

## ATIVIDADE MICROBIANA NA RIZOSFERA DE CULTIVARES DE CANA-DE-AÇÚCAR APÓS A APLICAÇÃO DE HERBICIDAS

SILVA, A. F.<sup>1</sup>; FERREIRA, E. A.<sup>2</sup>; TORRES, L. G.<sup>3</sup>; TIRONI, S.P.<sup>4</sup>; ROCHA, P. R. R.<sup>5</sup>; FERREIRA, F. A.<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Viçosa; (31) 38991164; alexandre.silva@ufv.br

<sup>2</sup> Universidade dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri; (38) 99621301; evanderalves@yahoo.com.br

<sup>3</sup> Universidade Federal de Viçosa; (31) 38991164; livia.torres@ufv.br

<sup>4</sup> Universidade Federal de Viçosa; (31) 38991164; siumar.tironi@ufv.br

<sup>5</sup> Universidade Federal de Viçosa (31) 38991164; paulo.rocha@ufv.br

<sup>6</sup> Universidade Federal de Viçosa (31) 38991164; faffonso@ufv.br

### Resumo

Os estudos envolvendo herbicidas, de forma geral, têm dado ênfase apenas a eficiência no controle das plantas daninhas, com poucos relatos sobre os efeitos desses produtos nos microrganismos do solo. Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar os efeitos de herbicidas na atividade respiratória (C-CO<sub>2</sub>), no carbono da biomassa microbiana (CBM), no quociente metabólico (qCO<sub>2</sub>) do solo rizosférico de plantas de cana-de-açúcar. Utilizou-se o delineamento em blocos casualizados com três repetições. Os tratamentos foram alocados em esquema fatorial 2 X 8, sendo o primeiro fator representado pelos cultivares RB867515 e SP80-1816 e o segundo pelos herbicidas tembotrione (Soberan<sup>®</sup> - 200 mL ha<sup>-1</sup>); MSMA (Volcane<sup>®</sup> - 3 L ha<sup>-1</sup>); diuron + hexazinone (Velpar K WG<sup>®</sup> - 2kg ha<sup>-1</sup>); sulfentrazone (Solara<sup>®</sup> - 1,2 L ha<sup>-1</sup>); trifloxysulfuron-sodium (Envoke<sup>®</sup> - 30 g ha<sup>-1</sup> + Surfatante Aureo<sup>®</sup> 1 L ha<sup>-1</sup>); tebuthiuron (Combine 500 SC<sup>®</sup> - 2,0 kg ha<sup>-1</sup>); clomazone (Gamit<sup>®</sup> - 3 L ha<sup>-1</sup>); e uma testemunha sem aplicação de herbicidas. A aplicação dos herbicidas foi realizada quando as plantas se encontravam com três a quatro folhas completamente expandidas. Aos 45 dias após a aplicação dos herbicidas, foram coletadas amostras de solo rizosférico da cana-de-açúcar para avaliação da atividade respiratória (C-CO<sub>2</sub>), do carbono da biomassa microbiana (CBM) e no quociente metabólico do solo (qCO<sub>2</sub>). Os microrganismos rizosféricos do cultivar SP80-1816 foram os que apresentaram maior sensibilidade aos herbicidas testados. Trifloxysulfurom-sodium e diuron + MSMA foram os herbicidas que proporcionaram condições mais estressantes para a microbiota de ambos cultivares, tendo em vista os maiores valores de qCO<sub>2</sub>.

