinou-se o potencial de solubilização de fosfato inorgânico pelos microrganismos do solo, em meio líquido. Para isso, transferiu-se 1 g de solo, de cada tratamento, para tubo de ensaio com meio líquido NBRI, pH 6,8-7,0, contendo (g L^{-1}): glicose, 10; $Ca_3(PO_4)_2$, 5; $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,25; KCl, 0,2; e $(NH_4)_2SO_4$, 0,1 (Nautyal, 1999). Após incubação por 15 dias a 30 °C, 1,5 mL da fase líquida foi submetida à centrifugação (8.000 rpm por 20 minutos). Em seguida determinou-se a quantidade de P inorgânico do sobrenadante pelo método colorimétrico da vitamina C modificada, a 725 nm (Braga & Defelipo, 1974).

Os dados foram submetidos à análise de variância e posteriormente realizadas análises de regressão, utilizando as médias de cada tratamento. A escolha dos modelos baseou-se na significância estatística (F) e no coeficiente de determinação ($R^2 = S.Q.Regressão/S.Q.Tratamento$), seguindo os modelos lineares utilizados por Reis et al. (2008a) e os não-lineares por Santos et al. (2005) e Ferreira et al. (2006), os quais explicam os fenômenos biológicos. As equações ajustadas foram comparadas pelo teste de identidade dos modelos, tanto para os modelos lineares (Regazzi, 1993) quanto para os não-lineares (Regazzi & Silva, 2004). Todas as avaliações foram efetuadas a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A evolução diária de C-CO₂ do solo em função das doses de trifloxysulfuron-sodium apresentou maiores valores logo após a sua aplicação, decrescendo ao longo do tempo (Figura 1A). Somente o tratamento com a maior dose do trifloxysulfuron-sodium diferenciou-se dos demais quanto ao C-CO₂, esses representados por uma taxa respiratória comum (Figura 1A). A menor evolução de C-CO₂ pode ser indicativo de maior eficiência no uso dos recursos do solo (Sakamoto & Obo, 1994) desde que se mantenha a mesma biomassa microbiana. Porém, pode também ocorrer em função da redução da população microbiana em função da toxicidade do composto, reduzir a evolução de C-CO₂, o que não é denotado nas menores doses, pela baixa dose aplicada do herbicida. Zabaloy et al. (2008) observaram que o metsulfuron-methyl (inibidor da enzima ALS), aplicado em 10 vezes a dose recomendada não alterou o C-CO₂ do solo.

O trifloxysulfuron-sodium proporcionou menor taxa na evolução acumulada de CO₂ na maior dose testada (oito vezes). Os demais tratamentos com herbicida diferiram da testemunha e não entre si, apresentando logo após a aplicação maiores taxas respiratórias, e menores ao final do período de incubação. Reis et al. (2008a) observaram ao aplicarem o trifloxysulfuron-sodium sobre cana-de-açúcar cultivada em casa de vegetação, que esse produto estimulou a evolução de C-CO₂ do solo rizosférico. Alguns autores atribuem maior evolução de C-CO₂ dos solos tratados com herbicidas por este servir como fonte de carbono e energia aos microrganismos (Costa et al., 1997; Moreno, 2007). No entanto, isso é pouco provável para o trifloxysulfuron-sodium, devido a baixa quantidade utilizada por área.

O ametryn provocou incremento da evolução de C-CO₂ diária do solo somente na maior dose aplicada (Figura 2A), com maiores evoluções de CO₂ logo após a aplicação. O composto pode ter sido tóxico para parte da comunidade microbiana, reduzindo a população ao longo do tempo, conseqüentemente, diminuindo a evolução de C-CO₂ total do solo, resultados semelhantes a estes foram observados por Santos et al. (2005) após a aplicação de doses do herbicida fomazefen em plantas de feijão.

A evolução de C-CO₂ acumulada do solo em função das doses de ametryn foi maior quando utilizou-se duas vezes a dose de referência (10 mg dm⁻³ de solo). A menor taxa de evolução de C-CO₂ foi observada no tratamento sem aplicação de herbicidas. Os demais tratamentos apresentaram respiração intermediária, sendo representados por uma única equação (Figura 2B). Alterações na taxa de evolução de C-CO₂ do solo pode ser atribuída aos efeitos tóxicos do herbicida, como relatado anteriormente. Não foi

observada diferença entre os tratamentos que receberam quatro, oito e uma vez a dose do ametryn. Isso pode ser explicado pela maior taxa respiratória por unidade de biomassa nas maiores doses, porém estas podem ter reduzido a população dos microrganismos.

O ametryn atua na inibição do fotossistema II (Silva et al., 2007), podendo ser letal para os microrganismos fotossintetizantes como algas, cianobactérias, bactérias do enxofre entre outros microrganismos (Moreira & Siqueira, 2006). Também os ingredientes inertes das formulações dos herbicidas, como adjuvantes podem ocasionar efeitos tóxicos à microbiota do solo, visto a grande quantidade aplicada ao solo (Agrofit, 2008), com maiores efeitos que o ingrediente ativo, fato este constatado por Santos et al. (2005) e Massenssini et al. (2008).

Em condições de casa-de-vegetação, Reis et al. (2008a) observaram que o ametryn causou maiores efeitos negativos na evolução de C-CO₂ de solo rizosférico quando comparado com os herbicidas 2,4-D e o trifloxysulfuron-sodium, também utilizados em cana-de-açúcar. Estudos com atrazine, também inibidor do fotossistema II aplicados a campo, na cultura do milho, não influenciaram a evolução de C-CO₂ do solo (Jakelaitis et al., 2007).

Nos tratamentos com a mistura de trifloxysulfuron-sodium + ametryn, não houve diferenças entre os tratamentos com duas e oito vezes a dose referência (7,315 + 0,185 mg dm⁻³ de solo) em relação a testemunha. Os demais tratamentos apresentaram diferença para evolução diária de C-CO₂ (Figura 3A). Ao aplicar a mistura em quatro vezes a dose de referência houve menor evolução diária de C-CO₂, comparativamente aos demais tratamentos. Esse efeito pode ser atribuído a redução da biomassa microbiana, devido aos efeitos tóxicos do composto, porém sem causar efeitos negativos de aumento considerável da evolução de C-CO₂ das espécies restantes, como pode ter ocorrido no tratamento com a maior dose. Efeito sinérgico da mistura de herbicidas na atividade da microbiota do solo foram observados por Santos et al. (2005) com aplicação da mistura de fluazifop-p-butyl + fomesafem a campo na cultura do feijão.

A evolução de C-CO₂ acumulada, nos tratamentos que envolveram a mistura de trifloxysulfuron-sodium + ametryn, foi maiores quando aplicou-se duas, quatro e oito vezes a dose de referência, diferenciando-se da dose um e da testemunha sem herbicidas (Figura 3B). As maiores doses ocasionaram elevado estresse microbiano ou também o herbicida pode ter sido letal a parte da população microbiana, estimulando assim outras populações insensíveis ao composto, com maior respiração e crescimento, usando as

células mortas como fonte de energia (Sakamoto & Obo, 1994), ou as maiores valores de respiração em função da decomposição dos herbicidas (Moreno et al. 2007).

A dose de referência apresentou menor valor de C-CO₂ acumulado comparativamente à testemunha, podendo ser atribuído a efeitos sinérgicos dos herbicidas, reduzindo algumas populações de microrganismos, sem alterar consideravelmente a respiração (estresse) daqueles que permaneceram no ambiente (Figura 3B). A mistura trifloxysulfuron-sodium + ametryn apresentam efeitos semelhantes ao ametryn em aplicação isolada, promovendo maior taxa de evolução de C-CO₂, quando comparado com o trifloxysulfuron-sodium (Reis et al., 2008a).

O trifloxysulfuron-sodium promoveu redução do CBM nas menores doses, já nas maiores proporcionou estímulo ao crescimento da população microbiana (Figura 4A). Santos et al. (2005) ao trabalharem com o fluazyfop-p-butyl atribuíram este comportamento ao estresse e limitação de crescimento de parte da população microbiana nas menores doses. Com aumento da dose os autores constataram que o herbicida pode ter sido tóxico a parte da população de microrganismos, ocorrendo estímulo de crescimento de microrganismos saprófitas, insensíveis ao herbicida. Parte deste comportamento pode ser atribuída à redução da competição entre os microrganismos do solo, permitindo crescimento de outras populações. Zilli et al. (2007) observaram redução do CBM em solo com aplicação de imazaquin, herbicida inibidor da enzima ALS, alterando também a composição das espécies que compõe as populações de microrganismos.

O ametryn influenciou negativamente a biomassa microbiana, com maiores reduções nas maiores doses testadas (Figura 4A). Este herbicida como já relatado tem a capacidade de agir sobre a microbiota do solo, em função de seu mecanismo de ação e dos componentes inertes de sua formulação comercial.

A mistura de trifloxysulfuron-sodium + ametryn provocou efeitos intermediários no CBM, comparativamente aos herbicidas aplicados isoladamente, com redução desta variável com o aumento da dose (Figura 4A). Resultados semelhantes foram encontrados por Reis et al. (2008a) com aplicações do trifloxysulfuron + ametryn na cana-de-açúcar, em ambiente protegido, proporcionando redução da biomassa microbiana da rizosfera da cultura.

O trifloxysulfuron-sodium provocou comportamento linear decrescente para o qCO₂, quando aplicado em diferentes doses, caracterizando maior equilíbrio dos microrganismos do solo, o que significa maior eficiência dos mesmos na incorporação de carbono com aumento da dose (Figura 4B). Este comportamento pode ser atribuído

aos efeitos benéficos a algumas populações microbianas, e ou maléficos a outras, reduzindo algumas populações de microrganismos, ou também estimulando outras populações saprófitas (Santos et al., 2005), com menor competição entre os microrganismos. O ametryn apresentou efeitos negativos para o qCO_2 , efeitos esses maiores com aumento das doses. Estes resultados representam estresse dos microrganismos do solo, com maior gasto de energia (CO_2) e menor crescimento da biomassa. O trifloxysulfuron-sodium + ametryn proporcionou redução deste parâmetro até o tratamento que envolveu quatro vezes a dose de referência, apresentando comportamento similar ao trifloxysulfuron-sodium aplicado isoladamente. No tratamento com oito vezes a dose houve aumento do qCO_2 , apresentando comportamento similar ao ametryn em aplicação isolada. Reis et al. (2008a) não observaram diferenças no qCO_2 do solo rizosférico entre os tratamentos com aplicação da mistura trifloxysulfuron-sodium + ametryn e o ametryn aplicado em cana-de-açúcar.

O trifloxysulfuron-sodium promoveu estímulo à solubilização de fosfato inorgânico, com maiores efeitos com elevação das doses, tendendo a estabilizar nas maiores doses testadas (Figura 5A). Este comportamento pode ser atribuído pelo aumento do CBM, ou seleção de microrganismos com maior eficiência na solubilização. Griffiths et al. (2008) observaram mudança na constituição da comunidade de microrganismos após aplicação de glufosinato de amônio. No entanto, acredita-se que as maiores taxas de solubilização são devido ao estímulo do herbicida à liberação de ácidos orgânicos pelos microrganismos do solo (Reis et al., 2008b). Os ácidos orgânicos liberados pelos microrganismos são considerados como principal mecanismo para a solubilização de fosfatos inorgânicos do solo (Moreira & Siqueira, 2006).

