

**LUIZ HENRIQUE SAES ZOBIOLE**

**GLYPHOSATE AFETA PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E NUTRICIONAIS  
NA SOJA RR E RR2**

**MARINGÁ  
PARANÁ-BRASIL  
FEVEREIRO – 2011**



**LUIZ HENRIQUE SAES ZOBIOLE**

**GLYPHOSATE AFETA PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E NUTRICIONAIS  
NA SOJA RR E RR2**

Tese apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia na área de concentração em Proteção de Plantas, para obtenção de título de Doutor.

**MARINGÁ  
PARANÁ-BRASIL  
FEVEREIRO – 2011**

**LUIZ HENRIQUE SAES ZOBIOLE**

**GLYPHOSATE AFETA PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E NUTRICIONAIS  
NA SOJA RR E RR2**

Tese apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia na área de concentração em Proteção de Plantas, para obtenção de título de Doutor.

\_\_\_\_\_ em 28 de fevereiro de 2011.

\_\_\_\_\_  
Prof. PhD. Robert John Kremer

\_\_\_\_\_  
Dr. Tsuioshi Yamada

\_\_\_\_\_  
Dr. Fernando Storniolo Adegas

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Jamil Constantin

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Rubem Silvério de Oliveira Junior.

(Orientador)



*À minha esposa, Andréia, e aos meus filhos, Luiz Augusto e Sara*

**Dedico.**

“O verdadeiro líder não forma seguidores, forma outros líderes”  
(Augusto Cury)

## AGRADECIMENTOS

A DEUS por iluminar as minhas ideias e estar sempre presente em minha vida.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos fornecida no Brasil e nos Estados Unidos.

A University of Missouri, pela “scholar grant” concedida para cursar as disciplinas semestrais de Crop Physiology, Environmental Soil Microbiology e Soil Fertility and Plant Nutrition.

Ao Professor Dr. Rubem Silvério de Oliveira Jr., pela inspiração, orientação, confiança, incentivo e ensinamentos profissionais e de vida.

Ao Dr. Robert Kremer que foi mais que orientador e, à sua esposa, Mo, que me recebeu com toda hospitalidade americana e ajudou-me nas mais diversas situações.

A “travel grant” concedida pela Chinese Academy of Agricultural Sciences para participar da VIII World Soybean Research Conference (China) e pela European Weed Research Society na 2<sup>nd</sup> International Conference on Novel and sustainable weed management in arid and semi-arid agroecosystems (Grécia).

Ao Dr. Tsuioshi Yamada, Dr. Don Huber e aos Professores Dr. Jamil Constantin, Dr. Cássio Tormena, Dr. Antonio Saraiva Muniz e Dr. Carlos Moacir Bonato, pelo incentivo e apoio às minhas ideias e por todas contribuições que enriqueceram minhas publicações.

Aos pesquisadores da Embrapa, pela amizade e parceria nos experimentos conduzidos em conjunto.

À minha esposa pelo seu estimado amor e ato heroico para me acompanhar nos Estados Unidos.

Aos meus pais e familiares, pelo apoio durante todos esses anos.



## BIOGRAFIA

LUIZ HENRIQUE SAES ZOBIOLE, filho de Luiz Antônio Zobiole e Neusa Saes Zobiole, nasceu em Curitiba, Estado do Paraná, aos 16 dias do mês de junho de 1979.

Engenheiro Agrônomo pela Universidade Estadual de Londrina (1997-2002) e Mestre pela Universidade Estadual de Maringá (2003-2004). Durante graduação foi bolsista e estagiário pela Embrapa Soja, possuindo projeto conjunto com esta Instituição de pesquisa desde 1999-2010. Realizou parte de seu doutorado na University of Missouri (Columbia, MO-USA) o qual concluiu suas pesquisas nas inter-relações soja GR-glyphosate-nutrição-fisiologia. Participou como “visiting scholar” nas disciplinas de Environmental Soil Microbiology, Crop Physiology e Soil Fertility and Plant Nutrition. Foi premiado pelo Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences para apresentação de trabalho e Co-Chair na VIII World Soybean Research Conference (CHINA, 2009) e premiado pela European Weed Research Society pela participação e apresentação de trabalho na 2<sup>nd</sup> International Conference on Novel and sustainable weed management in arid and semi-arid agroecosystems (GRÉCIA, 2009).

Submeteu-se à Banca de Defesa do Doutorado, área de concentração em Proteção de Plantas, em 28 de fevereiro de 2011.

Atualmente, é Pesquisador da Dow Agrosiences.

## ÍNDICE

LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE SÍMBOLOS.....	xiv
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
APRESENTAÇÃO.....	xvii
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA GERAL.....	3
2.1 Mecanismos de ação do herbicida glyphosate.....	3
2.2 Efeitos do glyphosate em cloroplastos e clorofila.....	4
2.3 Complexos metálicos com glyphosate.....	5
2.4 Interações de glyphosate com microrganismos do solo e nutrição de plantas	7
2.5 Interações de glyphosate, doenças e nutrição de plantas.....	9
2.6 Referências.....	11
<b>3. CAPÍTULO 1 – O glyphosate reduz a concentração dos nutrientes minerais da parte aérea da soja resistente ao glyphosate.....</b>	<b>16</b>
3.1 RESUMO.....	16
3.2 ABSTRACT.....	16
3.3 INTRODUÇÃO.....	17
3.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.5 RESULTADOS.....	21
3.6 DISCUSSÃO.....	23
3.7 CONCLUSÃO.....	28
3.8 AGRADECIMENTOS.....	28
3.9 REFERÊNCIAS.....	28
<b>4. CAPÍTULO 2 – A eficiência do uso da água e a fotossíntese são afetados pela aplicação do glyphosate na soja resistente ao glyphosate.....</b>	<b>43</b>
4.1 RESUMO.....	43

4.2 ABSTRACT.....	43
4.3 INTRODUÇÃO.....	44
4.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	45
4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
4.6 CONCLUSÃO.....	55
4.7 AGRADECIMENTOS.....	55
4.8 REFERÊNCIAS.....	55
<b>5. CAPÍTULO 3 – O glyphosate afeta a fotossíntese na primeira e segunda geração de soja resistente ao glyphosate.....</b>	<b>79</b>
5.1 RESUMO.....	79
5.2 ABSTRACT.....	79
5.3 INTRODUÇÃO.....	80
5.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	82
5.5 RESULTADOS.....	85
5.6 DISCUSSÃO.....	88
5.7 CONCLUSÃO.....	93
5.8 AGRADECIMENTO.....	93
5.9 REFERÊNCIAS.....	93
<b>6. CAPÍTULO 4 – Acúmulo de nutrientes em soja convencional e soja RR... 106</b>	<b>106</b>
6.1 RESUMO.....	106
6.2 ABSTRACT.....	106
6.3 INTRODUÇÃO.....	107
6.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	108
6.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	111
6.6 AGRADECIMENTOS.....	115
6.7 LITERATURA CITADA.....	115
<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>131</b>

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

<b>Tabela 1</b>	Teores de macronutrientes nas cultivares de soja RR e suas respectivas isolinhas parentais	35
<b>Tabela 2</b>	Teores de micronutrientes nas cultivares de soja RR e suas respectivas isolinhas parentais	36
<b>Tabela 3</b>	Teores de macronutrientes nas cultivares de soja RR e suas respectivas isolinhas parentais	37
<b>Tabela 4</b>	Teores de micronutrientes nas cultivares de soja RR e suas respectivas isolinhas parentais	38
<b>Tabela 5</b>	Parâmetros fotossintéticos da soja RR e suas respectivas isolinhas parentais	39
<b>Tabela 6</b>	Parâmetros fotossintéticos da soja RR e suas respectivas isolinhas parentais	40
<b>Tabela 7</b>	Biomassa da parte aérea e raiz, da soja RR e suas respectivas isolinhas parentais	41
<b>Tabela 8</b>	Biomassa da parte aérea e raiz, da soja RR e suas respectivas isolinhas parentais	42

### CAPÍTULO 2

<b>Tabela 1</b>	Regressões e correlações para os parâmetros fotossintéticos da soja RR tratada com diferentes doses de glyphosate em aplicação única ou sequencial	61
<b>Tabela 2</b>	Regressões e correlações para fluorescência ( $F_o$ ), máxima fluorescência ( $F_m$ ) e razão da fluorescência pela máxima fluorescência ( $F_v/F_m$ ) da soja RR tratada com diferentes doses de glyphosate em aplicação única ou sequencial	63
<b>Tabela 3</b>	Regressões e correlações para o teor de clorofila ( $\text{mg cm}^{-2}$ ) da soja RR tratada com	65

	diferentes doses de glyphosate em aplicação única ou sequencial	
<b>Tabela 4</b>	Regressões e correlações para o total de água absorvida em diferentes estádios de crescimento da soja RR tratada com diferentes doses de glyphosate em aplicação única ou sequencial	66
 <b>CAPÍTULO 3</b>		
<b>Tabela 1</b>	Regressões e correlações para as variáveis analisadas em diferentes sojas RR tratadas com diferentes doses únicas de glyphosate	99
<b>Tabela 2</b>	Regressões e correlações para as variáveis analisadas em diferentes sojas RR tratadas com diferentes doses únicas de glyphosate	100
<b>Tabela 3</b>	Regressões e correlações para as variáveis analisadas em diferentes sojas RR tratadas com diferentes doses únicas de glyphosate	102
 <b>CAPÍTULO 4</b>		
<b>Tabela 1</b>	Dados climáticos da área experimental da Embrapa Soja, Londrina-PR, durante a condução do experimento	120
<b>Tabela 2</b>	Estimativas dos parâmetros dos modelos ajustados para o acúmulo de matéria seca total e de grãos em função do tempo e os respectivos valores do ponto de inflexão (PI)	121
<b>Tabela 3</b>	Estimativas dos parâmetros dos modelos ajustados para área foliar da soja em função do tempo e os respectivos valores do ponto de inflexão (PI)	122
<b>Tabela 4</b>	Estimativas dos parâmetros dos modelos ajustados para o acúmulo de macronutrientes	123

	primários em função do tempo e os respectivos valores do ponto de inflexão (P.I.)	
<b>Tabela 5</b>	Estimativas dos parâmetros dos modelos ajustados para o acúmulo de macronutrientes secundários em função do tempo e os respectivos valores do ponto de inflexão (P.I.)	124
<b>Tabela 6</b>	Estimativas dos parâmetros dos modelos ajustados para o acúmulo de micronutrientes em função do tempo e os respectivos valores do ponto de inflexão (P.I.)	125
<b>Tabela 7</b>	Peso de cem grãos (g) de plantas de soja convencional e transgênia, submetida a diferentes tratamentos de controle de plantas daninhas	126
<b>Tabela 8</b>	Produtividade de grãos ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) de soja convencional e transgênia, submetidas a diferentes manejos de plantas daninhas	126

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 2

- Figura 1** Taxa fotossintética (A), taxa transpiratória (E), 67  
condutância estomática (gs),  $\text{CO}_2$   
subestomático ( $C_i$ ) e eficiência de  
carboxilação ( $A/C_i$ ) na soja GR após aplicação  
de doses crescentes de glyphosate em duas  
modalidades de aplicação. Cada ponto  
representa a média de quatro repetições  
independentes.
- Figura 2** Fluorescência ( $F_o$ ), Máxima Fluorescência 70  
( $F_m$ ), Razão fluorescência pela máxima  
fluorescência ( $F_v/F_m$ ) sob condições  
constantes na soja GR após aplicação de  
doses crescentes de glyphosate em duas  
modalidades de aplicação. Cada ponto  
representa a média de quatro repetições  
independentes
- Figura 3** Teor de clorofila ( $\text{mg cm}^{-2}$ ) na soja GR após 72  
aplicação de doses crescentes de glyphosate  
em duas modalidades de aplicação. Cada  
ponto representa a média de quatro repetições  
independentes
- Figura 4** Absorção total de água em diferentes DAE em 73  
doses crescentes de glyphosate. Cada ponto  
representa a média de quatro repetições  
independentes
- Figura 5** Absorção total de água da soja RR até o 74  
estádio R1 (58 DAE) em doses crescentes de  
glyphosate. Os dados representam a média de  
oito repetições
- Figura 6** Biomassa seca da raiz da soja RR no estádio 75

	R1 após tratamento com glyphosate. Os dados representam a média de oito repetições	
<b>Figura 7</b>	Biomassa seca da parte aérea da soja RR no estádio R1 após tratamento com glyphosate. Os dados representam a média de oito repetições	76
<b>Figura 8</b>	Altura da soja RR no estádio R1 após tratamento com glyphosate. Os dados representam a média de oito repetições	77
<b>Figura 9</b>	Eficiência do uso da água (EUA) da soja RR em doses crescentes de glyphosate. Dados representam a média de oito repetições	78
 <b>CAPÍTULO 3</b>		
<b>Figura 1</b>	Taxa fotossintética (A), condutância estomática (gs), taxa transpiratória (E) e concentração de CO <sub>2</sub> subestomático (Ci) em diferentes sojas RR em aumento da dose de glyphosate aplicado em diferentes estádios fenológicos V2, V4 e V6	103
<b>Figura 2</b>	Taxa de transporte fotossintético de elétrons (ETR), fluorescência mínima (Fo'), fluorescência máxima (Fm'), fluorescência "estável" na luz (Fs), eficiência intrínscica do fotossistema 2 (Fv'/Fm'), eficiência quântica do transporte fotossintético de elétrons por meio do Fotossistema 2 (PhiPS2), produtividade quântica baseada na assimilação de CO <sub>2</sub> (PhiCO <sub>2</sub> ), coeficiente não-fotoquímico da fluorescência (qN) e proporção de abertura dos centros de reações (qP) em diferentes sojas RR em aumento da dose de glyphosate aplicado em diferentes estádios fenológicos	104



	V2, V4 e V6	
<b>Figura 3</b>	Índice SPAD, área foliar, biomassa seca da parte aérea e raiz em diferentes sojas RR em aumento da dose de glyphosate aplicado em diferentes estádios fenológicos V2, V4 e V6	106
 <b>CAPÍTULO 4</b>		
<b>Figura 1</b>	Acúmulo de matéria seca total e de grãos de soja em função do tempo e diferentes tratamentos. T1 = BRS 184 + capina manual, T2 = BRS 184 + herbicida seletivo, T3 = BRS 243 RR + capina manual, T4 = BRS 243 RR + glyphosate	127
<b>Figura 2</b>	Área foliar da soja em função do tempo e diferentes tratamentos. T1 = soja convencional + capina; T2 = soja convencional + herbicida seletivo; T3 = soja transgênica + capina; T4 = soja transgênica + herbicida glyphosate	128
<b>Figura 3</b>	Acúmulo de macronutrientes em função do tempo e diferentes tratamentos. T1 = BRS 184 + capina manual, T2 = BRS 184 + herbicida seletivo, T3 = BRS 243 RR + capina manual, T4 = BRS 243 RR + glyphosate	129
<b>Figura 4</b>	Acúmulo de micronutrientes em função do tempo e diferentes tratamentos. T1 = BRS 184 + capina manual, T2 = BRS 184 + herbicida seletivo, T3 = BRS 243 RR + capina manual, T4 = BRS 243 RR + glyphosate	130

## LISTA DE SÍMBOLOS

DAS	- dias após semeadura
A	- taxa fotossintética
E	- taxa transpiratória
gs	- condutância estomática
Ci	- CO <sub>2</sub> subestomático
ETR	- taxa de transporte de elétrons
Fo'	- fluorescência mínima
Fm'	- fluorescência máxima
Fv'/Fm'	- eficiência intrínseca do fotossistema 2
PS2	- fotossistema 2
PhiPS2	- eficiência quântica do transporte fotossintético de elétrons por meio do fotossistema 2
PhiCO2	- produtividade quântica baseada na assimilação de CO <sub>2</sub>
qN	- coeficiente não-fotoquímico da fluorescência
qP	- proporção de abertura dos centros de reações
RR	- soja resistente ao glyphosate
RR1	- soja resistente ao glyphosate da primeira geração
RR2	- soja resistente ao glyphosate da segunda geração
Não-RR	- soja convencional isolinhas parentais

## RESUMO

ZOBIOLE, Luiz Henrique Saes, D.S., Universidade Estadual de Maringá, fevereiro de 2011. **Glyphosate afeta parâmetros fisiológicos e nutricionais na soja RR e RR2.** Professor Orientador: Dr. Rubem Silvério de Oliveira Jr. Co-orientador: PhD. Robert John Kremer e Dr. Jamil Constantin

Problemas causados pelo herbicida glyphosate na cultura da soja resistente ao glyphosate (soja RR) constituem um tema bastante atual, principalmente aqueles relacionados à maior incidência de doenças, à questão nutricional e ao efeito sobre microrganismos benéficos do solo. No entanto, grande parte dos estudos disponíveis atualmente negligência possíveis efeitos negativos do glyphosate ao crescimento e ao desenvolvimento da soja RR. Com o contínuo aumento da área de soja RR no mundo, muitos produtores relatam que algumas variedades apresentam sintomas de injúrias após a aplicação. Resultados obtidos neste trabalho indicam que as injúrias causadas pelo glyphosate na soja RR devem-se à diminuição da fotossíntese. Além do dano fotossintético, glyphosate também afetou a eficiência do uso da água na soja RR, com significativa diminuição na conversão de fotoassimilados. A “segunda geração” de cultivares de soja RR (“RR2”), estudada neste trabalho, apresentou as mesmas injúrias visuais que a soja RR, e também diminuições significativas na absorção de nutrientes e na fotossíntese na presença do glyphosate. Os efeitos do glyphosate foram mais pronunciados com o aumento da dose e com aplicação mais tardias, para as duas cultivares de soja RR e RR2.

Palavras-chave: fisiologia, nutrição, fotossíntese, água.

## ABSTRACT

ZOBIOLE, Luiz Henrique Saes, D.S., Universidade Estadual de Maringá, February 2011. **Glyphosate affects physiological and nutritional parameters in two generations of RR soybean.** Adviser: Dr. Rubem Silvério de Oliveira Jr. Co-advisers: PhD. Robert John Kremer and Dr. Jamil Constantin

Problems caused by the herbicide glyphosate on soybean glyphosate-resistant (RR soybean) are a current topic, mainly those related to the higher incidence of diseases, to the mineral nutrition and to the effect on beneficial soil microorganisms. However, the majority of these studies have so far neglected possible negative effects related to nutrition, growth and development of RR soybean. With the continuous increased of RR soybean area in the world, many farmers have reported injury symptoms in some varieties of RR soybean after the use of glyphosate. Results obtained in this study revealed that the injuries caused by glyphosate in RR soybean may be related to the decrease in photosynthetic parameters. Beyond the photosynthetic damage, glyphosate also affected the water use efficiency of RR soybean, with significant decrease on the conversion of the photoassimilates. The “second generation” of cultivars RR soybean (“RR2”), to glyphosate injury, had the same visual injuries as the previous RR soybean, as well as, significant decreases on nutrient uptake and photosynthesis under glyphosate treatments. The glyphosate effects were more pronounced with increased glyphosate rates and late applications for both soybean RR and RR2.

