

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

**DESEMPENHO DE SOJA TRANSGÊNICA AO
GLIFOSATO E SEU EFEITO NA NODULAÇÃO E
PRODUTIVIDADE DA CULTURA**

ALLAN MICHEL PEREIRA CORREIA

**DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2013**

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

**DESEMPENHO DE SOJA TRANSGÊNICA AO
GLIFOSATO E SEU EFEITO NA NODULAÇÃO E
PRODUTIVIDADE DA CULTURA**

ALLAN MICHEL PEREIRA CORREIA

**DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2013**

DESEMPENHO DE SOJA TRANSGÊNICA AO GLIFOSATO E SEU EFEITO NA NODULAÇÃO E PRODUTIVIDADE DA CULTURA

ALLAN MICHEL PEREIRA CORREIA
Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof^a Dr^a MARLENE ESTEVÃO MARCHETTI
Co-orientador: Dr. Fábio Martins Mercante

Dissertação apresentada à Universidade
Federal da Grande Dourados, como parte
das exigências do Programa de Pós-
graduação em Agronomia – Produção
Vegetal para obtenção do título de Mestre

Dourados
Mato Grosso do Sul
2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da UFGD, Dourados, MS, Brasil

CS24d **Correia, Allan Michel Pereira.**
Desempenho de soja transgênica ao glifosato e seu
efeito na nodulação e produtividade da cultura / Allan
Michel Pereira Correia – Dourados-MS : UFGD, 2013.
62 f.

Orientadora: Profa. Dra. Marlene Estevão Marchetti.
Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade
Federal da Grande Dourados.

1. Soja transgênica – Produção. 2. Herbicidas. I.
Marchetti, Marlene Estevão. II. Título.

CDD: 633.34

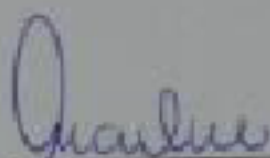
DESEMPENHO DE SOJA TRANSGÊNICA AO GLIFOSATO E SEU EFEITO NA NODULAÇÃO E PRODUTIVIDADE DA CULTURA

por

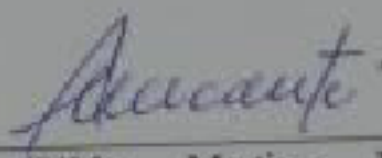
ALLAN MICHEL PEREIRA CORREIA

Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título
de MESTRE EM AGRONOMIA

Aprovado em: 18 / 03 / 2013



Prof.^a Dr.^a Marlene Estevão (UFGD)
(Orientador)



Dr. Fábio Martins Mercante
Embrapa Agropecuária Oeste
(Co-orientador)

Prof. Dr. Anísio da Silva Nunes
(ANHANGUERA)

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais Emanuel Correia Neto e Márcia Aparecida Pereira
Correia, pelo apoio e compreensão.*

AGRADECIMENTOS

À Deus, a quem eu sirvo e amo acima de tudo.

À Universidade Federal da Grande Dourados, pela formação acadêmica e na Pós-graduação, Mestrado em Produção Vegetal.

A professora Dr.^a Marlene Estevão Marchetti, pela amizade e orientação durante a graduação e pós-graduação.

Ao pesquisador Dr. Fábio Martins Mercante, pela participação e colaboração na co-orientação.

Aos colegas e funcionários, pela ajuda nos trabalhos de campo e laboratório.

Aos proprietários da Fazenda Boa Vista, Sr. Anísio Cardoso de Sá e Sr. Otávio Aparecido de Sá, por ter cedido uma área para a instalação da pesquisa a campo.

Ao meu tio Márcio Correia pelo acompanhamento e colaboração no desenvolvimento da pesquisa.

BIOGRAFIA

Allan Michel Pereira Correia, filho de Emanuel Correia Neto e Márcia Aparecida Pereira Correia, nasceu em 12 de novembro de 1987, em Tupã-SP.

Ingressou no curso de Agronomia em 2006, na Universidade Federal da Grande Dourados, obtendo o título de Engenheiro Agrônomo, em 2010.

Ingressou na Pós-graduação em Agronomia, área de concentração de Produção Vegetal, nível de mestrado, em 2011, na Universidade Federal da Grande Dourados.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	xi
GENERAL ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
Referências Bibliográficas	4
CAPÍTULO 1. RESPOSTA DA CULTURA DA SOJA TRANSGÊNICA AO GLIFOSATO, EM CASA DE VEGETAÇÃO.....	6
1.1 Resumo.....	6
1.2 Abstract	6
1.3 Introdução	7
1.4 Material e Métodos	10
1.5 Resultados e Discussão	13
1.6 Conclusões	20
1.7 Referências Bibliográficas	21
CAPÍTULO 2. RESPOSTA DA CULTURA DA SOJA TRANSGÊNICA AO GLIFOSATO, EM DOIS TIPOS DE SOLO	24
2.1 Resumo.....	24
2.2 Abstract	25
2.3 Introdução	26
2.4 Material e Métodos	28
2.5 Resultados e Discussão	33
2.6 Conclusão.....	43
2.7 Referências Bibliográficas	44
5. APÊNDICES	48

LISTA DE QUADROS

CAPÍTULO 1. APLICAÇÃO DE GLIFOSATO E SEU EFEITO NA NODULAÇÃO DE SOJA TRANSGÊNICA.....	5
QUADRO 1. Características química e granulométrica do solo utilizado no experimento conduzido em casa de vegetação	10
QUADRO 2. Nutrientes, concentrações requeridas, fontes e quantidades das mesmas, utilizadas na adubação básica do solo, em experimento conduzido em casa de vegetação	11
QUADRO 3. Correlação de Pearson entre número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da raiz, massa seca da parte aérea e N da parte aérea. UFGD, Dourados-MS, 2012	18
 CAPÍTULO 2. RESPOSTA DA CULTURA DA SOJA TRANSGÊNICA AO GLIFOSATO, EM DOIS TIPOS DE SOLO.....	 24
QUADRO 1. Características química e granulométrica do solo utilizado no experimento em Dourados-MS e Rinópolis-SP, 2012.....	28
QUADRO 2. Correlação de Pearson entre número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea e N da parte aérea, massa de mil grãos e produtividade da soja, em Dourados-MS. UFGD, Dourados-MS, 2012.....	39
QUADRO 3. Correlação de Pearson entre número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea, N da parte aérea, massa de 1000 grãos e produtividade de soja, em Rinópolis-SP. UFGD, Dourados-MS, 2012.....	41

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1. APLICAÇÃO DE GLIFOSATO E SEU EFEITO NA NODULAÇÃO DE SOJA TRANSGÊNICA.....	5
FIGURA 1. Massa seca da parte aérea de plantas de soja, cultivar BRS 295 RR, no estágio fenológico R2, em relação às diferentes doses de glifosato. UFGD, Dourados-MS, 2012.....	13
FIGURA 2. Massa seca da raiz de plantas de soja, cultivar BRS 295 RR, no estágio fenológico R2, em relação às diferentes doses de glifosato. UFGD, Dourados-MS, 2012	14
FIGURA 3. Massa seca de nódulos radiculares de soja, cultivar BRS 295 RR, no estágio fenológico R2, em relação às diferentes doses de glifosato. UFGD, Dourados-MS, 2012.....	15
FIGURA 4. Número de nódulos de soja, cultivar BRS 295 RR, no estágio fenológico R2, em relação às diferentes doses de glifosato. UFGD, Dourados-MS, 2012	16
FIGURA 5. Nitrogênio da parte aérea de plantas de soja, cultivar BRS 295 RR, no estágio fenológico R2, em relação às diferentes doses de glifosato. UFGD, Dourados-MS, 2012.....	17
FIGURA 6. Correlação de Pearson entre o número de nódulos x massa seca de nódulos (A) e massa seca de raiz x massa seca da parte aérea (B). UFGD, Dourados-MS, 2012.....	18
CAPÍTULO 2. RESPOSTA DA CULTURA DA SOJA TRANSGÊNICA AO GLIFOSATO, EM DOIS TIPOS DE SOLO.....	24
FIGURA 1. Massa seca da parte aérea de plantas de soja cv. BRS 295 RR' e SYN 9070 RR', no estágio fenológico R2, em Dourados-MS (A) e Rinópolis-SP (B), respectivamente, em relação às diferentes doses de glifosato, na safra 2011/12. UFGD, Dourados-MS, 2012.....	33
FIGURA 2. Número de nódulos de plantas de soja cv. BRS 295 RR' e SYN 9070 RR', no estágio fenológico R2, em Dourados-MS (A) e Rinópolis-SP (B), respectivamente, em relação às diferentes doses de glifosato, na safra 2011/12. UFGD, Dourados-MS, 2012.....	34
FIGURA 3. Massa seca de nódulos radiculares de soja cv. BRS 295 RR' e SYN 9070 RR', no estágio fenológico R2, em Dourados-MS (A) e Rinópolis-SP (B), respectivamente, em relação às diferentes doses de glifosato na safra 2011/12. UFGD, Dourados-MS, 2012.....	35
FIGURA 4. Nitrogênio total da parte aérea das plantas de soja cv. BRS 295 RR' e SYN 9070 RR', no estágio fenológico R2, em Dourados-MS (A) e Rinópolis-SP (B), respectivamente, em relação às diferentes doses de glifosato, na safra 2011/12. UFGD, Dourados-MS, 2012.....	36

FIGURA 5. Massa de mil grãos de soja cv. BRS 295 RR' e SYN 9070 RR', em Dourados-MS (A) e Rinópolis-SP (B), respectivamente, em relação às diferentes doses de glifosato, na safra 2011/12. UFGD, Dourados-MS, 2012	37
FIGURA 6. Produtividade de soja cv. BRS 295 RR' e SYN 9070 RR', Dourados-MS (A) e Rinópolis-SP (B), respectivamente, em relação às diferentes doses de glifosato na safra 2011/12. UFGD, Dourados-MS, 2012.....	38
FIGURA 7. Correlação de Pearson entre os número de nódulos x massa seca de nódulos (A), N parte aérea x massa seca da parte aérea (B), massa mil grãos x massa seca da parte aérea (C), N parte aérea x produtividade (D), no experimento conduzido em Dourados-MS. UFGD, Dourados-MS, 2012.	40
FIGURA 8. Correlação de Pearson entre os número de nódulos x massa seca de nódulos (A), massa seca de nódulos x massa 1000 grãos (B) e N parte aérea x massa seca da parte aérea de soja (C), em Dourados-MS. UFGD, Dourados-MS, 2012.....	41

LISTA DE APÊNDICES

- APÊNDICE A. Nome dos produtos comerciais, ingrediente ativo, dose utilizada e época de aplicação no controle de insetos e doenças em soja, na safra 2011/12, para a cultivar BRS 295 RR, no campo experimental da Embrapa Agropecuária Oeste, em Dourados-MS 48
- APÊNDICE B. Nome dos produtos comerciais, ingrediente ativo, dose utilizada e época de aplicação no controle de insetos e doenças em soja, na safra 2011/12, em Rinópolis-SP, para a cultivar SYN 9070 RR..... 48

RESUMO GERAL

CORREIA, A.M.P. **Desempenho de soja transgênica ao glifosato e seu efeito na nodulação e produtividade da cultura.** Março de 2013. 61 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS.

A intensificação do uso de herbicidas gera discussão sobre as vantagens, desvantagens técnicas e econômicas sobre esta forma de controle na presença das plantas daninhas. Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito da aplicação de doses de glifosato na nodulação de *Bradyrhizobium*, sob condições de casa de vegetação e a campo. Os trabalhos foram realizados em casa de vegetação, no campo experimental da Embrapa Agropecuária Oeste, em Dourados-MS, e em lavoura comercial no Município de Rinópolis-SP, no ano agrícola de 2011/2012. O delineamento experimental utilizado em casa de vegetação foi inteiramente ao acaso, sendo os tratamentos correspondentes a seis doses de glifosato (0; 0,96; 1,92; 2,88; 3,84 e 4,8 kg i.a. ha⁻¹), com cinco repetições. No campo, adotou-se delineamento em blocos casualizados, com as oito doses de glifosato (0; 0,96; 1,92; 2,88; 3,84 e 4,8; 5,76; 6,72 kg i.a. ha⁻¹), com seis repetições, em Dourados-MS, e seis doses (0; 0,96; 1,92; 2,88; 3,84 e 4,8 kg i.a. ha⁻¹), com quatro repetições, em Rinópolis-SP. Nas operações de aplicação de herbicida, foi utilizado um pulverizador costal pressurizado com CO₂. No estágio de pleno florescimento 45 DAE (R2), as plantas foram coletadas, lavadas com água destilada, os nódulos radiculares foram destacados das raízes e foram colocados para secar. As plantas e os nódulos radiculares foram secados em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C, até peso constante. Os sintomas visíveis de injúria foram observados nas plantas, no dia seguinte à aplicação, no experimento em casa de vegetação, com amarelecimento das folhas novas, seguido de necrose. A aplicação de glifosato nas dosagens estudadas reduziu, de forma significativa, o número de nódulos, massa seca dos nódulos, raiz, parte aérea e N da parte aérea na planta, em casa de vegetação. Essa redução se deve à interferência na nodulação, pois a toxicidade afetou a sobrevivência das bactérias diazotróficas. No campo, observou-se diferenças significativas para a massa seca dos nódulos, em ambos os locais e na massa seca da parte aérea, apenas na lavoura comercial. Com base nos resultados, observados pode-se concluir que as dosagens de glifosato utilizadas no ensaio, foram suficientes para a redução do número de nódulos radiculares, massa seca da parte aérea, raiz e conteúdo de N total da parte aérea, causando injúrias às plantas. No campo, mesmo algumas características apresentando diferenças significativas, não foram suficientes para causar prejuízo na produtividade da cultura da soja nos dois locais.

Palavras-chave: *Glycine max*; fixação biológica do nitrogênio; herbicidas.

GENERAL ABSTRACT

CORREIA, A.M.P. **Performance of transgenic soybean to glyphosate.** March 2013. 61 p. Dissertation (MSc in Crop Production) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS.

The increasing intensification of the use of herbicides generates discussion on the technical and economic advantages, disadvantages on this form of control in the presence of weeds. The objective of this work is to evaluate the effect of the application of doses of glyphosate on nodulation of *Bradyrhizobium*, under greenhouse and field. The works were carried out in a greenhouse, in the experimental field of Embrapa Agropecuária Oeste in Dourados-MS and in commercial farming in the municipality of Rinópolis-SP, in 2011/2012 agricultural year. The experimental design used in the greenhouse was entirely at random, being the treatments corresponding to six doses of glyphosate (0; 0.96; 1.92; 2.88; 3.84 and 4.8 kg a.e. ha⁻¹), with five repetitions. In the adopted design in randomized blocks, with the eight doses of glyphosate (0; 0.96; 1.92; 2.88; 3.84 and 4.8; 5.76; 6.72 kg ha⁻¹ a.e.), with six repetitions in Embrapa and six doses (0; 0.96; 1.92; 2.88; 3.84 and 4.8 kg a.e. ha⁻¹), with four repetitions in Rinópolis-SP in herbicide application was used a sprayer pressurized with costal CO₂. At the stage of full flowering (R2), the plants were collected, washed with distilled water, counted the number of nodules of plants, dried in an oven with forced air circulation at 65° C, until constant weight and then the materials were weighed to determine the dry mass of the shoot, and root nodules. The visible symptoms of injury were observed in plants, the day after the application, in the greenhouse, with yellowing of new leaves followed by necrosis. The application of glyphosate at doses studied reduced, significantly, the number of nodules, nodule dry mass, root, shoot and shoot N of the plant in the greenhouse. This reduction is due to interference in nodulation, because the toxicity affected the survival of diazotrophs. In the field, there was significant for dry weight of nodules in both places and dry weight of shoot, only differences in commercial farming. Based on the results observed can be concluded that the dosages of glyphosate used in the test were sufficient to reduce the number of root nodules, shoot dry mass, root portion and total N content of the shoot, causing injury to plants . In the field, even some characteristics with significant differences were not sufficient to cause loss in productivity of soybean in both locations.