O ametryn proporcionou maior redução no potencial de solubilização de fosfato inorgânico, com os efeitos maiores com o aumento das doses, tendendo à estabilização nas maiores doses testadas (Figura 5A). Efeitos negativos do ametryn no potencial de solubilização de fósforo inorgânico foram relatados por Reis et al. (2008b).

O potencial de solubilização de fosfato inorgânico foram influenciadas pelas doses de trifloxysulfuron-sodium + ametryn, sendo os maiores efeitos negativos nas maiores doses. A mistura apresentou efeitos intermediários em relação aos herbicidas aplicados isolados, evidenciando efeito aditivo entre os herbicidas (Figura 5A).

Quanto à solubilização relativa de fosfato inorgânico, o trifloxysulfuron-sodium proporcionou estímulo para esta variável, reforçando a hipótese de seleção de espécies com maior potencial de solubilização, ou estímulo destas populações na produção de ácidos orgânicos (Reis et al., 2008b). O trifloxysulfuron-sodium + ametryn apresentou

efeitos negativos, e mais pronunciados com o aumento da dose, com comportamento semelhante ao ametryn quando aplicado isoladamente.

Frente a estes resultados conclui-se que a evolução de C-CO₂ é influenciada pelos herbicidas e doses, ocorrendo os maiores efeitos logo após a aplicação e nas maiores doses. O CBM e o qCO₂ foram influenciados negativamente pelos herbicidas ametryn e trifloxysulfuron-sodium + ametryn, com maiores efeitos com aumento da dose. O trifloxysulfuron-sodium ocasionou a redução do CBM nas menores doses e aumento nas maiores, com diminuição do qCO₂ proporcionalmente com acréscimo das doses. O ametryn e o trifloxysulfuron-sodium + ametryn provocaram redução no potencial e potencial relativo de solubilização de fosfato, enquanto o trifloxysulfuron-sodium estimulou a solubilização.

LITERATURA CITADA

AGROFIT, **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit>>. Acesso em: 21/12/2008.

BARROSO, C. B.; NAHAS, E. The status of soil phosphate fractions and the ability of fungi to dissolve hardly soluble phosphates. **Appl. Soil Ecol.**, v.29, n.1, p.73-83, 2005

BOTTOMLEY, P. J. **Microbial ecology**. In: SYLVIA, D. M. et al. Principles and applications of soil microbiology. 2.ed. New Jersey: Upper Saddle River, 2005. p.463-488.

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

BROOKES, P.C. The use of microbial parameters in monitoring soil. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy-metals. **Biol. Fert. Soils**, v.19, n.2, p.269-279, 1995.

CHAER, M.C.; TÓTOLA, M.R. Impacto do manejo de resíduos orgânicos durante a reforma de plantios de eucalipto sobre indicadores de qualidade do solo. **R. Bras. Ci. Solo**, v.31, n.6, p.1381-1396, 2007.

CHRISTOFFOLETI, P.J. et al. Carfentrazone-ethyl aplicado em pós-emergência para o controle de *Ipomoea* spp. e *Commelina benghalensis* na cultura da cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v.24, n.1, p.83-90, 2006.

COSTA, M. A.; MONTEIRO, R. T. R.; TORNISIELO, V. L. Influência da adição de palha de cana-de-açúcar na degradação de ¹⁴C-ametrina em solo areia quartzosa. **Sci. Agric.**, v.54, n.3, p.117-122, 1997.

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, n.2, p.217-221, 2003.

FRANZLUEBBERS, A.S. Integrated crop–livestock systems in the Southeastern USA. **Agron. J.**, v.99, n.3, p.361-372, 2007.

FERREIRA, E.A. Glyphosate no controle de biótipos de azevém e impacto na microbiota do solo. **Planta Daninha**, v.24, n.3, p.573-578, 2006.

FREITAS, J. R.; BANERJEE, M. R.; GERMIDA, J. J. Phosphate solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not uptake of canola (*Brassica napus* L.). **Biol. Fert. Soils**, v.24, n.4, p.358-364, 1997.

GRAYSTON, S. J.; VAUGHAN, D.; JONES, D. Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with annual plants: The importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. **Appl. Soil Ecol.**, v.5, n.1, p.29-56, 1996.

GRIFFITHS, B. S. et al. Soil microbial and faunal responses to herbicide tolerant maize and herbicide in two soils. **Plant Soil**, v.308, n.1, p.93-103, 2008.

GYANESHWAR, P. et al. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. **Plant Soil**, v.245, n.1, p.83-93, 2002.

IBGE – **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 2008. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estatistica/indicadores/>>. Acesso em: 10/12/2008.

ISLAM, K. R.; WEIL, R. R. Microwave irradiation of soil for routine measurement of microbial biomass carbon. **Biol. Fert. Soils**, v.27, n.4, p.408-416, 1998.

JAKELAITIS, A. et al. Atividade microbiana e produção de milho (*Zea mays*) e de *Brachiaria brizantha* sob diferentes métodos de controle de plantas daninhas. **Planta Daninha**, v.25, n.1, p.71-78, 2007.

KUVA, M.A. et al. Periodos de interferencia das plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar. III – capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) e capim-colonião (*Panicum maximum*). **Planta Daninha**, v.21, n.1, p.37-44, 2003.

LEITA, L. et al. Bioavailability and effects of heavy-metals on soil microbial biomass survival during laboratory incubation. **Biol. Fert. Soils**, v.19, n.1 p.103-108, 1995.

MASSENSINI, A.M. et al. Atividade de isolados bacterianos solubilizadores de fosfato na presença de formulações comerciais de glyphosate. **Planta Daninha**, v.26, n.4, p.815-823, 2008.

MORENO, J. L. et al. Effects of atrazine on microbial activity in semiarid soil. **Appl. Soil Ecol.**, v.35, n.1, p.120- 127, 2007.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2º Ed. Editora UFLA: Lavras-MG, 2006. 729p.

- NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiol. Letters**, v.170, n.1, p.265-270, 1999.
- NAUTIYAL, C. S. et al. Stress induced phosphate solubilization in bacteria isolated from alkaline soils. **FEMS Microbiol Lett**, v.182, N.2, p.291-296, 2000.
- NEGRISOLI, E. et al. Seletividade de herbicidas aplicados em pré-emergência na cultura da cana-de-açúcar tratada com nematicidas. **Planta Daninha**, v.22, n.4, p.567-575, 2004.
- NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J. (Eds.). **Fósforo em solo e planta em condições tropicais**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1999. 399 p.
- PEREIRA, J.L et al. Effects of glyphosate and endosulfan on soil microorganisms in soybean crop. **Planta Daninha**, v.26, n.4, p.825-830, 2008.
- PROCÓPIO, S. O. et al. **Manejo de plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar**. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 150 p.
- REGAZZI, A.J. Teste para verificar igualdade de modelos de regressão e a igualdade de alguns parâmetros num modelo poligonal ortogonal. **Revista Ceres**, v.40, n.2, p.176-195, 1993.
- REGAZZI, A.J.; SILVA, C.H.O. Teste para verificar a igualdade de parâmetros e a identidade de modelos de regressão não-linear. I dados no delineamento inteiramente casualizado. **Rev. Mat. Estat.**, v.22, n.3, p.33-45, 2004.
- REIS JR., R. A.; MONNERAT, P. H. Diagnose nutricional da cana-de-açúcar em Campos dos Goytacazes (RJ). **R. Bras. Ci. Solo**, v.26, n.3, p.367-372, 2002.
- REIS, M. R. et al. Atividade microbiana em solo cultivado com cana-de-açúcar após aplicação de herbicidas. **Planta Daninha**, v.26, n.2, p.323-331, 2008a.
- REIS, M. R. et al. Ação de herbicidas sobre microrganismos solubilizadores de fosfato inorgânico em solo rizosférico de cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v.26, n.2, p.333-341, 2008b.
- 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.
- SAKAMOTO, K.; OBO, Y. Effects of fungal to bacterial ratio on the relationship between CO₂ evolution and total soil microbial biomass. **Biol. Fert. Soils**, v.17, n.1, p.39-44, 1994.
- SILVA, A.A. et al. Herbicidas: Classificação e mecanismo de ação. In: SILVA, A.A. & SILVA, J.F. (Editores). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG. Ed. UFV, 2007. p.83-148.
- SYNGENTA, **Syngenta Foundation**. 2006. Disponível em: <<http://www.syngenta.com/products/services/krismat>>. Acesso em: 30/11/2008.

TÓTOLA, M. R.; CHAER, G. M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: VENEGAS, V. H. A. et al. (Eds.). **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2º ed., 2002. p. 195-276.

VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biol. Biochem.**, v.19, n.6, p.703-707, 1987.

VIVIAN, R. et al. Persistência de sulfentrazone em Argissolo Vermelho-Amarelo cultivado com cana-de-Açúcar. **Planta Daninha**, v.24, n.4, p.471-480, 2006.

ZABALOY, M.C.; GARLAND, J.L.; GÓMEZ, M.A. An integrated approach to evaluate the impacts of the herbicides glyphosate, 2,4-D and metsulfuron-methyl on soil microbial communities in the Pampas region, Argentina. **Applied Soil Ecology**, v.40, n.1, p.1-12, 2008.

ZILLI, J.E. et al. População microbiana em solo cultivado com soja e tratado com diferentes herbicidas em área de cerrado no estado de Roraima. **Acta Amazônica**, v.37, n.2, p.201-212, 2007.

Tabela 1. Características químicas do solo, de amostras coletadas de 0 a 10 cm em lavouras de cana-de-açúcar. Viçosa/MG, 2008

Características químicas ¹												
pH	P	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	CTC(t)	CTC (T)	V	m	MO
H ₂ O	mg dm ⁻³		cmol _c dm ⁻³						%		dag kg ⁻¹	
6,0	7,4	168	4,2	0,7	0,0	4,46	5,33	5,33	9,79	54	0	2,4
Características físicas ¹												
Argila		Silte		Areia grossa		Areia Fina		Classificação textural				
%												
47		32		7		14		Argiloso				

¹Análise realizada no Laboratório de Análise de Solos Viçosa Ltda; CTC (T): Capacidade da troca de cátions (pH 7); CTC (t): Capacidade de troca de cátions efetiva; V: Saturação de bases; m: Saturação de alumínio; MO: matéria orgânica.