Key words: physiology, nutrition, photosynthesis, water.

## APRESENTAÇÃO

Esta tese é composta de quatro artigos científicos. O primeiro artigo relata o efeito do glyphosate nos teores de nutrientes da soja RR. O segundo relata a eficiência do uso da água pela soja RR após aplicações de diferentes tratamentos com glyphosate. No terceiro artigo, aspectos como teores de nutrientes e a eficiência no uso da água são relacionados com a fotossíntese pelo efeito do glyphosate na soja da primeira (RR) e segunda geração (RR2). O último artigo correlaciona os três primeiros anteriores e compara o acúmulo de nutrientes da soja RR com a soja convencional. Em consonância com as regras do Programa de Pós-graduação em Agronomia, os textos, tabelas e gráficos dos artigos foram redigidos e traduzidos seguindo as normas das Revistas *Plant and Soil* and *Pesticide Biochemistry and Physiology*.

Zobiolo, L.H.S.; Oliveira Jr, R.S.; Huber, D.M.; Constantin, J.; Castro, C.; Oliveira, F.A.; Oliveira Junior, A. Glyphosate reduces shoot concentrations of mineral nutrients in glyphosate-resistant soybeans. **Plant and Soil**, v. 328, p. 57-69, 2010.

Zobiolo, L.H.S.; Oliveira Jr, R.S.; Kremer, R.J.; Constantin, J.; Bonato, C.M.; Muniz, A.S. Water use efficiency and photosynthesis of glyphosate-resistant soybean as affected by glyphosate. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.97, p.182-193, 2010.

Zobiolo, 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 and Soil**, v. 336, p. 251-265, 2010.

Zobiolo, L.H.S.; Oliveira Jr., R.S.; Constantin, J.; Oliveira Jr, A.; Castro, C.; Oliveira, F.A.; Kremer, R.J.; Romagnoli, L.M. Acúmulo de nutrientes em soja convencional e soja resistente ao glyphosate. **Planta Daninha**, (submetido)

## **1. Introdução geral**

Empresas da área de Biotecnologia investem a cada ano bilhões de dólares para o desenvolvimento de variedades resistentes a herbicidas. A primeira geração de soja resistente ao glyphosate (RR) já apresenta uma área plantada no Brasil superior a 10 milhões de hectares, área menor que a cultivada em outros países como EUA e Argentina que plantam, aproximadamente, 26 e 16 milhões de hectares de soja RR, respectivamente (USDA, 2010).

Em 2008, a segunda geração da soja resistente ao herbicida glyphosate (RR2) foi disponibilizada comercialmente nos Estados Unidos (Zobiole et al., 2010a) como promotora de maior produtividade em relação às prévias cultivares RR. Acredita-se que o Brasil receba esta tecnologia no prazo de cinco anos (Gazeta do Povo, 2008). Entretanto, com o aumento do uso da tecnologia RR, muitos produtores têm observado que, em determinadas condições, algumas variedades de soja RR apresentam injúrias após a utilização do herbicida glyphosate (Zablotowicz & Reddy, 2007), porém ainda não se sabe a causa desta injúria, uma vez que a soja RR é resistente ao glyphosate.

O primeiro relato sobre a ação do glyphosate foi feito em relação à sua propriedade metal-quelante (Jaworski, 1972), porém, atualmente, aceita-se que o glyphosate atua na enzima 5-enol-piruvil chiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs), bloqueando a produção de aminoácidos aromáticos (Duke et al., 2003).

Observações, em campo, no Brasil e no Centro-Norte dos Estados Unidos, têm demonstrado que aplicações de glyphosate induzem à deficiência de Fe, Zn e Mn em diversas culturas. Acredita-se que a natureza deste antagonismo entre micronutrientes e glyphosate pode estar relacionada com a formação de complexos de glyphosate insolúveis com os micronutrientes catiônicos (Eker et al., 2006).

Motavalli et al. (2004) relataram que o efeito potencial do glyphosate na transformações de nutrientes no solo pode ocorrer pelo estímulo ou pela inibição de microrganismos do solo, como por exemplo, a diminuição de fungos micorrízicos, diminuição da fixação de nitrogênio, inibição do desenvolvimento

dos nódulos, e também efeito tóxico direto à bactéria e a fungos benéficos do solo.

Kremer & Means (2009) observaram o aumento da susceptibilidade de plantas tratadas com glyphosate ao ataque de patógenos do solo (*Fusarium* spp.) que provavelmente se deve à redução da produção de fitoalexinas e ao aumento da exsudação radicular de aminoácidos na rizosfera (Kremer et al., 2005)

Uma das hipóteses para as reduções ocorridas no acúmulo de massa seca da parte aérea (MSPA) e raiz (MSRA), em soja RR na presença do glyphosate, é o processo de degradação deste herbicida dentro da planta, que resulta na formação do ácido aminometilfosfônico (AMPA), conhecida fitotoxina (Duke et al., 2003; Reddy et al., 2004). A formação de AMPA, dentro da planta, depende da dose de glyphosate, do genótipo e das condições ambientais (Reddy et al., 2004). Estes fatores que influenciam na formação de AMPA, nas plantas, explicariam porque alguns produtores observam injúrias em soja geneticamente modificada e outros não, e porque os mesmos agricultores frequentemente observam injúrias em um ano e em outros não.

É possível que este mesmo metabólito ou outros, via sarcosínica, ou até mesmo o glyphosate também tenham efeito direto na diminuição da MSPA, MSRA, massa seca de nódulos, número de nódulos, teores de nutrientes e parâmetros fotossintéticos, com possibilidade de perdas de produtividade na soja.

Por problemas relacionados ao uso do glyphosate em soja RR, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do glyphosate nos parâmetros fotossintéticos, nutricionais e de absorção de água na soja RR.

## **2. Revisão bibliográfica geral**

### **2.1 – Mecanismos de ação do herbicida glyphosate**

A primeira síntese do glyphosate ocorreu em 1950, sendo que este ácido apresentava considerável interesse como um agente complexante, redutor de pH, detergente, e muitas outras aplicações (Franz et al., 1997; Gruys & Sikorski, 1999). Durante os anos de 1960 a 1970, foi desenvolvida ampla rede de pesquisa a fim de descobrir as propriedades herbicidas do glyphosate. A primeira marca comercial começou a ser vendida nos anos 1970, e duas décadas após existiam cerca de 90 marcas formuladas à base desse ingrediente ativo (Gruys & Sikorski, 1999). Hoje, este herbicida é o mais vendido no mundo, principalmente pelo seu amplo espectro de ação e pelo fato de apresentar eficácia no controle de invasoras de difícil manejo.

O glyphosate tende a acumular-se em regiões meristemáticas das plantas tratadas, pela sua rápida translocação das folhas para as raízes, rizomas e meristemas apicais por meio do floema, juntamente com os fotoassimilados. Em contraste com outros herbicidas, os sintomas fitotóxicos ocorrem relativamente devagar. Para Mervosh & Balke (1991), a penetração do glyphosate nas células é mediada por proteínas transportadoras de fosfato, presentes na membrana plasmática. O sintoma mais comum observado em plantas susceptíveis é clorose foliar seguida de necrose. A morte da planta susceptível pode ocorrer em alguns dias ou semanas (Franz et al., 1997; Monquero et al., 2004; Rodrigues & Almeida, 2005).

A inibição da síntese de aminoácidos aromáticos pelo glyphosate foi primeiramente relatada por Jaworski (1972), entretanto a propriedade metalquelante do glyphosate foi mencionada como sendo o primeiro modo de ação desta substância. A maneira e a intensidade como a quelatização de metais ocorrem dentro das plantas ainda são desconhecidos, mas há estudos dos efeitos do glyphosate na fisiologia onde os metais estão envolvidos (Abu-Irmaileh & Jordan, 1977; Kitchen et al., 1981).

Aceita-se, atualmente, que o glyphosate bloqueia a enzima EPSP (5-enolpyruvoylshikimate-3-phosphate) sintase, a qual catalisa a formação da enzima EPSP do phosphoenolpyruvate (PEP) e shikimate 3-phosphate (S3P), sendo o único herbicida capaz de inibir esta enzima, bloqueando assim a



síntese de três aminoácidos aromáticos: o triptofano, a fenilalanina e a tirosina (Zablotowicz & Reddy, 2004).

Segundo Trezzi et al. (2001), em plantas suscetíveis tratadas com glyphosate, a molécula do herbicida não se liga à enzima livre, mas ao complexo EPSPs-S3P, impedindo a ligação do PEP, formando o complexo inativo EPSPs-S3P-glyphosate. A ligação do glyphosate ao complexo EPSPs-S3P é 115 vezes mais forte do que com PEP e sua dissociação é 2.300 vezes mais lenta. Nas plantas, a EPSPs é sintetizada no citoplasma, sendo transportada ao cloroplasto em forma de pré-enzima (pEPSPs). A ligação e inibição do glyphosate à enzima também acontece no citoplasma, formando o complexo glyphosate-pEPSPs-S3P (Kruse et al., 2000). Portanto, há redução na eficiência fotossintética e menor produção de aminoácidos aromáticos (Trezzi et al., 2001).

Embora o mecanismo de ação do glyphosate seja amplamente conhecido, alguns outros possíveis efeitos sobre as plantas são menos estudados. Estes efeitos secundários, no entanto, podem apresentar implicações importantes no crescimento de plantas e de microrganismos.

## **2.2 – Efeitos do glyphosate em cloroplastos e clorofila**

Estudos demonstram que existe inibição da enzima EPSPs pela interferência do glyphosate na entrada de carbono na rota do chiquimato, em função do aumento da atividade da enzima 2-ceto-3-deoxi-D-arabino-heptulosonato-7-fosfato sintase (DAHPS), que catalisa a condensação de eritrose-4-fosfato com PEP (Duke et al., 2003). O aumento da atividade da DAHPS aparentemente é pelos baixos níveis de arogenato, que é um inibidor alostérico da DAHPS e é um composto posterior a EPSP na rota do chiquimato. Com a redução da inibição por arogenato, DAHPS continua atuando, o que provoca acúmulo de altos níveis de chiquimato, já pela interrupção da rota da EPSPs. O acúmulo de chiquimato representa forte dreno de carbono do ciclo de Calvin, pelo desvio da eritrose-4-fosfato, que seria empregado na regeneração da ribulose bisfosfato, reduzindo a produção fotossintética (Serviates et al., 1987; Duke et al., 2003).

Além disso, concentrações milimolares de glyphosate inibem o  $\text{Co}^{+2}$ , cofator da DAHP synthase, pela habilidade do glyphosate em quelar este

metal. A desativação desta enzima pela interação glyphosate-metal é fisiologicamente importante, porém pouco divulgada (Ganson et al., 1988).

Quando plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) ou ervilha (*Pisum sativum*), por exemplo, são tratadas com doses subletais de glyphosate, as folhas jovens mostram uma pronunciada clorose internerval, similar à deficiência de micronutrientes. Durante o crescimento subsequente, as primeiras cloroses desaparecem, mas aparecem nas novas folhas. Há, evidentemente, um severo efeito na clorofila, provavelmente na sua síntese (Nilsson, 1985). Embora o primeiro local de ação do glyphosate seja a via do chiquimato, o primeiro sintoma de ação do herbicida é a clorose em folhas jovens (Moldes et al., 2008).

Kitchen et al. (1981) notaram efeito prejudicial causado pelo glyphosate na síntese de ácido δ-aminolevulinico (ALA), um precursor na biossíntese de clorofila, pois as duas enzimas responsáveis por sua biossíntese, a catalase e a peroxidase são muito sensíveis à deficiência de ferro (Marsh, 1963), que é um dos elementos que pode ser quelado pelo glyphosate. Cloroplastos são danificados pelo glyphosate (Campbell et al., 1976; Pihakaski & Pihakaski, 1980) e a função do cloroplasto é sensível à deficiência de manganês (Homann, 1967) e zinco (Thomson & Weier, 1962), ambos micronutrientes com os quais o glyphosate pode interferir.

Em áreas de reflorestamento de eucalipto, onde o uso do herbicida é frequente entre as linhas da cultura, tem sido observada intoxicação nas plantas desta cultura, promovendo sintomas semelhantes aos de distúrbios nutricionais, tais como deficiência de cálcio, zinco e boro (Tuffi Santos et al., 2007).

### **2.3 – Complexos metálicos com glyphosate**

O glyphosate, por pertencer ao grupo químico dos aminoácidos fosfonados, apresenta assim como seu precursor, a glicina, comportamento zwitteriônico, com separação de duas cargas em pH neutro, uma positiva no grupo amino e uma negativa no grupo fosfonato (Coutinho & Mazo, 2005). Este grupo fosfonato  $R-PO(OH)_2$  do composto tem a habilidade de formar complexos fortes com metais. O herbicida possui outros dois grupos funcionais (amino e carboxilato) que podem se coordenar fortemente com íons metálicos,

especialmente com os de transição em pH próximo de neutro, em que os grupos carboxilato e fosfonato estão desprotonados. A habilidade para se coordenar em três grupos químicos diferentes coloca o glyphosate numa posição privilegiada entre os herbicidas (Subramaniam & Hoggard, 1988).

Ácidos fosfônicos são conhecidos como “queladores” de cátions metálicos (Carter et al., 1967; Kabachnik et al., 1974) e o glyphosate deve exercer esta propriedade pela complexação biológica de importantes cátions bivalentes e trivalentes dentro da célula (Cole, 1985). O glyphosate, de maneira similar a muitos outros aminopoliácidos, atua como agente quelante e forma complexos estáveis com cátions metálicos di e trivalentes (Glass, 1984). Para Nilsson (1985), o glyphosate pode interferir com diversos íons metálicos, porém ainda é desconhecido o mecanismo da formação deste complexo metálico com glyphosate dentro da planta, tornando os elementos indisponíveis para ela.

Eker et al. (2006) estudaram o efeito da deriva simulada de glyphosate no crescimento da planta, absorção, translocação e acumulação (concentração no tecido) de ferro, manganês, zinco e cobre na cultura do girassol (*Helianthus annuus* L.) em solução nutritiva em condições controladas em casa-de-vegetação. O aumento da concentração de glyphosate aplicado na planta diminuiu significativamente a produção de matéria seca de raiz e parte aérea e a concentração de clorofila de folhas jovens e dos brotos. Após três dias da aplicação, o herbicida glyphosate causou uma severa diminuição nos teores foliares de Fe e Mn enquanto os teores de Zn e Cu foram menos afetados, porém também apresentaram considerável redução. Neste mesmo trabalho, estes elementos foram radiomarcados Fe ( $^{59}\text{Fe}$ ), Mn ( $^{54}\text{Mn}$ ), e Zn ( $^{65}\text{Zn}$ ), e pode-se observar que a absorção radicular de  $^{59}\text{Fe}$  e  $^{54}\text{Mn}$  foi significativamente reduzida após 12 e 24h, respectivamente, após a aplicação de 6% da dose recomendada de glyphosate.

Ozturk et al. (2008) investigaram o papel de diversas doses de deriva de glyphosate na atividade da redutase férrica em raízes de girassol (*Helianthus annuus*) crescendo em condições de deficiência de Fe. Como esperado, plantas que crescem em solução com deficiência de Fe apresentaram baixo teor de Fe e clorofila em comparação com as plantas-controle (Fe suficiente). O glyphosate diminuiu a atividade da redutase férrica nas raízes em plantas deficientes em Fe em aproximadamente 50% dentro de 6h após aplicação. A

aplicação de glyphosate na concentração de 1,89 mM resultou em quase 50% de inibição da redutase férrica dentro de 6h e completa inibição 24h após os tratamentos. Esta redução na atividade da redutase férrica sugere que o glyphosate ou os produtos de sua degradação devem formar complexos-Fe insolúveis, que não são disponíveis para a enzima redutase férrica.

Há, portanto, evidências claras de que, em função das suas características químicas únicas, o glyphosate representa uma série de interações com importantes cátions metálicos como  $\text{Fe}^{+2}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$  e  $\text{Cu}^{+2}$ . Tais cátions estão envolvidos em processos metabólicos importantes, os quais podem ser afetados indiretamente pela presença do glyphosate.

#### **2.4 – Interações de glyphosate com microrganismos do solo e nutrição de plantas**

Com a intensificação do uso de glyphosate, seja utilizado em dessecação, aplicações pós-emergentes no caso da soja RR ou no manejo de diversas culturas perenes, acredita-se que possa estar ocorrendo um efeito negativo sobre os microrganismos do solo. Tais efeitos são causados pelos surfactantes presentes na composição do produto que podem agir diretamente na intoxicação dos microrganismos ou também indiretamente pela absorção de glyphosate por uma grande parte de microrganismos que possuem em seu metabolismo a enzima EPSPsintase, ou por ambos efeitos. Segundo Oliveira Jr. & Constantin (2001), para maior sucesso na utilização dos herbicidas, tanto em relação ao aspecto de eficiência sobre as plantas quanto ao aspecto ambiental, é primordial conhecer e entender os processos que regulam seu comportamento e destino no ambiente.

Como o glyphosate atua na rota do ácido chiquímico sobre a atividade enzimática da EPSPs, bloqueando a síntese dos aminoácidos aromáticos, as plantas tratadas com glyphosate apresentam deficiência na síntese proteica e de vários outros compostos aromáticos importantes, como vitaminas (K e E), hormônios (auxina e etileno), alcaloides, lignina, antocianina e outras substâncias ligadas à defesa dos vegetais (Duke et al., 2003). Além disso, é importante ressaltar que essa rota metabólica também está presente em fungos e bactérias, indicando que efeitos negativos do glyphosate sobre estes

microrganismos sejam esperados, no caso do contato com este herbicida (Padgett et al., 1995).

Como existem poucos trabalhos sobre a influência dos herbicidas na população microbiológica do solo, Zobiolo et al. (2007) avaliaram a influência do herbicida sulfentrazone na fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja, e concluíram que o efeito fitotóxico do sulfentrazone reduziu a área foliar, formação de nódulos, massa seca dos nódulos e o acúmulo de N<sub>2</sub> na parte aérea.

Especificamente em relação à soja RR, Oliveira Jr. et al. (2008) estudaram a influência de diversas modalidades de aplicação de glyphosate sobre a nodulação e o crescimento de 20 cultivares brasileiras de soja RR e concluíram que todas as doses e modalidades de aplicação de glyphosate causaram reduções nos valores em todas as variáveis avaliadas. A maior redução ocorreu no número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca do sistema radicular e parte aérea, respectivamente. Os autores concluíram ainda que efeitos do glyphosate sobre a soja RR dependem de fatores como variedade, época de maturação, época de aplicação e dose.