Key-words: *Glycine max*; biological nitrogen fixation; herbicides

INTRODUÇÃO GERAL

A soja é uma das principais fontes de proteína e óleo vegetal do mundo, amplamente utilizada na alimentação humana e animal (SOUZA et al., 2010), demonstrando também um grande potencial como fonte de energia, através de bio-combustíveis. O Brasil é o segundo maior produtor mundial de grãos, atrás apenas dos Estados Unidos. O décimo levantamento de safra realizado pela CONAB (2012) estimou a produção nacional de soja em 66,37 milhões de toneladas para a safra 2011/12, em uma área de cultivo estimada em 25 milhões de hectares.

Como a cultura representa um dos elementos mais fortes na economia brasileira, transcendendo o meio rural, é importante analisar os fatores que limitam a exploração máxima do potencial produtivo da soja (superior a 4000 kg ha⁻¹). Entre esses fatores, destacam-se as plantas daninhas um dos componentes capazes de influenciar negativamente a produtividade de grãos (LAMENGO et al., 2004).

Sua interferência pode ocorrer de duas formas distintas: competição e alelopatia. As plantas competem pelos recursos do meio, principalmente água, nutrientes, luz e espaço físico, liberam substâncias alelopáticas tanto na germinação quanto no crescimento, atuam como hospedeiras de pragas e doenças comuns à cultura que interferem nas práticas de colheita (FONTES et al., 2003).

Cultivares resistentes ao glifosato vêm sendo utilizados de forma extensiva durante as últimas décadas, uma grande inovação genética na agricultura, pois possibilita uma importante redução nos custos de produção da lavoura dentro do sistema plantio direto. Além disso, a combinação das duas tecnologias também permite a semeadura de soja como segundo cultivo, em muitas áreas onde antes esse tipo de atividade não era possível, levando, assim, a uma expansão da área disponível para agricultura (MONQUERO, 2005).

O herbicida glifosato, de ação pós-emergente, pertence ao grupo químico das glicinas substituídas sendo classificado como não-seletivo e de ação sistêmica. Apresenta largo espectro de ação, o que possibilita um excelente controle de plantas daninhas anuais ou perenes, tanto de folhas largas como estreitas (GALLI e MONTEZUNA, 2005), utilizado no Brasil há 30 anos e disponibilizado no mercado com diferentes formulações.

A soja RR (Roundup Ready) tem a característica de resistência ao herbicida não-seletivo, pois as enzimas 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase

(EPSPS) catalisam a transferência do grupo enolpiruvil do fosfoenol piruvato (PEP) para o 5-hidroxil de chiquimato-3-fosfato (S3P), produzindo assim fosfato inorgânico e 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato, sendo o último produto da via do ácido chiquímico. O ácido chiquímico é um substrato para a biossíntese dos aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptofano e tirosina) e de muitos metabólitos secundários, tais como o tetrahydrofolato, ubiquinona e a vitamina K (ALIBHAI e STALLINGS, 2001; REDDY et al., 2004).

As plantas de soja RR não são afetadas quando pulverizadas com esse herbicida, em virtude da ação continuada e sistemática dessa enzima alternativa, insensível ao produto. No entanto, a fixação biológica do N₂ é prejudicada pela aplicação do glifosato, pois o *Bradyrhizobium* tem a EPSPS suscetível ao glifosato (ZABLOTOWICZ e REDDY, 2007).

Reddy et al. (2000), avaliando o efeito do glifosato no crescimento, teor de clorofila, nodulação e teor de leghemoglobina dos nódulos de plantas de soja RR e não RR, constataram que a aplicação de glifosato promove efeito severo na redução do número de nódulos, massa dos nódulos, teor de leghemoglobina e conteúdo total de N de planta.

Grande parte desse efeito em plantas de soja transgênica depende dos níveis de ácido aminometilfosfônico (AMPA), composto secundário oriundo da degradação do glifosato; dose de glifosato utilizada; genótipo da planta e condições climáticas, formados no interior da planta, podendo prejudicar tanto a nodulação como a fixação de nitrogênio, teor de clorofila e massa seca de raiz (ZABLOTOWICZ e REDDY, 2007).

O glifosato apresenta alta capacidade de sorção pelo solo, sendo que vários são os mecanismos que explicam esse fenômeno, tais como a troca de ligantes com óxidos de Fe e Al, ligações de hidrogênio com as substâncias húmicas, competição com os íons fosfato pelos mesmos sítios de adsorção existentes no solo (PRATA et al., 2003). Quanto maior o tamanho das moléculas das substâncias húmicas, maior o número de ligações de hidrogênio (PICCOLO et al., 1996).

Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito da aplicação de doses de glifosato no desempenho de soja transgênica pela inoculação com *Bradyrhizobium* na safra 2011/12, quanto a nodulação e produtividade em diferentes condições edafoclimáticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALIBHAI, M. F.; STALLINGS, W. C. Closing down on glyphosate inhibition – with a new structure for drug discovery. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Chesterfield, v. 98, n. 6, p. 2944-2946, 2001.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos, safra 2011/2012 décimo levantamento**. Brasília: CONAB, 2012. 29p.

FONTES, J. R. A.; SHIRATSUCHI, L. S.; NEVES, J. L.; JÚLIO, L.; FILHO, J. S. **Manejo integrado de plantas daninhas**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2003. 48p.

GALLI, A. J. B.; MONTEZUMA, M. C. **Alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na agricultura**. São Paulo: Monsanto do Brasil, 2005. 60 p.

LAMENGO, F. P.; FLECK, N. G.; BIANCHI, M. A; SCHAEGLER, C. E. Tolerância à interferência de plantas competidoras e habilidade de supressão por genótipos de soja: II. Resposta de variáveis de produtividade. **Planta daninha**, Viçosa, v. 22, n. 4, p. 491-498, 2004.

MONQUERO, P. A. Plantas transgênicas resistentes aos herbicidas: situação e perspectivas. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 4, p. 517-531, 2005.

PRATA, F.; CARDINALI; V. C. B.; LAVORENTI, A; TORNISIELO, V. L.; REGITANO, J. B. Glyphosate sorption and desorption in soils with distinct phosphorus levels. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 1, p. 175-180, 2003.

PICCOLO, A.; CELANO, G.; CONTE, P. Adsorption of glyphosate by humic substances. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 44, p. 2442-2446, 1996.

SOUZA, M. O.; MARQUES, D. V.; SOUZA, G. S.; MARRA, R. O complexo da soja: aspectos descritivos e previsões. **Pesquisa Operacional para o Desenvolvimento**, Rio de Janeiro, v. 2, n. 1, p. 1-86, 2010.

REDDY, K. N.; HOAGLAND, R. E., ZABLOTOWICZ, R. M.. Effect of glyphosate on growth, chlorophyll, and nodulation in glyphosate-resistant and susceptible soybean (*Glycine max*) varieties. **Journal of New Seeds**, Londres, v. 2, n. 3, p. 37-52, 2000.

REDDY, K. N.; RIMANDO, A. M.; DUKE, S. Aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate, causes injury in glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 52, p. 5139-5143, 2004.

ZABLOTOWICZ, R. M.; REDDY, K. N. Nitrogenase activity, nitrogen content, and yield responses to glyphosate in glyphosate-resistant soybean. **Crop Protection**, Stoneville, v. 26, p. 370-376, 2007.

CAPÍTULO 1: APLICAÇÃO DE GLIFOSATO E SEU EFEITO NA NODULAÇÃO DE SOJA TRANSGÊNICA

RESUMO

A aplicação do glifosato na soja resistente a este herbicida pode causar prejuízos à simbiose com o rizóbio. Este trabalho teve o objetivo de avaliar o efeito da aplicação de doses de glifosato, na nodulação de *Bradyrhizobium* sob condições controladas. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, sendo os tratamentos com seis doses de glifosato (0; 0,96; 1,92; 2,88; 3,84 e 4,8 kg i.a. ha⁻¹), com cinco repetições. Os vasos plásticos de 5 dm³ foram enchidos com solo previamente peneirado. Foi utilizado um pulverizador costal pressurizado com CO₂, para aplicação do herbicida. No estágio de pleno florescimento (R2), as plantas foram cortadas rente ao solo, lavadas com água destilada, contabilizados os nódulos radiculares, secados em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C, até peso constante, em seguida, os materiais foram pesados para a determinação da massa seca da parte aérea, dos nódulos e raiz. A aplicação de glifosato nas dosagens estudadas ocasionou reduções lineares no número de nódulos, massa seca dos nódulos, raiz, parte aérea e N da parte aérea na planta. Essa redução se deve à interferência na nodulação, pois a toxicidade afetou a sobrevivência das bactérias diazotróficas. Com base nos resultados observados pode-se concluir que as dosagens de glifosato utilizadas no ensaio causou fitotoxidez, redução do número de nódulos radiculares, massa seca da parte aérea, raiz e conteúdo de N total da parte aérea.

Palavras-chave: *Glycine max*; fixação biológica do nitrogênio; *Bradyrhizobium* sp.; herbicidas

ABSTRACT

The application of glyphosate on soybeans resistant to this herbicide can cause damage to symbiosis with the rizóbium. This work aimed to evaluate the effect of the application of doses of glyphosate, in nodulation of *Bradyrhizobium* under greenhouse conditions. The experimental design used was entirely at random, with treatments arranged in six doses of glyphosate (0; 0.96; 1.92; 2.88; 3.84 and 4.8 kg a.e. ha⁻¹), with five repetitions. Costal pressurized sprayer was used with CO₂, to application of the herbicide. At the stage of full flowering (R2), the plants were cut close to the ground, washed with distilled water, counted the number of nodules of plants, dried in an oven with forced air circulation at 65° C, until constant weight and then the materials were weighed to determine the dry mass of the shoot, and root nodules. The application of glyphosate in the dosages studied caused linear reductions in nodule number, nodule, root dry weight, shoot and N from the shoot in the plant. This application of glyphosate should possibly be influenced in a negative way in the nodules. Based on the observed results can be concluded that the dosages of glyphosate used in the assay caused phytotoxicity, reducing the number of root nodules, dry weight of shoot, root and total N content of shoots.

Key-words: *Glycine max*; biological nitrogen fixation; *Bradyrhizobium* sp.; herbicides

INTRODUÇÃO

Com a rápida difusão e utilização da soja [*Glycine max* (L.) Merr.] geneticamente modificada, resistente ao glifosato [N-(phosphonomethyl)glycine] cultivada em larga escala. Ocasionalmente um aumento considerável na utilização e no número de aplicações desse herbicida, principalmente em pós-emergência, com três a quatro pulverizações, durante o ciclo da soja, podendo repercutir de forma negativa (SERRA et al., 2011).

Investigando o potencial de transferência do glifosato, via aplicação foliar, liberado de raízes de plantas resistentes e não-resistentes para folhas de plantas suscetíveis em sistema de hidroponia e em solo, Neumann et al. (2006) observaram que o uso do herbicida, em pós-emergência, induziu o aumento de concentração de chiquimato, reduzindo o teor de clorofila das folhas.

Segundo Padgett et al. (1995), a soja transgênica apresenta esta resistência ao herbicida glifosato, devido à expressão da enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), extraído da estirpe CP4 *Agrobacterium* sp. As plantas transgênicas têm menor afinidade à ação do herbicida porque expressam a mesma capacidade da enzima de ser resistente ao glifosato, sendo tóxico aos microrganismos que realizam a fixação biológica do N₂ (FBN), pois as bactérias diazotróficas são desprovidos da resistência adquirida por meio dessa enzima, reduzindo até mesmo a quantidade desse nutriente assimilado pela planta (ZABLOTOWICZ e REDDY, 2007).

O trabalho de Jaworski (1972) cujo efeito negativo do glifosato sobre *Rhizobium japonicum* era parcialmente revertido pela adição de fenilalanina e tirosina no meio de cultura. Entretanto, Maltby et al. (2006) observaram o efeito contrário do glifosato sobre microrganismos simbiotróficos de soja e constataram que estirpes de *Bradyrhizobium* em meio de cultura, *in vitro*, apresentaram leve estímulo no crescimento em concentrações baixas do glifosato, talvez em condições controladas de laboratório, o glifosato interfere negativamente no desenvolvimento de microrganismos no solo, na fixação biológica do nitrogênio (KING et al., 2001).

O glifosato é recomendado na cultura da soja transgênica no estágio de 20 a 30 dias após a emergência, pois se aplicado antes deste período pode afetar a germinação da semente e a emergência das plântulas de soja, provocando assim, a morte das plantas (BERVALD et al., 2010).

De Maria et al. (2005), investigando os efeitos do glifosato sobre o metabolismo de proteínas, ultra-estruturas das células do mesófilo e dos nódulos de soja infectados com *Bradyrhizobium* sp., verificaram que as folhas novas e os nódulos foram os mais afetados pelas concentrações de glifosato, pois essas estruturas são como dreno para o herbicida, degradando as membranas do cloroplasto. A diminuição da FBN em soja RR pode ser atribuída diretamente à toxicidade do glifosato ou seus compostos secundários aos microrganismos (ZOBIELE et al., 2010a).

A massa seca dos nódulos é uma das características utilizada para quantificar a eficiência da fixação biológica de nitrogênio na cultura da soja (SOUZA et al., 2008). Ao avaliar a influência do glifosato sobre os microrganismos no solo, Gomez et al. (2009) constataram que doses acima das recomendadas causam redução na biomassa microbiana, sendo que após quatro dias à aplicação, quando os valores aumentam. A redução da massa seca dos nódulos pode ter sido causada, de forma indireta, pelo efeito fitotóxico do herbicida, acarretando menor produção e menor quantidade de fotoassimilados translocados e alocados aos nódulos, pois o fornecimento de fotoassimilados é essencial à formação e à manutenção da atividade da enzima nitrogenase presente nos nódulos (ARRUDA et al., 2001).

Zablotowicz e Reddy (2007) observaram redução da biomassa de raízes de soja RR com aplicação de dose de glifosato entre 20-25% quando comparadas ao controle. Outros autores também obtiveram resultados negativos, com diferentes doses de glifosato (REDDY et al., 2000; KING et al., 2001), promovendo reduções na massa da parte aérea e massa seca de raiz. Zobiolo et al. (2010b), trabalhando com aplicação de glifosato em diferentes estádios de desenvolvimento em soja RR, observaram que a aplicação antecipada (V2), foi mais afetada do que aplicações tardias (V4 e V6), havendo diminuição da massa seca de raiz.