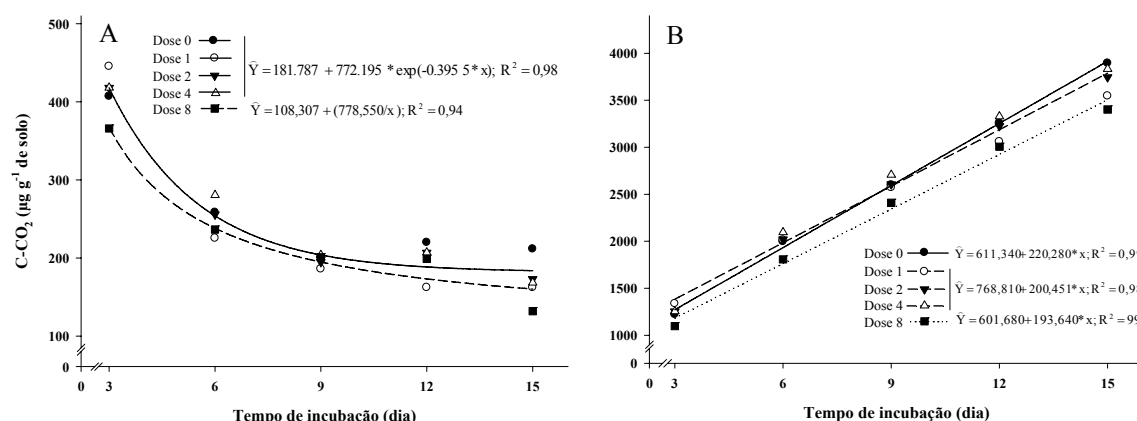


Figura 1. Evolução diária (A) e acumulada (B) de CO₂ (C-CO₂) do solo, após a incubação em função da aplicação do herbicida trifloxysulfuron-sodium nas doses de 0, 1, 2, 4 e 8 vezes a dose de referência (0,112 mg dm⁻³ de solo). Viçosa-MG, 2008.

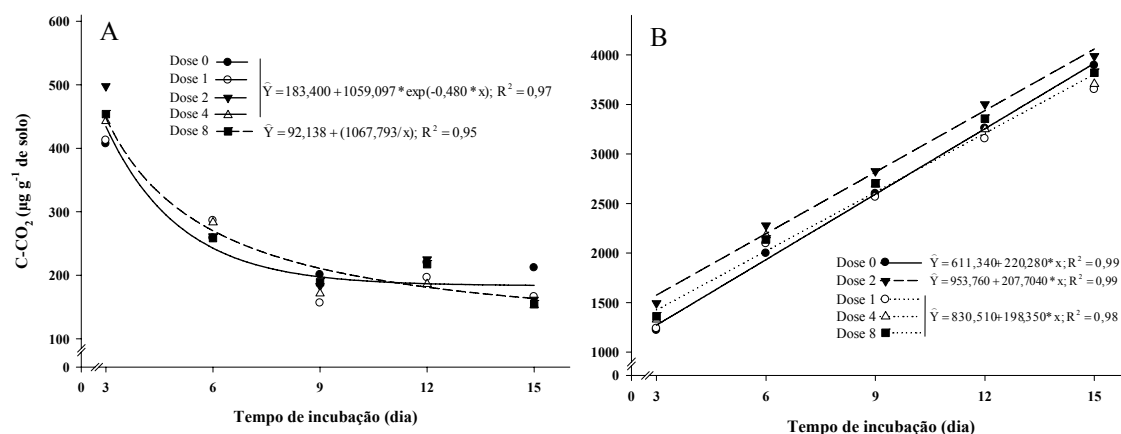


Figura 2. Evolução diária (A) e acumulada (B) de CO₂ (C-CO₂) do solo, após a incubação em função da aplicação do herbicida ametryn, nas doses de 0, 1, 2, 4 e 8 vezes a dose de referência (10 mg dm⁻³ de solo). Viçosa-MG, 2008.

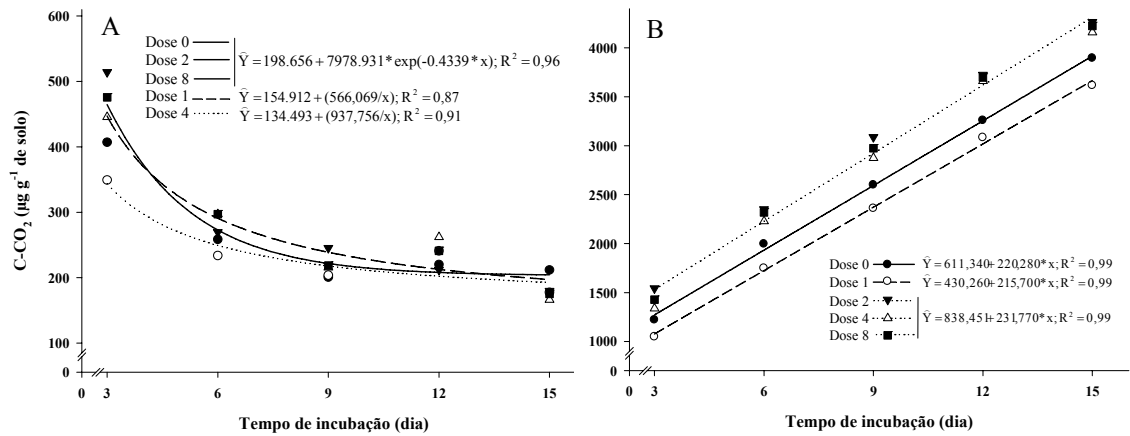


Figura 3. Evolução diária (A) e acumulada (B) de CO₂ (C-CO₂) do solo, após a incubação em função da aplicação do herbicida trifloxysulfuron-sodium + ametryn, nas doses de 0, 1, 2, 4 e 8 vezes a dose de referência (7,315 + 0,185 mg dm⁻³ de solo). Viçosa-MG, 2008.

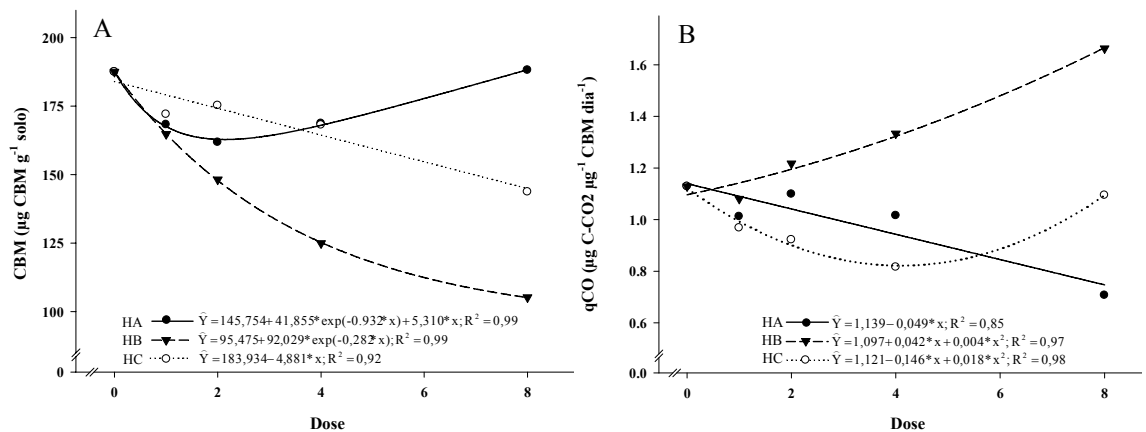


Figura 4. Carbono da biomassa microbiana – CBM (A) e quociente metabólico – qCO₂ (B) do solo, 15 dias após a incubação, em função da aplicação dos herbicidas trifloxysulfuron-sodium (HA), ametryn (HB) e trifloxysulfuron-sodium + ametryn (HC), nas doses de 0, 1, 2, 4 e 8 vezes a dose de referência de cada herbicida. Viçosa-MG, 2008.

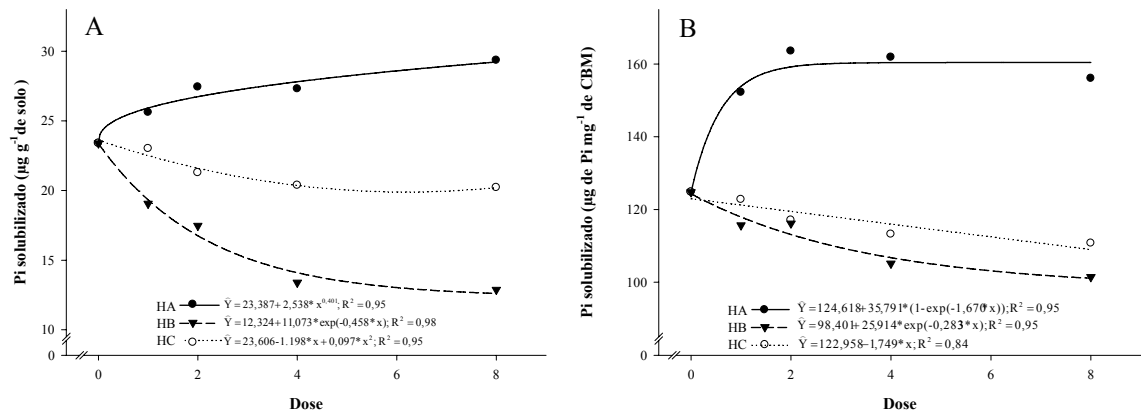


Figura 5. Solubilização potencial (A) e solubilização potencial relativa (B) de fósforo inorgânico ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) pelos microrganismos solubilizadores de fósforo inorgânico do solo, 15 dias após a aplicação dos herbicidas trifloxysulfuron-sodium (HA), ametryn (HB) e trifloxysulfuron-sodium + ametryn (HC), nas doses de 0, 1, 2, 4 e 8 vezes a dose de referência de cada herbicida. Viçosa-MG, 2008.

IMPACTO DE HERBICIDAS NA BIOMASSA MICROBIANA E NOS MICRORGANISMOS SOLUBILIZADORES DE ORTOFOSFATO DO SOLO RIZOSFÉRICO DE CANA-DE-AÇÚCAR

RESUMO

Objetivou-se com este trabalho avaliar o carbono da biomassa microbiana (CBM), o potencial de solubilização de fosfato inorgânico (PSFI) e a atividade de fosfomonoesterases ácidas no solo rizosférico de cultivares de cana-de-açúcar após a aplicação de herbicidas. O experimento foi conduzido a campo, em sistema de plantio convencional em delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos pelas cultivares de cana-de-açúcar RB867515 e SP80-1816 e pelos herbicidas ametryn (2.000 g ha⁻¹), trifloxysulfuron-sodium (22,5 g ha⁻¹), trifloxysulfuron-sodium + ametryn (37,0 + 1.463 g ha⁻¹) e sulfentrazone (750 g ha⁻¹), além de uma testemunha sem aplicação de herbicida. A aplicação dos herbicidas foi realizada quando a cultura apresentava-se com três a quatro folhas. Aos 7, 14 e 28 dias após a aplicação dos herbicidas (DAH) foi coletado solo rizosférico da cultura e realizadas as avaliações do CBM, do PSFI, do potencial relativo de solubilização e da atividade de fosfomonoesterases ácidas. O CBM do solo rizosférico da cultivar RB867515 foi menos influenciado pela aplicação dos herbicidas aos 7 DAH, em relação ao SP80-1816. O trifloxysulfuron-sodium estimulou o PSFI (21,11%), enquanto o ametryn provocou redução do mesmo, e o sulfentrazone pouco influenciou. A atividade da fosfatase ácida do solo rizosférico da cultivar SP80-1816 foi superior a da RB867515 (12,53%) aos 7 DAH, entretanto esta variável não foi afetada pelos herbicidas. Há

diferenças entre cultivares de cana-de-açúcar na associação com microrganismos do solo, estes que apresentam resposta distinta com a aplicação de herbicidas.