Apesar de o glyphosate ser fortemente adsorvido ao solo, é possível que sua exsudação pelas raízes da soja RR promova efeito negativo sobre os microrganismos associados à rizosfera, interferindo na atividade metabólica dos mesmos (Kremer & Means, 2009). A redução na fixação de N<sub>2</sub> causada pelos herbicidas pode ser pela ação indireta no crescimento da planta, a efeitos diretos sobre o crescimento das bactérias, ou a efeitos sobre a associação planta-bactéria (Arruda et al., 2001). Para De Maria et al. (2006), o glyphosate diminui a condutância estomática, a exportação de carbono para os órgãos-fonte e também o metabolismo nodular.

Huber (2007) relatou que o glyphosate aumenta o estresse hídrico das plantas, antecipa a maturação e aumenta a susceptibilidade a doenças, modifica o equilíbrio microbiológico do solo e afeta a população de organismos benéficos para as plantas. Assim, se o produto for utilizado por vários anos, a nodulação das raízes das leguminosas pode ser comprometida, e conseqüentemente a fixação biológica de N<sub>2</sub>, e pode ser necessário longo período para restabelecer o equilíbrio da biota e da população normal de *Rhizobium*.

O glyphosate também interfere na população de micorrizas, comprometendo a nutrição das culturas em solos com baixa disponibilidade de Zn e P. Por outro lado, o glyphosate pode estimular o aumento de organismos patogênicos e oxidantes de Mn na rizosfera, os quais indisponibilizam este nutriente para a planta e a predispõe ao ataque de doenças (Huber, 2007).

Embora pouco se sabe sobre a intensidade dos efeitos do glyphosate sobre os microrganismos, em função das evidências dos trabalhos publicados até o momento, é possível concluir que há efeito deste herbicida sobre os fixadores simbióticos de N<sub>2</sub> e, possivelmente, também sobre microrganismos colonizadores da rizosfera, tanto pelo seu efeito sistêmico quanto pela exsudação radicular.

### **2.5 – Interações de glyphosate, doenças e nutrição de plantas**

Os herbicidas podem contribuir para o aumento de doenças em plantas (Altman & Campbell, 1977; Mekwatanakarn & Sivasithamparam, 1987; Hornby et al., 1998), e diversas dessas patologias estão associadas com a disponibilidade de micronutrientes (Evans et al., 2007). Micronutrientes são os ativadores ou inibidores de muitas funções fisiológicas críticas. Então, a deficiência ou a indisponibilidade destes elementos regulatórios pode afetar significativamente o crescimento e a resistência de pragas e doenças (Datnoff et al., 2007).

Um dos efeitos do glyphosate é a quelatização do Mn, um cofator para a enzima EPSPsintase na via do chiquimato, que inibe esta via metabólica das plantas e de muitos microrganismos (Cerdeira & Duke, 2006; Jaworski, 1972). Após a aplicação, o glyphosate é rapidamente translocado para as raízes e partir dos exsudados da rizosfera atinge eventualmente as raízes de plantas sensíveis ao glyphosate. Os efeitos tóxicos do glyphosate sobre a microbiota são acumulativos e é observada deficiência de Mn em áreas que são previamente consideradas suficientes em Mn, por causa da redução da população de organismos redutores de Mn no solo (Johal & Huber, 2009). A simples presença do gene de resistência ao glyphosate em milho e soja também reduz a absorção de Mn e sua eficiência fisiológica (Gordon, 2006; Huber, 2007; Reichenberger, 2007). Com a indução da deficiência de Mn pelo

glyphosate, tem sido reconhecido aumento da severidade de doenças como *Fusarium* spp. e *Rhizoctonia solani* (Larson et al., 2006).

Kremer & Means (2009) compararam variedades RR na presença do herbicida glyphosate e de herbicidas convencionais e observaram que com o aumento da dose de glyphosate aplicada à soja RR ocorre maior colonização de *Fusarium* spp. nas raízes e na rizosfera, fato este não observado na ausência dos herbicidas ou na presença de herbicidas convencionais. A explicação destes autores é que na presença do glyphosate ocorre aumento na concentração de carboidratos e aminoácidos na rizosfera e que quando estes são exsudados, tornam o ambiente mais propício à colonização de *Fusarium*. Além disso, o balanço na concentração de AIA é afetado e leva também à menor colonização por *Bradyrhizobium* spp.

Su-Jung & Kremer (2006) estudaram a mudança da população de bactérias que sintetizam o ácido indol acético (AIA) e a atividade da urease na rizosfera de soja RR. Em todos os tratamentos com glyphosate, a população de bactérias produtoras de AIA foi alterada em comparação à não-aplicação de glyphosate. A atividade da urease 30 dias após a aplicação de glyphosate foi significativamente reduzida em todos os tratamentos, demonstrando que este herbicida altera a população de bactérias rizosféricas que sintetizam AIA e também a atividade da urease pela biota do solo.

Segundo Johal & Huber (2007), herbicidas sistêmicos podem ter vários efeitos ainda não-entendidos na eficiência dos nutrientes e na severidade de doenças. Grande aumento na severidade de doenças associado com a intensa utilização de glyphosate pode ser um resultado direto da indução do glyphosate no enfraquecimento do sistema de defesa das plantas e, ou um aumento na população de patógenos. Efeitos indiretos do glyphosate na predisposição de doenças pode ser resultado da imobilização de micronutrientes específicos envolvidos na resistência a doenças, na redução de crescimento e no vigor de plantas que acumulam glyphosate ou da modificação da microflora do solo, afetando a disponibilidade dos nutrientes envolvidos na tolerância fisiológica a doenças.

## 2.6 Referências

- Abu-Irmaileh, B.E.; Jordan, L.S. Some aspects of the mechanism of action of glyphosate. **Proc. West. Soc. Weed Sci.**, v.30, p.57-63, 1977.
- Altman, J.; Campbell, C.L. Effect of herbicides on plant diseases. **Annu. Rev. Phytopathol.**, v.15, p.361-385, 1977.
- Arruda, J.S.; Lopes, N.F.; Bacarin, M.A. Nodulação e fixação do dinitrogênio em soja tratada com sulfentrazone. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.36, n.3, p. 325-330, 2001.
- Borém, A.L.; Santos, F.R. Variedades resistentes a herbicidas: Legislação e Liberação. In: Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas, 26, Ouro Preto, 2008. **Anais.** Ouro Preto, Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, 2008. p.165-178.
- Cakmak, I.; Yazici, A.; Tutus, Y.; Ozturk, L. Glyphosate reduced seed and leaf concentrations of calcium, manganese, magnesium, and iron in non-glyphosate resistant soybean. **Eur. J. Agron.**, v.31, p.114-119, 2009.
- Campbell, W.F.; Evans, J.O.; Reed, S.C. Effect of glyphosate on chloroplast ultrastructure of quackgrass mesophyll cells. **Weed Sci.**, v.24, p.22-25, 1976.
- Carter, R.P.; Carrol, R.L.; Irani, R.R. Nitrilotri (methylenephosphinic acid), ethylimido (methylenephosphonic acid) and diethylamino methylphosphonic acid and Ca(II) and Mg(II) complexing. **Inorg. Chem.**, v.6, p.639-946, 1967.
- Cerdeira, A.L.; Duke, S.O. The current status and environmental impacts of glyphosate resistant crops: A review. **J. Environ. Qual.**, v.35, p.1633-1658, 2006.
- Cole, D.J. **Mode of action of glyphosate – a literature analysis.** In: Grossbard, E.; Atkinson, D. (Ed.). The herbicide glyphosate. London: Butterworth, 1985. p.48-74.
- Coutinho, C.F.B.; Mazo, L.H. Complexos metálicos com o herbicida glyphosate: Revisão. **Química Nova**, v.28, n.6, p.1038-1045, 2005.
- Datnoff, L.E.; Elmer, W.H.; Huber, D.M. **Mineral nutrition and plant disease.** The American Phytopathological Society, 2007. 278 p.
- De Maria, N.; Becerril, J.M.; Garcia-Plazaola, J.I.; Hernandez, A.; De Felipe, M.R.; Fernandez-Pascual, M. New insights on glyphosate mode of action in nodular metabolism: role of shikimate accumulation. **J. Agric. Food Chem.**, v.54, p.2621–2628, 2006.
- Duke, S.O.; Rimando, A.M.; Pace, P.F.; Reddy, K.N.; Smeda, R.J. Isoflavone, glyphosate, and aminomethylphosphonic acid levels in seeds of glyphosate-



treated, glyphosate-resistant soybean. **J. Agric. Food Chem.**, v.51, p.340-344, 2003.

Eker, S.; Ozturk, L.; Yazici, A.; Erenoglu, B.; Romheld, V.; Cakmak, I. Foliar-applied glyphosate substantially reduced uptake and transport of iron and manganese in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. **J. Agric. Food Chem.**, v.54, p.10019–10025, 2006.

Evans, I.R.; Solberg, E.; Huber, D.M. Copper and plant disease. In: Datnoff, L.E.; Elmer, W.H.; Huber, D.M. (Eds.), Mineral nutrition and plant disease. APS Press, St. Paul, 3 Minn., Chapter 12, p.177-188, 2007.

Franz, J.E.; Mao, M.K.; Sikorski, J.A. **Glyphosate: A unique global herbicide**; ACS Monograph 189; American Chemical Society: Washington, DC, 1997.

Ganson, R.J. Jensen, R.A. The essential role of cobalt in the inhibition of the cytosolic isoenzyme of 3-Deoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate Synthetase from *Nicotiana glauca* by glyphosate. **Arch. Biochem. Biophys.**, v.260, p.85-93, 1988.

Gazeta do Povo (2008). Nova soja chega aos EUA e ameaça liderança do Brasil. Disponível em: <http://portal.rpc.com.br/gazetadopovo/economia>. Acesso em 15/09/2008

Glass, R.L. Metal complex formation by glyphosate. **J. Agric. Food Chem.**, v.32, p.1249-1253, 1984.

Gordon, B. Manganese nutrition of glyphosate-resistant and conventional soybeans. **Better Crops**, v.91, p.12-13, 2006.

Gruys, K.J.; Sikorski, J.A. **Inhibitors of tryptophan, phenylalanine and tyrosine biosynthesis as herbicides**. In: SINGH, B. K. Plant amino acids: biochemistry and biotechnology. New York: Marcel Dekker, 1999. p. 357-384.

Homann, P.E. Studies on the manganese of the chloroplast. **Plant Physiol.**, v.42, p.997-1007, 1967.

Hornby, D.; Bateman, G.L.; Gutteridge, R.J.; Lucas, P.; Osbourn, A.E.; Ward, E.; Yarham, D.J. **Take-all Disease of Cereals: A Regional Perspective**. CAB International, Wallingford, UK. 1998, 348p.

Huber, D. Efeitos do glyphosate em doenças de plantas. **Informações Agronômicas**, IPNI International Plant Nutrition Institute, n.119, p.13-15, 2007.

Jaworski, E.G. Mode of action of N-phosphonomethyl-glycine: inhibition of aromatic amino acid biosynthesis. **J. Agri. Food Chem.**, v.20, p.1195-1198, 1972.

Johal, G.; Huber, D.M. Glyphosate effects on diseases of plants. **Informações Agronômicas**, IPNI International Plant Nutrition Institute, nº 119, p.13-15, 2007.

Johal, G.S.; Huber, D.M. Glyphosate effects on diseases of plants. **Euro J. Agron.**, v.31, p.144-152, 2009.

Kabachnik, M.I.; Medved, T.Y.; Dyatlova, N.M.; Rudomino, M.V. Organophosphorus complexones. **Russian Chem. Rev.**, v.43, p.733-744, 1974.

Kitchen, L.M.; Witt, W.W.; Rieck, C.E. Inhibition of aminolevulinic acid synthesis by glyphosate. **Weed Sci.**, v.29, p.571-577, 1981.

Kremer, R.J.; Means, N.E.; Kim, K.S. Glyphosate affects soybean root exudation and rhizosphere microorganisms. **Int. J. Environ. Anal. Chem.**, v.85, p.1165-1174, 2005.

Kremer, R.J.; Means, N.E. Glyphosate and glyphosate-resistant crop interactions with rhizosphere microorganisms. **Eur. J. Agron.**, v.31, p.153-161., 2009.

Kruse, N.D.; Trezzi, M.M.; Vidal, R.R. Herbicidas inibidores da EPSPS: revisão de literatura. **Rev. Bras. Herb.**, v.1, n.2, p.139-146, 2000.

Marsh, H.V.JR.; Evans, H.J.; Matrone, G. Investigations on the role of iron in chlorophyll metabolism. II. Effect of iron deficiency on chlorophyll synthesis. **Plant Physiol.**, v.38, p.638-642, 1963.

Mekwatanakarn, P.; Sisvasithamparam, K. Effect of certain herbicides on soil microbial populations and their influence on saprophytic growth in soil and pathogenicity of the take-all fungus. **Biol. Fert. Soils**, v.5, p.175-180, 1987.

Mervosch, T.L.; Balke, N.E. Effects of calcium, magnesium, and phosphate on glyphosate absorption by cultured cells. **Weed Sci.**, v.39, p.347-353, 1991.

Moldes, C.A.; Medici, L.O.; Abrahao, O.S.; Tsai, S.M.; Azevedo, R.A. Biochemical responses of glyphosate resistant and susceptible soybean plants exposed to glyphosate. **Acta Physiol. Plant.**, v.20, p.469-479, 2008.

Monquero, P.A.; Christoffoleti, P.J.; Osuna, M.D.; Prado, R.A. Absorção, translocação e metabolismo do glyphosate por plantas tolerantes e suscetíveis a este herbicida. **Planta Daninha**, v.22, n.3, p.445-451, 2004.

Motavalli, P.P.; Kremer, R.J.; Fang, M.; Means, N.E. Impact of genetically modified crops and their management on soil microbially mediated plant nutrient transformations. **J. Environ. Qual.**, v.33, p.816-824, 2004.

Nilsson, G. **Interactions between glyphosate and metals essential for plant growth**. The herbicide glyphosate. London: Butterworth, 1985. p.35-47.

Oliveira Jr, R.S.; Constantin, J. **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Ed. Agropecuária, 2001. 362 p.

Oliveira Jr., R.S; Dvoranen, E.C.; Constantin, J.; Cavalieri, S.D.; Blainski, E. Influência do glyphosate sobre a nodulação e o crescimento de cultivares de soja resistente ao glyphosate. **Planta Daninha**, v.26, p. 831-843, 2008.

Ozturk, L.; Yazici, A.; Eler, S.; Gokmen, O.; Romheld, V.; Cakmak, I. Glyphosate inhibition of ferric reductase activity in iron deficient sunflower roots. **New Phytologist**, v.177, p.899-906, 2008.

Padgett, S.R., Kolacz, K.H.; Delannay, X.; Re, D.B.; La Valle, B.J.; Tinius, C.N.; Rhodes, W.K. Development, identification, and characterization of a glyphosate-tolerant soybean line. **Crop Sci**, v.35, p.1451-1461, 1995.

Pihakaski, S.; Pihakaski, K. Effects of glyphosate on ultrastructure and photosynthesis of *Pellia epiphylla*. **Annals of Botany**, v.46, p.133-141, 1980.

Pline, W.A.; Edmisten, K.L.; Wilcut, J.W.; Wells, R.; Thomas, J. Glyphosate-induced reductions in pollen viability and seed set in glyphosate-resistant cotton and attempted remediation by gibberellic acid (GA<sub>3</sub>). **Weed Sci.**, v.51, p.19-27, 2003.

Reddy, K.N.; Rimando, A.M.; Duke, S.O. Aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate, causes injury in glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. **J. Agric. Food Chem.**, v.52, p.5139-5143, 2004.

Reichenberger, L. Missing micronutrients: Using glyphosate is complicating the uptake of some minor nutrients. **The Furrow**, p. 22-23. 2007.

Rodrigues, B.N.; Almeida, F.S. **Guia de Herbicidas**. 5. ed. Londrina: IAPAR, 2005. 592p.

Santos, J.B.; Santos, E.A.; Fialho, C.M.T.; Silva, A.A.; Freitas, M.A.M. Época de dessecação anterior à semeadura sobre o desenvolvimento da soja resistente ao glyphosate. **Planta Daninha**, v.25, p.869-875, 2007.

Serviates, J.C.; Tucci, M.A.; Geiger, D.R. Glyphosate effects on carbon assimilation, ribulose biphosphate carboxylase activity, and metabolite levels in sugar beet leaves. **Plant Physiol.**, v.85, n.2, p.370-374, 1987.

Subramaniam, V.; Hoggard, P.E. Metal complexes of glyphosate. **J. Agric. Food Chem.** v.36, p.1326-1329, 1988.

Su-Jung, K; Kremer, R.J. 2006. Auxin-producing bacteria and urease activity in the rhizosphere of glyphosate-resistant soybean. In.:World Congress of Soil Science, 18, Philadelphia, PA. (Jul. 2006). [CD-Rom].

Taiz, L.; Zeiger, E. Mineral Nutrition. In: Plant Physiology, Sinauer Associates: Sunderland, p. 111-144. 1998.

Thompson, I. A.; Huber, D.M. Manganese and plant disease. In: Datnoff, L.E.; Elmer, W.H.; Huber, D.M. (Ed.) **Mineral nutrition and plant disease**. St Paul: The American Phytopathological Society Press, 2007. p. 139-153.

Thompson, W.W.; Weier, T.E. The fine structure of chloroplasts from mineral-deficient leaves of *Phaseolus vulgaris*. **Am. J. Bot.**, v.49, p.1047-1056, 1962.

Trezzi, M.M.; Kruse, N.D.; Vidal, R.A. Inibidores de EPSPS. In: Vidal, R.A.; Merotto JR, A. (Eds.). **Herbicidologia**, Porto Alegre, p.37-45, 2001.

Tuffi Santos, L.D.; Meira, R.M.S.A.; Ferreira, F.A.; Santos, B.F.S.; Ferreira, L. R. Morphological responses of different eucalypt clones submitted to glyphosate drift. **Environ. Exp. Botany**, v.59, p.11-20, 2007.

USDA. Disponível em: <http://www.fas.usda.gov>. Acesso em 10/01/2010

Zablotowicz, R.M.; Reddy, K.N. Impact of glyphosate and *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis; with glyphosate-resistant transgenic soybean: a minireview. **J. Environ. Qual.**, v.33, p. 825-831, 2004.

Zablotowicz, R.M.; Reddy, K.N. Nitrogenase activity, nitrogen content, and yield responses to glyphosate in glyphosate-resistant soybean. **Crop Protec.**, v.26, p.370–376, 2007.

Zobiole, L.H.S.; Oliveira Jr., R.S.; Tormena, C.; Constantin, J.; Cavalieri, S.D.; Alonso, D.G.; Brighenti, A.M.; Castro, C. Efeito da compactação do solo e do sulfentrazone sobre a cultura da soja em duas condições de água no solo. **Planta Daninha**, v. 25, p. 537-545, 2007.