Reddy et al. (2000), trabalhando em casa de vegetação para avaliar o efeito do glifosato no crescimento, teor de clorofila, nodulação e teor de leghemoglobina dos nódulos de plantas RR e não RR, constataram que a aplicação de glifosato promoveu efeito mais severo no número de nódulos, massa dos nódulos, teor de leghemoglobina e conteúdo total de N de planta em soja RR.

Em outro trabalho, investigando o efeito da aplicação de glifosato no metabolismo do nitrogênio e composição do grão de soja RR, Bellaloui et al. (2008), demonstraram que houve efeito na assimilação de nitrogênio pela atividade da

redutase do nitrato (RN) que influenciou a produção de folhas, nódulos e raízes). Em experimento com produtividade de milho RR, também houve redução da atividade da redutase do nitrato, entre 5-19%, e quando se aplicava duas vezes a dose de glifosato, esses valores variaram entre 8-42%, evidenciando que a concentração da dose de glifosato reduz a atividade dessa enzima (REDDY et al., 2010).

Sendo a soja uma planta que armazena no cotilédone grande quantidade de reserva proteica, se não houver simbiose, há diminuição do aporte de nitrogênio para a planta, consequentemente diminuindo a síntese de proteínas; uma menor síntese de aminoácidos pode levar a um potencial fisiológico inferior, em decorrência da má formação das reservas da semente, prejudicando a germinação e o vigor (ALBRECHT e ÁVILLA, 2010).

Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito da aplicação de doses de glifosato, na nodulação de soja transgênica, em condições controladas.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido sob condições controladas de casa de vegetação, utilizou-se como substrato, material de um LATOSSOLO VERMELHO Distroférico, típico, de textura muito argilosa (EMBRAPA, 2006), coletado na camada de 0–20 cm. O solo foi seco ao ar, destorroado e passado em peneira com malha de 2 mm, para a determinação das características química e granulométrica, segundo Claessen (1997) (Quadro 1).

QUADRO 1. Características química e granulométrica do solo utilizado no experimento conduzido em casa de vegetação.

pH	M.O	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	T	V	m
CaCl ₂	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	-----cmol _c dm ⁻³ -----				-----			----%----	
5,4	48	11,5	0,35	11,7	3,3	0,0	4,5	15,35	19,8	77	0
Areia				Silte				Argila			
-----				g kg ⁻¹ -----				-----			
138				165				697			

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, sendo que os tratamentos consistiram de seis doses de glifosato (0; 0,96; 1,92; 2,88; 3,84 e 4,8 kg i.a. ha⁻¹), com cinco repetições. A cultivar utilizada no experimento foi a BRS 295 RR.

Foram utilizados vasos com capacidade de 5 dm³ TFSA e após o enchimento dos vasos realizou-se a adubação com uma solução nutritiva modificada de Norris et al. (Quadro 2).

QUADRO 2. Nutrientes, concentrações requeridas, fontes e quantidades das mesmas, utilizadas na adubação básica do solo, em experimento conduzido em casa de vegetação.

Nutriente		
Tipo	Concentração (g L ⁻¹)	Fonte
P	0,05	Fosfato de potássio Dibásico Anidro - K ₂ HPO ₄ (18,4%P)
P	0,1	Fosfato monopotássico - KH ₂ PO ₄ (11,5%P)
K	0,15	Cloreto de potássio - KCl (49,8%K)
Ca	0,34	Sulfato de cálcio - CaSO ₄ .2H ₂ O (18%Ca)
Mg	0,49	Sulfato de magnésio - MgSO ₄ .7H ₂ O (9,5%Mg)
B	0,04	Ácido bórico - H ₃ BO ₃ (17%B)
Cu	0,001	Sulfato de cobre* - CuSO ₄ .5H ₂ O (25%Cu e 13%S)
Fe	0,12	Sulfato ferroso* - FeSO ₄ .7H ₂ O (19%Fe e 12%S)
Mn	0,01	Sulfato de manganês* - MnSO ₄ .2H ₂ O (27,8 %Mn)
Mo	0,001	Molibdato de amônio* - (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O (39%Mo)
Zn	0,44	Sulfato de zinco* - ZnSO ₄ .7H ₂ O (21%Zn e 11%S)

Norris et al. (1964), modificado.

* Reagentes p.a.

A inoculação das sementes foi realizada 30 minutos antes da semeadura, com inoculante à base de turfa, contendo as estirpes de *Bradyrhizobium elkanii* na dose 250 g 100 kg⁻¹ de semente com concentração bacteriana de 5,84 x 10⁸ unidades formadoras de colônias (UFC) por mL.

Foram semeadas cinco sementes por vaso, que foram previamente desinfestadas com hipoclorito; sete dias após a emergência das plantas foi realizado o desbaste, deixando-se duas plantas por vaso, uniformes e equidistantes.

Os vasos foram mantidos úmidos, por meio de irrigação com solução nutritiva para manter a saturação de água próxima à 70% da capacidade de campo. O volume de água aplicado foi estimado com base na densidade aparente (Dap) e no volume de poros (Vp) (EMBRAPA, 1997).

Os vasos foram colocados no exterior da estufa para a aplicação, tendo os tratamentos referentes a aplicação com as doses de glifosato comercialmente

formulado com o sal de isopropilamina de glifosato (480 g i.a L⁻¹). Na operação de aplicação de herbicida no experimento, foi utilizado um pulverizador costal pressurizado com CO₂, à pressão constante de 2,5 kgf cm⁻², acoplado a uma barra de pulverização, composta de quatro bicos tipo cone, trabalhando com um volume de calda de equivalente a 200 L ha⁻¹. As aplicações dos tratamentos foram realizadas no estágio fenológico V2 (15 DAE), após aplicação dos tratamentos; durante um período de 18 dias foi observada a ocorrência de fitotoxicidade.

No estágio de pleno florescimento aos 45 DAE (R2), as plantas foram cortadas rente ao solo, separando-se parte aérea e raízes, que foram lavadas em água destilada sobre uma peneira. Após a lavagem, foram destacados os nódulos das raízes e contados os nódulos das plantas. Após a contagem, a parte aérea, raiz e os nódulos foram secados em estufa com circulação forçada de ar, a 65 °C, até peso constante e, em seguida, os materiais foram pesados para a determinação da massa seca da parte aérea, dos nódulos e raiz. As partes aéreas foram moídas em moinho tipo Willey e acondicionada em sacos, para a determinação dos teores de N da parte aérea. Para tanto, as amostras foram submetidas à digestão sulfúrica (método micro Kjeldahl), segundo metodologia proposta por Malavolta et al. (1997).

Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando o programa estatístico R e os pressupostos do modelo foram confirmados pelos testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e de homogeneidade de variâncias (Hartley) (R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING, 2010). Quando os valores de F foram significativos (p<0,05), realizou-se análise de regressão para as doses, sendo as equações ajustadas, por meio do programa Microsoft Office Excel (2007), sendo também realizada a análise de correlação de Pearson entre as avaliações que apresentaram significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As diferenças entre os tratamentos encontrados neste experimento foram estatisticamente significativos, a 5% de probabilidade, para todas as características avaliadas (massa seca da parte aérea, raiz, número e massa seca de nódulos e N da parte aérea), apresentando reduções lineares à medida que se aumentavam as doses de glifosato nas plantas de soja transgênica cv. 'BRS 295 RR'. Em relação às correlações, houve efeito significativo ($p < 0,05$) nas correlações para números de nódulos x massa seca dos nódulos e massa seca de raiz x massa seca da parte aérea (Quadro 3).

A massa seca da parte aérea de reduziu de 4,53 para 3,71 g planta⁻¹, que para cada kg i.a de glifosato ha⁻¹, houve redução de 0,1654 g, representando 18,10% de redução da massa seca da parte aérea, (Figura 1). Esta redução pode ter sido ocasionada pelas injúrias que apareceram no dia seguinte da aplicação de glifosato e permaneceram por 18 dias.

Serra et al. (2011) relataram um estresse fisiológico sofrido pelas plantas, logo após a aplicação de glifosato e, mesmo se recuperando, ainda assim provocou menor produção de massa seca da parte aérea. Bellaloui et al. (2006) também observaram sintomas de injúria, porém, em todos os estádios de desenvolvimento das plantas. De acordo com Reddy e Zablotowicz (2003), as injúrias provocadas nas plantas são causadas pela porção de sal presente na formulação comercial do herbicida e não pelo herbicida em si.

Segundo Reddy et al. (2004) e Duke et al. (2011), uma das hipóteses para essa redução na massa seca da parte aérea seria pelo processo de degradação do herbicida dentro da planta, que resulta na formação do ácido aminometilfosfônico, (AMPA), um composto secundário. A formação de AMPA no interior da planta depende da dose de glifosato utilizada, do genótipo da planta e das condições ambientais (ZABLOTOWICZ e REDDY et al., 2007).

Esse efeito sobre a massa seca da parte aérea também foi relatado por Zobiole et al. (2010c), em trabalhos onde visavam avaliar a influência do glifosato na soja RR submetidas a uma dose de glifosato de 1,2 kg i.a. ha⁻¹, aplicada no estádio V4. A diminuição foi atribuída ao limitado período de tempo que a cv. 'BRS 242 RR' dispôs para recuperar-se, uma vez que pertence ao mesmo grupo de maturação de ciclo precoce da cv. 'BRS 295 RR'.

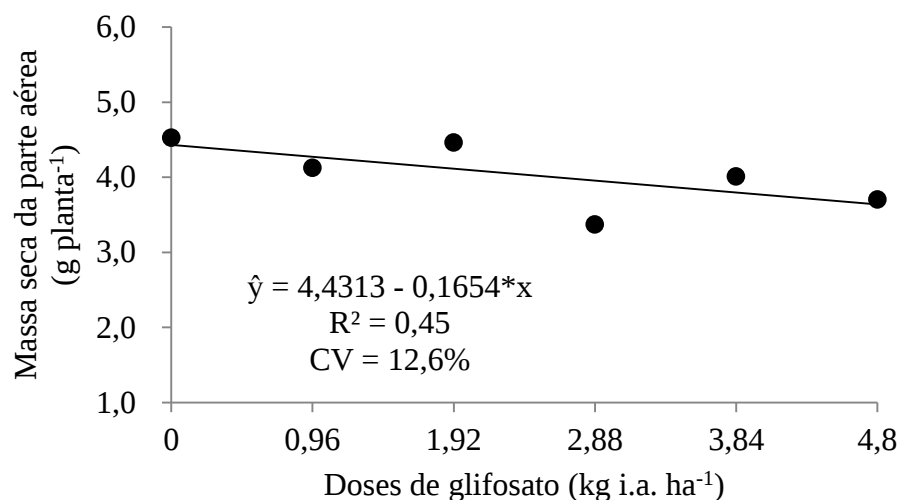


FIGURA 1. Massa seca da parte aérea de plantas de soja, cultivar BRS 295 RR, no estágio fenológico R2, em relação às diferentes doses de glifosato. UFGD, Dourados-MS, 2012.

A massa seca da raiz também diminuiu com as aplicações das crescentes doses de glifosato, apresentando valor de 2,41 g planta⁻¹ na ausência de glifosato e diminuindo até 1,57 g planta⁻¹ na dose de 4,8 kg i.a. ha⁻¹, redução de 0,1432 g de massa seca da raiz para cada kg i.a. ha⁻¹, representando uma redução da massa seca da raiz de 34,85% (Figura 2). O glifosato é rapidamente translocado para os tecidos jovens de crescimento de raízes e tecidos onde podem acumular em concentrações milimolares, após a aplicação foliar (FENG et al., 1999; HETHERINGTON et al., 1999).

Zablotowicz e Reddy (2007), em trabalho realizado durante 2 anos, observaram, no primeiro ano, redução da biomassa de raízes de soja RR, com aplicação da dose de 2,52 kg i.a. ha⁻¹ entre 20-25%, quando comparadas ao controle; já no segundo ano, não foi constatado o mesmo resultado, tendo as condições mais favoráveis às plantas que se recuperaram desse efeito negativo.

Outros estudos também verificaram resultados similares, mas com doses de glifosato variando de 1,68 kg i.a. ha⁻¹ (REDDY et al., 2000) e 6,3 kg i.a. ha⁻¹ (KING et al., 2001), reduzindo a massa da parte aérea e massa seca de raiz. Neste experimento, as partes aéreas e do sistema radicular apresentaram correlação positiva entre essas características (Figura 6 e Quadro 3), o que possivelmente pode ser

explicado pelas reservas nitrogenadas nas raízes contribuírem na reposição desse nitrogênio nas folhas após os sintomas de injúrias ocasionados pelas aplicações de glifosato (LEMAIRE et al.,1992), ou também pelo fato do sistema radicular mais desenvolvido explorar uma maior área, nutrindo melhor a planta e desenvolvendo a parte aérea.

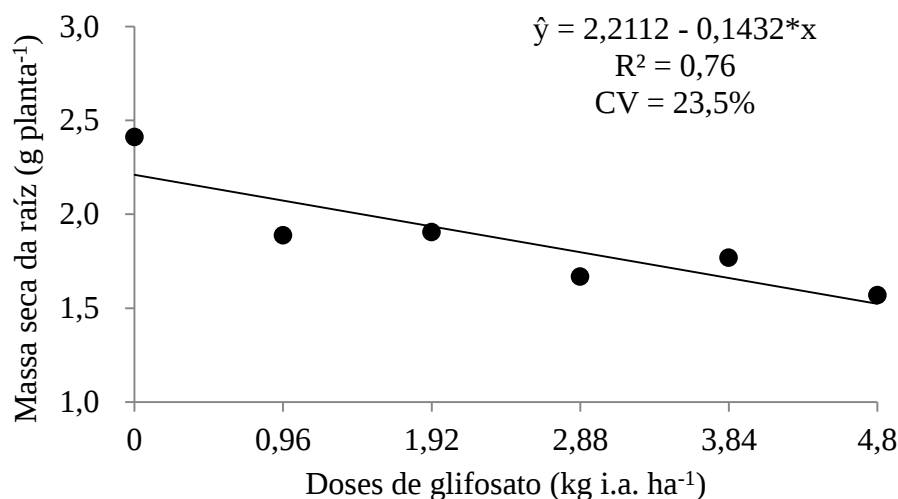


FIGURA 2. Massa seca da raiz de plantas de soja, cultivar BRS 295 RR, no estágio fenológico R2, em relação às diferentes doses de glifosato. UFGD, Dourados-MS, 2012.

A massa seca dos nódulos apresentou correlação positiva ($r = 0,939$) com o número de nódulos (Quadro 3) e representa uma das características utilizada para quantificar a eficiência da fixação biológica de nitrogênio na cultura da soja (SOUZA et al., 2008). A massa seca de nódulos diminuiu de 352,0 mg planta⁻¹ até 256,0 mg planta⁻¹, redução de 19,583 g de massa seca da raiz para cada kg i.a. ha⁻¹, decresceu 27,27% (Figura 3).