**Palavras-chave:** *Saccharum* spp., biomassa microbiana, quociente metabólico.

### Abstract

The studies evolving herbicides, in a general way, have given emphasis only in weed control efficiency, with few reports on effects of these products in soil microorganisms. Thus, aimed with this work to evaluate the herbicides effect in respiratory rate (C-CO<sub>2</sub>), microbial biomass carbon (MBC) and in metabolic quotient (qCO<sub>2</sub>) of rhizosphere soil in sugarcane cultivated soil. Was adopted a completely randomized design blocs with three replications. The treatments were allocated in factorial design 2 X 8, being the first factor represented by the varieties RB867515 and SP80-1816 and the second to the herbicides: tembotrione (Soberan<sup>®</sup> - 200 mL ha<sup>-1</sup>); MSMA (Volcane<sup>®</sup> - 3 L ha<sup>-1</sup>); diuron + hexazinone (Velpar K WG<sup>®</sup> - 2kg ha<sup>-1</sup>); sulfentrazone (Solara<sup>®</sup> - 1,2 L ha<sup>-1</sup>); trifloxysulfuron-sodium (Envoke<sup>®</sup> - 30 g ha<sup>-1</sup> + Surfactant Aureo<sup>®</sup> 1 L ha<sup>-1</sup>); tebuthiuron (Combine 500 SC<sup>®</sup> - 2,0 kg ha<sup>-1</sup>); clomazone (Gamit<sup>®</sup> - 3 L ha<sup>-1</sup>); plus a control without herbicide applications. The herbicides application was performed when the plants were with three to four leaves completely expanded. At 45 days after herbicides application, were collected samples of sugarcane rhizosphere soil to evaluate respiratory rate (C-CO<sub>2</sub>), microbial biomass carbon (MBC) and the soil metabolic quotient (qCO<sub>2</sub>). The sugarcane rhizospheric microorganisms of SP80-1816 variety were that showed greater sensibility to the herbicides tested. Trifloxysulfurom-sodium and diuron + MSMA were the herbicides that provided more stressful conditions to the microorganisms of both varieties, having in view the greater qCO<sub>2</sub> values.

**Key Words:** *Saccharum* spp., microbial biomass, metabolic quotient.

## Introdução

A área cultivada com cana-de-açúcar, no país, atualmente, ocupa em torno de 7,74 milhões de hectares (CONAB, 2009). É previsto que no ano de 2020, o país tenha plantado por volta de 14 milhões de hectares de cana-de-açúcar, produzindo mais de 1 bilhão de toneladas de cana, 45 milhões de toneladas de açúcar, e 65 bilhões de litros de etanol (Matsuoka et al., 2009). Aliado ao aumento de produção estará o aumento da utilização de agroquímicos, produtos que podem causar danos ao ambiente, quando utilizados de modo incorreto. Dentre esses produtos, destacam-se os herbicidas, que são utilizados em grandes áreas contínuas, em função da praticidade, eficiência e baixo custo quando comprados a outros métodos de controle das plantas daninhas (Silva e Silva, 2007). A cana-de-açúcar é hoje a segunda cultura que mais consome herbicidas no Brasil (SINDAG, 2009).

A utilização destes produtos químicos pode gerar impactos negativos ao meio ambiente, justificando a necessidade de se avaliar esse problema. Avaliações mais amplas sobre o efeito de herbicidas no ambiente, as quais incluem a incorporação de indicadores microbiológicos, como a atividade enzimática, respiração basal (evolução do C-CO<sub>2</sub>), a biomassa microbiana dos solos e o quociente metabólico, têm permitido antecipar a constatação das alterações na dinâmica dos ecossistemas. O quociente metabólico possibilita que se avalie, também, o estado de equilíbrio no ambiente do solo; quanto menores os valores observados, mais próximos esse se encontra da estabilidade (Tótolá e Chaer, 2002).

Os estudos envolvendo herbicidas, de forma geral, têm dado ênfase apenas a eficiência de controle das plantas daninhas, com poucos relatos sobre os efeitos desses produtos nos microrganismos do solo. Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar os efeitos dos herbicidas tembotrione, MSMA, diuron + hexazinone, sulfentrazone, trifloxysulfuron-sodium, tebutiuron e clomazone sobre a respiração (C-CO<sub>2</sub>), a biomassa microbiana, e o quociente metabólico no solo rizosférico dos cultivares de cana-de-açúcar RB867515 e SP80-1816.

## Material e métodos

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

O substrato utilizado foi o Latossolo Vermelho-Amarelo, extraído do horizonte B do perfil do solo de área sem histórico de aplicação de agrotóxicos. Para cultivo da cana-de-açúcar, utilizaram-se vasos de PVC de coloração preta, preenchidos com 15,0 L de substrato (solo + fertilizante), com o interior revestido por filme de polietileno. Após a correção e adubação, o substrato foi analisado física e quimicamente. A classe textural foi argilo arenosa e apresentou pH em água de 5,1, CTC (T), CTC (t), H + Al, Ca e Mg de 9,89; 5,93; 3,96; 4,91; e 0,6 cmolc dm, respectivamente; P e K, respectivamente de 40,0 e 480 mg dm<sup>-3</sup>; Prem de 40 mg L<sup>-1</sup>; e 2,1 dag kg<sup>-1</sup> de matéria orgânica. O material propagativo de cana-de-açúcar constituiu-se de fragmentos de colmos (tolete contendo uma gema) dos cultivares RB867515 e SP80-1816, sendo plantados dois toletes de cada genótipo por vaso.