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 and Soil**, v. 336, p. 251-265, 2010a.

Zobiole, L.H.S.; Oliveira Jr, R.S.; Kremer, R.J.; Constantin, J.; Bonato, C.M.; Muniz, A.S. Water use efficiency and photosynthesis of glyphosate-resistant soybean as affected by glyphosate. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.97, p.182-193, 2010b.

Zobiole, L.H.S.; Oliveira Jr, R.S.; Huber, D.M.; Constantin, J.; Castro, C.; Oliveira, F.A.; Oliveira Junior, A. Glyphosate reduces shoot concentrations of mineral nutrients in glyphosate-resistant soybeans. **Plant and Soil**, v. 328, p. 57-69, 2010c.

### 3. CAPÍTULO 1

## O glyphosate reduz a concentração dos nutrientes minerais da parte aérea da soja resistente ao glyphosate<sup>1</sup>

### 3.1 Resumo

Embora a tecnologia RR seja usada em muitos países produtores de soja, não existe recomendação de adubação própria para esta tecnologia, e pouco tem sido relatado sobre a influência do glyphosate no estado nutricional da soja RR. Uma avaliação em cultivares de diferentes ciclos de maturação em diferentes tipos de solo, revelou significativa diminuição nos teores foliares de macro e micronutrientes, e nos parâmetros fotossintéticos (teor de clorofila total, taxa fotossintética, transpiração e condutância estomática) com o uso do glyphosate (aplicação única e sequencial). Independente da aplicação de glyphosate, os teores de macro e micronutrientes na parte aérea foram menores na soja RR em comparação às suas isolinhas parentais não-RR. Massa seca da parte aérea e raiz foram reduzidas na presença do glyphosate em todas as cultivares avaliadas em ambos os solos. A menor biomassa, na soja RR comparado com suas isolinhas provavelmente, representa efeitos aditivos da diminuição da taxa fotossintética e da menor disponibilidade dos nutrientes foliares nas plantas tratadas com glyphosate. De modo geral, aplicação única afetou mais que aplicação sequencial, sendo que os efeitos são maiores em cultivares de ciclo precoce.

**Palavras-chave:** soja resistente ao glyphosate (*Glycine max* L.), glyphosate, “status” nutricional, fotossíntese

### 3.2 Abstract

Although glyphosate-resistant (RR) technology is used in most countries producing soybeans (*Glycine max* L.), there are no particular fertilizer recommendations for use of this technology, and not much has been reported on the influence of glyphosate on RR soybean nutrient status. An evaluation of different cultivar maturity groups on different soil types, revealed a significant decrease in macro and micronutrients in leaf tissues, and in photosynthetic parameters (chlorophyll, photosynthetic rate, transpiration and stomatal conductance) with glyphosate use (single or sequential application). Irrespective of glyphosate applications, concentrations of shoot macro- and micronutrients were found lower in the near-isogenic RR cultivars compared to their respective non-RR parental lines. Shoot and root dry biomass were reduced by glyphosate with all RR cultivars evaluated in both soils. The lower biomass in RR soybeans compared to their isogenic normal lines probably represents additive effects

---

<sup>1</sup>Trabalho publicado na Revista Plant and Soil, 2010 (Title: Glyphosate reduces shoot concentrations of mineral nutrients in glyphosate-resistant soybeans.)

from the decreased photosynthetic parameters as well as lower availability of nutrients in tissues of the glyphosate treated plants.

**Key words:** Glyphosate resistant soybean (*Glycine max* L.); glyphosate; nutrient status; photosynthesis

### 3.3 Introdução

O cultivo da soja resistente ao glyphosate (RR) no Brasil tem aumentado continuamente nos últimos anos, no entanto muitos agricultores têm observado certas injúrias causadas pelo glyphosate no crescimento inicial de algumas variedades de soja RR (Santos et al., 2007; Zablotowicz & Reddy, 2007).

O glyphosate possui amplo espectro de ação e quando aplicado, via folha, se transloca dentro da planta para centros ativos de locais de crescimento inibindo a 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs) na via do chiquimato. Esta via é responsável pela biossíntese dos aminoácidos aromáticos, mecanismo de defesa da planta e compostos fenólicos (Sprankle et al., 1975; Boocock & Coggins 1983; Singh et al., 1991; Hernandez et al., 1999).

O típico sintoma visual observado no campo após a aplicação do glyphosate na soja RR é conhecido como “yellow flashing” ou amarelecimento das folhas superiores. Algumas variedades de soja RR possuem pequenos sintomas visuais de amarelecimento enquanto outras são extremamente injuriadas pelo glyphosate. Para aliviar este amarelecimento, muitos agricultores e agrônomos no Brasil recomendam a aplicação de manganês (Mn) junto ou após a aplicação de glyphosate. Existem pesquisas mostrando que o glyphosate aumenta a população de microrganismos oxidantes e diminui a população de microrganismos redutores de Mn no solo, fazendo com que este micronutriente essencial fique indisponível para as plantas (Johal & Huber, 2009). Baixas doses de glyphosate também reduzem a absorção e a translocação de Mn e outros micronutrientes essenciais para as plantas (Eker et al., 2006; Ozturk et al., 2008).

Estudos recentes têm demonstrado que a soja RR responde positivamente à aplicação foliar de Mn mesmo quando a sua isolinha convencional não requer Mn adicional (Gordon, 2007). Complexos

organofosforosos, entre eles os ácidos amino-fosfônicos presentes no glyphosate, são um novo grupo de alta eficiência de formação de complexos capazes de complexar íons metálicos em meios aquosos (Kabachnik et al., 1974). Uma vez que o glyphosate é um ácido fosfônico (Franz et al., 1997) portanto, um forte “quelador” de cátions metálicos (Kabachnik et al., 1974; Coutinho & Mazo, 2005), esta propriedade deve ser outra causa da diminuição dos teores foliares de Mn na soja RR tratada com glyphosate.

O primeiro modo de ação para o glyphosate foi descrito como um quelador metálico e esta molécula foi inicialmente patenteada com esta finalidade (Jaworski, 1972; Bromilow et al., 1993). Atualmente, importante assunto sobre o uso do glyphosate em culturas RR, incluindo a soja, é o relato da maior incidência de diversas doenças que são influenciadas pela redução do estado nutricional das plantas, e pelo efeito do glyphosate nos diversos microrganismos benéficos no solo (Kremer et al., 2005; Johal & Huber, 2009).

O “status” nutricional da planta é geralmente determinado por meio da diagnose foliar pela análise das folhas recém-maduras (Malavolta et al., 1997). A suficiência de nutrientes das plantas está diretamente relacionada com o potencial produtivo; portanto, a análise foliar pode ser um importante instrumento para se avaliar o “status” nutricional das plantas (Oliveira et al., 2007). No entanto, há poucas publicações sobre o efeito do glyphosate na nutrição mineral da soja RR. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do glyphosate sobre o “status” nutricional da soja RR e de suas respectivas isolinhas parentais (não-RR).

### **3.4 Material e Métodos**

#### **3.4.1 Condições de crescimento**

Um experimento em casa-de-vegetação foi conduzido na Universidade Estadual de Maringá, PR entre 14 de outubro, 2007 a 15 de fevereiro, 2008 (localização: 23° 25' S, 51° 57' W), com plantas de soja (*Glycine max* L.) crescendo em vasos de polietileno com capacidade de 5.0 dm<sup>3</sup> preenchidos por um dos dois tipos de solos avaliados.

Os tratamentos foram combinados em um esquema fatorial 4x3x2 com quatro repetições. O primeiro fator foi constituído por quatro tratamentos de

herbicidas, utilizando a formulação comercial de sal de isopropilamina (480 g e.a. L<sup>-1</sup>) como recomendado (Gazziero et al., 2008). Tratamentos individuais para a soja RR consistiram em: 1) isolinha parental (não-RR); 2) RR controle sem glyphosate; 3) aplicação sequencial de glyphosate (600 + 600 g e.a. ha<sup>-1</sup>) no estágio V4 e V5; 4) aplicação única de glyphosate (1200 g e.a. ha<sup>-1</sup>) no estágio V4. A isolinha parental (não-RR) foi considerada o tratamento-controle para cada cultivar, e não recebeu nenhuma aplicação de glyphosate.

O segundo fator foi o ciclo de maturação das cultivares. Três pares isogênicos das cultivares de soja RR foram selecionados dos grupos de maturação precoce, médio e tardio comumente cultivados no Brasil. Embrapa 58 e BRS 242 RR são cultivares de maturação precoce; BRS 133 e BRS 245 RR são cultivares de maturação médio; e BRS 134 e BRS 247 RR são cultivares de maturação tardia.

O último fator foi o tipo de solo. Os dois solos foram coletados do horizonte A (0 – 20 cm) e peneirados com o auxílio de malha 5 mm. O Latossolo Vermelho nitossólico continha 75% de argila, 16% de areia, pH em CaCl<sub>2</sub>: 5,40; Al: 0,0; Ca: 8,22; Mg: 3,03; K: 0,47 cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>; P: 10,90; S: 5,47; Fe: 88,02; Zn: 11,98; Cu: 32,38; Mn: 95,04 mg.dm<sup>-3</sup> e C<sub>org</sub>: 7,82 g.dm<sup>-3</sup>. O Latossolo Vermelho distrófico continha 21% de argila, 71% de areia, pH em CaCl<sub>2</sub>: 5,10; Al: 0,0; Ca: 1,85; Mg: 1,24; K: 0,26 cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>; P: 18,10; S: 27,06; Fe: 264,30; Zn: 1,73; Cu: 3,08; Mn: 32,82 mg.dm<sup>-3</sup> e C<sub>org</sub>: 7,82 g.dm<sup>-3</sup>. As características de cada solo, teor de matéria orgânica (C<sub>org</sub>) e pH CaCl<sub>2</sub> foram determinados de acordo com os procedimentos estabelecidos pela Embrapa (1997).

O Latossolo Vermelho nitossólico foi adubado com 100 mg K<sub>2</sub>O e 250 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> por kg de solo e o Latossolo Vermelho distrófico 80 mg K<sub>2</sub>O e 80 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 1 mg ZnSO<sub>4</sub> por kg de solo. As 96 unidades experimentais foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado.

### **3.4.2 Práticas de cultivo e aplicação do glyphosate**

Imediatamente, antes da semeadura, as sementes de soja foram tratadas com 200 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes da mistura de 200 g L<sup>-1</sup> carboxim + 200 g L<sup>-1</sup> de thiram (suspensão concentrada do fungicida sistêmico e de contato, respectivamente), 13,5 g L<sup>-1</sup> cobalto e 135,0 g L<sup>-1</sup> molibdênio, antes da



inoculação com 300 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes da cultura de *Bradyrhizobium elkanii*, estirpes SEMIA 587 e SEMIA 5019 (5x10<sup>9</sup> bactérias por grama). Seis sementes foram semeadas por vaso a 3 cm de profundidade e quando estas se encontravam no estágio V1, foi feito o desbaste, deixando três plantas por vaso.

Plantas no estágio V4 foram pulverizadas às 7h com glyphosate com um volume de calda de 190 L ha<sup>-1</sup>, fora da casa-de-vegetação utilizando um pulverizador costal com bicos SF110.02 sob pressão constante de 2 kgf cm<sup>-2</sup> de CO<sub>2</sub>. Condições ambientais durante a aplicação do glyphosate foram a temperatura do ar entre 25 e 29 °C, umidade entre 80 e 89%, solo úmido e a velocidade do vento entre 5 e 10 km h<sup>-1</sup> com céu aberto e sem nebulosidade. Não houve escorrimento superficial das folhas. Após as aplicações do herbicida, os vasos retornaram à casa-de-vegetação e foram somente irrigados no dia seguinte para assegurar a absorção do herbicida pela folha. Os vasos foram irrigados diariamente a fim de manter o solo úmido, e mantidos livre de plantas daninhas por capina manual.

### **3.4.3 Análise da fotossíntese e nutrientes minerais**

Antes da coleta das folhas no estágio R1, os parâmetros fotossintéticos como taxa fotossintética (A), taxa transpiratória (E) e condutância estomática foram avaliados utilizando um analisador de gás infravermelho (IRGA) ou ADC model LCpro+ (Analytical Development Co. Ltd, Hoddesdon, UK). As avaliações foram feitas entre 7 e 11h, utilizando a folha diagnose de todas as três plantas de cada vaso. Após as análises dos parâmetros fotossintéticos, o último trifólio totalmente expandido (folha diagnose) foi coletado de todas as três plantas de cada vaso para determinar os teores de macro e micronutrientes em R1. O estágio R1 foi diferente para cada cultivar sendo para a cultivar BRS 242 RR, 46 dias após a semeadura (DAS); BRS 245, 54 DAS e BRS 247, 65 DAS. Após completa digestão seca, N foi determinado pelo método Kjeldahl (Baker & Thompson, 1992) e as concentrações de P, K, Ca, Mg, S, Zn, Mn, Cu e B foram determinadas por espectrometria de emissão com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES-modelo Optima 3300 DV, Perkin Elmer, USA).

O teor de clorofila foi avaliado (Minolta SPAD 502) na folha diagnose colocando o sensor no mesófilo foliar evitando-se as nervuras (Singh et al., 2002; Richardson et al. 2002; Pinkard et al., 2006). Duas leituras foram tomadas por planta em cada vaso obtendo assim as médias para fornecer um valor único da leitura do SPAD. O teor de clorofila foi calculado usando a equação de Arnon (1949) e expresso em miligramas de clorofila por  $\text{cm}^{-2}$  de folha.

Após avaliações fotossintéticas, a parte aérea da soja foi cortada rente ao solo e as raízes foram cuidadosamente lavadas em água corrente para remover o solo. Todo o material colhido foi acondicionado em sacos de papel e secos sob circulação forçada a 65 – 70°C até atingir o peso constante. A massa seca foi determinada pelo peso das partes das plantas.

#### **3.4.4 Análise dos dados**

Os dados do experimento foram submetidos ao teste de Shapiro & Wilk (1965), a fim de avaliar a normalidade entre eles. Para todos os dados foi realizada análise de variância e posteriormente o teste de agrupamento pelo método Scott-Knott em nível de 5% de probabilidade utilizando-se o programa software SISVAR (Ferreira, 1999).

### **3.5 Resultados**

#### **3.5.1 Estado nutricional**

Os teores de nutrientes das análises foliares obtidos neste estudo foram comparados com os valores considerados suficientes para a cultura da soja (Mills & Jones, 1996; Oliveira et al. 2007). Embora a maioria dos nutrientes esteja dentro do nível de suficiência recomendado por Oliveira et al. (2007), a resposta ao glyphosate variou com o ciclo de maturação das cultivares estudadas. Os dados claramente mostram que existem dois fatores que influenciam a eficiência dos nutrientes na soja RR. O primeiro é a redução da absorção do nutriente imposta pela presença do gene(s) de resistência ao glyphosate, independentemente de o glyphosate ser aplicado ou não, e o segundo é o impacto aditivo do glyphosate aplicado na planta RR. A presença do gene(s) RR reduziu o teor de macro e micronutriente, com o efeito sendo

mais pronunciado na cultivar do ciclo de maturação precoce (Tabelas 1 a 4). Os elementos Ca, Mg, Zn e Cu foram os nutrientes cujos teores foram mais reduzidos. A maioria dos nutrientes que foram reduzidos pela presença do gene RR também foram ainda mais reduzidos quando o glyphosate foi aplicado.

Todos os macronutrientes, exceto o nitrogênio na cultivar de ciclo de maturação precoce (BRS 242 RR), foram reduzidos pelo glyphosate comparado com o tratamento sem glyphosate na soja RR e sua isolinha parental (não-RR). Macronutrientes nas cultivares parentais (não-RR) sempre apresentaram valores maiores que suas RR derivativas, com ou sem glyphosate (Tabela 1). Somente os teores de N, Zn e Mn foram afetados pelo glyphosate na cultivar de ciclo de maturação médio (BRS 245 RR) (Tabelas 1 e 2). O K e o Mn foram os elementos reduzidos na cultivar de ciclo de maturação tardio (BRS 247 RR), quando tratada com glyphosate (Tabelas 1 e 2).

Todos os micronutrientes foram reduzidos pelo glyphosate na soja RR de ciclo de maturação precoce (Tabela 2) comparado com a soja RR sem tratamento e sua isolinha parental (não-RR). De forma similar, todos os micronutrientes na cultivar de ciclo de maturação médio foram reduzidos, com exceção do Fe, pela presença do glyphosate comparado com a soja RR sem tratamento e sua isolinha parental (não-RR) (Tabela 2). A cultivar de ciclo de maturação tardio não foi afetada severamente pelo glyphosate; no entanto Zn e Mn foram reduzidos pelo glyphosate (Tabela 2).

O glyphosate reduziu significativamente os teores foliares de macro e micronutrientes das cultivares de soja nos dois tipos de solo (Tabelas 3 e 4), com exceção do N no Latossolo Vermelho nitossólico e do Cu no Latossolo Vermelho distrófico. Além disso, as isolinhas parentais geralmente apresentaram teores maiores de macro e micronutrientes em comparação com suas RR derivativas, com ou sem glyphosate (Tabelas 3 e 4).

### **3.5.2 Parâmetros fotossintéticos**

Plantas de todos os grupos de maturação expostas à aplicação única ou sequencial de glyphosate frequentemente apresentaram teor de clorofila menor do que aquelas não expostas ao herbicida (Tabela 5). As cultivares de soja RR tratadas com glyphosate apresentaram teor de clorofila menor que as cultivares

RR não-tratadas. No entanto, a cultivar de ciclo de maturação precoce apresentou significativamente menor teor de clorofila e condutância estomática (gs) somente na aplicação sequencial de glyphosate (Tabela 5). Neste mesmo grupo de maturação desta cultivar, o mesmo comportamento foi obtido para a condutância estomática (gs); no entanto, na cultivar de ciclo médio e tardio a condutância estomática foi menor na presença do glyphosate do que na sua ausência e suas respectivas isolinhas parentais (Tabela 5).

A taxa fotossintética (A) foi menor no tratamento com glyphosate do que no tratamento sem glyphosate para as cultivares de ciclo de maturação precoce e médio, mas não houve diferença para a cultivar de ciclo de maturação tardio (Tabela 5). A taxa de transpiração (E) foi diminuída pelo glyphosate em todas as cultivares avaliadas (Tabela 5).

Os parâmetros fotossintéticos (A, E, gs) foram severamente afetados pelo glyphosate nos diferentes ciclos de maturação das cultivares RR cultivadas em ambos os tipos de solo; no entanto, não houve diferenças entre a soja RR não-tratada com glyphosate e suas respectivas isolinhas parentais (não-RR) (Tabela 6).