Palavras chaves: solubilização de fosfato, fosfatase ácida, ametryn, trifloxysulfuron-sodium, sulfentrazone.

IMPACT OF HERBICIDES ON THE MICROBIAL BIOMASS AND ON THE ORTHOPHOSPHATE-SOLUBILIZING MICROORGANISMS IN RHIZOSPHERIC SOIL GROWN WITH SUGARCANE

ABSTRACT

This work aimed at evaluating the soil microbial biomass carbon (MBC), the phosphate solubilization potential (PSIF), and phosphomonoesterase activity in rhizosphere soil of sugarcane cultivars after herbicide application. The trial was installed under field conditions in a conventional tillage system, using a completely randomized block design with four replications. The treatments corresponded to two sugarcane varieties, RB867515 and SP80-1816, and the herbicides ametryn (2000 g ha⁻¹), trifloxysulfuron-sodium (22.5 g ha⁻¹), trifloxysulfuron-sodium + ametryn (37 + 1463 g ha⁻¹), sulfentrazone (750 g ha⁻¹), and an untreated control plot. Herbicide application was done when plants presented 3 to 4 leaves. Soil samples were collected at 7, 14, and 28 days after herbicide application (DAH) for the evaluations of MBC, PSIF, relative phosphate solubilization, and phosphomonoesterase activity. MBC in the rhizospheric soil of RB867515 was less affected by the herbicides at 7 DAH when compared to SP80-1816. Trifloxysulfuron-sodium stimulated the PSIF (21.11%), while the ametryn reduced the activity. Sulfentrazone did not affect PSIF. Acid phosphatase activity was shown to be higher for SP80-1816 at 7 and 28 DAH and was not affected by herbicide application. The sugarcane varieties tested varied in their capacity to associate with soil microorganisms, resulting in differences in the responses of the soil microbiota to herbicides.

Keywords: phosphate solubilization, acid phosphatase, ametryn, trifloxysulfuron-sodium, sulfentrazone.

INTRODUÇÃO

O Brasil vem se destacando no cenário mundial como produtor de biocombustíveis, a exemplo do biodiesel, produzido de grãos de plantas oleaginosas

como a soja, o dendê e a mamona, e principalmente o etanol de cana-de-açúcar (Embrapa, 2007). Essa última alternativa é considerada a melhor, do ponto de vista econômico, energético e ambiental para a produção de álcool-combustível (Andreoli & Souza, 2006). O país tem potencial para suprir metade da demanda mundial de etanol, sendo necessário aumentar a produção da cana-de-açúcar e a eficiência do processo industrial de produção de álcool (Colombo, 2006).

A cultura da cana-de-açúcar exige grandes quantidades de nutrientes, com predominância de nitrogênio (N), potássio (K) e o fósforo (P). Este último em menor quantidade, no entanto, é o mais limitante para a produção agrícola, em solos tropicais (Chien & Menon, 1995), por se encontrar em formas pouco disponíveis às plantas, complexado com óxidos de ferro (Fe) e alumínio (Al).

Para suprir as necessidades das plantas por P são aplicados fertilizantes fosfatados nas lavouras. Porém, grande parte deste é rapidamente convertida em complexos insolúveis ou adsorvida pela fase sólida do solo, tornando-o indisponível às plantas (Vassilev & Vassileva, 2003). O comportamento e a magnitude da complexação e adsorção do P aos componentes do solo é dependente de pH (Yang et al., 2006), teores de óxidos (Fe e Al) e outros fatores que alteram o equilíbrio P-indisponível/P-disponível (Novais & Smyth, 1999).

Os microrganismos são reconhecidos por sua habilidade em promover transformações bioquímicas dos nutrientes, disponibilizando-os às plantas (Moreira & Siqueira, 2006). Os microrganismos solubilizadores de fosfato inorgânico (MSFI) possuem como principal mecanismo de solubilização de P através da liberação de ácidos orgânicos, como o glucônico, o cítrico, o glutâmico, o oxálico, o lático, o fumárico, o tartárico e o succínico (Silva Filho et al., 2002). Esses ácidos orgânicos competem com o P pela ligação com óxidos de Fe e Al, atuando como agentes quelantes dos íons Ca, Al e Fe, favorecendo a solubilização do fosfato inorgânico do solo (Rodríguez & Fraga, 1999). Dentre os microrganismos mais eficientes na solubilização de P inorgânico estão algumas estirpes de bactérias dos gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Rhizobium* (Rodríguez & Fraga, 1999) e fungos, com destaques para os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* (Silva Filho et al., 2002).

A diversidade e as populações dos MSFI são superiores em solos rizosféricos (Nahas et al., 1994; Nautiyal, 1999), isso devido ao maior aporte de carbono (C) e energia, fornecida via exsudação radicular das plantas (Moreira & Siqueira, 2006). Resultando em maiores taxas de solubilização de P nos solos rizosféricos em comparação aos não rizosféricos (Reis et al., 2008a).

O P encontra-se também na fração orgânica do solo. Em solos intemperizados, essa fonte de P é a principal para o suprimento deste nutriente às plantas, tornando as enzimas fosfatases de grande importância (Rheinheimer et al., 2008). Pois a mineralização pode suprir até 80% da exigência de P para as plantas (Tiessen et al., 1984). Segundo Cordeiro et al. (2004) e Chaer & Tótola (2007), a atividade dos MSFI e das enzimas fosfatases são considerados indicadores microbiológicos e bioquímicos associados ao ciclo do P. Estes indicadores podem ser influenciados com o manejo aplicado ao solo (Chaer & Tótola, 2007; Reis et al., 2008b).

No manejo da cana-de-açúcar é comum o uso de herbicidas para o controle de plantas daninhas (Christoffoleti et al., 2006). Essa cultura ocupa o segundo lugar no consumo de herbicidas no Brasil (SINDAG, 2008). Sendo que a maioria destes herbicidas apresentam longo efeito residual no solo (Procópio et al., 2003).

Entre os herbicidas recomendados para a cana-de-açúcar, destacam-se o ametryn e o trifloxysulfuron-sodium, que atuam na inibição do fotossistema II e na enzima acetolactato sintase (ALS), respectivamente. Esses são comercializados também em mistura formulada, visando ampliar o espectro de controle de plantas daninhas. Porém o comportamento desses produtos no ambiente ainda é pouco conhecido (Rodrigues & Almeida, 2005). Dentre os diversos herbicidas utilizados na cana-de-açúcar destaca-se também o sulfentrazone, que inibe a enzima protoporfirinogênio oxidase (PROTOX) (Silva et al., 2007). De forma geral, nos estudos com herbicidas tem-se dado ênfase apenas à eficiência no controle das plantas daninhas (Pires et al., 2005) e a seletividade à cultura (Galon, 2008), com poucos relatos sobre os efeitos à microbiota do solo.

Segundo Bunemann (2006), os herbicidas pouco afetam os organismos do solo. Entretanto, tem sido relatado que alguns destes produtos podem desequilibrar os ecossistemas edáficos e aquáticos (Das et al., 2003). Outras pesquisas demonstram efeitos da aplicação de herbicidas nas populações e atividade de microrganismos de solo (Santos et al., 2005; Vivian et al., 2006; Reis et al., 2008b), inclusive no potencial de solubilização de fósforo inorgânico (Reis et al., 2008a; Massensini et al., 2008).

Com a expansão do cultivo da cana-de-açúcar no Brasil, torna-se necessário avaliar com maior frequência os impactos das práticas de manejo adotadas com a cultura, dentre elas a aplicação de herbicidas. Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar o carbono da biomassa microbiana (CBM), o potencial de solubilização de fosfato inorgânico (PSFI) e a atividade de fosfomonoesterases ácidas no solo rizosférico de cultivares de cana-de-açúcar após a aplicação dos herbicidas trifloxysulfuron-sodium, ametryn, trifloxysulfuron-sodium + ametryn e sulfentrazone.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Estação Experimental da Horta Nova (Distrito de São José do Triunfo), pertencente à Universidade Federal de Viçosa (UFV), Município de Viçosa-MG, em um Argissolo Vermelho-Amarelo (EMBRAPA, 2006). O plantio da cana-de-açúcar foi realizado em sistema convencional, com aração e gradagens, com posterior sulcamento da área, em distancia entre linhas de 1,4 m. A densidade de plantio foi de 18 gemas m⁻¹. A adubação foi realizada no sulco de plantio, de acordo com resultados da análise do solo (Tabela 1) e recomendações para cultura (CFSEMG, 1999), utilizando 500 kg ha⁻¹ da formulação NPK 8 28 16, mais adubação de cobertura com aplicação de 160 kg ha⁻¹ de cloreto de potássio.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições, onde as unidades experimentais foram constituídas de seis linhas (8,4 m) de 3,0 m de comprimento, com área total de 25,2 m². Os tratamentos foram alocados em esquema fatorial (2x5), sendo o fator A, composto pelas cultivares de cana-de-açúcar RB867515, SP80-1816, e o fator B pelos herbicidas Metrimex 500 SC[®] (ametryn - 2.000 g ha⁻¹), Envoke[®] (trifloxysulfuron-sodium - 22,5 g ha⁻¹), Krismat[®] (trifloxysulfuron-sodium + ametryn - 37,0 + 1.463 g ha⁻¹) e Boral 500 SC[®] (sulfentrazone - 750 g ha⁻¹) e mais uma testemunha sem aplicação de herbicida.

A aplicação dos herbicidas foi realizada em pós-emergência quando a cultura encontrava-se com três a quatro folhas completamente expandidas, com pulverizador costal pressurizado a CO₂, munido com barra de 1,5 m com três pontas de aplicação da série TT 110.02, espaçados a 0,5 m, calibrado para aspergir o volume de 150 L ha⁻¹ de calda herbicida.

Aos 7, 14 e 28 dias após a aplicação dos herbicidas (DAH) foram coletados solo rizosférico da cultura. Para tal, as plantas foram arrancadas e o sistema radicular submetido à agitação, considerando o solo rizosférico o que ficou aderido às raízes. As amostras de solo foram levadas ao laboratório, para realização das avaliações do carbono da biomassa microbiana (CBM) (Vance et al., 1987; modificado por Islam & Weil, 1998), potencial de solubilização de fosfato inorgânico (PSFI) (Nautyal, 1999) e da atividade da enzima fosfomonoesterase ácida (Tabatabai & Bremmer, 1969).