O experimento foi instalado no delineamento de blocos casualizados com três repetições. Cada unidade experimental constou de um vaso plástico contendo 15,0 L de substrato. Os tratamentos foram alocados em esquema fatorial 2 X 8, sendo o primeiro fator representado pelos cultivares RB867515 e SP80-1816 e o segundo pelos herbicidas tembotrione (Soberan<sup>®</sup> - 200 mL ha<sup>-1</sup>); MSMA (Volcane<sup>®</sup> - 3 L ha<sup>-1</sup>); diuron + hexazinone (Velpar K WG<sup>®</sup> - 2,0 kg ha<sup>-1</sup>); sulfentrazone (Boral - 1,2 L ha<sup>-1</sup>); trifloxysulfuron-sodium (Envoke<sup>®</sup> - 30,0 g ha<sup>-1</sup> + Sulfatante Aureo<sup>®</sup> 1,0 L ha<sup>-1</sup>); tebutiuron (Combine 500 SC<sup>®</sup> - 2,0 kg ha<sup>-1</sup>); clomazone (Gamiit<sup>®</sup> - 3 L ha<sup>-1</sup>); e uma testemunha sem aplicação de herbicidas.

A aplicação dos herbicidas foi realizada quando as plantas se encontravam com três a quatro folhas completamente expandidas. Para isso, utilizou-se pulverizador costal pressurizado a CO<sub>2</sub>, munido com barra de aplicação com duas pontas de pulverização da série TT 110.02, espaçadas de 0,5 m, calibrado para aplicar 150 L ha<sup>-1</sup> de calda.

Aos 45 dias após a aplicação dos herbicidas (DAH), foram retiradas amostras de solo rizosférico das plantas para avaliação da atividade microbiana do solo. Para a coleta do solo rizosférico, as plantas foram arrancadas e submetidas à agitação. O solo remanescente no sistema radicular foi coletado para análise da atividade microbiana. Com essas amostras,

estimaram-se a taxa respiratória (C-CO<sub>2</sub>), o carbono da biomassa microbiana (CBM) e o quociente metabólico (qCO<sub>2</sub>) do solo. A umidade do solo foi determinada para posterior conversão dos dados obtidos em base solo seco. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e mantidas sob refrigeração durante o transporte e posterior armazenamento em laboratório. As amostras, após serem peneiradas (2 mm) e tiveram determinados o teor de água e o equivalente umidade, foram pesadas (150,0 g) e incubadas em frascos hermeticamente fechados e mantidos à temperatura entre 23 e 25 °C por 15 dias, com umidade de 70% da capacidade de campo do solo.

A respiração microbiana foi estimada a partir da quantidade de CO<sub>2</sub> evoluído das amostras de solo, o qual foi capturado em frascos com 100 mL de NaOH (0,25 mol L<sup>-1</sup>), em sistema contínuo de fluxo de ar isento de CO<sub>2</sub>. Em seguida, procedeu-se à titulação do NaOH com HCl (0,25 mol L<sup>-1</sup>), em que o excesso de NaOH que não reagiu com o CO<sub>2</sub> evoluído foi quantificado. Após a avaliação determinou-se o carbono da biomassa microbiana (CBM) pelo método descrito por Vance et al. (1987), utilizando-se, em lugar do clorofórmio (fumigação), o forno de microondas (irradiação) (Islam & Weil, 1998). O quociente metabólico (qCO<sub>2</sub>) foi determinado pela relação entre o CO<sub>2</sub> acumulado e o CBM.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância. Sendo o valor de F significativo, aplicou-se o teste de Scott Knott comparando somente o fator herbicida, pois devido às diferenças na interação plantas-microrganismos dos cultivares não se justifica a comparação entre esses. Todos os testes foram efetuados a 5% de probabilidade de significância.