### **3.5.3 Produção de biomassa**

A massa seca da parte aérea e a raiz de todas as cultivares avaliadas foram reduzidas pelo glyphosate (Tabela 7), embora a isolinha parental (não-RR) do ciclo de maturação precoce, tenha apresentado menor biomassa de raiz do que sua soja RR derivativa sem glyphosate. Não houve diferença entre aplicação única ou sequencial no acúmulo de biomassa das plantas. Comportamento semelhante foi obtido para os solos estudados, onde o glyphosate reduziu a biomassa da parte aérea e da raiz em todos os tratamentos da soja RR comparados com a os tratamentos sem glyphosate na soja RR e nas suas isolinhas parentais (Tabela 8).

## **3.6 Discussão**

Atualmente, os mesmos referenciais de teores de macro e micronutrientes são usados pelos agrônomos para interpretar a análise foliar de ambos os tipos de soja disponível para cultivo (RR e convencional) (Mills &

Jones, 1996; Oliveira et al., 2007), embora estes dados de referência tenham sido gerados apenas com materiais convencionais. Os resultados apresentados nas Tabelas 1 e 2 mostraram que as isolinhas parentais (não-RR) geralmente tinham teores de nutrientes maiores que suas respectivas RR derivativas, independente da aplicação do glyphosate. Gordon (2007a, 2007b) também observou que a presença do gene de resistência na soja reduziu a eficiência nutricional das plantas comparada com suas isolinhas parentais (não-RR).

Diversos estudos e observações em campo têm mostrado que o glyphosate afeta a nutrição dos micronutrientes nas plantas, o que tem sido correlacionado à sua habilidade de formar complexos insolúveis entre glyphosate-metal (Madsen et al., 1978; Glass, 1984; Coutinho & Mazo, 2005; Gordon, 2007a, 2007b). De acordo com Eker et al. (2006), após a absorção do glyphosate dentro da planta, a absorção e o transporte de micronutrientes catiônicos pode ser inibida pela formação de complexos poucos solúveis entre glyphosate-metal dentro do tecido da planta. Isso poderia explicar o menor teor de micronutrientes na soja RR após aplicação do glyphosate quando comparado com a soja RR sem glyphosate ou com suas isolinhas parentais (não-RR) (Tabela 2).

Observações em campo no Brasil e no Centro-Norte dos Estados Unidos têm indicado que aplicações frequentes de glyphosate induzem à deficiência de Fe, Zn e Mn na soja RR (Franzen et al., 2003; Gordon, 2017a; Johal and Huber, 2009). No presente estudo, o glyphosate diminuiu não somente a quantidade total de micronutrientes nas plantas, mas também a quantidade total de macronutrientes na soja RR (Tabelas 1, 2, 3 e 4). No entanto, foram observadas diferenças entre os ciclos de maturação das cultivares avaliadas. Estas diferenças poderiam refletir diferentes eficiências na absorção dos nutrientes pelas cultivares ou um generalizado efeito causado pela maturação, como observado pelo maior efeito do glyphosate na cultivar de ciclo de maturação precoce que possui menor tempo para recuperar dos efeitos deste herbicida. É nítido que a aplicação de glyphosate nas doses recomendadas pode exercer efeitos negativos no crescimento e na nutrição dos micronutrientes na soja RR (Bott et al., 2008).

A aplicação única de glyphosate na cultivar de ciclo de maturação precoce, significativamente, reduziu mais os teores de P, K, Ca, Mg e S do que a aplicação sequencial (Tabela 1). Por esta cultivar possuir um ciclo menor de maturação, provavelmente houve menos tempo para se recuperar do efeito quelante do glyphosate (Jaworski, 1972; Kabachnik et al., 1974; Madsen et al., 1978; Glass, 1984; Bromilow et al., 1993; Coutinho & Mazo, 2005; Eker et al., 2006).

A aplicação única de glyphosate na cultivar de ciclo de maturação precoce levou a um maior efeito no Zn do que a aplicação sequencial (Tabela 2). No geral, a modalidade de aplicação de glyphosate teve maior efeito nos micronutrientes do que nos macronutrientes.

O glyphosate diminuiu as quantidade totais de macro e micronutrientes absorvidas em todas as cultivares RR avaliadas (Tabelas 1 e 2). Esta redução foi mais pronunciada na cultivar de ciclo de maturação precoce, onde todos os macronutrientes, exceto N, e todos os micronutrientes foram afetados pelo glyphosate (Tabelas 1 e 2). Os dados sugerem que cultivares de ciclo de maturação precoce devem estar mais predispostas a maiores injúrias após o uso deste herbicida. A maior injúria ocorrida na cultivar de ciclo de maturação precoce pode ter sido pelo menor período de detoxificação do glyphosate ou de um de seus metabólitos entre eles o ácido aminometilfosfônico (AMPA) (Duke et al., 2003; Reddy et al., 2004) o qual pode aumentar o efeito quelante (Jaworski, 1972; Kabachnik et al., 1974; Madsen et al. 1978; Glass 1984; Bromilow et al., 1993; Coutinho & Mazo, 2005; Eker et al., 2006).

A forte injúria na soja RR está correlacionada com os níveis de AMPA formado dentro da planta (Zablotowicz & Reddy, 2007). Este principal metabólito é tóxico para a soja RR como evidenciado pela redução de clorofila a biomassa da parte (Reddy et al. 2004). No entanto, a imobilização do Mg pelo glyphosate poderia também ser um dos mecanismos, pela clorofila ser dependente de Mg para sua formação (Beale, 1978; Taiz & Zeiger, 1998).

De fato, as isolinhas parentais (não-RR) sempre apresentaram teores de nutrientes maiores que suas RR derivativas tratadas com glyphosate, independentemente do tipo de solo em que foram cultivadas (Tabelas 3 e 4), indicando que o glyphosate pode reduzir a absorção, translocação, ou a disponibilidade dos nutrientes. Desta forma, as cultivares isolinhas (não-RR)

devem possuir níveis críticos menores para eficiência fisiológica comparadas com as cultivares de soja RR tratadas com glyphosate, como relatado por Gordon (2007a, 2007b). A aplicação de glyphosate exacerbou esta interação, pois o nível crítico de determinado nutriente na planta pode ser variável em função das variações na capacidade de absorver e/ou utilizar o nutriente (Fageria, 1976; Fageria, 1987; Muniz et al., 1985; Fonseca et al., 1988, Scherer, 1998). A menor produção de biomassa nas cultivares RR tratadas com glyphosate indica que um nível maior de nutrientes deve ser requerido pelas cultivares RR para atingir a eficiência fisiológica.

A imobilização causada pelo glyphosate foi mais intensa para P, K e S no solo argiloso - Latossolo Vermelho nitossólico (Tabela 3). A menor disponibilidade de P, provavelmente pela maior adsorção no solo argiloso (Novais et al., 1979; Seybold et al., 1999), poderia ter acentuado o menor teor de P no tecido das folhas tratadas com glyphosate. O menor teor de S nas sojas tratadas, no solo argiloso, deve ser pela sua concentração ser menor que no solo Latossolo Vermelho nitossólico.

O efeito do glyphosate sobre os parâmetros fotossintéticos, provavelmente, são decorrentes do menor teor de clorofila nas plantas tratadas com glyphosate (Tabelas 5 e 6) como resultado do dano direto do glyphosate à clorofila (Kitchen et al., 1981a; Kitchen et al., 1981b; Lee, 1981; Reddy et al., 2004), à imobilização do Mg e Mn requerido para a produção e ao funcionamento da clorofila (Beale, 1978; Taiz & Zeiger, 1998). O principal metabólito do glyphosate nas plantas (AMPA) pode também causar injúrias na soja RR tratadas com glyphosate e contribuir para a clorose observada (Pline et al., 1999; Reddy et al., 2000; Duke et al., 2003; Reddy et al., 2004).

Eker et al. (2006) atribuíram a ocorrência de clorose nas folhas jovens ou o amarelecimento das folhas superiores causada pelo glyphosate a um reflexo da inativação fisiológica do Fe e do Mn nestes tecidos onde ocorre o acúmulo de glyphosate. Neste trabalho, os teores de micronutrientes na soja RR foram severamente reduzidos na presença do glyphosate comparados com os tratamentos sem glyphosate (Tabelas 2 e 4).

A redução na taxa fotossintética (A), condutância estomática (gs) e taxa transpiratória (E) na presença do glyphosate (Tabelas 5 e 6), poderia ocorrer pelo dano direto ao cloroplasto (Campbell et al., 1976; Pihakaski & Pihakaski,

1980; Nilsson, 1985) ou pela imobilização de micronutrientes essenciais pelo glyphosate. O cloroplasto é sensível à deficiência de Zn (Homann, 1967) e Mn (Thomson & Weier, 1962), ambos são complexados pelo glyphosate (Nilsson, 1985). Portanto, a redução destes micronutrientes essenciais pelo glyphosate na soja RR (Tabelas 2 e 4), também poderia ser uma das razões para a menor A, gs e E na soja RR tratada com glyphosate comparada com a soja RR sem glyphosate ou com suas isolinhas parentais (Tabelas 5 e 6).

Uma vez que o glyphosate forma complexos insolúveis com metais (Madsen et al., 1978; Glass, 1984; Coutinho & Mazo, 2005), a diminuição dos microelementos poderia afetar a principal função do cloroplasto, por exemplo a fotossíntese, como evidenciado pela severa redução nos parâmetros fotossintéticos (Tabelas 5 e 6).

A redução nos parâmetros fotossintéticos na soja RR tratada com glyphosate, observadas no estágio R1, distante da aplicação do herbicida, sugere que tanto o glyphosate quanto seus metabólitos possuem um impacto residual persistente na fisiologia e no ciclo da planta (Duke et al., 2003; Arregui et al., 2004).

Shibles & Weber (1965) concluíram que a produção de biomassa total da soja depende da energia suprida pelo processo fotossintético para sintetizar compostos carbônicos. Com a menor disponibilidade de energia nas plantas RR tratadas com glyphosate, este carbono não poderá ser assimilado eficientemente (Taiz & Zeiger, 1998). Desta forma, diminuições em A, E e gs (Tabelas 5 e 6) poderiam explicar os menores teores nutricionais (Tabelas 1, 2, 3 e 4) e a diminuição de produção de biomassa na soja RR tratada com glyphosate (Tabelas 7 e 8).

A diminuição do peso seco da parte aérea e raiz pelo glyphosate provavelmente ocorreu pela soma de diversos efeitos como a diminuição dos parâmetros fotossintéticos (Tabelas 5 e 6) e menores teores de nutrientes (Tabelas 1, 2, 3 e 4). Outros autores relatam que o glyphosate pode causar menor disponibilidade de nutrientes dentro das plantas (Franzen et al., 2003; Eker et al., 2006; Huber, 2006; Bott et al., 2008). A redução na formação dos nódulos (Jaworski, 1972; Moorman et al., 1992; Hernandez et al., 1999; Reddy et al., 2000; King et al., 2001; Reddy et al., 2004; Zablotowicz & Reddy, 2004; De Maria et al., 2006; Zablotowicz & Reddy, 2007) também deve ocorrer pelo



efeito tóxico direto do glyphosate exsudado das raízes das plantas para o *Bradyrhizobium* spp. ou pela toxicidade do ácido aminometilfosfônico (AMPA) formado durante a degradação do glyphosate (Reddy et al., 2004).

Os múltiplos efeitos do glyphosate na concentração dos nutrientes na parte aérea indicam que a soja RR requer recomendação diferente de adubação em relação à soja não-RR. Os maiores teores de nutrientes nas isolinhas parentais também indicam maior eficiência na absorção de nutrientes em relação às suas RR derivativas. Menor concentração de Mg, Zn, Mn, Fe e Cu nas culturas RR podem ter implicações para a saúde humana e animal em função destes nutrientes serem frequentemente deficientes e de que as culturas fornecem a fonte de dieta principal para estes minerais essenciais (Ames, 1999). Futuras pesquisas deveriam avaliar o impacto do glyphosate na concentração dos nutrientes nos grãos, o que poderia afetar as recomendações nutricionais (McCay-Buis et al. 1995).

### **3.7 Conclusão**

O estado nutricional da soja RR é afetado pelo glyphosate, sendo que a aplicação única interferiu mais que aplicação sequencial. Isolinhas parentais (não-RR) e as cultivares de soja RR dos diferentes grupos de maturação sem glyphosate, geralmente apresentam maiores concentrações de macro e micronutrientes foliares do que as cultivares de soja RR com glyphosate. Cultivares de soja RR do grupo de maturação precoce foram nutricionalmente mais afetadas que as do ciclo de maturação médio e tardio. A soja RR sem glyphosate também apresenta maior atividade fisiológica (fotossíntese e respiração) e clorofila funcional. A recomendação de adubação para soja RR deveria considerar a redução da eficiência nutricional imposta pela presença do gene RR assim como o impacto do glyphosate no estado nutricional.

### **3.8 Agradecimentos**

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq), pela bolsa de estudos e suporte desta pesquisa.

### **3.9 Referências**

Ames, B. N. Micronutrients prevent cancer and delay aging. *Toxicol. Lett.*, v.102-103, p.5-18. 1998.

Arnon, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* v.24, p.1-15, 1949.

Arregui, M.C.; Lenardón, A.; Sanchez, D.; Maitre, M.I.; Scotta, R.; Enrique, S. Monitoring glyphosate residues in transgenic glyphosate-resistant soybean. *Pest. Manage. Sci.* n.60, p.163, 2003.

Baker, W.H.; Thompson, T.L. Determination of total nitrogen in plant samples by Kjeldahl. In: Plank, C.O. (ed.) *Plant Analysis Reference Procedures for the Southern Region of the United States*. Southern Cooperative Series Bulletin 368. Athens: The Georgia Agricultural Experiment Station, University of Georgia, p.13–16, 1992.

Beale, S.I.  $\delta$ -Aminolevulinic acid in plants: its biosynthesis, regulation and role in plastid development. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, v.29, p.95-120, 1978.

Boocock, M.R.; Coggins, J.R. Kinetics of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase inhibition by glyphosate. *FEBS Lett.* v.154, p.127–133, 1983.

Bohm, G. M. B.; Hax, F.; Rombaldi, C.V. Resíduos de glyphosate e teores de isoflavonas em grãos de soja geneticamente modificada. In: IX ENPOS, 2007, Pelotas. CD de resumos. Pelotas: UFPEL, 2007.

Bott, S.; Tesfamariam, T.; Candan, H.; Cakmak, I.; Romheld, V.; Neumann, G. Glyphosate-induced impairment of plant growth and micronutrient status in glyphosate-resistant soybean (*Glycine max* L.). *Plant and Soil*, v.312, n.2, p.185-194, 2008.

Bromilow, R.H.; Chamberlain K.; Tench, A.J.; Williams, R.H. Phloem translocation of strong acids: Glyphosate, substituted phosphonic, and sulfonic acids in *Ricinus communis* L. *Pestic. Sci.* v.37, p.39–47, 1993.

Campbell, W.F.; Evans, J.O.; Reed, S.C. Effect of glyphosate on chloroplast ultrastructure of quackgrass mesophyll cells. *Weed Sci.*, v.24, p.22-25, 1976.

Coutinho, C.F.B.; Mazo, L.H. Complexos metálicos com o herbicida glyphosate: Revisão. *Química Nova*, v.28, n.6, p.1038-1045, 2005.

Duke, S.O.; Rimando, A.M.; Pace, P.F.; Reddy, K.N.; Smeda, R.J. Isoflavone, glyphosate, and aminomethylphosphonic acid levels in seeds of glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. *J. Agric. Food Chem.*, v.51, p.340-344, 2003.

Eker, S.; Ozturk, L.; Yazici, A.; Erenoglu, B.; Romheld, V.; Cakmak, I. Foliar-applied glyphosate substantially reduced uptake and transport of iron and manganese in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. *J. Agric. Food Chem.*, v.54, p.10019–10025, 2006.

Eberbach, P.L. Applying non-steady-state compartmental analysis to investigate the simultaneous degradation of soluble and sorbed glyphosate (N-Phosphomethyl glycine) in four soils. *Pestic. Sci.*, v.52, n.3, p.229-240, 1998.

Embrapa Manual de métodos de análises do solo, 2nd edition, Embrapa, Rio de Janeiro, RJ, Brazil, 1997.

Fageria, N.K. Critical P, K, Ca and Mg contents in the tops of rice and peanut plants. *Plant and Soil*, v.45, p.421-431, 1976.

Fageria, N.K. Variação em diferentes estádios de crescimento do nível crítico de fósforo em plantas da arroz. *R. Bras. Cie. Solo*, v.11, p. 77-80, 1987.

Fonseca, D.M.; Alvares, V.H.; Neves, J.C.L.; Gomide, J.A.; Novais, R.F.; de Barros, N.F. Níveis críticos de fósforo em amostras de solos para o estabelecimento de *Andropogon gayanus*, *Brachiaria decumbens* e *Hyparrhenia rufa*. *R. Bras. Ci. Solo*, v.12, p.49-58, 1988.

Ferreira, D.F. Sistema de análise de variância (Sisvar). versão 4.6. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1999.

Franz, J.E.; Mao, M.K.; Sikorski, J.A. Glyphosate: A Unique Global Herbicide; ACS Monograph 189; American Chemical Society: Washington, DC, 1997.

Franzen, D.W.; O'Barr, J.H.; Zollinger, R.K. Interaction of a foliar application of iron HEDTA and three postemergence broadleaf herbicides with soybeans stressed from chlorosis. *J. Plant Nutr.* v.26, p.2365-2374, 2003.

Gazziero, D.L.P; Adegas, F.; Voll. E. Glifosate e soja transgênica. Londrina: Embrapa Soja, 2008. 4p (Embrapa Soja. Circular Técnica, 60).

Glass, R.L. Metal complex formation by glyphosate. *J.Agric. Food Chem.*, v.32, p. 1249-1253, 1984.

Gordon, B. Manganese nutrition of glyphosate-resistant and conventional soybeans. *Better Crops* v.91, n.4, p.12–13, 2007.

Hernandez, A.; Garcia-Plazaola, J.I.; Bacerril, J.M. Glyphosate effects on phenolic metabolism of nodulated soybean (*Glycine max* L. Merrill). *J. Agric. Food Chem.*, v. 47, p. 2920-2925, 1999.

Homann, P.E. Studies on the manganese of the chloroplast. *Plant Physiology*, v.42, p.997-1007, 1967.