Para a determinação do CBM foram retiradas duas porções de solo e cada amostra (18 g), sendo uma submetida à radiação de microondas por tempo previamente calculado (60 s + 60 s), substituindo a fumigação com clorofórmio (Islam & Weil,

1998). Foram adicionados às amostras de solo 80 mL de K_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, e em seguida agitadas a 200 rpm por 30 minutos em mesa agitadora horizontal. As amostras permaneceram em repouso por mais 30 minutos para decantação do solo. Em seguida a fase superior foi filtrada em filtro de papel Whatman nº 42. Dez mL do filtrado foram colocados em tubos digestores, adicionando-se os seguintes reagentes: 2 mL de solução $K_2Cr_2O_7$ $0,0667 \text{ mol L}^{-1}$; 5 mL de H_3PO_4 concentrado e 10 mL de H_2SO_4 concentrado. Após esfriar esta solução foi completada para 100 mL com água destilada e adicionado o indicador de difenilamina (seis gotas), procedendo em seguida a titulação com solução $0,0333 \text{ mol L}^{-1}$ de $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2$ até a mudança de coloração para vermelho-tijolo. O CBM foi estimado pela diferença entre a amostra irradiada da não irradiada (Vance et al., 1987; modificado por Islam & Weil, 1998).

Para avaliação do PSFI do solo em meio líquido, transferiu-se 1 g de solo de cada amostra para tubo de ensaio com 15 mL do meio líquido NBRI, pH 6,8-7,0, contendo (g L^{-1}): glicose, 10; $Ca_3(PO_4)_2$, 5; $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,25; KCl, 0,2; e $(NH_4)_2SO_4$, 0,1 (Nautyal, 1999). Os tubos foram incubados por 15 dias a $30 \text{ }^\circ\text{C}$, sendo, então, retiradas alíquotas de 1,5 mL do sobrenadante para análise da concentração de P. As alíquotas foram centrifugadas a 8.000 rpm por 20 minutos, sendo retirando 1 mL do sobrenadante para determinação do P inorgânico pelo método colorimétrico da vitamina C modificado, a 725 nm (Braga & Defelipo, 1974). Com os resultados do PSFI e do CBM foi calculado o potencial de solubilização relativa de fosfato inorgânico, representado pela quantidade de fosfato inorgânico solubilizada por unidade de CBM (Reis et al., 2008b).

A determinação da atividade da enzima fosfomonoesterase ácida foi realizada usando-se o método descrito por Tabatabai & Bremmer (1969). Um g de solo e 0,2 mL de tolueno foram transferido para tubo de ensaio, este contendo 4 mL da solução tampão ácida (pH 6,5) composta de: 12,1 g de tris(hidroximetil)aminometano (THAM), 11,6 g de ácido maleico, 14,0 g de ácido cítrico e 6,3 g de ácido bórico e 20 g de hidróxido de sódio L^{-1} de solução. Foi adicionado aos tubos 1 mL da solução de *p*-nitrofenilfosfato dissódico tetraidratado ($C_6H_4NNaO_6P \cdot 4H_2O$), $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, usada como substrato para a enzima. Os tubos foram incubados por 1 hora a $37 \text{ }^\circ\text{C}$. Após a incubação adicionou-se 1 mL de $CaCl_2$ $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e 4 mL de NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, submetendo-os à agitação e filtragem lenta em papel filtro. A concentração de *p*-nitrofenol foi quantificada no filtrado, em leitura de absorbância à 420 nm. Utilizando como referência uma curva padrão de concentração de *p*-nitrofenilfosfato conhecida, sendo expresso em $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$.

Os resultados das avaliações foram submetidos à análise de variância. Quando necessário as médias dos níveis dos fatores foram comparadas pelo teste de Duncan. Ao nível de 5% de probabilidade. As análises foram realizadas utilizando o software estatístico Winstat.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tratamentos apresentaram interação, isso é, a resposta dos fatores sofreram influência da ação conjunta dos tratamentos para as variáveis CBM aos 7, PSFI aos 7 e 28 e PSRFI aos 7 dias após a aplicação dos herbicidas (DAH). Os resultados da atividade da enzima fosfatase não apresentaram interação dos fatores avaliados.

A cultivar RB867515 apresentou maior CBM no solo rizosférico, quando tratada com sulfentrazone aos 7 DAH (Tabela 2). A maior estabilidade da biomassa microbiana neste caso pode estar associada à maior tolerância da cultivar a herbicidas (Ferreira et al., 2005; Galon, 2008).

Para a cultivar SP80-1816, os tratamentos em que aplicou-se o ametryn isolado ou em mistura com o triflozulfuron-sodium apresentaram maior redução do CBM, em relação à testemunha sem aplicação. Esses resultados concordam com os encontrados por Reis et al. (2008b), ao observarem maior redução da CBM no solo rizosférico da cana-de-açúcar cultivada em ambiente protegido, após a aplicação dos mesmos herbicidas. Os referidos efeitos podem ser atribuídos à toxicidade dos componentes inertes da formulação comercial do ametryn, aplicado nas doses recomendadas de 5 a 6 L ha⁻¹ da formulação comercial (Agrofit, 2008). Santos et al. (2004) ao avaliarem o impacto de diferentes formulações de glyphosate, observaram que os maiores efeitos tóxicos são causados por compostos presentes na formulação e não pelo princípio ativo do herbicida.

Os herbicidas podem ocasionar efeitos distintos sobre os microrganismos do solo. Mahía et al. (2008) evidenciaram que o atrazine apresenta efeitos distintos em diferentes tipos de solo. Estes autores observaram incrementos do CBM em solos com maior e redução em solos com menor teor de matéria orgânica, porém, em ambos, ocorreu aumento da mineralização do carbono orgânico do solo, resultado da maior atividade microbiana. Jaktaittis et al. (2007) não observaram efeitos tóxicos aos microrganismos do solo cultivando milho após a aplicação de atrazine e nicosulfuron, herbicidas pertencente aos grupos dos inibidores do fotossistema II e da enzima acetolactato sintase, respectivamente.

Entre os cultivares não foi observada diferença nos tratamentos com herbicidas, exceto para o sulfentrazone, que provocou aumento do CBM na cultivar RB867515 (Tabela 2). Este fato pode estar relacionado a efeitos fitotóxicos causados pelos herbicidas, podendo aumentar a exsudação radicular e conseqüentemente beneficiando a microbiota presente na rizosfera da cana-de-açúcar. Considerando que o sulfentrazone apresenta pouca mobilidade na planta e baixa mobilidade em solo argiloso (Rossi et al., 2005; Vivian et al., 2006), e provavelmente não atingiu a região da rizosfera da cultura, não vindo a interferir diretamente na atividade microbiana da rizosfera. A maior síntese e exsudação radiculares de aminoácidos e açúcares, normalmente é influenciada pelas condições de estresse (Bertin et al., 2003), tais como temperaturas extremas, seca e exposição aos raios ultra violeta (Pramanik et al., 2000). Infere-se, portanto que, o estresse provocado pelo herbicida pode influenciar na composição e volume dos exsudados radiculares da cana-de-açúcar.

Nas avaliações aos 14 e 28 DAH, não foram observadas diferenças entre as cultivares para o CBM, somente havendo diferenças entre os tratamentos com herbicidas aos 14 DAH (Tabela 3). Foi observado maior valor de CBM no tratamento com trifloxysulfuron-sodium, herbicida este que apresenta mobilidade na planta (sistêmico) (Silva et al., 2007). Um dos processos de destoxificação realizado pelas plantas é a eliminação dos herbicidas pelo sistema radicular, aumentando o volume de exsudato e o montante de carbono metabolizável pelos microrganismos, possibilitando o aumento da população microbiana do solo.

Menores valores de CBM foram observadas nos tratamentos com aplicação do ametryn isolado ou em mistura aos 14 DAH, como observado aos 7 DAH (Tabela 3). Entretanto, o sulfentrazone não mais apresentou influência nesta variável. Segundo Vieira et al. (2007), esse produto promoveu redução da biomassa microbiana do solo cultivado com soja até 46 DAH e, em aplicação sobre a cana-de-açúcar, levou à redução do CBM, após duas aplicações, aos 197 e 640 DAH (Vivian et al., 2006). Moreno et al. (2007) atribuíram o aumento do CBM após a aplicação do herbicida atrazine a adaptação dos microrganismos, utilizando do composto como fonte de carbono e energia. Tais efeitos são pouco prováveis para o trifloxysulfuron-sodium, devido à baixa dose aplicada. Como observado para o metsulfuron-methyl, também inibidor da ALS, que em dose de até 10 vezes maiores que a recomendada não apresentou influência aos microrganismos do solo (Zabaloy et al., 2007).

Aos 28 DAH não foram observadas influências das cultivares e herbicidas no CBM do solo rizosférico (Tabela 3), evidenciando a resiliência dos microrganismos do solo.

Observou-se maior PSFI no solo rizosférico da cultivar RB867515 sem aplicação de herbicida, demonstrando maior associação da cultivar com os microrganismos solubilizadores de fosfato inorgânico do solo (Tabela 4). Nos tratamentos com herbicidas foram obtidos maiores valores com aplicação do trifloxysulfuron-sodium no cultivar SP80-1816, e com trifloxysulfuron-sodium + ametryn para o RB867515, demonstrando haver interação distinta entre cultivares e herbicidas.

Considerando o efeito dos herbicidas, a cultivar SP80-1816, na presença de trifloxysulfuron-sodium apresentou maiores valores de PSFI (Tabela 4). Estes resultados concordam com os encontrados por Reis et al. (2008a), em que o trifloxysulfuron-sodium estimulou o PSFI do solo rizosférico de cana-de-açúcar, no entanto, sem apresentar alterações na biomassa microbiana. Estes efeitos podem ser atribuídos a maior exsudação radicular da cultura como respostas aos efeitos fisiológicos provocados pelo herbicida (Shaw & Burns, 2004), o que possibilita maior eficiência dos microrganismos na solubilização de fosfato inorgânico. Essa eficiência é influenciada pela qualidade do carbono orgânico disponibilizado para os microrganismos (Barroso et al., 2006).

O ametryn isolado ou em mistura com trifloxysulfuron-sodium reduziu os valores de solubilização. Tal efeito pode ser atribuído à toxicidade deste composto para a microbiota do solo (Reis et al., 2008a). Para a cultivar RB867515, os maiores valores de solubilização foram observados na testemunha e com aplicação do trifloxysulfuron-sodium + ametryn e os menores com aplicação de ametryn e sulfentrazone (Tabela 4). Os efeitos tóxicos dos herbicidas na atividade microbiana do solo podem ser diretos, apresentando toxicidade para a microbiota, ou indiretos, causando danos à cultura, que por efeitos fisiológicos reduzem a interação com os microrganismos. Arruda et al. (2001) observaram redução na nodulação radicular e nos aminoácidos exsudados pelo xilema da soja após a aplicação do herbicida sulfentrazone. Esse composto também influencia negativamente a associação da cultura com fungos micorrízicos (Vieira et al., 2007).

Aos 14 DAH, não se observou diferença entre as cultivares para o PSFI (Tabela 5). Os herbicidas não diferiram da testemunha, no entanto, diferiram entre si, sendo que a mistura comercial (trifloxysulfuron-sodium + ametryn) resultou em menores valores

de PSFI. Efeitos sinérgicos da mistura de herbicidas podem ocorrer ocasionando maior efeitos de toxicidade. Santos et al. (2005) verificaram que a mistura de fluazifop- ρ -butil + fomesafen influenciou a biomassa microbiana do solo cultivado com feijão de forma distinta com relação a aplicação dos herbicidas separadamente.