Ao avaliarem a influência do glifosato biomassa microbiana do solo, Gomez et al. (2009) constataram que doses acima das usualmente utilizadas no campo causaram efeito inibitório, afetando as células microbianas, sendo esse efeito temporário no campo. A redução da massa seca dos nódulos pode ter sido causada, de forma indireta, pelo efeito fitotóxico do herbicida, acarretando menor produção e menor quantidade de fotoassimilados translocados e alocados aos nódulos, pois o fornecimento de fotoassimilados é essencial à formação e à manutenção da atividade da enzima nitrogenase presente nos nódulos (ARRUDA et al., 2001) e, de forma

direta, por esses microrganismos (*Bradyrhizobium* sp.) sofrerem a influência do glifosato, devido à falta de EPSPS resistentes, reduzindo o número de nódulos por planta e, conseqüentemente, a massa seca desses nódulos (KING et al., 2001).

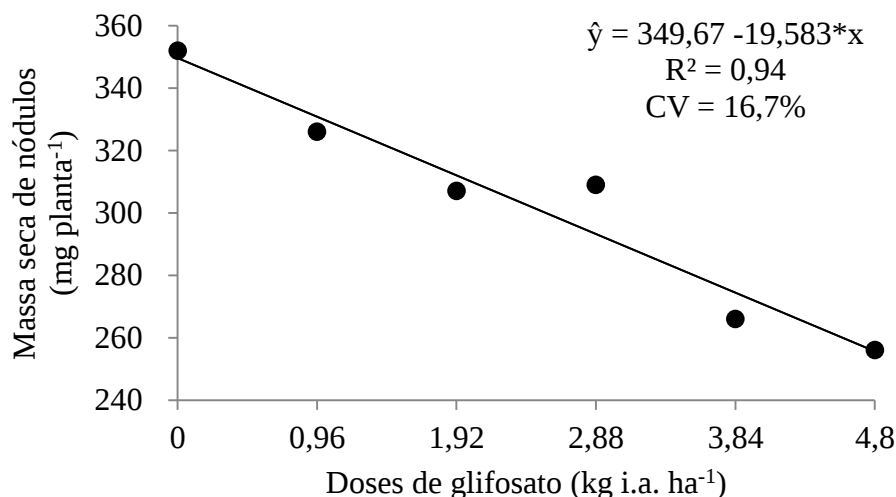


FIGURA 3. Massa seca de nódulos radiculares de soja, cultivar BRS 295 RR, no estágio fenológico R2, em relação às diferentes doses de glifosato. UFGD, Dourados-MS, 2012.

Para o número de nódulos verificou-se uma redução linear, no número de nódulos com o aumento das doses de glifosato, com uma diferença de 24% entre a maior dose (4,8 kg i.a. ha⁻¹) e o controle, redução de 4,196 nódulos para cada kg i.a. ha⁻¹ (Figura 4). Esse efeito negativo da fitotoxicidade estaria associado provavelmente à diminuição da atividade fotossintética ocorrida nas folhas injuriadas.

As bactérias *B. japonicum* possuem uma síntese de EPSPS sensível ao glifosato e podem acumular ácidos chiquímico, hidroxibenzóico e protocatecuico (PCA). Após a exposição ao glifosato, o que pode inibir o crescimento e induzir a morte das bactérias em concentrações elevadas (MOORMAN et al., 1992; DE MARIA et al., 2006). Também pode ser translocada para importantes vias metabólicas, incluindo os nódulos radiculares (REDDY e ZABLOTOWICZ, 2003).

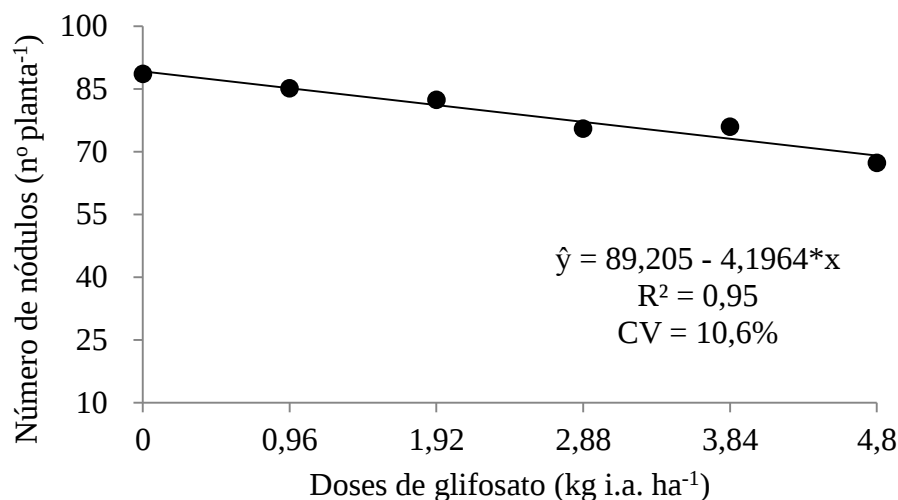


FIGURA 4. Número de nódulos de soja, cultivar BRS 295 RR, no estágio fenológico R2, em relação às diferentes doses de glifosato. UFGD, Dourados-MS, 2012.

Em relação ao conteúdo de nitrogênio da parte aérea das plantas verificou-se que para cada kg i.a. de glifosato por ha⁻¹, houve uma redução de 1,7419 g do teor de N, 29,36% de redução. Isso pode ter ocorrido devido à formação de compostos fitotóxicos (AMPA), que reduziram a fotossíntese e translocação de fotoassimilados para os nódulos.

Reddy et al. (2000) conduziram estudos em casa de vegetação para avaliar o efeito do glifosato no crescimento, teor de clorofila, nodulação de plantas RR e não RR, constataram que a aplicação de 2,24 kg i.a ha⁻¹ promoveram efeito mais severo no número de nódulos, massa dos nódulos e conteúdo total de N de planta em soja RR. Promovendo uma redução de 30% no número de nódulos, de 39% na massa de nódulos e de 14% no conteúdo total de N na parte aérea, respectivamente, onde houve uma correlação apenas para massa seca dos nódulos e números de nódulos, mostrando que mesmo com essas características reduzidas a planta não deixou de fixar o nitrogênio para seu desenvolvimento.

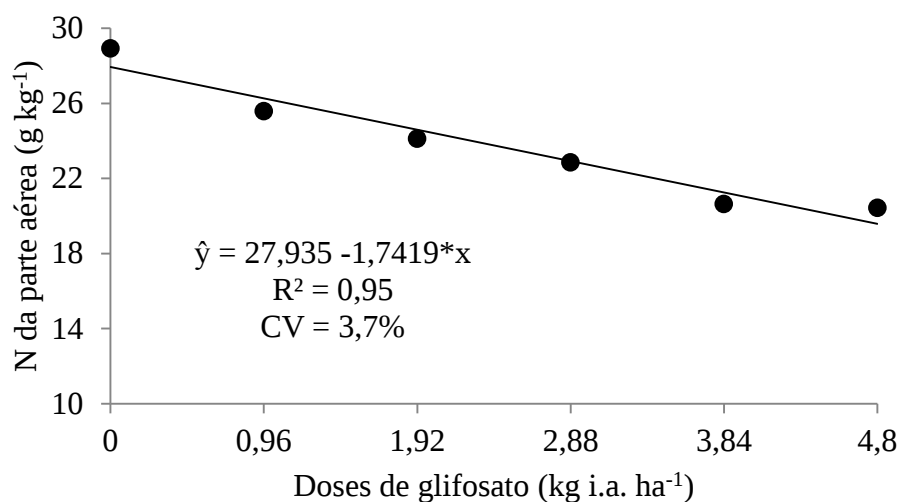


FIGURA 5. Nitrogênio da parte aérea de plantas de soja, cultivar BRS 295 RR, no estágio fenológico R2, em relação às diferentes doses de glifosato. UFGD, Dourados-MS, 2012.

A correlação de Pearson houve efeito significativo entre a massa seca de nódulos x número de nódulos e entre a massa seca da parte aérea x massa seca de raiz. Os nódulos possuíam em média 4,23 g, Hungria et al (2001), trabalhando com diversos inoculantes, obtiveram resultados similares em relação a massa e o número dos nódulos. O aumento de 1 g na massa seca da raiz incrementa em 1,19 g a massa seca da parte aérea.

A utilização do glifosato na cultura da soja transgênica causou diminuições no conteúdo de massa seca da parte aérea, raízes, número de nódulos e nitrogênio da parte aérea. A dose registrada do produto comercial de glifosato para aplicação única varia de 0,576 a 1,2 kg i.a. ha⁻¹ (GRAZZIERO, 2008). Os resultados demonstraram que, as elevações das doses de glifosato, podem ter efeito negativo sobre a fixação biológica do nitrogênio. Ressaltando a importância de se realizar um bom diagnóstico, para que tenha maior proveito do produto aplicado.

QUADRO 3. Correlação de Pearson entre número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da raiz, massa seca da parte aérea e N da parte aérea. UFGD, Dourados-MS, 2012.

	Massa seca de nódulos	Massa seca da raiz	Massa seca da parte aérea	N da parte aérea
Nº de nódulos	0,939*	-0,166 ^{ns}	-0,089 ^{ns}	-0,087 ^{ns}
Massa seca de nódulos	-	-0,142 ^{ns}	-0,191 ^{ns}	0,022 ^{ns}
Massa seca da raiz	-	-	0,326*	0,142 ^{ns}
Massa seca parte aérea	-	-	-	0,060 ^{ns}

* Coeficiente de correlação de Pearson significativo a 5% de probabilidade.

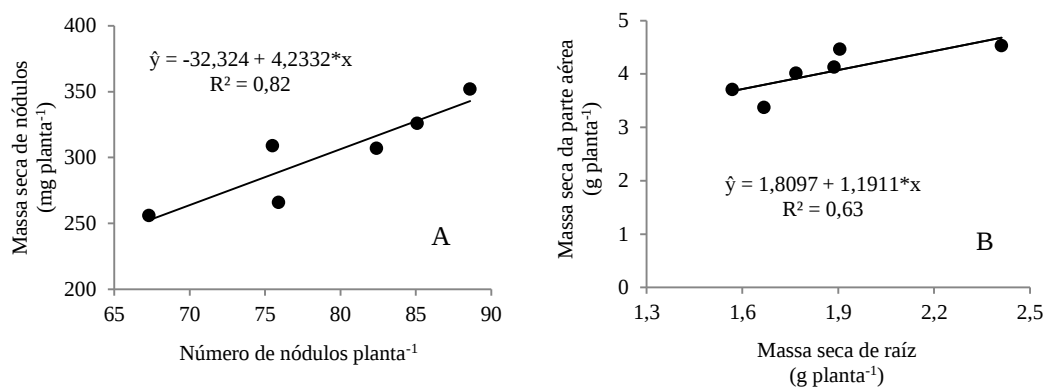


Figura 6. Correlação de Pearson entre o número de nódulos x massa seca de nódulos (A) e massa seca de raiz x massa seca da parte aérea (B). UFGD, Dourados-MS, 2012.

CONCLUSÕES

A aplicação do glifosato em soja RR, cv. 'BRS 295 RR', ocasionou a redução da fixação biológica do nitrogênio.

Todas as doses aplicadas refletiram em redução na produção de massa seca da parte aérea, raiz, nódulos, número de nódulos e teor de nitrogênio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBRECHT, L.P.; ÁVILA, M.R. Manejo de glyphosate em soja RR e a qualidade das sementes. **Informativo Abrates**, Londrina, v. 20, n. 2, p. 45-54, 2010.

ARRUDA, J. S.; LOPES, N. F.; BACARIN, M. A. Nodulação e fixação do dinitrogênio em soja tratada com sulfentrazone. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 2, p. 325-330, 2001.

BELLALLOUI, N. REDDY, K. N.; ZABLOTOWICZ, MENGISTU, A. Simulated glyphosate drift influences nitrate assimilation and nitrogen fixation in non-glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Stoneville, v. 57, p. 9569- 9574, 2006.

BELLALLOUI, N. ZABLOTOWICZ, R M.; REDDY, K. N.; ABEL C. A. Nitrogen metabolism and seed composition as influenced by glyphosate application in glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Stoneville, v. 56, n. 8, p. 2765-2772, 2008.

BERVALD, C. M. P.; MENDES, C. R.; TIMM, F. C.; MORAES, D. M.; BARROS, A. C. S. A.; PESKE, S. T. Desempenho fisiológico de sementes de soja de cultivares convencional e transgênica submetidas ao glifosato. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 2, 2010.

CLAESSEN, M. E. C. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. rev. atual. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CNPq, 1997. 212 p.

DE MARÍA, N.; FELIPE, M. R.; FERNÁNDEZ-PASCUAL, M. Alterations induced by glyphosate on lupin photosynthetic apparatus and nodule ultrastructure and some oxygen diffusion related proteins. **Plant Physiology Biochemistry**, Madrid, v. 43, p. 985-996, 2005.

DE MARIA, N.; BECERRIL, L. M.; GARCIA-PLAZAOLA, J. I.; HERNANDEZ, A.; DE FELIPE, M. R.; FERNANDEZ-PASCUAL, M. New insights on glyphosate mode of action in nodulant metabolism: role of shikimate accumulation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Stoneville, v. 54, p. 2621-2628, 2006.

DUKE, S. Glyphosate degradation in glyphosate-resistant and –susceptible crops and weeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Stoneville, v. 59, p. 5835–5841, 2011.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Manual de métodos de análises de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro, 1997. 214p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro nacional de pesquisa de solos (Rio de Janeiro, RJ). **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Brasília: 2006. 169p.

FENG, P. C. C.; PRATLEY, J. E.; BOHN, J. A. Resistance to glyphosate in *Lolium rigidum*. II. Uptake, translocation and metabolism. **Weed Science**, Lawrence, v. 47, p. 412-415, 1999.

GOMEZ, E.; FERRERAS, L.; LOVOTTI, L.; FERNANDEZ, E. Impact of glyphosate application on microbial biomass and metabolic activity in a Vertic Argiudoll from Argentina. **European Journal of Soil Biology**, Amsterdã, v. 45, p. 163-167, 2009.

GRAZZIERO, D. L. P.; ADEGAS, F.; VOLL, E. Glifosato e a soja transgênica. **Circular Técnica**, Londrina, 2008. 4p.

HETHERINGTON, P. R.; REYNOLDS, T. L.; MARSHALL, G.; KIRKWOOD, R. C. The absorption, translocation and distribution of the herbicide glyphosate in maize expressing the CP-4 transgene. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v. 50, p. 1567-1576, 1999.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. **Circular Técnica**, Londrina, 2001. 48p.

JAWORSKI, E. G. Mode of action of N-phosphonomethylglycine: inhibition of aromatic amino acid biosynthesis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 20, p. 1195-1198, 1972.

KING, C. A.; PURCELL, L. C.; VORIES, E. D. Plant growth and nitrogenase activity of glyphosate-tolerant soybean in response to foliar glyphosate applications. **Agronomy Journal**, Madison, v. 93, p. 176-186, 2001.