Huber, D.M. Strategies to ameliorate glyphosate immobilization of manganese and its impact on the rhizosphere and disease. In: Lorenz N., Dick R. (eds) Proceedings of the glyphosate potassium symposium 2006. Ohio State University, AG Spectrum, DeWitt, Iowa. 2006

- Johal, G.S.; Huber, D.M. Glyphosate effects on diseases of plants. *Euro J. Agron.*, v.31, p.144-152, 2009.
- Jolley, V.D.; Hansen, N.C.; Shiffler, A.K. Nutritional and management related interactions with iron-deficiency stress response mechanisms. *Soil Sci. Plant Nutr.*, v.50, p.973-981, 2004
- Kabachnik, M.I.; Medved, T.Ya.; Dyatolva, N.M.; Rudomino, M.V. Organophosphorus complexones. *Russian Chem. Reviews*, v.43, n.9, p.733-744, 1974.
- Kitchen, L.M.; Witt, W.W.; Rieck, C.E. Inhibition of chlorophyll accumulation by glyphosate. *Weed Sci.*, v.29, p.513-516, 1981a.
- Kitchen, L.M.; Witt, W.W.; Rieck, C.E. Inhibition of  $\delta$ -aminolevulinic acid synthesis by glyphosate. *Weed Sci.*, v.29, p.571-577, 1981b
- King, C.A.; Purcell, L.C.; Vories, E.D. Plant growth and nitrogenase activity of glyphosate-tolerant soybean in response to foliar glyphosate applications. *Agron. J.*, v. 93, p.79–186, 2001.
- Kremer, R.J.; Means, N.E.; and Kim, S. Glyphosate affects soybean root exudation and rhizosphere microorganisms. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, v.85, p.1165-1174. 2005
- Lee, T. T. Effects of glyphosate on synthesis and degradation of chlorophyll in soybean and tobacco cells. *Weed Res. V. 21*, 161-164, 1981.
- Liu, C.M.; McLean, P.A.; Sookdeo, C.C. Degradation of the herbicide glyphosate by members of the family Rhizobiaceae. *Applied and Environmental Microbiology*, v.57, n.6, p.1799-1804, 1991.
- Madsen, L.H.E., Christensen, H. H.; Gottlieb-Petersen, C. Stability constants of copper (II), zinc, manganese (II), calcium, and magnesium complexes of *N*-(phosphonomethyl)glycine (glyphosate). *Acta Chem. Scand.* v. 32, p.79–83, 1978.
- Malavolta, E.; Vitti, G.C.; Oliveira, S.A. Princípios, métodos e técnicas de avaliação do estado nutricional. In: Malavolta, E.; Vitti, G. C.; Oliveira, S.A. *Avaliação do estado nutricional da planta: princípios e aplicações*. 2.ed. Piracicaba: POTAFÓS, 1997. p. 115-230.
- Mills, H.A.; Jones, J.B. *Plant Analysis Handbook II: a practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide*. MicroMacro Publishing, Inc. Athens, GA, USA
- Muniz, A.S.; Novais, R.F.; Barros, N.F.; Neves, J.C.L. Nível crítico de fósforo na parte aérea da soja como variável do fator capacidade de fósforo no solo. *R. Bras. Ci. Solo.* v.9, p.237-243, 1985.

- Nilsson, G. Interactions between glyphosate and metals essential for plant growth. *In* E. Grossbard, E.; Atkinson, D. (eds). The herbicide glyphosate. London: Butterworth, 1985. p.35-47.
- Novais, R.F.; Kamprath, E.J. Parâmetros de isothermas de adsorção de fósforo como critério de adubação fosfatada. *R. Bras. Ci. Solo.* v.3, p.37-41, 1979.
- Oliveira, F.A.; Sfredo, G.J.; Castro, C.; Klepker, D. Fertilidade do solo e nutrição da soja. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 8p (Embrapa Soja. Circular Técnica, 50).
- Ozturk, L.; Yazici, A.; Eker, S.; Gokmen, O.; Roemheld, V.; Cakmak, I. Glyphosate inhibition of ferric reductase activity in iron deficient sunflower roots. *New Phytologist* v.17, p.899-906, 2008.
- Pline, W.A.; Wu, J.; Hatzios, K.K. Effects of temperature and chemical additives on the response of transgenic herbicide-resistant soybeans to glufosinate and glyphosate applications. *Pestic. Biochem. Physiol.*, v.65, p.119–131, 1999.
- Pihakaski, S.; Pihakaski, K. Effects of glyphosate on ultrastructure and photosynthesis of *Pellia epiphylla*. *Annals of Botany*, v.46, p.133-141, 1980
- Pinkard, E.A.; Patel, V. Mohammed, C. Chlorophyll and nitrogen determination for plantation-grown *Eucalyptus nitens* and *E. globulus* using a non-destructive meter. *Forest Ecol Manag.* v.223, p.211–217, 2006.
- Reddy, K.N.; Hoagland, R.E.; Zablutowicz, R.M. Effect of glyphosate on growth, chlorophyll, and nodulation in glyphosate-resistant and susceptible soybean (*Glycine max*) varieties. *J. New Seeds*, v.2, p.37–52, 2000.
- Reddy, K.N.; Rimando, A.M.; Duke, S.O. Aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate, causes injury in glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. *J. Agric. Food Chem*, v.52, p.5139–5143, 2004.
- Richardson, A.D., Duigan, S.P.; Berlyn, G.P. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. *New Phytol*, v.153, p.185-194, 2002.
- Santos, J. B.; Santos, E. A.; Fialho, C. M. T.; Silva, A. A.; Freitas, M. A. M. Época de dessecação anterior à semeadura sobre o desenvolvimento da soja resistente ao glyphosate. *Planta Daninha*, v.25, p.869-875, 2007.
- Shapiro S.S., Wilk M.B. An analysis of variance test for normality. *Biometrika*, v.52, p.591-611, 1965
- Seybold, C.A.; Herrick, J.E.; Brejda, J.J. Soil resilience: A fundamental component of soil quality. *Soil Sci.*, v.16, p.224-234, 1999.
- Scherer, E.E. Níveis críticos de potássio para a soja em Latossolo húmico de Santa Catarina. *R. Bras. Ci. Solo.* v.22, p.57-62, 1998.

Shibles, R.M.; Weber, C.R. Leaf area, solar radiation interception, and dry matter production by various soybean planting patterns. *Crop Science*, v.6, p.575-577, 1965.

Singh, B. K., Siehl, D. L., Connelly, J. A. Shikimate pathway: why does it mean so much to so many? *Oxf. Surv. Plant Mol. Cell Biol.*, v.7, p.143–185, 1991.

Singh, B., Singh, Y.; Ladha, J.K.; Bronson, K.F.; Balasubramanian, V. Singh, J. and Khind, C.S. Chlorophyll meter– and leaf color chart–based nitrogen management for rice and wheat in Northwestern India. *Agron. J.* v.94, p.821-89, 2002.

Sprankle, P., Meggitt, W.F.; Penner, D. Absorption, action, and translocation of glyphosate. *Weed Sci.*, v.23, p.235–240, 1975.

Taiz, L.; Zeiger, E. Mineral Nutrition. In: *Plant Physiology*, Sinauer Associates: Sunderland, p. 111-144. 1998.

Thompson, W.W.; Weier, T.E. The fine structure of chloroplasts from mineral-deficient leaves of *Phaseolus vulgaris*. *Am. J. Bot.*, v.49, p.1047-1056, 1962.

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

**Tabela 1.** Teores de macronutrientes nas cultivares de soja RR e suas respectivas isolinhas parentais\*.

Grupo de maturação	Tratamento	N	P	K	Ca	Mg	S	Total macronutrientes
		-----g kg <sup>-1</sup> -----						
Precoce – não-RR	Sem glyphosate	32,62 a**	3,16 a	27,04 a	13,61 a	5,19 a	2,56 a	84,18 a
Precoce RR	Sem glyphosate	33,70 a	2,14 b	23,11 b	10,65 b	3,70 b	1,83 b	75,14 b
Precoce RR	Sequencial (600 / 600 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	30,74 a	2,06 b	17,80 c	9,59 c	3,28 c	1,63 c	65,11 c
Precoce RR	Única (1200 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	29,55 a	1,76 c	20,47 c	8,28 d	2,89 d	1,48 d	64,45 c
Médio – não-RR	Sem glyphosate	34,87 a	2,18 a	23,74 a	12,02 a	3,94 a	2,00 a	78,76 a
Médio RR	Sem glyphosate	33,77 a	2,08 a	24,40 a	11,22 a	3,58 b	1,88 a	76,94 a
Médio RR	Sequencial (600 / 600 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	28,45 b	2,04 a	21,96 a	11,04 a	3,38 b	1,96 a	68,84 b
Médio RR	Única (1200 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	28,02 b	1,93 a	22,66 a	11,31 a	3,53 b	2,05 a	69,51 b
Tardio – não-RR	Sem glyphosate	32,56 a	1,74 a	21,85 a	11,00 a	3,06 a	1,67 a	71,68 a
Tardio RR	Sem glyphosate	31,35 a	1,96 a	22,78 a	9,61 b	3,03 a	1,75 a	70,49 a
Tardio RR	Sequencial (600 / 600 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	30,42 a	2,01 a	18,34 b	9,58 b	2,97 a	1,78 a	65,11 b
Tardio RR	Única (1200 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	29,45 a	1,85 a	19,25 b	8,69 b	2,74 a	1,70 a	63,69 b
<b>CV (%)</b>		15,90	10,36	12,65	8,77	9,22	7,85	7,92

\*Estádio R1; \*\*Dados representam a média dos dois tipos de solo e quatro repetições. Para cada coluna, dentro de cada grupo de maturação, diferenças estatísticas são indicadas por diferentes caracteres de acordo com teste de agrupamento Scott-Knott P<0.05.

**Tabela 2.** Teores de micronutrientes nas cultivares de soja RR e suas respectivas isolinhas parentais\*.

Grupo de maturação	Tratamento	Zn	Mn	Fe	Cu	B	Total micronutrientes
		-----mg kg <sup>-1</sup> -----					
Precoce – não-RR	Sem glyphosate	72,67 a**	270,27 a	219,28 a	24,21 a	49,79 a	636,33 a
Precoce RR	Sem glyphosate	44,18 b	232,73 b	168,00 b	22,11 a	34,18 b	501,24 b
Precoce RR	Sequencial (600 / 600 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	42,43 b	181,67 c	127,60 c	9,55 b	29,38 c	390,72 c
Precoce RR	Única (1200 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	37,64 c	163,67 c	127,15 c	13,55 b	28,53 c	370,61 c
Médio – não-RR	Sem glyphosate	53,17 a	204,72 a	74,95 a	12,40 a	43,46 a	388,84 a
Médio RR	Sem glyphosate	49,02 a	198,75 a	75,87 a	5,90 b	39,10 b	368,74 a
Médio RR	Sequencial (600 / 600 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	44,61 b	179,71 b	71,03 a	6,03 b	35,76 b	337,20 b
Médio RR	Única (1200 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	44,06 b	168,41 b	80,62 a	5,38 b	36,88 b	335,41 b
Tardio – não-RR	Sem glyphosate	56,13 a	236,70 a	117,28 a	18,22 a	33,79 a	462,21 a
Tardio RR	Sem glyphosate	49,92 b	214,21 a	95,49 a	21,39 a	35,27 a	416,21 a
Tardio RR	Sequencial (600 / 600 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	47,03 b	187,61 b	98,36 a	14,74 a	34,23 a	382,06 b
Tardio RR	Única (1200 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	47,92 b	189,56 b	103,36 a	9,60 a	31,34 a	381,86 b
<b>CV (%)</b>		11,01	15,64	27,12	77,48	10,08	11,08

\*Estádio R1; \*\*Dados representam a média dos dois tipos de solo e quatro repetições. Para cada coluna, dentro de cada grupo de maturação, diferenças estatísticas são indicadas por diferentes caracteres de acordo com teste de agrupamento Scott-Knott P<0.05.



**Tabela 3.** Teores de macronutrientes nas cultivares de soja RR e suas respectivas isolinhas parentais\*.

Tipo de solo	Tratamento / Grupo de maturação	N	P	K	Ca	Mg	S	Total macronutrientes
		g kg <sup>-1</sup>						
Latossolo Vermelho nitossólico	Sem glyphosate / não-RR	32,90 a**	2,39 a	23,18 a	13,19 a	4,35 a	1,80 a	77,82 a
	Sem glyphosate / RR	32,21 a	2,10 b	22,05 a	11,19 b	3,69 b	1,62 b	72,81 b
	Sequencial (600 / 600 g e.a. ha <sup>-1</sup> ) / RR	31,35 a	1,92 c	17,35 c	10,81 b	3,15 c	1,49 c	66,09 c
	Única (1200 g e.a. ha <sup>-1</sup> ) / RR	30,61 a	1,76 c	19,67 b	10,01 c	3,01 c	1,46 c	66,54 c
Latossolo Vermelho distrófico	Sem glyphosate / não-RR	33,67 a	2,33 a	25,24 a	11,23 a	3,77 a	2,35 a	78,60 a
	Sem glyphosate / RR	33,67 a	2,01 b	24,81 a	9,79 b	3,24 b	2,02 b	75,57 a
	Sequencial (600 / 600 g e.a. ha <sup>-1</sup> ) / RR	28,39 b	2,16 b	21,37 b	9,32 b	3,26 b	2,09 b	66,62 b
	Única (1200 g e.a. ha <sup>-1</sup> ) / RR	27,41 b	1,93 b	21,91 b	8,84 b	3,09 b	2,03 b	66,23 b
<b>CV (%)</b>		15,90	10,36	12,65	8,77	9,22	7,85	7,92

\*Estádio R1; \*\*Dados representam a média dos três grupos de maturação e quatro repetições. Para cada coluna, dentro de cada tipo de solo, diferenças estatísticas são indicadas por diferentes caracteres de acordo com teste de agrupamento Scott-Knott P<0.05.

**Tabela 4.** Teores de micronutrientes nas cultivares de soja RR e suas respectivas isolinhas parentais\*.

Tipo de solo	Tratamento / Grupo de maturação	Zn	Mn	Fe	Cu	B	Total micronutrientes
		-----mg kg <sup>-1</sup> -----					
Latosolo	Sem glyphosate / não-RR	72,20 a**	276,95 a	93,56 a	18,16 a	40,08 a	501,13 a
	Sem glyphosate / RR	52,16 b	246,60 b	99,97 a	13,99 a	32,08 b	444,91 b
Vermelho nitossólico	Sequencial (600 / 600 g e.a. ha <sup>-1</sup> ) / RR	48,47 b	218,00 c	83,49 b	9,62 b	27,25 c	386,95 c
	Única (1200 g e.a. ha <sup>-1</sup> ) / RR	47,66 b	211,60 c	85,14 b	6,38 b	26,93 c	377,80 c
Latosolo	Sem glyphosate / não-RR	48,11 a	197,50 a	180,77 a	18,39 a	44,61 a	490,46 a
	Sem glyphosate / RR	43,21 b	183,87 a	126,21 b	18,94 a	40,29 b	412,60 b
Vermelho distrófico	Sequencial (600 / 600 g e.a. ha <sup>-1</sup> ) / RR	40,91 b	148,00 b	114,50 b	10,59 a	38,99 b	353,03 c
	Única (1200 g e.a. ha <sup>-1</sup> ) / RR	38,76 b	136,16 b	122,29 b	12,63 a	37,57 b	347,46 c
<b>CV (%)</b>		11,01	15,64	27,12	77,48	10,08	11,08

\*Estádio R1; \*\*Dados representam a média dos três grupos de maturação e quatro repetições. Para cada coluna, dentro de cada tipo de solo, diferenças estatísticas são indicadas por diferentes caracteres de acordo com teste de agrupamento Scott-Knott P<0.05.

**Tabela 5.** Parâmetros fotossintéticos da soja RR e suas respectivas isolinhas parentais\*.

Grupo de maturação	Tratamento	Teor de	Taxa	Taxa	Condutância
		clorofila	fotossintética (A)	transpiratória (E)	estomática (gs)
		-----mg cm <sup>2</sup> -----	micro mol CO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	mmol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	-----H <sub>2</sub> O mol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
Precoce – não-RR	Sem glyphosate	0,017 a**	20,97 a	13,06 a	0,53 a
Precoce RR	Sem glyphosate	0,019 a	16,49 a	11,86 a	0,49 a
Precoce RR	Sequencial (600 / 600 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	0,010 b	12,02 b	8,29 b	0,28 b
Precoce RR	Única (1200 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	0,015 a	14,42 b	9,96 b	0,41 a
Médio – não-RR	Sem glyphosate	0,017 a	15,37 a	9,57 a	0,38 a
Médio RR	Sem glyphosate	0,014 b	15,79 a	10,36 a	0,43 a
Médio RR	Sequencial (600 / 600 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	0,008 c	12,10 b	7,21 b	0,25 b
Médio RR	Única (1200 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	0,011 c	11,81 b	7,70 b	0,27 b
Tardio – não-RR	Sem glyphosate	0,018 a	12,52 a	9,99 a	0,40 a
Tardio RR	Sem glyphosate	0,015 b	14,52 a	8,93 a	0,37 a
Tardio RR	Sequencial (600 / 600 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	0,010 c	13,06 a	8,00 b	0,26 b
Tardio RR	Única (1200 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	0,010 c	12,58 a	7,92 b	0,28 b
<b>CV (%)</b>		<b>23,68</b>	<b>24,26</b>	<b>23,29</b>	<b>36,09</b>

\*Estádio R1; \*\*Dados representam a média dos dois tipos de solo e quatro repetições. Para cada coluna, dentro de cada grupo de maturação, diferenças estatísticas são indicadas por diferentes caracteres de acordo com teste de agrupamento Scott-Knott P<0.05.

**Tabela 6.** Parâmetros fotossintéticos da soja RR e suas respectivas isolinhas parentais\*.

Tipo de solo	Tratamento / Grupo de maturação	Teor de	Taxa	Taxa transpiratória	Condutância
		clorofila	fotossintética (A)	(E)	estomática (gs)
		-----mg cm <sup>2</sup> -----	micro mol CO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	mmol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	---H <sub>2</sub> O mol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> -
Latosolo	Sem glyphosate / não-RR	0,015 a**	14,42 a	10,46 a	0,43 a
	Sem glyphosate / RR	0,017 a	15,11 a	9,94 a	0,38 a
Vermelho	Sequencial (600 / 600 g e.a. ha <sup>-1</sup> ) / RR	0,010 b	12,08 b	7,25 b	0,24 b
nitossólico	Única (1200 g e.a. ha <sup>-1</sup> ) / RR	0,013 b	12,88 b	8,33 b	0,30 b
Latosolo	Sem glyphosate / não-RR	0,018 a	18,18 a	11,28 a	0,44 a
	Sem glyphosate / RR	0,017 a	16,09 a	10,83 a	0,48 a
Vermelho	Sequencial (600 / 600 g e.a. ha <sup>-1</sup> ) / RR	0,009 b	12,72 b	8,41 b	0,29 b
distrófico	Única (1200 g e.a. ha <sup>-1</sup> ) / RR	0,010 b	13,00 b	8,72 b	0,34 b
<b>CV (%)</b>		23,68	24,26	23,29	36,09

\*Estádio R1; \*\*Dados representam a média dos três grupos de maturação e quatro repetições. Para cada coluna, dentro de cada tipo de solo, diferenças estatísticas são indicadas por diferentes caracteres de acordo com teste de agrupamento Scott-Knott P<0.05.