Aos 28 DAH, observou-se efeitos de interação entre as cultivares e herbicidas sobre o PSFI (Tabela 6). Os efeitos dos herbicidas sobre a cultivar SP80-1816 foram semelhantes aos observados aos 7 DAH. Entretanto, o sulfentrazone não mais apresentou efeitos negativos sobre o PSFI, ocorrendo diminuição dos efeitos da toxicidade do herbicida sobre os microrganismos solubilizadores. Para a RB867515, os tratamentos com herbicidas não diferiram da testemunha. No entanto entre os herbicidas as maiores valores de PSFI foram observados nos tratamentos com o trifloxysulfuron-sodium + ametryn (Tabela 6). Esses efeitos, a longo prazo, podem ser atribuído a mudanças na composição das comunidades microbianas do solo em função da influência dos herbicidas. Reis et al. (2008b) relataram a ocorrência de mudanças nas proporções populacionais da comunidade microbiana do solo rizosférico de cana-de-açúcar após a aplicação dos referidos herbicidas. O PSFI da microbiota do solo varia com os fatores nutricionais do meio, a exemplo da fonte de nitrogênio. Onde a presença de amônio favorece a solubilização, e a do nitrato diminuiu a atividade solubilizadora, reduzindo ou inibindo a liberação de ortofosfato na solução (Silva Filho & Vidor, 2001).

O potencial de solubilização relativa de fosfato inorgânico (PSRFI) foi influenciado pelas cultivares e pelos herbicidas aos 7 DAH (Tabela 7). A cultivar RB867515 apresentou maior solubilização relativa, apresentando maior potencial ou eficiência da população de microrganismos solubilizadores de fosfato associada a esta, em relação a SP80-1816, no tratamento sem herbicida.

De forma geral, para ambos os cultivares, o trifloxysulfuron-sodium apresentou maior valor para o PSRF (Tabela 7). As menores taxas de solubilização relativa foram observadas na testemunha e com o sulfentrazone para a cultivar SP80-1816, e com o ametryn e o sulfentrazone para a cultivar RB867515. As alterações do PRSFI podem estar diretamente relacionadas às proporções e espécies constituintes da população microbiana, sendo assim, qualquer alteração na comunidade, seja por influência de cultivares ou de herbicidas, podem afetar essa característica.

O PRSFI não foi influenciado pelos cultivares nas avaliações aos 14 e 28 DAH (Tabela 8). O uso de herbicidas apresentou efeito somente aos 14 DAH, onde as maiores taxas foram observadas para o ametryn. Aos 30 DAH não houve alterações no PRSFI

entre os tratamentos com herbicidas, evidenciando a recuperação das populações microbianas.

Não foram observadas diferenças ao se aplicar os herbicidas na atividade da enzima fosfomonoesterase ácida nas épocas avaliadas (Tabela 9). Diferenças foram constatadas entre as cultivares aos 7 e 28 DAH. Resultados semelhantes a esses foram encontrados por Machado et al. (2006), ao relatarem a ocorrência de efeitos de cultivares de arroz sobre a atividade da fosfatase ácida e não dos herbicidas testados. A enzima fosfatase alcalina foi considerada mais tolerante comparativamente a outras enzimas do solo em relação à influência do herbicida sulfosulfuron (Kucharski & Wyszowska, 2008). O solo rizosférico da cultivar SP80-1816 apresentou maior atividade da enzima fosfomonoesterase ácida nas avaliações aos 7 e 28 DAH. A atividade da fosfatase ácida é maior quanto menor a quantidade de P disponível (Gatiboni et al., 2008), assim pode haver uma relação inversa entre a velocidade de solubilização de fosfato inorgânico e a atividade da enzima fosfatase, como observado na avaliação aos 7 DAH (Tabela 4). Estes resultados demonstram diferentes interações entre as cultivares e os microrganismos do solo. Tais interações foram também encontradas por Machado & Furlani (2004) em solos rizosféricos de genótipos de milho. Também em soja, algumas cultivares apresentaram maior atividade de fosfatase no solo rizosférico (Raposo et al., 2004).

Com base no exposto, conclui-se que a biomassa e a atividade da microbiota do solo são influenciadas pelas cultivares de cana-de-açúcar e pelos de herbicidas aplicados sobre a cultura. Para a variável CBM, a cultivar RB867515 foi a menos influenciada pela aplicação dos herbicidas. O trifloxysulfurom-sodium estimulou o PSFI, enquanto que o ametryn reduziu. O PRSFI foi afetado de modo distinto pelos herbicidas e cultivares. A atividade da enzima fosfatase ácida foi superior na cultivar SP80-1816, porém não influenciada pelos herbicidas.

LITERATURA CITADA

AGROFIT, **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**, 2008. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit>>. Acesso em: 21/12/2008.

ANDREOLI, C.; DE SOUZA, S. P. Cana-de-açúcar: A melhor alternativa para conversão da energia solar e fóssil em etanol. **Economia e Energia**, v.2, n.59, p.27-33, 2006.

ARRUDA, J.S.; LOPES, N.S.; BACARIN, M.A. Nodulação e fixação do dinitrogênio em soja tratada com sulfentrazone. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.36, n.2, p.325-330, 2001.

BARROSO, C.B.; PEREIRA, G.T. NAHAS, E. solubilization of caho₄ and alpo₄ by *Aspergillus niger* in culture media with different carbon and nitrogen sources. **Braz. J. Microb.**, v.37, n.4, p.434-438, 2006.

BERTIN, C.; YANG, X.; WESTON, L. A. The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. **Plant Soil**, v.256, n.1, p.67-83, 2003.

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

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

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

CHAER, M.C.; TÓTOLA, M.R. Impacto do manejo de resíduos orgânicos durante a reforma de plantios de eucalipto sobre indicadores de qualidade do solo. **R. Bras. Ci. Solo**, v.31, n.6, p.1381-1396, 2007.

CHIEN, S.H.; MENON, R.G. Factors affecting the agronomic effectiveness of phosphate rock for direct application. **Fert. Res.**, v.41, n.2, p.227-234, 1995.

CHRISTOFFOLETI, P.J. et al. Carfentrazone-ethyl aplicado em pós-emergência para o controle de *Ipomea* spp. e *Commelina benghalensis* na cultura da cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v.24, n.1, p.83-90, 2006.

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

CORDEIRO, R.G. et al. Indicadores Biológicos associados ao ciclo do fósforo em solos de cerrado sob plantio direto e plantio convencional. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.39, n.5, p.661-669, 2004.

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, n.2, p.217-221, 2003.

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.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa Agropecuária de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Rio de Janeiro: 2006. 412p.

EMBRAPA – **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, 2007. Disponível em: <<http://www.embrapa.gov.br/noticias/artigos/>>. Acesso em: 10/12/2008.

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

- GALON, L. **Tolerância de genótipos de cana-de-açúcar a herbicidas**. 2008. 88f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2008.
- GATIBONI, L.C. et al. Fósforo da biomassa microbiana e atividade de fosfatases ácidas durante a diminuição do fósforo disponível no solo. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.43, n.8, p.1085-1091, 2008.
- ISLAM, K. R.; WEIL, R. R. Microwave irradiation of soil for routine measurement of microbial biomass carbon. **Biol. Fert. Soils**, v.27, n.4, p.408-416, 1998.
- JAKELAITIS, A. et al. Atividade microbiana e produção de milho (*Zea mays*) e de *Brachiaria brizantha* sob diferentes métodos de controle de plantas daninhas. **Planta Daninha**, v.25, n.1, p.71-78, 2007.
- KUCHARSKI, J.; WYSZKOWSKA, J. Biological properties of soil contaminated with the herbicide Apyros 75 WG. **J. Elementology**, v.13, n.3, p.357-371, 2008.
- MACHADO, C.T.T.; FURLANI, A.M.C. Root phosphatase activity, plant growth and phosphorus accumulation of maize genotypes. **Sci. Agric.**, v.61, n.2, p.216-223, 2004.
- MACHADO, R.F. et al. Reflexos do mecanismo de ação de herbicidas na qualidade fisiológica de sementes e na atividade enzimática em plântulas de arroz. **Rev. Bras. Sementes**, v.28 n.3, p.151-160, 2006.
- MAHÍA, J; et al. Microbial biomass and C mineralization in agricultural soils as affected by atrazine addition. **Biol. Fertil. Soils**, v.45, n.1, p.99-105, 2008.
- MASSENSINI, A.M et al. Atividade de isolados bacterianos solubilizadores de fosfato na presença de formulações comerciais de glyphosate. **Planta Daninha**, v.26, n.4, p.815-823, 2008.
- MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2º Ed. Editora UFLA: Lavras-MG, 2006. 729p.
- MORENO, J. L. et al. Effects of atrazine on microbial activity in semiarid soil. **Appl. Soil Ecol.**, v.35, n.1, p.120-127, 2007.
- NAHAS, E.; FORNASIERI, D.J.; ASSIS, L.C. Resposta a inoculação de fungo solubilizador de fósforo em milho. **Sci. Agric.**, v.51, n.3, p.463-469, 1994.
- NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiol. Lett.**, v.170, n.1, p.265-270, 1999.
- NOVAIS, R.F.; SMYTH, T.J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais**. Editora UFV: Viçosa-MG, 1999. 268p.
- PIRES, F.R.; SOUZA, C.M.; CECON, P.R.; et al. Rhizospheric activity of potentially phytoremediative species for tebutiuron-contaminated soil. **R. Bras. Ci. Solo**, v.29, n.4, p.627-634, 2005.

PRAMANIK, M.H.R. et al. Effect of temperature and photoperiod on phytotoxic root exudates of cucumber (*Cucumis sativus*) in hydroponic culture. **J. Chem. Ecol.**, v.26, n.8, p.1953-1967, 2000.

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

RAPOSO, R.W.C. et al. Acid phosphatase activity and leaf phosphorus content in soybean cultivars. **Sci. Agric.**, v.61, n.4, p.439-445, 2004.

REIS, M. R. et al. Ação de herbicidas sobre microrganismos solubilizadores de fosfato inorgânico em solo rizosférico de cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v.26, n.2, p.333-341, 2008a.

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

RHEINHEIMER, D.S.; GATIBONI, L.C.; KAMINSKI, J. Fatores que afetam a disponibilidade do fósforo e o manejo da adubação fosfatada em solos sob sistema plantio direto. **Ci. Rural**, v.38, n.4, p.576-586, 2008.

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. **Biotechnol. Adv.**, v.17, n.4-5, p.319-339, 1999.

ROSSI, C.V.S.; ALVES, P.L.C.A.; MARQUES JUNIOR, J. Mobilidade do sulfentrazone em Latossolo Vermelho e em Chernossolo. **Planta Daninha**, v.23, n.4, p.701-710, 2005.