LEMAIRE, G.; KHAITY, M.; ONILLON, B.; ALLIRAND, J. M.; CHARTIER, M.; GOSSE, G. Dynamics of accumulation and partitioning of N in leaves, stems and roots of lucerne (*Medicago sativa* L.) in dense canopy. **Annals of Botany**, London, v. 70, p. 429-435, 1992.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba, POTAFOS, p. 232-258, 1997.

MALTY, J. S.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Efeitos do glifosato sobre microrganismos simbiotróficos de soja, em meio de cultura e casa de vegetação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 41, n. 2, p. 285-291, 2006.

MOORMAN, T. B., BECERRIL, J. M., LYDON, J., DUKE, S.O. Production of hydroxybenzoic acids by *Bradyrhizobium japonicum* strains after treatment with glyphosate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 40, p.289–293, 1992.

NEUMANN, G.; KOHLS, S.; LANDSBERG, E.; STOCK-OLIVEIRA SOUZA, K.; YAMADA, T.; RÖMHELD, V. Relevance of glyphosate transfer to non-target plants via the rhizosphere. **Journal for Plant Disease and Protection**, Stuttgart, v. 20, p. 963-969, 2006.

NORRIS, O. D. Some concepts and methods in sub tropical pasture research. **Commonwealth Bureau of Pasture and Field Crops**, Maidenhead, 1964. 65p. Bulletin, 47.

PADGETTE, S.R. KOLACZ, K. H.; DELANNAY, X.; RE, D. B.; LAVALLEE, B. J.; TINIUS, C. N.; RHODES, W. K.; OTERO, Y. I.; BARRY, G. F.; EICHHOLTZ, D. A.; PESCHKE, V. M.; NIDA, D. L.; TAYLOR, N. B.; KISHORE, G. M. Development, identification, and characterization of a glyphosate-tolerant soybean line. **Crop Science**, Madison, v. 35, p. 1451-1461, 1995.

R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING. **R**: A language and environment for statistical computing. 2010. Disponível em: <<http://softlibre.unizar.es/manuales/aplicaciones/r/fullrefman.pdf>>. Acesso em: 02 out. 2012.

REDDY, K. N.; HOAGLAND, R. E., ZABLOTOWICZ, R. M.. Effect of glyphosate on growth, chlorophyll, and nodulation in glyphosate-resistant and susceptible soybean (*Glycine max*) varieties. **Journal of New Seeds**, Londres, v. 2, n. 3, p. 37-52, 2000.

REDDY, K. N.; ZABLOTOWICZ, R. M. Glyphosate-resistant soybean response to various salts of glyphosate and glyphosate accumulation in soybean nodules. **Weed Science**, Lawrence, v. 51, n. 4, p. 496-502, 2003.

REDDY, K. N.; RIMANDO, A. M.; DUKE, S. Aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate, causes injury in glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 52, p. 5139-5143, 2004.

REDDY, K. N.; BELLAOUI, N.; ZABLOTOWICZ, R. M. Glyphosate effect on shikimate, nitrate reductase activity, yield, and seed composition in corn. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 58, p. 3646-3650, 2010.

SERRA, A. P.; MARCHETTI, M. E.; CANDIDO, A. C. S.; DIAS, A. C. R.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Influência do glifosato na eficiência nutricional do nitrogênio, manganês, ferro, cobre e zinco em soja resistente ao glifosato. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n.1, 2011.

SOUZA, R. A., HUNGRIA, M., FRANCHINI, J. C., MACIEL, C. D., CAMPO, R. J., ZAIA, D. A. M. Conjunto mínimo de parâmetros para avaliação da microbiota do solo e da fixação biológica do nitrogênio pela soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, p. 83-91, 2008.

ZABLOTOWICZ, R. M.; REDDY, K. N. Nitrogenase activity, nitrogen content, and yield responses to glyphosate in glyphosate-resistant soybean. **Crop Protection**, Stoneville, v. 26, p. 370-376, 2007.

ZOBIOLE, L. H. S.; OLIVEIRA JR., R. S.; KREMER, R. J.; CONSTANTIN, J.; YAMADA, T.; CASTRO, C.; OLIVEIRA, F. A.; OLIVEIRA JR., A. Effect of

glyphosate on symbiotic N₂ fixation and nickel concentration in glyphosate resistant soybeans. **Applied Soil Ecology**, Stillwater, v. 44, p. 176-180, 2010a.

ZOBIOLE, L. H. S.; KREMER, R. J.; OLIVEIRA JR, R. S.; CONSTANTIN, J. Glyphosate affects photosynthesis in first and second generation of glyphosate-resistant soybeans. **Plant Soil**, Crawley, v. 336, p. 251-265, 2010b.

ZOBIOLE, L. H. S.; OLIVEIRA JR., R. S.; CONSTANTIN, J.; BIFFE, D. F.; KREMER, R. J. Uso de aminoácido exógeno na prevenção de injúrias causadas por glyphosate na soja RR. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 28, n. 3, p. 643-653, 2010c.

CAPÍTULO 2: RESPOSTA DA CULTURA DA SOJA TRANSGÊNICA AO GLIFOSATO, EM DOIS TIPOS DE SOLO

RESUMO

O glifosato é uma das moléculas de herbicidas mais estudadas mundialmente, em termos de segurança ambiental e saúde humana, sendo que, no solo é caracterizado pela sua alta capacidade de sorção. Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito da aplicação de diferentes doses de glifosato na produtividade de soja transgênica com *Bradyrhizobium* sp., na safra 2011/12, em dois locais. Os trabalhos foram realizados no campo experimental da Embrapa Agropecuária Oeste, em Dourados-MS, e em Rinópolis-SP, no ano agrícola de 2011/2012. O delineamento experimental utilizado nos campos experimentais foram o de blocos casualizados, sendo que, em Dourados os tratamentos foram constituídos de oito doses de glifosato (0 ; 0,96; 1,92; 2,88; 3,84; 4,8; 5,76 e 6,72 kg i.a. ha⁻¹), com seis repetições, em Rinópolis-SP, os tratamentos foram constituídos de seis doses de glifosato (0 ; 0,96; 1,92; 2,88; 3,84 e 4,8 kg i.a. ha⁻¹), com quatro repetições. No estágio de pleno florescimento, 45 DAE (R2), as plantas foram cortadas rente ao solo, separando-se parte aérea e raízes, que foram lavadas em água destilada sobre uma peneira. Após a lavagem, foram destacados os nódulos das raízes e contados o número de nódulos das plantas. Os dados de massa de mil grãos e produtividade foram retirados no estágio fenológico R9. As doses do glifosato reduziram o número de nódulos e massa seca dos nódulos, no município de Dourados. Já no campo experimental de Rinópolis, houve alteração apenas na massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea e N total, não sendo afetado o número de nódulos por plantas, a massa de mil grãos e a produtividade. A produtividade não foi influenciada pela aplicação de glifosato mesmo nas doses mais elevadas, nos dois locais estudados.

Palavras-chave: *Glycine max*; fixação biológica do nitrogênio; *Bradyrhizobium* sp., herbicida

ABSTRACT

Glyphosate is one of the best-studied herbicides worldwide molecules in terms of environmental safety and human health, and, in the soil is characterized by its high sorption capacity. The objective of this work is to evaluate the effect of the application of doses of glyphosate on productivity of soybean with *Bradyrhizobium* sp., harvest 2011/12,0 in two locations. The works were carried out in the experimental field of Embrapa Agropecuária Oeste in Dourados-MS and Rinópolis-SP, in 2011/2012 agricultural year. The experimental design used in the experimental fields were the blocks, and blocks in Embrapa treatments were comprised of eight doses of glyphosate (0; 0.96; 1.92; 2.88; 3.84; 4.8; 5.76 and 6.72 kg a.i. ha⁻¹), with six repetitions and Rinópolis-SP treatments were comprised of six doses of glyphosate (0; 0.96; 1.92; 2.88; 3.84 and 4.8 kg a.i. ha⁻¹) with four repetitions. At the stage of full flowering, 45 DAE (R2), the plants were cut close to the ground, separating the shoot and roots that were washed in distilled water with a sieve, after washing were highlighted the root nodules and counted the number of nodules per plant. The mass data of thousand grains and productivity were removed in the phenological stage R9. The doses of glyphosate have reduced the number of nodules and dry mass of nodules, in the experimental field of Embrapa. Already in the experimental field of Rinópolis only changed the nodule dry mass, dry mass of aboveground and total N. The productivity was not influenced by doses of glyphosate used, in both locations studied.

Key-words: *Glycine max*; biological nitrogen fixation; *Bradyrhizobium* sp.; herbicide

1 INTRODUÇÃO

O uso do glifosato tem como objetivo controlar as plantas infestantes, que não foram totalmente eliminadas por ocasião da dessecação, que pode prejudicar o desenvolvimento inicial de plantas de soja (OLIVEIRA JR et al., 2006; SILVA et al., 2006). O efeito negativo pode estar relacionado ao aumento excessivo da dose aplicada, do número de aplicações, do uso de cultivares de soja transgênica, formulação de glifosato aplicada e ainda da época de aplicação (SERRA et al., 2011).

No Brasil, a inoculação de bactérias diazotróficas *Bradyrhizobium japonicum* na soja, diminui os custos de produção relacionados à utilização de fertilizantes nitrogenados devido ao processo da fixação biológica de nitrogênio (FBN) (FIGUEIREDO et al., 2009). As taxas de FBN obtidas por meio da inoculação com bactérias diazotróficas, em geral, se situam entre 60 e 250 kg de N ha⁻¹ (70 a 85% do N total acumulado pelas plantas) (HUNGRIA et al., 2001). Esse acúmulo de nitrogênio pode ser importante para a sustentabilidade da cultura da soja, mantendo a produtividade do solo por um maior período, especialmente em solos que têm baixa quantidade desse nutriente (ZABLOTOWICZ e REDDY, 2007).

Vários autores afirmam que a aplicação de herbicida pode interferir negativamente sobre alguns microrganismos do solo, associados diretamente às plantas (particularmente fungos formadores de micorrizas e bactérias fixadoras de nitrogênio), e que, no solo, desenvolvem papel importante, livres ou quando em simbiose com espécies vegetais; efeitos negativos têm sido observados, sobretudo no cultivo da soja transgênica (SANTOS et al., 2003, 2004; SILVA et al., 2006).

O glifosato pode causar sintomas de toxidez na planta-alvo (invasora) e na planta-não alvo (cultura econômica) adjacente, afetar a atividade microbiana, por meio da própria deriva no momento da aplicação ou do herbicida residual no solo, podendo entrar em contato por meio das raízes e dos exsudatos liberados pelas plantas (TUFFI SANTOS et al., 2005, 2008). Mantendo um intervalo mínimo de tempo entre a dessecação das invasoras ou das plantas de cobertura pode-se diminuir esta interferência do glifosato para plantas que expressam valor econômico (YAMADA e CAMARGO E CASTRO, 2007).

O uso do glifosato em estudos com cultivares de soja transgênica e não transgênica implicou na redução da massa de nódulos e da FBN (BOHM et al.,

2009), número de folíolos e rendimento, além de aumentar a intoxicação das plantas (SANTOS et al., 2007), sugerindo que o uso desse herbicida, por longo período de tempo, poderá reduzir o conteúdo de nitrogênio disponível no solo.

A aplicação de herbicidas em culturas que realizam simbiose com bactérias fixadoras de N_2 pode prejudicar a eficiência na fixação desse nutriente, reduzindo o crescimento dessas bactérias (MARENCO et al., 1993; SANTOS et al., 2004). Essa interferência que o glifosato proporciona ocorre quando ele age sobre a biossíntese de aminoácidos ou rotas metabólicas comuns a microrganismos e plantas (ARRUDA et al., 2001; SANTOS et al., 2006). O glifosato pode gerar efeito fitotóxico, podendo afetar a eficiência no uso da água, atividade fisiológica e o balanço nutricional (ZOBIOLE et al., 2009, 2010; SERRA et al. 2011). Até mesmo o acúmulo de compostos da degradação na planta (DUKE et al., 2003), pode afetar a produtividade da cultura e à qualidade das sementes, seja fisiológica ou sanitária. Qualquer estresse causado às plantas, conforme salientado Taiz e Zeiger (2009), acarreta efeito negativo sobre o crescimento e desenvolvimento normal das espécies vegetais. O efeito fitotóxico mencionado poderia levar a um menor incremento na massa das sementes, o que promoveria sementes mal formadas e deficientes, afetando o seu desempenho fisiológico após a colheita (MARCOS FILHO, 2005).

Alguns trabalhos, como o de Norsworthy (2004), que atestam que mesmo as plantas sofrendo injúrias, não há efeitos negativos do glifosato sobre a densidade, altura, massa de sementes, germinação, crescimento e produtividade das sementes, quando aplicado de forma sequencial. Porém, Albrecht et al. (2012), mesmo obtendo aumentos para massa de grãos, utilizando duas formulações de glifosato, não observaram incrementos na produtividade da soja.

Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito da aplicação de doses de glifosato na nodulação e produtividade de soja transgênica com *Bradyrhizobium japonicum*, na safra 2011/12, em Dourados-MS e Rinópolis-SP.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Campo Experimental em Dourados-MS

Os estudos foram realizados em dois locais, nos municípios de Dourados-MS e Rinópolis-SP, no período de novembro de 2011 a fevereiro de 2012, localizados na latitude 22° 16' S, longitude de 54° 49' W e 452 metros de altitude, em LATOSSOLO VERMELHO Distroférico e latitude 21° 36' S, longitude de 50° 45' W e 410 metros de altitude, em ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO Eutrófico (EMBRAPA, 2006), da qual foram coletadas amostras na camada de 0–20 cm, que foram secadas ao ar ambiente, destorroadas e passadas em peneira com malha de 2 mm, para a determinação das características químicas e granulométrica, segundo Claessen (1997) (Quadro 1).

O clima da região de Dourados, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Cwa, com verões quentes e invernos secos, temperaturas média anual de 22° e a pluviosidade média anual de 1.500 mm (FIETZ e FISCH, 2008).

QUADRO 1. Características química e granulométrica do solo utilizado no experimento em Dourados-MS e Rinópolis-SP, 2012.

pH	M.O	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	T	V	m
CaCl ₂	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	-----cmol _c dm ⁻³ -----					-----%-----			
5,4	40	12	0,6	7,8	2,7	0,01	4,6	11,1	15,7	67	0
5,5	58	10,0	0,5	10,2	3,4	0,0	4,4	14,1	18,5	76	0
Areia					Silte			Argila			
-----					g kg ⁻¹ -----			-----			
133					178			689			
633					132			235			

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, sendo os tratamentos compostos por oito doses de glifosato (0 ; 0,96; 1,92; 2,88; 3,84; 4,8; 5,76; 6,72 kg i.a. ha⁻¹), com seis repetições. A cultivar de soja utilizada neste experimento foi a BRS 295 RR.

As parcelas foram constituídas por seis linhas de semeadura (2,7 m de largura) 4,0 m de comprimento, perfazendo uma área total de 10,8 m² por parcela.

Como área útil, foram consideradas as quatro linhas centrais, totalizando uma área útil de 7,2 m², por parcela.