**Tabela 7.** Biomassa da parte aérea e raiz, da soja RR e suas respectivas isolinhas parentais\*.

Grupo de maturação	Tratamento	Parte aérea	Raiz
		-----g plant <sup>-1</sup> -----	
Precoce – não-RR	Sem glyphosate	13,54 a**	4,48 b
Precoce RR	Sem glyphosate	12,62 a	7,24 a
Precoce RR	Sequencial (600 / 600 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	7,92 b	4,35 b
Precoce RR	Única (1200 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	9,62 b	5,08 b
Médio – não-RR	Sem glyphosate	9,33 a	6,94 a
Médio RR	Sem glyphosate	11,20 a	6,66 a
Médio RR	Sequencial (600 / 600 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	7,15 b	3,72 b
Médio RR	Única (1200 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	8,17 b	4,54 b
Tardio – não-RR	Sem glyphosate	12,17 a	6,63 a
Tardio RR	Sem glyphosate	11,76 a	5,47 a
Tardio RR	Sequencial (600 / 600 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	8,24 b	4,36 b
Tardio RR	Única (1200 g e.a. ha <sup>-1</sup> )	9,04 b	4,33 b
<b>CV (%)</b>		<b>20,49</b>	<b>24,91</b>

\*Estádio R1; \*\*Dados representam a média dos dois tipos de solo e quatro repetições. Para cada coluna, dentro de cada grupo de maturação, diferenças estatísticas são indicadas por diferentes caracteres de acordo com teste de agrupamento Scott-Knott P<0.05..

**Tabela 8.** Biomassa da parte aérea e raiz, da soja RR e suas respectivas isolinhas parentais\*.

Tipo de solo	Tratamento / Grupo de maturação	Parte aérea	Raiz
		-----g plant <sup>-1</sup> -----	
Latossolo Vermelho nitossólico	Sem glyphosate / não-RR	11,19 a**	5,19 a
	Sem glyphosate / RR	11,42 a	5,80 a
	Sequencial (600 / 600 g e.a. ha <sup>-1</sup> ) / RR	7,53 b	3,89 b
	Única (1200 g e.a. ha <sup>-1</sup> ) / RR	8,93 b	4,31 b
Latossolo Vermelho distrófico	Sem glyphosate / não-RR	12,17 a	6,84 a
	Sem glyphosate / RR	12,29 a	7,11 a
	Sequencial (600 / 600 g e.a. ha <sup>-1</sup> ) / RR	8,00 b	4,40 b
	Única (1200 g e.a. ha <sup>-1</sup> ) / RR	8,95 b	4,99 b
<b>CV (%)</b>		20,49	24,91

\*Estádio R1; \*\*Dados representam a média dos três grupos de maturação e quatro repetições. Para cada coluna, dentro de cada tipo de solo, diferenças estatísticas são indicadas por diferentes caracteres de acordo com teste de agrupamento Scott-Knott P<0.05.

## 4. CAPÍTULO 2

### A eficiência do uso da água e a fotossíntese são afetadas pela aplicação do glyphosate na soja resistente ao glyphosate<sup>2</sup>

#### 4.1 Resumo

Estudos anteriores que comparam cultivares de diferentes grupos de maturação em diferentes solos demonstraram que a cultivar do grupo de maturação precoce foi mais sensível a injúrias causadas pelo glyphosate em relação aos outros grupos de maturação. Neste trabalho, foram avaliados os efeitos de doses crescentes de glyphosate na absorção de água e nos parâmetros fotossintéticos na cultivar de grupo de maturação precoce BRS 242 RR. As plantas cresceram em solução nutritiva completa e sujeitas a diversas doses de glyphosate em aplicação foliar única ou sequencial. A fotossíntese líquida, taxa transpiratória, condutância estomática, concentração de CO<sub>2</sub> subestomático, eficiência de carboxilação, fluorescência, máxima fluorescência e o teor de clorofila foram monitorados imediatamente antes e em diferentes estádios após a aplicação do herbicida; absorção de água foi avaliada diariamente. Todos os parâmetros fotossintéticos avaliados foram afetados pelo glyphosate. A quantidade total de água absorvida e a produção de biomassa pelas plantas foram também diminuídas com o aumento da dose de glyphosate, com o efeito sendo mais intenso com a aplicação única do que a aplicação sequencial. A eficiência do uso da água foi significativamente reduzida com o aumento da dose de glyphosate.

**Palavras-chave:** soja resistente ao glyphosate, glyphosate, fisiologia, fotossíntese, clorofila, eficiência do uso da água, absorção de água.

#### 4.2 Abstract

Previous studies comparing cultivars of different maturity groups in different soils demonstrated that early maturity group cultivars were more sensitive to glyphosate injury than those of other maturity groups. In this work, we evaluated the effect of increasing rates of glyphosate on water absorption and photosynthetic parameters in early maturity group cultivar BRS 242 RR soybean. Plants were grown in a complete nutrient solution and subjected to a range of glyphosate rates either as a single or sequential leaf application. Net photosynthesis, transpiration rate, stomatal conductance, sub-stomatal CO<sub>2</sub>, carboxylation efficiency, fluorescence, maximal fluorescence and chlorophyll content were monitored right before and at different stages after herbicide application; water absorption was measured daily. All photosynthetic parameters were affected by glyphosate. Total water absorbed and biomass production by plants were also decreased as glyphosate rates increased, with

---

<sup>2</sup>Trabalho publicado na Revista Pesticide Biochemistry and Physiology, 2010 (Title: Water use efficiency and photosynthesis of glyphosate-resistant soybean as affected by glyphosate)

the effect being more intense with a single full rate than half the rate applied in two sequential applications. Water use efficiency (WUE) was significantly reduced with increasing rates of glyphosate.

**Key words:** glyphosate-resistant soybean; glyphosate; physiology; photosynthesis; chlorophyll; water use efficiency; water absorption.

### 4.3 Introdução

Com a expansão da área global de cultivo combinada com os efeitos das mudanças climáticas, o aumento de CO<sub>2</sub> atmosférico (Mann et al., 1999) e a temperatura da superfície (Houghton et al., 2001), provavelmente um importante assunto em um futuro próximo será a quantidade de água requerida pelas culturas. O conhecimento da necessidade de água pelas culturas e a sua eficiência no uso da água (EUA) são importantes para avaliar os efeitos das mudanças climáticas no balanço de água nas plantas e nos recursos hídricos. É esperado que a principal mudança climática global predita como o aumento do CO<sub>2</sub> e temperatura, deva ocasionar o aumento na taxa transpiratória das plantas, a qual implicaria em aumento de absorção de água para produção das culturas (Allen et al., 2003).

Muitos agricultores têm observado que algumas variedades de soja transgênicas são sensíveis ao estresse hídrico e outros relatam sintomas visuais de injúrias na soja resistente ao glyphosate (RR) após o uso de glyphosate (Santos et al., 2007; Zablotowicz & Reddy, 2007). O “status” nutricional da soja RR também é fortemente afetado pelo glyphosate (Zobiole et al. 2010). O glyphosate possui um amplo espectro de controle de plantas daninhas, e quando aplicado via folha se transloca dentro da planta para sítios ativos de crescimento inibindo a 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs) na via do chiquimato. Esta rota bioquímica é responsável pela biossíntese dos aminoácidos aromáticos, compostos de defesa das plantas e diversos compostos fenólicos (Boocock & Coggins, 1983; Hernandez et al., 1999).

Embora ocorra enorme adoção da tecnologia RR, poucos dados têm sido disponíveis para entender os efeitos do glyphosate na fisiologia da soja RR, especialmente aqueles relacionados à absorção de água e fotossíntese, as



quais são as bases do processo de produção de biomassa. Um profundo entendimento destas questões deve melhorar o uso desta tecnologia. Um experimento inicial foi conduzido na Universidade Estadual de Maringá, durante o ano de 2007 com cultivares RR de diferentes grupos de maturação cultivados em diferentes solos visando avaliar as injúrias do glyphosate. Zobiolo et al. (2010) demonstraram que tais efeitos foram pronunciados na cultivar de grupo de maturação precoce (cv. BRS 242 RR), com significativas diminuições nos parâmetros fotossintéticos, concentrações dos nutrientes minerais na parte aérea e produção de biomassa. No presente trabalho, foi avaliado o efeito do aumento de dose de glyphosate na absorção de água e nos parâmetros fotossintéticos na cultivar previamente estudada (cv. BRS 242 RR) do grupo de maturação precoce. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a fotossíntese, a absorção de água e eficiência do uso da água na soja RR tratada com glyphosate em diferentes doses.

#### **4.4 Material e métodos**

O experimento foi conduzido utilizando a cv. BRS 242 RR em casa-de-vegetação equipada com sistema evaporativo de refrigeração (26–30:20–22°C dia/noite) em condições de iluminação natural, na Universidade Estadual de Maringá, entre 22 de julho a 20 de setembro, 2008 (localização: 23° 25' S, 51° 57' W) para avaliar os efeitos de diferentes doses de glyphosate na absorção de água e fotossíntese como possível explicação para a diminuição da concentração mineral da parte aérea da cv. BRS 242 RR observada em estudos anteriores.

Sementes foram esterilizadas por 2 min em solução de 2% NaClO e colocadas para germinar em rolo de papel (germitest). Plântulas com 5 cm de comprimento de raiz, foram transplantadas para vasos contendo solução nutritiva. As unidades experimentais foram vasos de polietileno com 3,7 dm<sup>3</sup>, mantidos constantemente aerados. Nos primeiros dez dias, as plantas foram mantidas em solução completa de Hoagland & Arnon (1950), diluídas em 1/6 da concentração usual; nas duas semanas seguintes, estas foram crescidas na solução diluída para 1/3 e após este período cresceram em concentração total usual. As soluções foram trocadas a cada dez dias e seu volume completado

diariamente com água destilada e deionizada. Antes da reposição, o volume total de água absorvido por vaso foi avaliado. O pH das soluções foi mantido em  $5.8 \pm 0.2$  com adição de NaOH ou HCl.

Os vasos foram colocados para fora da casa-de-vegetação para a aplicação dos tratamentos de glyphosate, com a formulação comercial de sal de isopropilamina 480 g e.a. L<sup>-1</sup> (Roundup Ready®, Monsanto Company), utilizando um pulverizador costal com bicos pontas SF110.02, em pressão constante de CO<sub>2</sub> (2 kgf cm<sup>-2</sup>) e volume de calda de 190 L ha<sup>-1</sup>. As condições ambientais durante as aplicações foram temperatura do ar entre 25 e 29°C, umidade relativa do ar entre 80 e 89%, velocidade do vento entre 5 e 10 km h<sup>-1</sup> e céu aberto sem nebulosidade. Após a aplicação do herbicida, os vasos retornaram para a casa-de-vegetação. As aplicações não causaram escorrimento superficial das folhas.

O experimento foi conduzido em blocos inteiramente casualizado em um esquema fatorial (5x2) + 1, com quatro repetições. Cinco doses de glyphosate (600, 900, 1200, 1800 e 2400 g e.a. ha<sup>-1</sup>) foram combinadas com duas modalidades de aplicação (única e sequencial), com um tratamento adicional sem aplicação do herbicida. Aplicações únicas foram realizadas no estágio V4 (24 dias após emergência, DAE), e aplicações sequenciais foram feitas nos estádios V4 (24 DAE - 50% da dose) e estágio V7 (36 DAE - 50% da dose) na soja RR (cv. BRS 242 RR).

Os parâmetros fotossintéticos foram avaliados nos estádios fenológicos V3 (22 DAE – antes da aplicação do glyphosate), V4 (26 DAE – após aplicação única e após primeira aplicação sequencial), V7 (35 DAE – antes da segunda aplicação sequencial), V8 (38 DAE – após segunda aplicação sequencial) e R1 (58 DAE). A fotossíntese líquida (A), a taxa transpiratória (E), a condutância estomática (gs) e a concentração de CO<sub>2</sub> subestomático (Ci) foram avaliadas utilizando um analisador de gás infravermelho (IRGA: ADC modelo LCpro+, Analytical Development Co. Ltd, Hoddesdon, UK). A eficiência de carboxilação foi calculada como A/Ci. Avaliações foram sempre feitas entre 7 e 11h escolhendo o último trifólio totalmente expandido (folha diagnose) da planta em cada vaso. As observações foram feitas pelo método automático do aparelho com duas medidas de 3 min na folha diagnose.

Um fluorômetro portátil (OS-30 – Opti-Sciences, Inc., Tyngsboro, MA) foi utilizado em pulso-modulado para determinar a fluorescência da clorofila nas plantas ( $F_0$ ), máxima fluorescência ( $F_m$ ) e a razão da variável fluorescência pela máxima fluorescência ( $F_v/F_m$ ) utilizando a seguinte equação:  $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$  (Genty et al., 1989).

O teor de clorofila também foi medido antes e após as aplicações de glyphosate, utilizando o aparelho SPAD (SPAD-502, Minolta, Ramsey, NJ). O aparelho mede a absorção no comprimento de 650 e 940 nm para estimar os níveis de clorofila (Singh et al., 2002; Pinkard et al., 2006). As leituras do SPAD foram feitas na folha diagnose colocando o sensor no mesofilo foliar evitando-se as nervuras. Duas leituras foram tomadas por planta em cada vaso obtendo assim as médias para fornecer um valor único da leitura do SPAD, com o qual o teor de clorofila foi calculado usando a equação de Arnon (1949) e expresso em miligramas de clorofila por  $\text{cm}^{-2}$  de folha pela equação de Markwell et al. (1995).

Quando as plantas atingiram o estágio R1, a absorção de água acumulada foi calculada e utilizada para estimar a eficiência do uso da água pela relação da produção de massa seca pela quantidade de água consumida. Todos os parâmetros fotossintéticos e a altura de plantas foram medidas. Após estas avaliações, a parte aérea e raiz foram separadas e todo material foi colhido e colocado em sacos de papel dentro de estufa de circulação forçada a  $65 - 70^\circ\text{C}$  até peso constante, a fim de determinar a biomassa seca. Os dados foram analisados pelo teste de Shapiro & Wilk (1965), para avaliar sua normalidade. Os dados foram submetidos à análise de variância e quando os valores de F foram significativos ( $P < 0,01$ ), análises de regressão foram conduzidas. Para os gráficos, as curvas utilizadas para os parâmetros fotossintéticos e absorção de água total nos diferentes DAE foram obtidas mediante análise de regressão utilizando o modelo cúbico  $y = y_0 + ax + bx^2 + cx^3$ , calculado pelo modelo não-linear por meio do programa estatístico SigmaPlot 10.0 (SPSS, 2000). Análise de regressão foi utilizada para selecionar a equação com maior grau de significância, com um máximo de segundo grau, por meio do programa SigmaPlot 10.0 (SPSS, 2000) para as variáveis analisadas no estágio R1.

## 4.5 Resultados e Discussão

### 4.5.1 Parâmetros fotossintéticos

Os parâmetros fotossintéticos (A, Ci, E, gs) foram diminuídos com aumento da dose de glyphosate. A taxa fotossintética (A) antes da aplicação de glyphosate (22 DAE) estava entre 10 – 11  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Figuras 1A e 1B; Tabela 1). Estes valores são muito similares aos valores de A (11 – 12  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) encontrados por Procópio et al. (2004) aos 39 DAE para *Glycine max* e *Phaseolus vulgaris*. Estes valores são considerados ótimo para esta fase vegetativa (Liu et al., 2005). No entanto, ambas as modalidades de aplicação (única e sequencial) de glyphosate aplicada aos 24 DAE, diminuíram A com doses acima de 1200 g e.a.  $\text{ha}^{-1}$  (Figuras 1A e 1B; Tabela 1). Dois dias após a aplicação de glyphosate (26 DAE), A estava entre 6 – 0  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  para as doses de 1.200 e 2.400 g e.a.  $\text{ha}^{-1}$  com aplicação única (Figura 1a; Tabela 1), e entre 7 – 4  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  para as mesmas doses aplicadas sequencialmente (Figura 1B; Tabela 1). Plantas que não receberam aplicação de glyphosate apresentaram A similar aquelas antes da aplicação do glyphosate. Aos 35 DAE, A para aplicação única foi ainda menor que a correspondente aplicação sequencial. Após a segunda a aplicação de glyphosate na aplicação sequencial (36 DAE), A diminuiu novamente; no entanto, permaneceu em valores maiores do que na aplicação única (Figuras 1A e 1B; Tabela 1). No estágio R1 (58 DAE), o valor de A para a aplicação única estava menor do que na aplicação sequencial, com valores entre 5 – 11  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  para a aplicação única e 8 – 11  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  para aplicação sequencial, respectivamente (Figuras 1A e 1B; Tabela 1).

Comportamento similar foi observado para gs e E, uma vez que ambos foram reduzidos pela aplicação do glyphosate (Figuras 1C, 1D, 1E e 1F; Tabela 1). Estudos anteriores demonstraram que os parâmetros fotossintéticos (A, gs e E) foram severamente afetados pelo glyphosate em cultivares RR de diferentes grupos de maturação cultivados em diferentes solos; entretanto, não

houve diferenças entre as cultivares de soja RR não-tratadas com glyphosate e suas respectivas isolinhas parentais não-RR (Zobiole et al. 2010). O fechamento estomático é um importante fator que contribui para depressão na assimilação de CO<sub>2</sub> (Zlatev & Yordanov, 2004) e redução na transpiração. De acordo com Magalhães Filho et al. (2008), o parcial fechamento estomático leva à diminuição na condutância estomática (gs) e conseqüentemente se observa aumento no CO<sub>2</sub> subestomático (Ci). Como a condutância estomática diminuiu com o aumento da dose de glyphosate, uma intensa diminuição foi observada na taxa transpiratória (E), na taxa fotossintética (A), na assimilação do CO<sub>2</sub> e na eficiência de carboxilação (A/Ci). Portanto Ci aumentou consideravelmente após aplicação de glyphosate (Figuras 1G e 1H; Tabela 1), e este aumento foi mais pronunciado na aplicação única apresentando 250 – 400 vpm aos 26 DAE (Figura 1G; Tabela 1). O aumento no Ci após a primeira aplicação (26 DAE) foi menor para a aplicação sequencial do que após a aplicação única (Figuras 1G e 1H; Tabela 1) embora com a segunda aplicação sequencial de glyphosate o Ci também foi aumentado (Figura 1H; Tabela 1). No estágio R1, Ci estava menor para as plantas que receberam aplicação sequencial do que aquelas em aplicação única (Figuras 1G e 1H; Tabela 1).