SANTOS, J.B. et al. Efeitos de diferentes formulações comerciais de glyphosate sobre estirpes de *Bradyrhizobium*. **Planta Daninha**, v.22, n.2, p.293-299, 2004

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.

SHAW, L. J.; BURNS, R. G. Enhanced mineralization of [U-14C] 2,4-dichlorophenoxy- acetic acid in soil from the rhizosphere of *Trifolium pretense*. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.70, n.8, p.4766-4774, 2004.

SINDAG – **Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola**, 2008. Disponível em: <<http://www.sindag.com.br>>. Acesso em: 20/12/2008.

SILVA FILHO, G.N.; NARLOCH, C.; SCHARF, R. Solubilização de fosfatos naturais por microrganismos isolados de cultivos de *Pinus* e *Eucalyptus* de Santa Catarina. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.37, n.6, p.847-854, 2002.

SILVA FILHO, G.N.; VIDOR, C. Atividade de microrganismos solubilizadores de fosfatos na presença de nitrogênio, ferro, cálcio e potássio. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.36, n.12, p.1495-1508, 2001.

SILVA, A. A. et al. Herbicidas: classificação e mecanismo de ação. In: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. (Eds.). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2007, p.83-148.

TABATABAI, M.A.; BREMMER, J.M. Use of *p*-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity, **Soil Biol. Biochem.**, v.1, n.4, p.301-307, 1969.

TIESSEN, H.; STEWART, J.W.B.; COLE, C.V. Pathways of phosphorus transformations in soils of differing pedogenesis. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, v.48, n.6, p.853-858, 1984.

VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil. Biol. Biochem.**, v.19, n.6, p.703-707, 1987.

VASSILEV, N.; VASSILEVA, M. Biotechnological solubilization of rock phosphates on media containing agro-industrial wastes. **Appl. Microbiol. Biot.**, v.61, n.5, p.435-440, 2003.

VIEIRA, R.F.; SILVA, C.M.M.S.; SILVA, A.P.D. Soil microbial biomass C and symbiotic processes associated with soybean after sulfentrazone herbicide application. **Plant Soil**, v.300, n.1, p.95-103, 2007.

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

YANG, Y. et al. Characteristics and mechanisms of phosphate adsorption on dewatered alum sludge. **Separ. Purif. Technol.**, v.51, n.2, p.193-200, 2006.

ZABALOY, M.C. et al. An integrated approach to evaluate the impacts of the herbicides glyphosate, 2,4-D and metsulfuron-methyl on soil microbial communities in the Pampas region, Argentina. **Appl. Soil Ecol.**, v.40, n.1, p.1-12, 2008.

Tabela 1. Características químicas e físicas do solo, de amostras coletas de 0 a 10 cm de profundidade, de lavouras de cana-de-açúcar (cana-planta), em estágio vegetativo com três folhas completamente expandidas, Viçosa-MG, 2008

Características químicas ¹												
pH	P	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	CTC(t)	CTC (T)	V	m	MO
H ₂ O	mg dm ⁻³		cmol _c dm ⁻³							%		dag kg ⁻¹
6,0	7,4	168	4,2	0,7	0,0	4,46	5,33	5,33	9,79	54	0	2,4
Características físicas ¹												
Argila			Silte		Areia grossa		Areia Fina		Classificação textural			
47			32		7		14		Argiloso			

¹Análise realizada no Laboratório de Análise de Solos Viçosa Ltda; CTC (T): Capacidade da troca de cátions (pH 7); CTC (t): Capacidade de troca de cátions efetiva; V: Saturação de bases; m: Saturação de alumínio; MO: matéria orgânica.

Tabela 2. Valores médios do carbono da biomassa microbiana (CBM) do solo rizosférico de cana-de-açúcar ($\mu\text{g CBM g}^{-1}$ solo), amostrado na camada de 3 a 10 cm, em função de cultivares e herbicidas, aos 7 dias após a aplicação dos herbicidas. Viçosa-MG, 2008

Tratamentos	CBM ($\mu\text{g CBM g}^{-1}$ solo)	
	SP80-1816	RB867515
Testemunha sem herbicida	203,06 aA ¹	156,96 bA
Trifloxysulfuron-sodium	159,10 abcA	126,38 bA
Ametryn	107,57 cB	171,50 bA
Trifloxysulfuron-sodium + ametryn	137,43 bcA	148,30 bA
Sulfentazone	175,63 abB	230,28 aA
C.V. (%)	21,80	

¹ Médias seguidas de mesmas letras, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste Duncan e F, respectivamente. Ambos a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Valores médios do carbono da biomassa microbiana do solo rizosférico de cana-de-açúcar, amostrado na camada de 3 a 10 cm, em função de cultivares e herbicidas, aos 14 e 28 dias após a aplicação dos herbicidas. Viçosa-MG, 2008

Tratamentos	CBM ($\mu\text{g de CBM g}^{-1}$ de solo)	
	14 DAH ¹	28 DAH
Testemunha sem herbicida	176,63 b ²	129,74 a
Trifloxysulfuron-sodium	210,96 a	145,59 a
Ametryn	120,16 c	125,80 a
Trifloxysulfuron-sodium + ametryn	136,77 c	140,17 a
Sulfentazone	170,98 b	146,31 a
SP 801816	165,39 a	133,20 a
RB 867515	160,81 a	141,84 a
C.V. (%)	18,47	18,57

¹ Dias após a aplicação dos herbicidas; ² Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste Duncan para os tratamentos com herbicidas e F para as cultivares, ambos a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Valores médios do potencial de solubilização de fosfato inorgânico (PSFI) do solo rizosférico de cana-de-açúcar ($\mu\text{g P g}^{-1}$ solo), amostrado na camada de 3 a 10 cm, em função de cultivares e herbicidas, aos 7 dias após aplicação dos herbicidas. Viçosa-MG, 2008

Tratamentos	PSFI ($\mu\text{g P g}^{-1}$ solo)	
	SP80-1816	RB867515
Testemunha sem herbicida	28,81 bcB ¹	38,96 aA
Trifloxysulfuron-sodium	39,13 aA	33,00 bcB
Ametryn	23,68 cA	27,19 dA
Trifloxysulfuron-sodium + ametryn	27,46 bcB	35,38 abA
Sulfentazone	30,10 bA	29,33 cdA
C.V. (%)	11,57	

¹ Médias seguidas de mesmas letras, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste Duncan e F, respectivamente. Ambos a 5% de probabilidade.

Tabela 5. Valores médios do potencial de solubilização de fosfato inorgânico (PSFI) do solo rizosférico de cana-de-açúcar, amostrado na camada de 3 a 10 cm, em função de cultivares e herbicidas, aos 14 dias após a aplicação dos herbicidas. Viçosa-MG, 2008

Tratamentos	PSFI ($\mu\text{g P g}^{-1}$ solo)
	14 DAH ¹
Testemunha sem herbicida	25,76 ab ²
Trifloxysulfuron-sodium	31,20 a
Ametryn	26,02 ab
Trifloxysulfuron-sodium + ametryn	22,36 b
Sulfentazone	30,24 a
SP 801816	28,00 a
RB 867515	26,23 a
C.V. (%)	18,19

¹ Dias após a aplicação dos herbicidas; ² Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste Duncan para os tratamentos com herbicidas e F para as cultivares, ambos a 5% de probabilidade.

Tabela 6. Valores médios do potencial de solubilização de fosfato inorgânico do solo rizosférico de cana-de-açúcar ($\mu\text{g P g}^{-1}$ solo), amostrado na camada de 3 a 10 cm, em função de cultivares e herbicidas, aos 28 dias após aplicação dos herbicidas. Viçosa-MG, 2008

Tratamentos	PSFI ($\mu\text{g P g}^{-1}$ solo)	
	SP80-1816	RB867515
Testemunha sem herbicida	19,84 bcA ¹	21,23 abA
Trifloxysulfuron-sodium	25,39 aA	19,57 bB
Ametryn	17,06 cA	19,05 bA
Trifloxysulfuron-sodium + ametryn	17,71 cB	24,28 aA
Sulfentazone	22,67 abA	23,38 abA
C.V. (%)	13,62	

¹ Médias seguidas de mesmas letras, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste Duncan e F, respectivamente. Ambos a 5% de probabilidade.

Tabela 7. Valores médios do potencial de solubilização relativa de fosfato inorgânico (PSRFI) de microrganismos da rizosfera da cana-de-açúcar ($\mu\text{g P g}^{-1}$ CBM), amostrado na camada de 3 a 10 cm, em função de cultivares e herbicidas, aos 7 dias após a aplicação dos herbicidas. Viçosa-MG, 2008

Tratamentos	PSRFI ($\mu\text{g P g}^{-1}$ CBM)	
	SP80-1816	RB867515
Testemunha sem herbicida	146,06 bB ¹	253,36 aA
Trifloxysulfuron-sodium	250,82 aA	265,18 aA
Ametryn	221,05 abA	169,01 bA
Trifloxysulfuron-sodium + ametryn	215,40 abA	254,57 aA
Sulfentazone	173,07 bA	129,02 bA
C.V. (%)	23,20	

¹ Médias seguidas de mesmas letras, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste Duncan e F, respectivamente. Ambos a 5% de probabilidade.

Tabela 8. Valores médios do potencial de solubilização relativa de fosfato inorgânico (PSRFI) de microrganismos da rizosfera da cana-de-açúcar, amostrado na camada de 3 a 10 cm, em função de cultivares e herbicidas, aos 14 e 28 dias após a aplicação dos herbicidas. Viçosa-MG, 2008

Tratamentos	PSRFI ($\mu\text{g P g}^{-1}$ CBM)	
	14 DAH ¹	28 DAH
Testemunha sem herbicida	152,14 b ²	169,30 a
Trifloxysulfuron-sodium	148,39 b	158,21 a
Ametryn	231,74 a	146,85 a
Trifloxysulfuron-sodium + ametryn	168,87 b	156,20 a
Sulfentazone	183,75 ab	161,34 a
SP 801816	176,96 a	161,44 a
RB 867515	177,00 a	155,32 a
C.V. (%)	27,08	24,30

¹ Dias após a aplicação dos tratamentos; ² Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste Duncan para os tratamentos com herbicidas e F para as cultivares, ambos a 5% de probabilidade.

Tabela 9. Valores médios da atividade da enzima fosfomonoesterase ácida de solo rizosférico de cana-de-açúcar, amostrado na camada de 3 a 10 cm, em função de cultivares e herbicidas, aos 7, 14 e 28 dias após a aplicação dos herbicidas. Viçosa-MG, 2008

Tratamento	Ativ. fosfatase ($\mu\text{g de } p\text{-nitrofenol g}^{-1}$ de solo)		
	7 DAH ¹	14 DAH	28 DAH
Testemunha sem herbicida	57,39 a ²	45,25 a	60,55 a
Trifloxysulfuron-sodium	56,90 a	45,72 a	61,82 a
Ametryn	54,35 a	44,96 a	62,34 a
Trifloxysulfuron-sodium + ametryn	57,12 a	45,91 a	60,65 a
Sulfentazone	60,78 a	45,94 a	62,35 a
SP 801816	60,69 a	46,07 a	62,38 a
RB 867515	53,93 b	45,04 a	60,70 b
C.V. (%)	16,11	4,12	3,03

¹ Dias após a aplicação dos tratamentos; ² Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste Duncan para os tratamentos com herbicidas e F para as cultivares, ambos a 5% de probabilidade.