Foi realizada a dessecação de plantas na área experimental, com aplicação de glifosato + carfentrazone-etílica (1,44 + 0,024 kg i.a. ha⁻¹), objetivando um controle inicial das plantas daninhas. Houve a abertura dos sulcos de plantio com o auxílio de um trator, para facilitar a semeadura, realizada de forma manual, no dia 18 de novembro de 2011, com espaçamento entre linhas de 45 cm, com um estande inicial de 18 plantas por metro linear. Durante a semeadura, realizou-se a adubação, em linha, com 300 kg ha⁻¹ da fórmula 0-20-20 (N-P-K), seguindo a recomendação para a cultura.

As sementes foram inoculadas com produto à base de turfa, 45 minutos antes da semeadura, contendo as estirpes SEMIA 587 e SEMIA 5019 na dose 250g 100 kg⁻¹ de semente, concentração bacteriana de 5,91 x 10⁹ UFC por g do produto turfoso.

Durante a condução do experimento foram realizadas outras aplicações de defensivos agrícolas para efetuar o controle de lagartas e percevejos utilizando os inseticidas Clorantraniliprole, Lefenurom, Lambda-cialotrina + Tiametoxam. Para controle das doenças foliares utilizou-se o fungicida Trifloxistrobina + Tebuconazol, seguindo as recomendações técnicas para a cultura; quanto ao controle de plantas daninhas, foi realizada a capina das parcelas experimentais, onde não foram aplicadas as doses de glifosato.

2.2 Campo Experimental em Rinópolis-SP

O experimento foi desenvolvido na área de produção de grãos na Fazenda Boa Esperança, no Município de Rinópolis-SP. O clima da região de Rinópolis, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Cwa, com estação chuvosa no verão e inverno seco. A temperatura média do mês mais frio é 19,6 °C, a do mais quente é 25,6 °C e a pluviosidade média anual é de 1.386 mm (DO PRADO et al., 2003).

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com os tratamentos compostos pelas seis doses de glifosato (0 ; 0,96; 1,92; 2,88; 3,84 e 4,8 kg i.a. ha⁻¹), com quatro repetições. A cultivar utilizada neste experimento foi a SYN 9070 RR.

As parcelas foram formadas com 2,7 m de largura (seis linhas de semeadura) por 5,0 m de comprimento, perfazendo uma área total de 13,5 m², por parcela. Como área útil, foram consideradas quatro linhas centrais, desprezando-se 0,5 m de bordadura de cada extremidade das linhas, totalizando uma área útil de 7,2 m², por parcela.

A dessecação foi realizada, com aplicação de glifosato (1,44 kg i.a. ha⁻¹), objetivando um controle inicial de plantas infestantes. Anteriormente, nessa área havia o plantio de milho, sendo realizada a prática de sucessão de culturas. A semeadura da área foi realizada no dia 02 de novembro de 2011, com auxílio de uma semeadora acoplada a um trator, com espaçamento entre linhas utilizado de 45 cm com um estande inicial de 18 plantas por metro linear. Durante a semeadura realizou-se a adubação em linha das parcelas com 300 kg.ha⁻¹ da fórmula 0-20-20 (N-P-K).

As sementes foram tratadas com fungicida Tiametoxam + (Fludioxonil + Metalaxil-M). A inoculação líquida das sementes foi realizada 45 minutos antes da semeadura, contendo as estirpes SEMIA 587 (*B. elkani*) e SEMIA 5079 (*B. japonicum*), na dose 300 mL 100kg⁻¹ de semente, concentração bacteriana de 4,9 x 10⁹ UFC por mL.

Durante a condução do experimento em Rinópolis-SP, foram realizadas aplicações de defensivos agrícolas para efetuar o controle de lagartas e percevejos, utilizando os inseticidas Lufenurom + Profenofós, Lambda-cialotrina + Chlorantraniliprole e Lambda-cialotrina + Tiametoxam. Para o controle de doenças foliares foi utilizando o fungicida Azostrobin + Ciproconazole, seguindo as recomendações técnicas para a cultura, não havia infestação de plantas daninhas na área experimental, não sendo necessária qualquer prática de controle.

Nas parcelas experimentais, foram aplicadas os tratamentos com as doses de glifosato comercialmente formulados com os sais de isopropilamina (480 g i.a L⁻¹). Nas operações de aplicação de herbicida nos ensaios, foi utilizado um pulverizador costal pressurizado a CO₂, à pressão constante de 2,5 kgf cm⁻², acoplado a uma barra de pulverização, composta de quatro bicos tipo cone, trabalhando com um volume de calda equivalente a 200 L ha⁻¹. As aplicações dos tratamentos foram realizadas nos dias 02 e 17 de dezembro de 2011 (campos experimentais de Rinópolis e Embrapa, respectivamente), no estágio fenológico V2 de desenvolvimento, período que possivelmente poderia haver uma infestação de

plantas daninhas na área e que causasse algum impacto tanto nas infestantes como na cultura da soja transgênica.

As coletas das plantas no campo foram realizadas no estágio de pleno florescimento aos 45 DAE (R2), onde foram abertas trincheiras de 30 cm para retirada de dez plantas com raízes, sendo separadas em parte aérea e radicular, lavadas com água, e com o auxílio de uma peneira, os nódulos foram destacados das raízes. Após a contagem, os nódulos e a parte aérea foram secos em estufa de circulação forçada de ar a 65°C, até massa constante e, em seguida, os materiais foram determinados a massa seca da parte aérea e dos nódulos. Em seguida, as partes aéreas das plantas foram moídas, em moinho tipo Willey, e acondicionadas em sacos para a determinação dos teores de N da parte aérea. Para tanto, as amostras foram submetidas à digestão sulfúrica (método micro Kjeldahl), segundo metodologia proposta por Malavolta et al. (1997).

As colheitas foram realizadas no dia 19 e 23 de março de 2012, sendo os grãos trilhados com o auxílio de uma trilhadora estacionária. Para quantificação da produtividade, no estágio fenológico R9, colheu-se a área útil de cada parcela. Após secagem dos grãos, foi determinada sua umidade, por meio de um medidor de umidade GEHAKA AGRI modelo G600 e, posteriormente, as massas foram uniformizados para teor de 13% de umidade, ajustadas e convertidas em kg ha⁻¹. Avaliou-se também a massa de mil grãos, adotando-se uma média de três amostras aleatórias de mil grãos de cada parcela.

Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se programa estatístico R, e os pressupostos do modelo foram confirmados pelos testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e de homogeneidade de variâncias (Hartley) (R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING, 2010). Quando os valores de F foram significativos ($p < 0,05$), realizou-se análise de regressão para as doses e as equações foram ajustadas pelo programa Microsoft Office Excel 2007; também foi realizado correlação de Pearson para as características avaliadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As diferenças entre as médias dos tratamentos do experimento realizado em Dourados-MS foram estatisticamente significativas a 5% de probabilidade para a massa seca dos nódulos e o número de nódulos, nas demais variáveis não foi encontrado efeito significativo. Nas variáveis que apresentaram efeito significativo, houve reduções lineares à medida que se aumentavam as doses de glifosato nas plantas de soja transgênica cv. ‘BRS 295 RR’.

No experimento realizado em Rinópolis-SP, verificou-se diferença estatisticamente significativa, a 5% de probabilidade para massa seca da parte aérea, dos nódulos e N total da parte aérea. As demais características não foram significativas. Nas variáveis que apresentaram efeito significativo, houve reduções lineares à medida que se aumentavam as doses de glifosato para a massa seca da parte aérea e N total da parte; efeito de ordem quadrática para massa seca dos nódulos nas plantas de soja transgênica cv. ‘SYN 9070 RR’.

No campo experimental da Embrapa Agropecuária Oeste, em Dourados-MS, não houve efeito significativo das doses de glifosato ($p > 0,05$) para massa seca da parte aérea (Figura 1A).

Já, em Rinópolis verificou-se efeito significativo ($p < 0,05$), na produção de matéria seca da parte aérea, para cada kg i.a. de glifosato ha^{-1} , houve uma redução de 0,738 g, redução de 33,46% (Figura 1B). Porém, De Sá et al, (2008) verificaram que a variabilidade espacial da massa seca da parte aérea estaria relacionada com os atributos do solo. Nestes estudos, os autores verificaram que a produção de massa seca da parte aérea da soja apresentou altas correlações com teor de argila, matéria orgânica, CTC e capacidade de armazenamento de água no solo e correlação negativa com o teor de areia; mesmo com altos índices de matéria orgânica e CTC nesse solo, verificou-se grande teor de areia, o que poderia ter ocasionado nessa diminuição da massa seca da parte aérea.

Resultados semelhantes foram encontrados por Figueiredo et al. (2011), que avaliaram o efeito do glifosato sobre a fixação de N em soja transgênica e convencional; a cultivar transgênica ‘Conquista’ apresentou redução de 36% na produção de matéria seca da parte aérea referentes ao tratamento com $32\mu\text{M}$ de glifosato, em solução nutritiva.

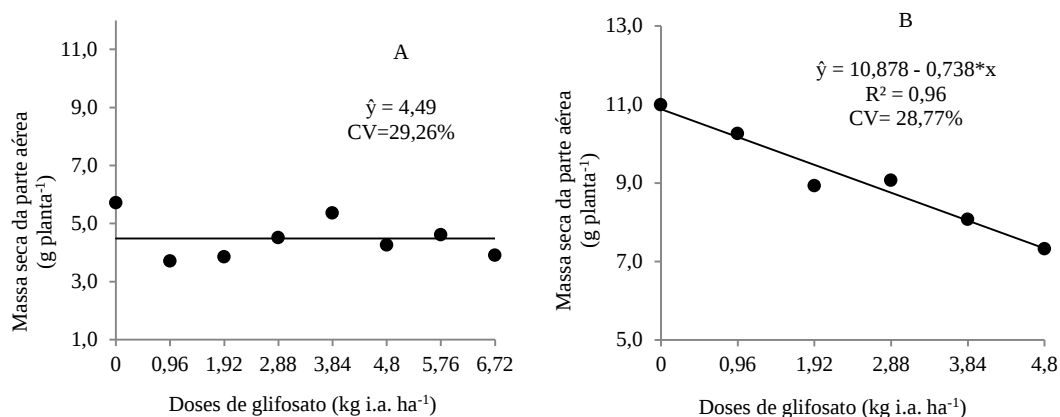


FIGURA 1. Massa seca da parte aérea de plantas de soja cv. BRS 295 RR' e SYN 9070 RR', no estágio fenológico R2, em Dourados-MS (A) e Rinópolis-SP (B), respectivamente, em relação às diferentes doses de glifosato, na safra 2011/12. UFGD, Dourados-MS, 2012.

Em relação ao número de nódulos, houve efeito significativo ($p < 0,05$) das doses de glifosato apenas no ensaio conduzido em Dourados-MS, para cada kg i.a. de glifosato ha⁻¹, houve um decréscimo de 1,343 g, representando uma redução de 43,02% (Figura 2A). No campo experimental de Rinópolis, não houve efeito significativo ($p > 0,05$) em relação ao número de nódulos (Figura 2B).

Dvoranen et al. (2008) avaliaram a nodulação e o crescimento de variedades de soja RR, com a aplicação de diversos herbicidas, inclusive o glifosato, sugerindo que há significativas diferenças em termos de tolerância de cultivares aos efeitos de herbicidas sobre a nodulação. A ausência de efeitos significativos sobre variáveis relacionadas ao acúmulo de massa seca da parte aérea das plantas e massa seca dos nódulos indica que os sintomas de fitotoxicidade dos herbicidas pode afetar a capacidade destes na fixação simbiótica de nitrogênio em soja.

Em um levantamento bibliográfico realizado por Böhm e Rombaldi (2010), foi constatado que, dependendo do solo, da região, das condições de cultivo (a campo, em casa de vegetação, em vasos ou *in vitro*), das dosagens e da época de aplicação do glifosato, pode ou não haver efeitos negativos do herbicida sobre a FBN.

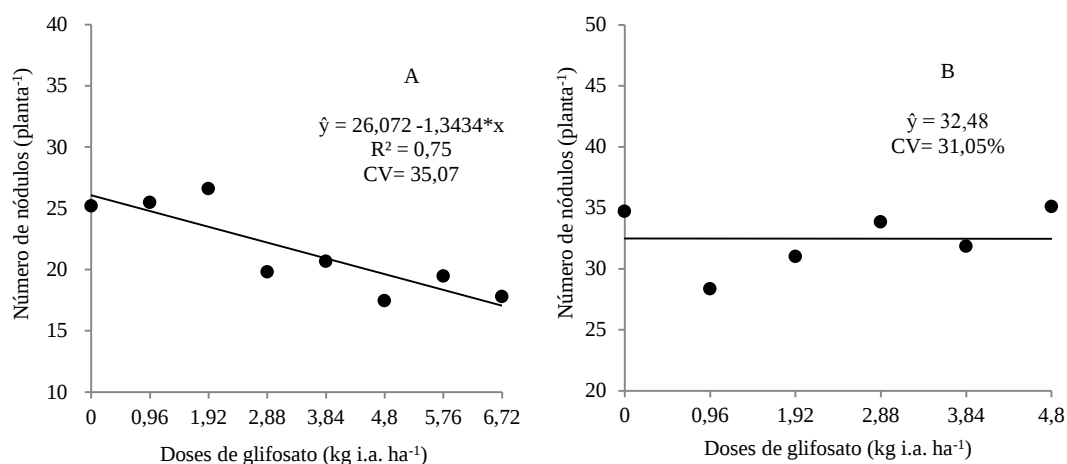


FIGURA 2. Número de nódulos de plantas de soja cv. BRS 295 RR' e SYN 9070 RR', no estágio fenológico R2, em Dourados-MS (A) e Rinópolis-SP (B), respectivamente, em relação às diferentes doses de glifosato, na safra 2011/12. UFGD, Dourados-MS, 2012.

A massa seca dos nódulos mostrou-se significativa ($p < 0,05$) para ambos locais, mas com comportamentos diferentes. No campo experimental em Dourados-MS, houve efeito decrescente, sendo que na ausência de glifosato observou-se que para cada kg i.a. de glifosato ha^{-1} , houve uma redução de 1,48 g, um decréscimo então de 47,74% (Figura 3A).

Já na área experimental de Rinópolis, a massa seca dos nódulos apresentou um pequeno decréscimo e à medida que aumentava as doses de glifosato, esse valores mantinham o mesmo padrão, expressando menor conteúdo de massa seca com 2,112 kg i.a. de glifosato ha^{-1} , com 88,86 mg planta $^{-1}$ (Figura 2B).

Esse resultado poderia estar ligado à inativação do glifosato no solo, em Rinópolis, por este apresentar maior teor de matéria orgânica, no qual as substâncias húmicas se ligariam, via mecanismo de ligação com hidrogênio (forças de van der Waals). Quanto maior o tamanho das moléculas das substâncias húmicas, maior o número de ligações de hidrogênio (PICCOLO et al., 1996).