## Resultados e Discussão

Analisando o efeito dos herbicidas na respiração do solo rizosférico de cada cultivar, observou-se que no cultivar RB867515, os solos tratados com os herbicidas apresentaram redução do C-CO<sub>2</sub> com exceção do solo tratado com trifloxysulfuron-sodium que apresentou comportamento semelhante a testemunha. Sulfentrazone e tebotrione, foram os tratamentos que causaram menor C-CO<sub>2</sub>, com redução média de 52,72%, em relação a testemunha. Esses herbicidas podem provavelmente ter causado toxicidade a algumas classes de microrganismos, ocasionando a redução populacional desses, e conseqüentemente, reduzindo a respiração população microbiana. Porém, qualquer tipo de conclusão tomada apenas por essa variável pode ser precipitada, tendo em vista que a menor evolução de C-CO<sub>2</sub> também pode ser devido a maior estabilidade desses microrganismos. No cultivar SP80-1816 todos os herbicidas estimularam a respiração dos solos quando comparados a testemunha, exceto diuron + hexazinone. Esses resultados indicam que provavelmente esteja ocorrendo uma possível metabolização destes herbicidas pela microbiota do solo, provocando desta forma maior evolução de C-CO<sub>2</sub>. Outra explicação possível poderia ser o fato dos herbicidas estarem causando estresse a comunidade microbiana, elevando dessa forma sua atividade respiratória. Os herbicidas tembotrione, tebuthiuron e sulfentrazone, foram os que ocasionaram maior C-CO<sub>2</sub> do solo no cultivar SP80-1816 (Tabela 1).

Tabela 1. Respiração microbiana (C-CO<sub>2</sub>) em solos tratados com herbicidas aos 45 dias após a aplicação dos herbicidas (DAH). Viçosa-MG, 2009.

Tratamento	Cultivares	
	RB867515	SP80-1816
	----- C-CO <sub>2</sub> (µg g <sup>-1</sup> de solo seco) -----	
Tebotrione	121,24 d <sup>1</sup>	314,36 a
MSMA	179,91 c	189,69 de
Diuron + Hexazinone	209,24 bc	162,8 e
Sulfentrazone	150,58 cd	282,58 ab
Trifloxysulfuron-sodium	245,91 ab	243,47 bc
Tebuthiuron	211,69 bc	294,80 ab
Clomazone	192,13 bc	277,69 ab
Testemunha	287,47 a	216,58 cd
CV (%)	11,74	

<sup>1</sup> Médias seguidas pela primeira letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Analisando os efeitos dos herbicidas sobre o CBM do cultivar RB867515, observou-se que o MSMA foi o tratamento que apresentou maior valor para esta variável, indicando, dessa forma uma possível capacidade de metabolização deste produto pela população microbiana em fontes de carbono favorecendo o aumento do CBM (Tabela 2). Diuron + hexazinone e trifloxysulfuron-sodium ocasionaram menor valor de CBM do que a testemunha, ou seja, possivelmente esses herbicidas exerceram efeito tóxico sobre a comunidade microbiana desse cultivar provocando a redução dessa variável. Uma possível causa da agressividade do trifloxysulfuron-sodium aos microrganismos pode ser atribuída ao seu mecanismo de ação, o qual é inibidor da enzima acetolactato sintase (ALS), essencial para a sobrevivência de alguns microrganismos do solo.

Esse efeito redutivo do CBM do solo devido à presença do diuron + hexazinone, pode ser considerado surpreendente pelo fato de esses herbicidas serem inibidores do fotossistema II e da maioria dos microrganismos do solo não serem fotoautotróficos, ou seja, não apresentar capacidade de fixar CO<sub>2</sub> atmosférico. Possivelmente a intoxicação dos microrganismos tenha ocorrido por alguns aditivos presentes na formulação comercial. Com relação ao cultivar SP80-1816, a testemunha foi o tratamento que apresentou maior CBM, ou seja, todos os herbicidas causaram algum nível de impacto negativo sobre essa variável, ao contrário do observado no cultivar RB867515. Os herbicidas trifloxysulfuron-sodium e diuron + hexazinone foram novamente os que causaram maior efeito deletério sobre esta variável.