CONCLUSÕES FINAIS

- ✓ O crescimento relativo e a taxa de crescimento *in vitro* das bactérias provenientes da rizosfera de cana-de-açúcar são afetados de forma diferenciada, independentemente do herbicida avaliado;
- ✓ O trifloxysulfuron-sodium demonstrou pouca toxicidade às bactérias solubilizadoras de fosfato inorgânico;
- ✓ A evolução de C-CO₂ do solo foi influenciada negativamente pelos herbicidas e doses;
- ✓ O CBM e o qCO₂ foram influenciados negativamente pelos herbicidas ametryn e pela mistura de trifloxysulfuron-sodium + ametryn, com maiores efeitos nas maiores doses. O trifloxysulfuron-sodium apresentou pouca interferência no CBM e redução do qCO₂ com o aumento da dose;
- ✓ O potencial de solubilização potencial e relativa de fosfato inorgânico foram influenciados negativamente com uso do ametryn e trifloxysulfuron-sodium + ametryn.
- ✓ O trifloxysulfuron-sodium favoreceu o potencial de solubilização de fosfato inorgânico, com maiores efeitos nas maiores doses;
- ✓ A atividade da enzima fosfatase ácida foi superior no solo rizosférico da cultivar SP80-1816, sendo que os herbicidas não influenciaram na atividade enzimática;
- ✓ Há influência entre as cultivares de cana-de-açúcar na associação com microrganismos do solo, apresentando respostas distintas em função dos herbicidas aplicados.

APÊNDICES

Tabela 1. Análise de variância do crescimento relativo dos isolados bacterianos da rizosfera de cana-de-açúcar cultivados em meio líquido NBRIP, suplementado com os herbicidas trifloxysulfuron-sodium, ametryn e ametryn + trifloxysulfuron-sodium, na dose recomendada, por 48 h a 30 °C. Viçosa, 2008

Fonte de variação	GL	QM	F	P > F
Bactéria	1	144,30	9,59	0,003
Herbicida	3	49,00	3,25	0,031
Bactéria*herbicida	3	97,40	6,47	0,001
Resíduo	40	15,00		
Total	47			

Tabela 2. Análise de variância da taxa de solubilização de fósforo inorgânico dos isolados bacterianos da rizosfera de cana-de-açúcar cultivados em meio líquido NBRIP, suplementado com os herbicidas trifloxysulfuron-sodium, ametryn e ametryn + trifloxysulfuron-sodium, na dose recomendada, por 48 h a 30 °C. Viçosa, 2008

Fonte de variação	GL	QM	F	P > F
Bactéria	1	1294704000,00	2042,40	0,000
Herbicida	3	409509,00	0,64601	0,590
Bactéria*herbicida	3	1097651,00	1,73	0,176
Resíduo	40	633904,80		
Total	47			

Tabela 3. Análise de variância da variável carbono da biomassa microbiana do solo rizosférico de cana-de-açúcar ($\mu\text{g CBM g}^{-1}$ solo), amostrado na camada de 3 a 10 cm, em função de cultivares e herbicidas, aos 7 dias após a aplicação dos herbicidas. Viçosa-MG, 2008

Fonte	GL	QM	F	P > F
Bloco	3	532,367	-	-
Herbicida	4	6485,433	5,225	0,003
Cultivar	1	1025,055	0,826	0,3715
Cultivar*Herbicida	4	4937,912	3,978	0,01154
Resíduo	27	1241,250	-	-
Total	39	-	-	-

Tabela 4. Análise de variância da variável carbono da biomassa microbiana do solo rizosférico de cana-de-açúcar ($\mu\text{g de CBM g}^{-1}$ de solo), amostrado na camada de 3 a 10 cm, em função de cultivares e herbicidas, aos 14 dias após a aplicação dos herbicidas. Viçosa-MG, 2008

Fonte	GL	QM	F	P > F
Bloco	3	972,879	-	-
Herbicida	4	10145,690	11,180	0,00002
Cultivar	1	209,809	0,231	0,6345
Cultivar*Herbicida	4	1809,568	1,994	0,1239
Resíduo	27	907,447	-	-
Total	39	-	-	-

Tabela 5. Análise de variância da variável carbono da biomassa microbiana do solo rizosférico de cana-de-açúcar ($\mu\text{g de CBM g}^{-1}$ de solo), amostrado na camada de 3 a 10 cm, em função de cultivares e herbicidas, aos 28 dias após a aplicação dos herbicidas. Viçosa-MG, 2008

Fonte	GL	QM	F	P > F
Bloco	3	735,985	-	-
Herbicida	4	694,655	1,065	0,393
Cultivar	1	746,669	1,145	0,2941
Cultivar*Herbicida	4	1658,356	2,542	0,0627
Resíduo	27	652,275	-	-
Total	39	-	-	-

Tabela 6. Análise de variância do potencial de solubilização de fosfato inorgânico do solo rizosférico de cana-de-açúcar ($\mu\text{g P g}^{-1}$ solo), amostrado na camada de 3 a 10 cm, em função de cultivares e herbicidas, aos 7 dias após aplicação dos herbicidas. Viçosa-MG, 2008

Fonte	GL	QM	F	P > F
Bloco	3	27,769	-	-
Herbicida	4	132,585	10,107	0,00004
Cultivar	1	86,201	6,571	0,0162
Cultivar*Herbicida	4	86,545	6,597	0,0007
Resíduo	27	13,118	-	-
Total	39	-	-	-

Tabela 7. Análise de variância do potencial de solubilização de fosfato inorgânico do solo rizosférico de cana-de-açúcar ($\mu\text{g P g}^{-1}$ solo), amostrado na camada de 3 a 10 cm, em função de cultivares e herbicidas, aos 14 dias após aplicação dos herbicidas. Viçosa-MG, 2008

Fonte	GL	QM	F	P > F
Bloco	3	11,964	-	-
Herbicida	4	104,138	4,281	0,008232
Cultivar	1	31,329	1,288	0,2664
Cultivar*Herbicida	4	51,219	2,105	0,1078
Resíduo	27	24,327	-	-
Total	39	-	-	-

Tabela 8. Análise de variância do potencial de solubilização de fosfato inorgânico do solo rizosférico de cana-de-açúcar ($\mu\text{g P g}^{-1}$ solo), amostrado na camada de 3 a 10 cm, em função de cultivares e herbicidas, aos 28 dias após aplicação dos herbicidas. Viçosa-MG, 2008

Fonte	GL	QM	F	P > F
Bloco	3	24,851	-	-
Herbicida	4	30,337	3,701	0,0158
Cultivar	1	9,370	1,143	0,2944
Cultivar*Herbicida	4	39,428	4,811	0,004634
Resíduo	27	8,196	-	-
Total	39	-	-	-

Tabela 9. Análise de variância do potencial de solubilização relativa de fosfato inorgânico de microrganismos da rizosfera da cana-de-açúcar ($\mu\text{g P g}^{-1}$ CBM), amostrado na camada de 3 a 10 cm, em função de cultivares e herbicidas, aos 7 dias após a aplicação dos herbicidas. Viçosa-MG, 2008

Fonte	GL	QM	F	P > F
Bloco	3	2171,312	-	-
Herbicida	4	13416,620	5,774	0,001717
Cultivar	1	1677,673	0,722	0,4029
Cultivar*Herbicida	4	8531,331	3,672	0,01635
Resíduo	27	2323,460	-	-
Total	39	-	-	-

Tabela 10. Análise de variância do potencial de solubilização relativa de fosfato inorgânico de microrganismos da rizosfera da cana-de-açúcar ($\mu\text{g P g}^{-1}$ CBM), amostrado na camada de 3 a 10 cm, em função de cultivares e herbicidas, aos 14 dias após a aplicação dos herbicidas. Viçosa-MG, 2008

Fonte	GL	QM	F	P > F
Bloco	3	4059,551	-	-
Herbicida	4	9089,445	3,9563	0,01183
Cultivar	1	0,014	6,2852E-006	0,998
Cultivar*Herbicida	4	5339,733	2,3242	0,0821
Resíduo	27	2297,466	-	-
Total	39	-	-	-

Tabela 11. Análise de variância do potencial de solubilização relativa de fosfato inorgânico de microrganismos da rizosfera da cana-de-açúcar ($\mu\text{g P g}^{-1}$ CBM), amostrado na camada de 3 a 10 cm, em função de cultivares e herbicidas, aos 28 dias após a aplicação dos herbicidas. Viçosa-MG, 2008

Fonte	GL	QM	F	P > F
Bloco	3	1113,878	-	-
Herbicida	4	531,039	0,358	0,8358
Cultivar	1	374,911	0,253	0,619
Cultivar*Herbicida	4	3924,432	2,649	0,05501
Resíduo	27	1481,245	-	-
Total	39	-	-	-

Tabela 12. Análise de variância da atividade da enzima fosfomonoesterase ácida de solo rizosférico de cana-de-açúcar (μg de *p*-nitrofenol g^{-1} de solo), amostrado na camada de 3 a 10 cm, em função de cultivares e herbicidas, aos 7 dias após a aplicação dos herbicidas. Viçosa-MG, 2008

Fonte	GL	QM	F	P > F
Bloco	3	451,000	-	-
Herbicida	4	42,071	0,493	0,7405
Cultivar	1	456,502	5,356	0,0285
Cultivar*Herbicida	4	27,450	0,322	0,8607
Resíduo	27	85,235	-	-
Total	39	-	-	-

Tabela 13. Análise de variância da atividade da enzima fosfomonoesterase ácida de solo rizosférico de cana-de-açúcar (μg de *p*-nitrofenol g^{-1} de solo), amostrado na camada de 3 a 10 cm, em função de cultivares e herbicidas, aos 7, 14 dias após a aplicação dos herbicidas. Viçosa-MG, 2008

Fonte	GL	QM	F	P > F
Bloco	3	8,682	-	-
Herbicida	4	1,508	0,429	0,7866
Cultivar	1	10,383	2,950	0,09731
Cultivar*Herbicida	4	3,517	0,999	0,425
Resíduo	27	3,519	-	-
Total	39	-	-	-

Tabela 14. Análise de variância da Atividade da enzima fosfomonoesterase ácida de solo rizosférico de cana-de-açúcar (μg de *p*-nitrofenol g^{-1} de solo), amostrado na camada de 3 a 10 cm, em função de cultivares e herbicidas, aos 28 dias após a aplicação dos herbicidas. Viçosa-MG, 2008

Fonte	GL	QM	F	P > F
Bloco	3	15,477	-	-
Herbicida	4	6,283	1,808	0,1564
Cultivar	1	28,023	8,064	0,00848
Cultivar*Herbicida	4	5,633	1,621	0,1977
Resíduo	27	3,475	-	-
Total	39	-	-	-