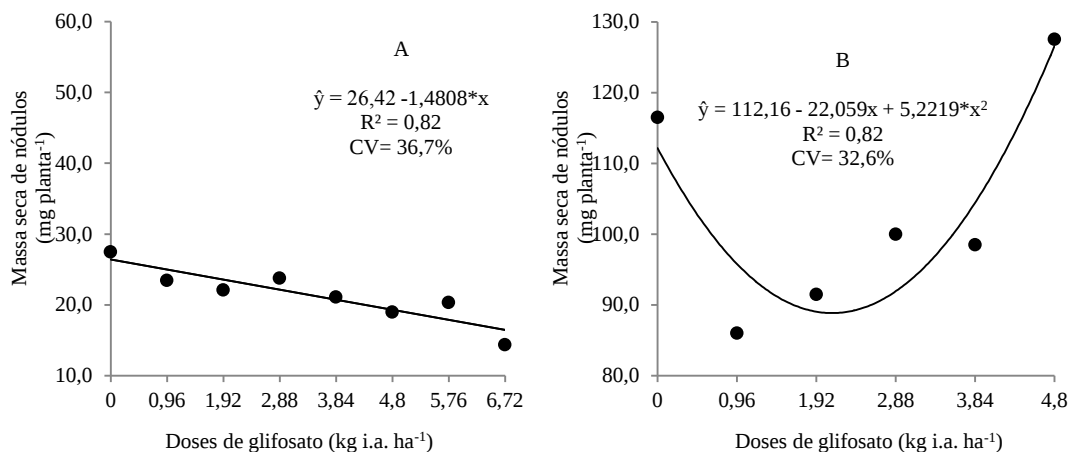


FIGURA 3. Massa seca de nódulos radiculares de soja cv. BRS 295 RR' e SYN 9070 RR', no estágio fenológico R2, em Dourados-MS (A) e Rinópolis-SP (B), respectivamente, em relação às diferentes doses de glifosato na safra 2011/12. UFGD, Dourados-MS, 2012.

Para o teor de nitrogênio da parte aérea não houve efeito significativo ($p > 0,05$) no ensaio conduzido em Dourados-MS (Figura 4A), mesmo com a redução no número de nódulos a cultura manteve o conteúdo de N (Figura 2A), pois parte do N fixado pela planta é utilizado na síntese de aminoácidos, que são destinados aos grãos que não apresentaram ganho em relação a sua massa. Já em Rinópolis, verificou-se efeito significativo ($p < 0,05$), onde para cada kg i.a. de glifosato ha⁻¹, diminui 2,192 g, constituindo em uma redução de 26,01% (Figura 4B). O processo de FBN pode variar em razão das estirpes do inóculo de solo, condições ambientais e também com o cultivar utilizado. Trabalhos realizados em laboratório indicaram que o glifosato pode afetar as bactérias fixadoras do nitrogênio, porém, quando se aplicam concentrações de glifosato muito acima daquelas utilizadas em condições de campo (MOORMAN et al., 1992; MALTY et al., 2006).

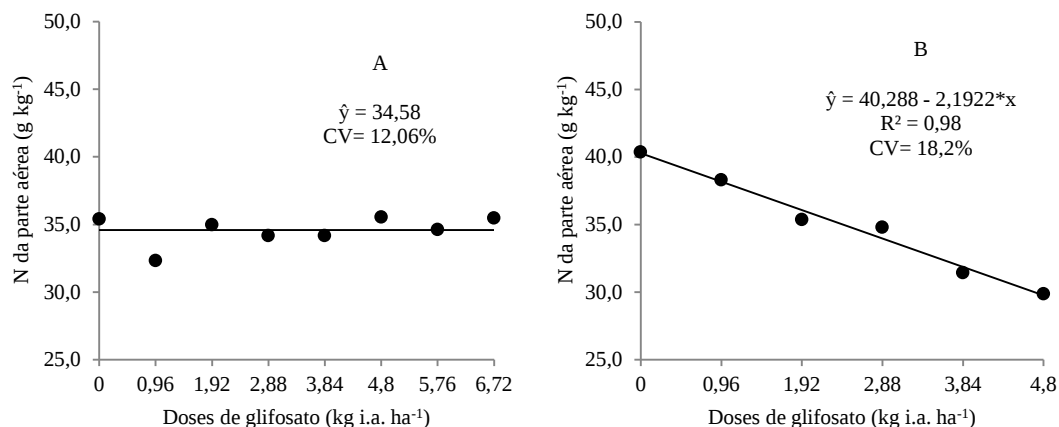


FIGURA 4. Nitrogênio total da parte aérea das plantas de soja cv. BRS 295 RR' e SYN 9070 RR', no estágio fenológico R2, em Dourados-MS (A) e Rinópolis-SP (B), respectivamente, em relação às diferentes doses de glifosato, na safra 2011/12. UFGD, Dourados-MS, 2012.

Para a massa de mil grãos não verificaram-se diferença estatística significativa ($p > 0,05$) em ambos os experimentos (Figuras 5A, B), verificando valores médios de 101,79 g na Embrapa e 138,57 g, em Rinópolis.

Em trabalho realizado em Campo Mourão, PR, avaliando a interação entre sistemas de manejo e controle de plantas daninhas em pós-emergência na produtividade da soja, Oliveira Júnior et al. (2006) observaram que nenhum dos tratamentos afetou, de forma significativa, a massa de mil grãos, semelhante aos resultados encontrados no presente estudo.

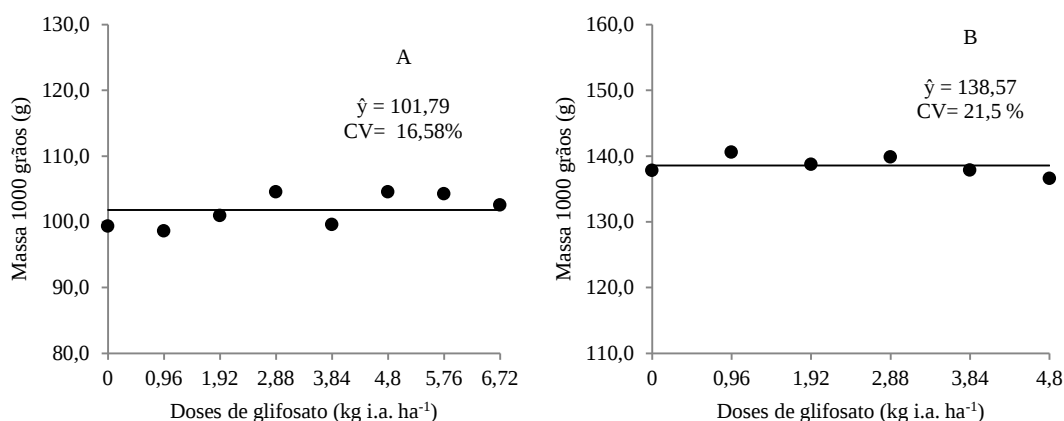


FIGURA 5. Massa de mil grãos de soja cv. BRS 295 RR' e SYN 9070 RR', em Dourados-MS (A) e Rinópolis-SP (B), respectivamente, em relação às diferentes doses de glifosato, na safra 2011/12. UFGD, Dourados-MS, 2012.

Na produtividade de grãos da cultura da soja, também não houve efeito significativo em ambos os locais ($p > 0,05$), verificando valores médios de 2530,3 kg ha⁻¹ em Dourados-MS e 3125,9 kg ha⁻¹ em Rinópolis. Apesar das dosagens elevadas de glifosato causarem injúrias nas folhas, as condições ambientais e nutricionais foram favoráveis, visto que, as plantas se desenvolveram normalmente, inclusive lançando novos folíolos, não interferindo na produtividade (Figuras 6A, B).

Oliveira Júnior et al. (2006) verificaram incremento na produtividade da soja, quando se realizou o controle das plantas daninhas em pós-emergência (manual, aplicação, sequencial ou em dose única de herbicidas) proporcionando incremento em relação onde não se realizou o controle, demonstrando que a interferência das plantas daninhas na soja reduz a produção. Zablotowicz e Reddy (2007) também encontraram resultados semelhantes, observando que o glifosato não afetou a produtividade de soja quando comparado com a não aplicação de glifosato. Estes autores, durante estudo de três anos a campo (2002-2004), que somente no ano de 2002, houve redução na produtividade em 11% com a utilização de 2,52 kg i. a. ha⁻¹, parcialmente pelo estresse causado à soja transgênica naquele período.

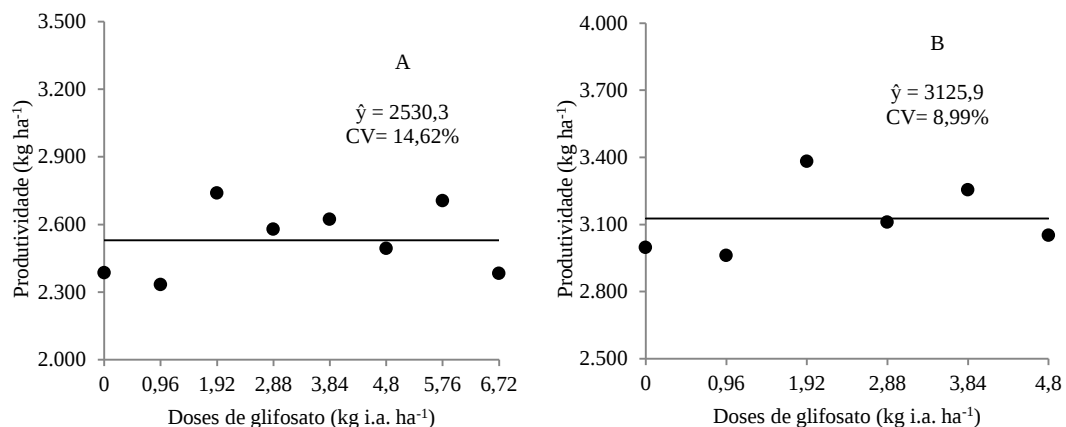


FIGURA 6. Produtividade de soja cv. BRS 295 RR' e SYN 9070 RR', Dourados-MS (A) e Rinópolis-SP (B), respectivamente, em relação às diferentes doses de glifosato na safra 2011/12. UFGD, Dourados-MS, 2012.

Verificou-se correlação, e de forma positiva, apenas quando comparado o número de nódulos e a massa seca dos nódulos; massa seca da parte aérea e N da parte aérea; N da parte aérea e produtividade apresentando relação entre estas características para o melhor desempenho da soja transgênica. Correlação negativa foi observada apenas entre a massa seca da parte aérea e a massa de mil grãos (Quadro 3).

A correlação entre massa seca da parte aérea e massa de mil grãos é explicada pela fotossíntese, o que era esperado, mesmo o fato de não ser significativo não influencia nessa correlação. A ausência de significância para massa seca da parte aérea pode ter relação com a fotossíntese, pois as plantas mantiveram o mesmo aporte de N na parte aérea e massa de mil grãos, dessa maneira, essa proporção se manteve próxima, não se detectando efeito estatístico dos tratamentos. As correlações apresentaram baixo coeficiente de determinação.

QUADRO 2. Correlação de Pearson entre número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea e N da parte aérea, massa de mil grãos e produtividade da soja, em Dourados-MS. UFGD, Dourados-MS, 2012.

	Massa seca de nódulos	Massa seca parte aérea	N da parte aérea	Massa mil grãos	Prod.
Nº de nódulos	0,798*	-0,004 ^{ns}	0,001 ^{ns}	-0,231 ^{ns}	0,017 ^{ns}
Massa seca de nódulos	-	0,079 ^{ns}	-0,023 ^{ns}	-0,202 ^{ns}	0,070 ^{ns}
Massa seca parte aérea	-	-	0,023*	-0,242*	0,230 ^{ns}
N da parte aérea	-	-	-	0,202 ^{ns}	0,289*
Massa mil grãos	-	-	-	-	0,175 ^{ns}

* Coeficiente de correlação de Pearson, significativo a 5% de probabilidade.

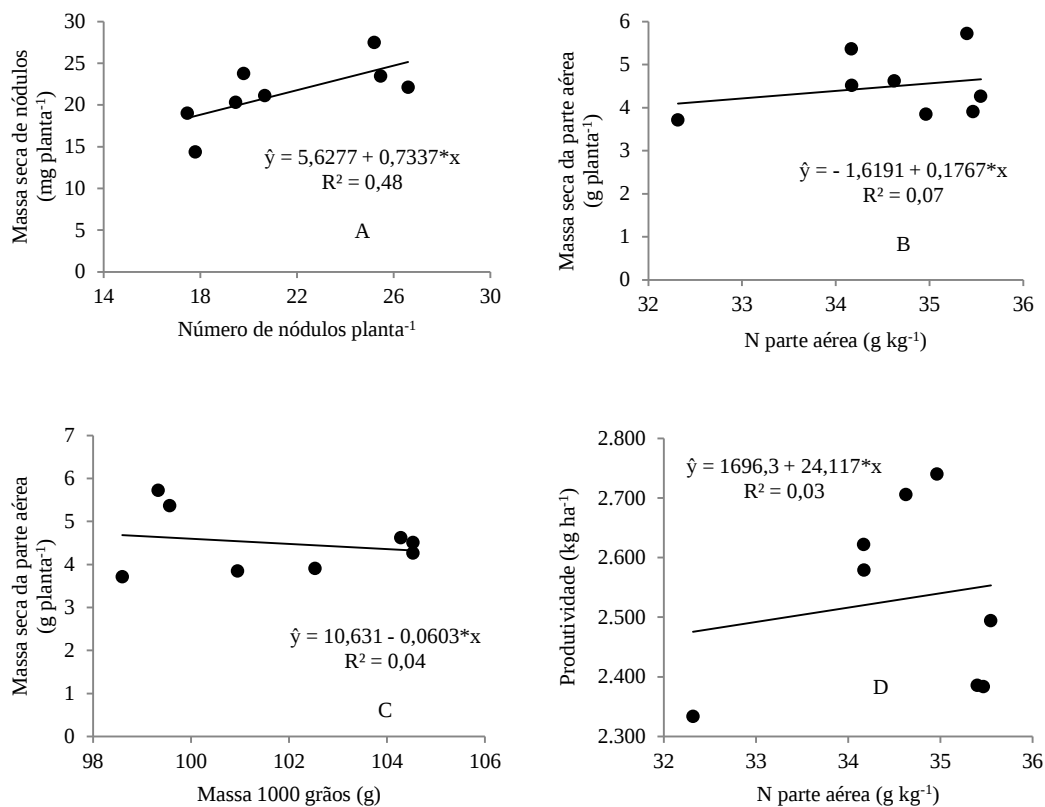


Figura 7. Correlação de Pearson entre os número de nódulos x massa seca de nódulos (A), N parte aérea x massa seca da parte aérea (B), massa mil grãos x massa seca da parte aérea (C), N parte aérea x produtividade (D), no experimento conduzido em Dourados-MS. UFGD, Dourados-MS, 2012.

Verificou-se correlação, e de forma positiva, apenas quando comparado o número de nódulos e a massa seca dos nódulos; massa seca da parte aérea e N da parte aérea; apresentando relação entre estas características para o melhor desempenho da soja transgênica. Correlação negativa foi observada apenas entre a massa seca dos nódulos e massa de mil grãos (Quadro 3).