Tabela 2. Carbono da biomassa microbiana (CBM) em solos tratados com herbicidas aos 45 dias após a aplicação dos herbicidas (DAH). Viçosa-MG, 2009.

Tratamento	Cultivares	
	RB867515	SP80-1816
	----- CBM (µg CBM g <sup>-1</sup> de solo seco) -----	
Tembotrione	119,47 cd <sup>1</sup>	188,16 c
MSMA	393,16 a	138,95 cd
Diuron + Hexazinone	49,73 d	63,68 d
Sulfentrazone	243,16 b	179,47 c
Trifloxysulfuron-sodium	52,11 d	75,26 d
Tebuthiuron	124,21 cd	289,47 b
Clomazone	154,39 c	127,37 cd
Testemunha	174,39 c	358,95 a
CV (%)	23,28	

<sup>1</sup> Médias seguidas pela primeira letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

A relação entre o C-CO<sub>2</sub> e o CBM proporciona o denominado quociente metabólico (qCO<sub>2</sub>) proposto por Anderson & Domsch (1985) e prediz que, a medida que a biomassa microbiana se torna mais eficiente em utilizar os recursos do meio, menor C é perdido como CO<sub>2</sub> pela respiração, podendo esse ser incorporado aos tecidos microbianos. Trifloxysulfuron-sodium e diuron + hexazinone foram os herbicidas que ocasionaram maiores valores de qCO<sub>2</sub> nos microrganismos rizosféricos do cultivar RB867515, indicando que a biomassa microbiana se torna menos eficiente na presença desses produtos. Por outro lado, os outros herbicidas ocasionaram valores de qCO<sub>2</sub> menores (MSMA e sulfentrazone) e iguais (tembotrione, clomazone, tebutiuron) ao da testemunha, indicando que a estabilidade do sistema não foi afetada por estes herbicidas no período de avaliação. Analisando os efeitos dos herbicidas sobre o cultivar SP80-1816, observou-se que os herbicidas trifloxysulfuron-sodium, tembotrione, diuron + hexazinone e clomazone apresentaram maiores valores de qCO<sub>2</sub> do que a testemunha, indicando desta forma que eles submetem os microrganismos a uma condição de estresse (Tabela 3).

Tabela 3. Quociente metabólico ( $qCO_2$ ) em solos tratados com herbicidas aos 45 dias após a aplicação dos herbicidas (DAH). Viçosa-MG, 2009.

Tratamento	Cultivares	
	RB867515	SP80-1816
	---- $qCO_2$ ( $\mu g\ C-CO_2\ g^{-1}\ \mu g\ CBM\ d^{-1}$ )---	
Tembotrione	1,02 bc <sup>1</sup>	1,83 bcd
MSMA	0,47 c	1,41 cde
Diuron + Hexazinona	4,25 a	2,69 b
Sulfentrazone	0,64 c	1,60 cde
Trifloxysulfuron-sodium	4,78 a	3,61 a
Tebuthiuron	1,72 b	1,11 de
Clomazone	1,29 bc	2,22 bc
Testemunha	1,67 b	0,61 e
CV (%)	23,32	

<sup>1</sup> Médias seguidas pela primeira letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Conclui-se que os microrganismos rizosféricos do cultivar SP80-1816 foram os que apresentaram maior sensibilidade aos herbicidas testados. O trifloxysulfurom-sodium e diuron + hexazinone foram os herbicidas que proporcionaram condições mais estressantes para a microbiota de ambos cultivares, tendo em vista os maiores valores de  $qCO_2$  do solo.

### Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro.

### Literatura citada

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

CONAB - **Companhia Nacional de Abastecimento**. Disponível em: < <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/3lev-cana.pdf>>. Acesso em: 11/12/2009.

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.

MATSUOKA, S.; FERRO, J.; ARRUDA, P. The Brazilian experience of sugarcane ethanol industry. **In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant**, v.45, p.372-385, 2009.

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

SINDAG – **Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola**. Disponível em: < [www.sindag.com.br/conexao/antiores/conexao5\\_mar08.pdf](http://www.sindag.com.br/conexao/antiores/conexao5_mar08.pdf)>. Acesso em: 11/12/2009.

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**. v. II (2002) – Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 195-276, 2002.

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