QUADRO 3. Correlação de Pearson entre número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea, N da parte aérea, massa de 1000 grãos e produtividade de soja, em Rinópolis-SP. UFGD, Dourados-MS, 2012.

	Massa seca de nódulos	Massa seca parte aérea	N da parte aérea	Massa mil grãos	Prod.
Nº de nódulos	0,688*	0,108 ^{ns}	-0,009 ^{ns}	-0,193 ^{ns}	-0,110 ^{ns}
Massa seca de nódulos	-	0,259 ^{ns}	-0,063 ^{ns}	-0,403*	-0,257 ^{ns}
Massa seca parte aérea	-	-	0,426*	-0,316 ^{ns}	-0,013 ^{ns}
N da parte aérea	-	-	-	0,151 ^{ns}	-0,174 ^{ns}
Massa mil grãos	-	-	-	-	0,266 ^{ns}

* Coeficiente de correlação de Pearson, significativo a 5% de probabilidade.

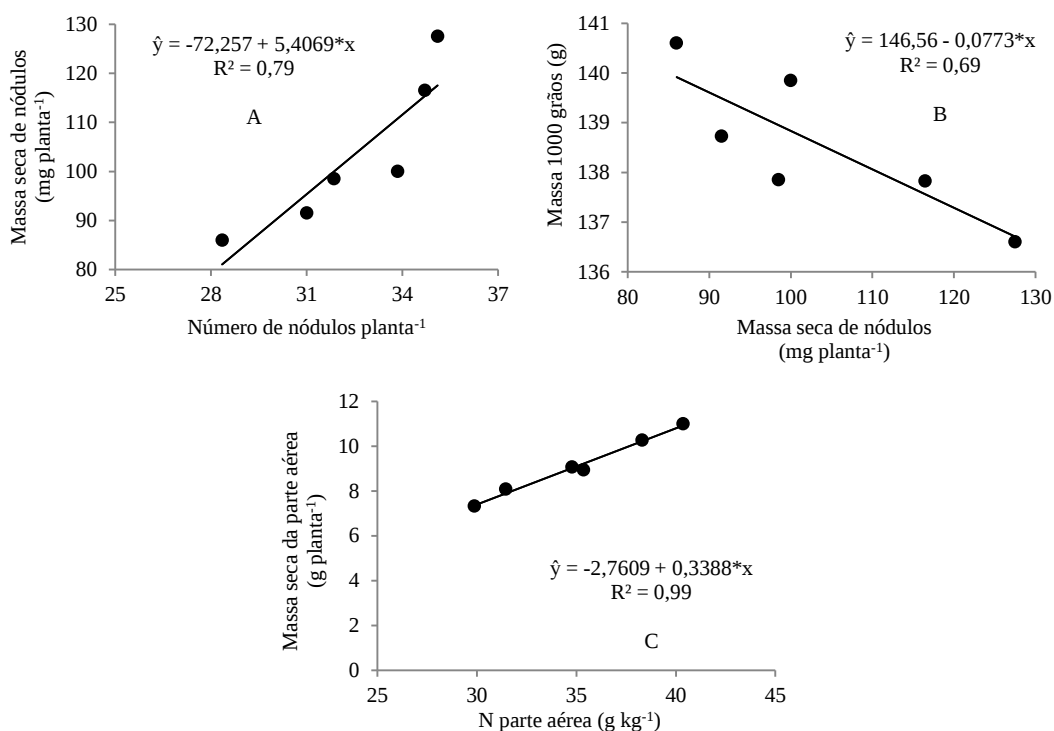


Figura 8. Correlação de Pearson entre os número de nódulos x massa seca de nódulos (A), massa seca de nódulos x massa 1000 grãos (B) e N parte aérea x massa seca da parte aérea de soja (C), em Dourados-MS. UFGD, Dourados-MS, 2012.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Devido à possibilidade de danos oriundo do uso do glifosato sobre plantas de soja RR, supõe-se que interferências possam acontecer no âmbito da parte vegetativa da planta. No entanto, o resultado do impacto do uso de glifosato, aplicado isolado ou em misturas com outros herbicidas, ou em diferentes formulações, ou ainda em altas doses, carece de informações mais amplas, referentes ao efeito sobre os componentes de produção e das possíveis consequências.

As explicações plausíveis de possíveis danos as plantas de soja RR, em virtude do uso de glifosato em pós-emergência, são oriundas, da possibilidade de desarranjos metabólicos/fisiológicos, que acarretariam em má formação das sementes. Ou de injúrias, como as provocadas pelo AMPA, que poderiam levar a anormalidades na germinação ou desempenho da plântula.

Portanto, a visão sobre a problemática deve envolver inúmeros fatores e quesitos. O dilema não é meramente especulativo, já que existem fatos e argumentos científicos utilizados de ambos os espectros, seja, corroborando ou não com a interferência na produtividade da cultura. Somente o futuro, acompanhado pelo progresso nas pesquisas na busca de resposta para essa questão, elucidará todas as incógnitas, de forma mais consistente.

CONCLUSÃO

Nas condições em que foram realizados os experimentos, pode-se concluir que, a produtividade não foi influenciada pelas doses de glifosato utilizadas, nos dois locais estudados.

As doses do glifosato reduziram o número de nódulos e massa seca dos nódulos, no município de Dourados. Já no município de Rinópolis, houve alteração apenas na massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea e N total, não sendo afetado o número de nódulos por plantas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBRECHT, A. J. P.; VICTORIA FILHO, R.; ALBRECHT, L. P.; MORAES, M. F.; KRENCHINSKI, F. H.; PLACIDO, H. F.; MIGLIAVACCA, R. A.; LORENZETTI, J. B. Comportamento da soja rr submetida a diferentes formulações e doses de glyphosate no período reprodutivo. Campo Grande, MS, XXVIII CBCPD, 2012.

ARRUDA, J. S.; LOPES, N. F.; MOURA, A. B. Behavior of *Bradyrhizobium japonicum* strains under different herbicide concentrations. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 19, n. 1, p. 111-117, 2001.

BÖHM, G. M. B.; ROMBALDI, C. V. Transformação genética e aplicação de glifosato na microbiota do solo, fixação biológica de nitrogênio, qualidade e segurança de grãos de soja geneticamente modificada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.1, 2010.

CLAESSEN, M. E. C. (Org.). **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. rev. atual. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CNPq, 1997. 212 p.

DO PRADO, H.; TREMOCOLDI, W. A.; MENK, J. R. F. Levantamento pedológico detalhado do Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios da Alta Paulista, Adamantina (SP). **Boletim Científico**, Campinas IAC, 2006. 27p.

DVORANEN, E. C.; OLIVEIRA JR., R. S.; CONSTANTIN, J.; CAVALIERI, S. D.; BLAINSKI, E. Nodulação e crescimento de variedades de soja RR sob aplicação de glyphosate, fluazifop-p-butyl e fomesafen. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 26, n. 3, p. 619-625, 2008.

DUKE, S. O.; RIMANDO, A. M.; PACE, P. F.; REDDY, N. K.; SMEDA, R. J. Isoflavone, glyphosate, and aminomethylphosphonic acid levels in seeds of glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 51, p. 340-344, 2003.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Manual de métodos de análises de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro, 1997. 214p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro nacional de pesquisa de solos (Rio de Janeiro, RJ). **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Brasília: 2006. 169p.

FIETZ, C. R.; FISCH, G. F. **O Clima da Região de Dourados**, MS. Documentos/ Embrapa: Dourados, 2ªed, 2008. 32 p.

FIGUEIREDO, L. A.; BOARETTO, A. E.; RIBEIRINHO, V. S; DA SILVA, D. H. Estado nutricional de soja transgênica e convencional tratadas com glifosato em solução nutritiva. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v.13, n.1, p.19-27, 2009.

FIGUEIREDO, L. A.; DA SILVA, D. H.; BOARETTO, A. E.; RIBEIRINHO, V. S. Efeito do glifosato sobre a fixação de ^{15}N em soja transgênica e convencional. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v.15, n.1, p.27-36, 2011.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. **Circular Técnica**, Londrina, 2001. 48p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba, POTAFOS, p. 232-258, 1997.

MALTY, J. S.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Efeitos do glifosato sobre microrganismos simbiotróficos de soja, em meio de cultura e casa de vegetação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.2, p.285-291, 2006.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005. 495p.

MARENCO, R.; LOPES, N. F.; MOSQUIM, P. R. Nodulation and nitrogen fixation in soybeans treated with herbicides. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 5, n. 2, p. 121-126, 1993.

MOORMAN, T. B., BECERRIL, J. M., LYDON, J., DUKE, S.O. Production of hydroxybenzoic acids by *Bradyrhizobium japonicum* strains after treatment with glyphosate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 40, p.289–293, 1992.

NORSWORTHY, J. K. Tolerance of a glyphosate-resistant soybean to late-season glyphosate applications. **Weed Technology**, Lawrence, v. 18, p. 454-457, 2004.

OLIVEIRA JÚNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J.; COSTA, J. M.; CAVALIERI, S.D.; ARANTES, J. G. Z.; ALONSO, D. G.; ROSO, A. C.; BIFFE, D. F. Interação entre sistemas de manejo e de controle de plantas daninhas em pós-emergência afetando o desenvolvimento e a produtividade da soja. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 24, p. 721-732, 2006.

PICCOLO, A.; CELANO, G.; CONTE, P. Adsorption of glyphosate by humic substances. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 44, p. 2442-2446, 1996.

R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING. **R: A language and environment for statistical computing**. 2010. Disponível em: <<http://softlibre.unizar.es/manuales/aplicaciones/r/fullrefman.pdf>>. Acesso em: 02 out. 2012.

DE SÁ, M. A. C.; JÚNIOR SANTOS, J. D. G.; DE RESENDE, A. V.; SHIRATSUCHI, L. S. Variabilidade espacial da massa seca da parte aérea de soja relacionada com atributos do solo do cerrado. **IX Simpósio Nacional Cerrado**. Brasília, 2008.

SANTOS, J. B.; PROCÓPIO, S. O.; JACQUES, R. J. S.; KASUYA, M. C. M.; SILVA, A. A. Comportamento de estirpes de *Bradyrhizobium* sp. sob efeito de componentes do glyphosate potássico. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 34, n. 2, p. 201-206, 2003.

SANTOS, J. B.; JACQUES, R. J. S.; PROCÓPIO, S. O.; KASUYA, M. C. M.; SILVA, A. A.; SANTOS, E. A. Efeitos de diferentes formulações comerciais de glyphosate sobre estirpes de *Bradyrhizobium*. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 22, n. 2, p. 293-299, 2004.

SANTOS, J. B.; SILVA, A. A. COSTA, M. D.; JAKELAITIS, A.; VIVIAN, R.; SANTOS, E. A. Ação de herbicidas sobre o crescimento de estirpes de *Rhizobium tropici*. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 24, n. 3, p. 457-465, 2006.

SANTOS, J. B.; FERREIRA, E. A.; REIS, M.R.; SILVA, A. A.; FIALHO, C. M. T.; FREITAS, M. A. M. Avaliação de formulações de glyphosate sobre soja Roundup Ready. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 25, n. 1, p. 165-171, 2007.

SERRA, A. P.; MARCHETTI, M. E.; CANDIDO, A. C. S.; DIAS, A. C. R.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Influência do glifosato na eficiência nutricional do nitrogênio, manganês, ferro, cobre e zinco em soja resistente ao glifosato. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n.1, 2011.

SILVA, A. C.; SANTOS, J.B.; KASUYA, M. C. M.; SILVA, A. A.; MANABE, A. Micorrização e épocas de dessecação de *Brachiaria brizantha* no desenvolvimento da soja. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 24, p. 271-277, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 722p.

TUFFI SANTOS, L. D.; FERREIRA, F. A.; BARROS, N. F.; SIQUEIRA, C. H.; SANTOS, I. C.; MACHADO, A. F. L. Exsudação radicular do glyphosate por *Brachiaria decumbens* e seus efeitos em plantas de eucalipto e na respiração microbiana do solo. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 23, n. 1, p. 143-152, 2005.

TUFFI SANTOS, L. D.; SANTOS, J. B.; FERREIRA, F. A.; OLIVEIRA, J. A.; BENTIVENHA, S.; MACHADO, A. F. L. Exsudação radicular de glyphosate por *Brachiaria decumbens* e seus efeitos em plantas de eucalipto. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 26, n. 2, p. 369-374, 2008.

YAMADA, T.; CAMARGO E CASTRO, P. R. Efeito do glifosato nas plantas: Implicações fisiológicas e agronômicas. **Encarte do Informações Agronômicas Nº119**. International Plant Nutrition Institute. 2007. p.32.

ZABLOTOWICZ, R. M.; REDDY, K. N. Nitrogenase activity, nitrogen content, and yield responses to glyphosate in glyphosate-resistant soybean. **Crop Protection**, Stoneville, v. 26, p. 370-376, 2007.

ZOBIOLE, L. H. S.; OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; BONATO, C.M.; MUNIZ, A.S.; CASTRO, C.; OLIVEIRA, F. A.; CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA JUNIOR, A.

Effect of increasing doses of glyphosate on water use efficiency and photosynthesis in glyphosate-resistant soybeans. In: VIII World Soybean Research Conference, 2009, **Summaries**: Beijing. Weed and Its Management, 2009.

ZOBIOLE, L. H. S.; OLIVEIRA JR., R. S.; KREMER, R. J.; CONSTANTIN, J.; YAMADA, T.; CASTRO, C.; OLIVEIRA, F. A.; OLIVEIRA JR., A. Effect of glyphosate on symbiotic N₂ fixation and nickel concentration in glyphosate resistant soybeans. **Applied Soil Ecology**, Stillwater, v. 44, p. 176-180, 2010.

6 APÊNDICE

APÊNDICE A. Nome dos produtos comerciais, ingrediente ativo, dose utilizada e época de aplicação no controle de insetos e doenças em soja na safra 2011/12 para a cultivar BRS 295 RR, no campo experimental da Embrapa Agropecuária Oeste em Dourados-MS.

Nome Comercial	Ingrediente Ativo	Dose (l p.c/ha)	Data aplicação
Roundup®	Glyphosate	3,0	10/11/2011
Premio®	Clorraniliprole	0,01	20/01/2012
Match®	Lefenurom	0,15	20/12/2011
Platinum®	Lambda-cialotrina+Tiametoxam	0,2	28/01/2012
Nativo®	Tebuconazol+Trifloxistrobina	0,5	21/01/2012

APÊNDICE B. Nome dos produtos comerciais, ingrediente ativo, dose utilizada e época de aplicação no controle de insetos e doenças em soja na safra 2011/12 em Rinópolis-SP para a cultivar SYN 9070 RR.

Nome Comercial	Ingrediente Ativo	Dose (l p.c/ha)	Data aplicação
Roundup®	Glyphosate	1,0	10/12/2011
Curyom®550EC	(Lufenurom + Profenofós)	0,3+0,1	05/01/2012
Engeo Pleno®	Lambda-cialotrina+Tiametoxam	0,25	22/01/2012
Ampligo®	Lambda-cialotrina+Chlorantraniliprole	0,05+0,5	28/01/2012
PrioriXtra®	Azostrobin+Ciproconazole	0,3	27/02/2012