Com diminuições em A e aumento em Ci, a eficiência de carboxilação imediata (A/Ci) foi extremamente afetada em ambas as modalidades de aplicação (Figuras 1I e 1J; Tabela 1) e estes efeitos foram proporcionais às doses aplicadas. No estágio R1, as plantas não-tratadas com glyphosate foram aproximadamente seis vezes mais eficientes na carboxilação que aquelas tratadas com glyphosate (Figuras 1I e 1J), o que refletiu no aumento da produção de biomassa, pela difusão do CO<sub>2</sub> para o cloroplasto ser essencial para a fotossíntese. A cutícula que cobre a folha é praticamente impermeável ao CO<sub>2</sub>, portanto a principal porta de entrada do CO<sub>2</sub> na folha é o poro estomático, no qual o CO<sub>2</sub> se difunde através da cavidade subestomática e dentro dos espaços intracelulares entre o mesófilo das células (Taiz & Zaiger, 1998).

#### **4.5.2 Fluorescência**

A fluorescência da clorofila é uma medida da eficiência fotossintética e da capacidade produtiva (Maxwell & Johnson, 2000). Pode ser usada como uma ferramenta para estudar diversos aspectos da fotossíntese porque ela reflete a mudança na membrana e na organização do tilacoide. Mudanças na fluorescência estão associadas com plantas tratadas com herbicidas inibidores da síntese de aminoácidos (Ireland et al., 1986) ou da rota respiratória (Gonzalez-Moro et al., 1997).

A energia luminosa usada na fotossíntese pode ser dissipada como calor, e/ou re-emitida como luz de longo comprimento de ondas, sendo este último processo conhecido como fluorescência (Lichtenthaler & Miehe, 1997; Maxwell & Johnson, 2000). Antes da aplicação do glyphosate (22 DAE), as avaliações com o fluorômetro mostraram que as unidades arbitrárias da fluorescência ( $F_o$ ) estavam entre 430 e 530 (Figuras 2A e 2B; Tabela 2). No entanto, após a aplicação do glyphosate (24 DAE),  $F_o$  diminuiu proporcionalmente com todas as doses de glyphosate (Figuras 2A e 2B; Tabela 2).  $F_o$  diminuiu até 38 DAE, e após esta data  $F_o$  aparentemente se recuperou até o estágio R1 (58 DAE). Para a aplicação única, as injúrias foram mais pronunciadas do que em relação às aplicações sequenciais, na qual  $F_o$  estava entre 300 – 200 para 1.200 e 2.400 g e.a.  $ha^{-1}$  para a aplicação única aos 38 DAE (Figura 2A; Tabela 2), respectivamente, e entre 350 – 300 para 1.200 e 2.400 g e.a.  $ha^{-1}$  aplicados sequencialmente (Figura 2B; Tabela 2).  $F_o$  também diminuiu após a primeira aplicação sequencial (24 DAE) de 430 e 530 para 360 e 390 unidades arbitrárias (Figura 2B; Tabela 2). Após a segunda aplicação (36 DAE),  $F_o$  permaneceu em 310 – 390 unidades arbitrárias, sugerindo que as plantas expostas a duas aplicações de glyphosate não se recuperaram da injúria causada pelo herbicida até o estágio R1. A fluorescência máxima ( $F_m$ ) apresentou a mesma tendência de  $F_o$ . Antes da aplicação do glyphosate (22 DAE), não houve diferença entre os tratamentos (Figura 2C; Tabela 2) para ambas as modalidades de aplicações ( $F_m$  entre 1550 e 1850). Entretanto, após as aplicações únicas do glyphosate (24 DAE),  $F_m$  diminuiu proporcionalmente às doses aplicadas (Figura 2C; Tabela 2). Um comportamento similar para a aplicação sequencial ocorreu, sendo que  $F_m$ s diminuiu de 1800 e 1890 para 1500 e 950 para a menor e a maior dose, respectivamente.

A eficiência de produtividade quântica do fotossistema 2 representa a capacidade da planta em converter a energia luminosa em energia química (Genty et al., 1989). Desta forma, considerando que o glyphosate afetou  $F_o$  e  $F_m$ , a razão da variável fluorescência pela máxima fluorescência ( $F_v/F_m$ ) também foi afetada pelo glyphosate, embora tenha havido comportamento diferente entre as modalidades de aplicação. Com a aplicação única,  $F_v/F_m$  diminuiu com as doses (900, 1.200 e 2.400 g e.a.  $ha^{-1}$ ) de glyphosate (24 DAE) e continuou diminuindo até aos 38 DAE. Após este período, as plantas aparentemente tentaram se recuperar, no entanto, o declínio continuou até o estágio R1 (Figura 2E; Tabela 2).  $F_v/F_m$  também foi afetada pela aplicação sequencial; entretanto, as injúrias do glyphosate foram menores que na aplicação única (Figura 2F; Tabela 2). Horton et al. (1996) concluíram que diminuições em  $F_v/F_m$  estão associadas com o aumento da excitação de energia nas antenas do fotossistema II e são geralmente considerados indicativos de “baixa regulação” no transporte de elétron, o qual reflete em menor taxa fotossintética.

#### **4.5.3 Teor de clorofila**

O teor de clorofila tende a aumentar com o crescimento da planta (Figuras 3A e 3B; Tabela 3), mas estes teores foram afetados pelo glyphosate. Embora os teores não sejam afetados imediatamente após a aplicação do glyphosate, redução do teor de clorofila foi observada dentro de dois dias após aplicação (26 DAE), com maior declínio observado aos 38 DAE. Os efeitos foram mais expressivos para doses  $\geq 1.200$  g e.a.  $ha^{-1}$ . Esta diminuição poderia ser pelo direto dano no cloroplasto (Campbell et al., 1976; Nilsson, 1985) pela presença do glyphosate. Zobiolo et al. (2010) também observaram que plantas de diferentes grupos de maturação expostas à aplicação única ou sequencial de glyphosate frequentemente apresentaram teor de clorofila menor que plantas que não foram expostas a este herbicida.

#### **4.5.4 Absorção de água**

Mudanças na absorção de água foram observadas durante o desenvolvimento da soja, (Figuras 4A e 4B; Tabela 4). Plantas tratadas com

glyphosate absorveram aproximadamente a mesma quantidade de água até 40 DAE, após a qual o volume de água absorvido pelas plantas diminuiu proporcionalmente as doses de glyphosate aplicadas. A diferença entre plantas que não foram expostas ao glyphosate em relação àquelas que receberam a maior dose foi ao redor de 6,3 L por planta. Esta diferença para a aplicação sequencial foi ao redor de 5,0 L por planta. A influência do glyphosate na quantidade total de água absorvida foi ao redor de 0,3 L por planta menor com a aplicação única comparado com a aplicação sequencial até o estágio R1 (Figura 5). Sabe-se que em resposta ao estresse hídrico, as plantas regulam a transpiração pela diminuição da condutância estomática. Embora esta diminuição reduza o potencial fotossintético, possível desidratação de células e tecidos é evitada (Sperry, 2000).

A membrana plasmática é a chave estrutural que pode ser rompida por fatores externos (ex. congelamento, descongelamento ou agentes químicos), desta forma o transporte de água é abruptamente diminuído (Kramer & Boyer, 1995). Como o glyphosate deve passar através da membrana plasmática e entrar no simplasto para causar toxidez (Bernards et al., 2005), a hipótese de que o glyphosate poderia romper a plasmalema e diminuir a absorção de água pode não ser uma das respostas para os dados da Figura 4.

As plantas podem perceber a disponibilidade de água ao redor das raízes e responder com sinais de agentes químicos para a parte aérea (Davies & Zhang, 1991; Jackson, 1993). Alguns sinais incluem o ácido abscísico (ABA), o qual é produzido em condições de seca dentro das raízes e transportados pelo xilema, via transpiração, para as folhas, onde diminuem a condutância estomática com conseqüente redução de sua expansão (Davies & Zhang, 1991; Dodd & Davies, 1996; Liu et al., 2003). No entanto, como esta pesquisa foi conduzida em solução nutritiva, onde não existe déficit no fornecimento de água, outros fatores podem estar afetando a diminuição na absorção de água, incluindo a interferência do glyphosate nos parâmetros fotossintéticos (Figuras 4 e 5).

Uma vez que as proteínas integrais da membrana que formam canais seletivos de água ao redor da membrana (Taiz & Zeiger, 1998), a atividade da aquaporina na raiz ou na membrana foliar deve afetar a condutância



estomática e a transpiração (Henzler et al., 1999; Clarkson et al., 2000). O mecanismo molecular que leva à abertura ou fechamento da aquaporina ainda não é conhecido, embora um número essencial de aminoácidos foi identificado e, diversas estruturas foram descritas com relação à atividade da aquaporina (Chaumont et al., 2005). Foi sugerido um possível mecanismo dependente de pH para este canal, onde em baixo pH (acidose do citosol) a atividade da aquaporina é reduzida (Gerbeau et al., 2002; Tournaire-Roux et al., 2003; Chaumont et al. 2005). Em humanos, outros compostos podem inibir a permeabilidade da aquaporina, como os compostos de mercúrio  $HgCl_2$  (Zeidel et al., 1994) ou tetraetilamônio (Brooks et al., 2000). Mais pesquisas deveriam ser desenvolvidas a fim de estudar a relação entre herbicida, absorção de água e aquaporinas.

#### **4.5.5 Produção de biomassa e altura das plantas**

Qualquer produto químico que altera o metabolismo foliar afetará o nível dos intermediários e/ou da atividade das enzimas do Ciclo de Calvin (Ireland et al., 1986). Diminuições na assimilação do  $CO_2$  levam a diminuições na biomassa e no acúmulo de carboidratos (Magalhães Filho et al., 2008). Com o aumento da dose de glyphosate, a raiz e a parte aérea foram afetadas, provavelmente pelos efeitos aditivos na fotossíntese e absorção de água. Plantas em aplicação sequencial foram menos afetadas que aquelas em aplicação única (Figuras 6 a 8).

Shibles & Weber (1965) relataram que a produção total de biomassa pela soja, fundamentalmente depende da energia suprida pela fotossíntese. Organismos fotossintéticos usam a energia da luz solar para sintetizar compostos carbônicos e, com adequada área foliar, a produção de carbono é otimizada com “input” de energia (Taiz & Zeiger, 1998). Portanto, a redução em todos os parâmetros fotossintéticos e a diminuição na absorção de água na soja RR observada no estágio R1 (Figuras 1 a 4; Tabelas 1 a 4), distante da aplicação do herbicida, sugere que o glyphosate ou seus metabólitos possuem efeitos persistentes na fisiologia das plantas. Diversos trabalhos relatam que a molécula do glyphosate pode permanecer na planta até a completa maturação

fisiológica (Arregui et al., 2003; Duke et al., 2003; Reddy et al., 2004; Zablotowicz & Reddy, 2007).

De forma similar, a altura das plantas foi diminuída pelo aumento da dose de glyphosate com a aplicação única afetando a altura das plantas mais do que a aplicação sequencial para as mesmas doses (Figura 8).

#### **4.5.6 Eficiência do uso da água (EUA)**

Eficiência agronômica no uso da água pode ser determinada por meio da relação entre a produção de massa seca e o consumo de água pela cultura (Buzzetti et al., 1993; Kramer & Boyer, 1995; Doorenbos & Kassam, 1998). A EUA foi severamente reduzida com o aumento da dose de glyphosate (Figura 9). De fato, o volume de água que a soja RR sem glyphosate requer para produzir 1 g de massa seca foi 204% e 152% menor que aquelas expostas a 2.400 g e.a. ha<sup>-1</sup> da aplicação única ou sequencial de glyphosate. Como o glyphosate é exsudado das plantas para a rizosfera (Rodrigues et al., 1982; Feng & Thompson, 1990; Cornish et al., 2005; Laitinen et al., 2005; Kremer et al., 2005; Huber, 2006; Homheld, 2007; Bott et al., 2008), este estudo foi conduzido em solução nutritiva, as plantas de soja estavam sujeitas à contínua absorção de glyphosate e, ou de seus metabólitos. O glyphosate exsudado deve ser sorvido pelas partículas do solo em campo ou em estudos de casa-de-vegetação (Franz et al., 1997; Toni et al., 2006), portanto, menores injúrias são observadas na soja RR em condições de campo.

Plantas de soja RR que recebem aplicação única com doses comerciais de glyphosate (600 a 1.200 g e.a. ha<sup>-1</sup>) precisaram de 13% a 20% mais água para produzir a mesma quantidade de biomassa seca em comparação com as plantas-controle. Embora o efeito seja menos pronunciado com a aplicação sequencial, a aplicação de glyphosate na dose comercial recomendada para a soja RR, as plantas requerem 8% a 14% mais água para produzir a mesma biomassa seca em comparação com aquelas sem aplicação (Figura 9).

Os efeitos negativos do glyphosate nos parâmetros fotossintéticos e teores de clorofila estão de acordo como os sintomas visuais descritos como “yellow flashing” por outros autores (Krausz & Young, 2001; Reddy & Zablotowicz, 2003). A diminuição na absorção de água causada pelo

glyphosate observada neste estudo poderia explicar as diminuições na concentração dos nutrientes minerais da parte aérea e produção de biomassa da cv. BRS 242 RR tratada com glyphosate no estudo conduzido por Zobiolo et al. (2010). Efeitos do glyphosate ou de seus metabólitos na EUA explicam porque a soja RR submetida ao uso do glyphosate é mais sensível à seca e menos eficiente em converter água em biomassa comparada com plantas RR que não recebem glyphosate.

#### **4.6 Conclusão**

Com o aumento da dose de glyphosate, parâmetros fotossintéticos, absorção de água e produção de biomassa diminuíram drasticamente, sendo que o efeito da aplicação única foi maior que aplicações sequenciais. Com as prováveis mudanças climáticas no futuro, um provável aumento na quantidade de água será requerido para a produção da soja RR pelo aumento de sua transpiração.

#### **4.7 Agradecimentos**

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq), pela bolsa de estudos e suporte desta pesquisa.

#### **4.8 Referências**

Allen, L.H.Jr.; Pan, D.; Boote, K.J.; Pickering, N.B. Jones, J.W. Carbon dioxide and temperature effects on evapotranspiration and water use efficiency of soybean. *Agron. J.*, v.95, p.1071-1081, 2003.

Arregui, M. C.; Lenardón, A.; Sanchez, D.; Maitre, M. I.; Scotta, R.; Enrique, S. Monitoring glyphosate residues in transgenic glyphosate-resistant soybean. *Pest. Manage. Sci.* v.60, n.2, p.163, 2003.

Arnon, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* v.24, p.1-15, 1949.

Bernards, M.L.; Thelen, K.D.; Penner, D.; Muthukumar, R.B.; McCracken, J.L. Glyphosate interaction with manganese in tank mixtures and its effects on glyphosate absorption and translocation. *Weed Sci.*, v.53, p.787-794, 2005.

Boocock, M.R.; Coggins, J.R. Kinetics of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase inhibition by glyphosate. *FEBS Lett.*, v.154, p.127-133, 1983.

Bott, S.; Tesfamariam, T.; Candan, H.; Cakmak, I.; Romheld, V.; Neumann, G. Glyphosate-induced impairment of plant growth and micronutrient status in glyphosate-resistant soybean (*Glycine max* L.). *Plant and Soil*, v.312, n.2, p.185-194, 2008.

Brooks, H.L.; Regan, J.W.; Yool, A.J. Inhibition of aquaporin-1 water permeability by tetraethylammonium: involvement of the loop and pore region. *Molecular Pharmacology*, v.57, p.1021-1026, 2000.

Buzzeti, S. Hernandez, F.B.T.; Sá, M.E.; Suzuki, M.A. Influência da adubação nitrogenada e potássica na eficácia do uso da água e na qualidade de frutos de melão. *Sci. Agric.*, v.50, n.2, p.419-426, 1993.

Chaumont, F.; Moshelion, M.; Daniels, M.J. Regulation of plant aquaporin activity. *Biol. Cell*, v.97, p.749-764, 2005.

Clarkson, D.T.; Carvajal, M.; Henzler, T.; Waterhouse, R.N.; Smyth, A.M.; Cooke, D.T.; Steudle, E. Root hydraulic conductance: diurnal aquaporin expression and the effects of nutrient stress. *J. Exp. Bot.*, v.51, p.61–70, 2000.

Cornish, P.S.; Burgin, S. Residual effects of glyphosate herbicide in ecological restoration. *Restor. Ecol.* v.13, p.695-702, 2005.

Davies, W.J.; Zhang, J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, v.42, p. 55–76, 1991.

Dodd, I.C.; Davies, W.J. The relationship between leaf growth and ABA accumulation in the grass leaf elongation zone. *Plant Cell Environ.*, v.19, p.1047–1056, 1996.

Doorenbos, J.; Kassam, A.H. Efectos del agua sobre el rendimiento de los cultivos. Roma: FAO, 1988. 212p. (Boletim, 33).

Duke, S.O.; Rimando, A.M.; Pace, P.F.; Reddy, K.N.; Smeda, R.J. Isoflavone, glyphosate, and aminomethylphosphonic acid levels in seeds of glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. *J. Agric. Food Chem.*, v.51, p.340-344, 2003.

Feng, J.; Thompson, D. Fate of glyphosate in a Canadian forest watershed. 2. Persistence in foliage and soils. *J. Agric. Food Chem.*, v.38, p.1118-1125, 1990.

Franz, J. E.; Mao, M. K.; Sikorski, J. A. Glyphosate: A Single Global Herbicide; ACS Monograph 189; American Chemical Society: Washington, DC, 1997.

Genty, B.; Briantais, J.M.; Baker, N.R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta.*, v.990, p. 87-92, 1989.

Gerbeau, P.; Amodeo, G.; Henzler, T.; Santoni, V.; Ripoche, P.; Maurel, C. The water permeability of *Arabidopsis* plasma membrane is regulated by divalent cations and pH. *Plant J.*, v.30, p.71–81, 2002.

Gonzalez-Moro, B.; Lacuesta, M.; Iriberry, N.; Muroz-Rueda, A.; Gonzalez-Murua, C. Comparative effects of PPT and AOA on photosynthesis and fluorescence chlorophyll parameters in *Zea mays*. *J. Plant Physiol.*, v.151, p.641-648, 1997.

Henzler, T.; Waterhouse, R.N.; Smyth, A.J.; Carvajal, M.; Cooke, D.T.; Schaffner, A.R.; Steudle, E.; Clarkson, D.T. Diurnal variations in hydraulic conductivity and root pressure can be correlated with the expression of putative aquaporins in the roots of *Lotus japonicus*. *Planta*, v.210, p.50–60, 1999.

Hernandez, A.; Garcia-Plazaola, J.I.; Bacerril, J.M. Glyphosate effects on phenolic metabolism of nodulated soybean (*Glycine max* L. Merril). *J. Agric. Food Chem.*, v. 47, p. 2920-2925, 1999.

Hoagland, D. R.; Arnon, D. J. The water culture method of growing plants without soil. Berkeley: University of California, 1950.

Homheld, V. Dinâmica do glyphosate na rizosfera das plantas alvo e não alvo. *Informações Agronômicas*, n. 119, p.3-5, 2007.

Horton, P.; Ruban, A.V.; Walters, R.G. Regulation of light harvesting in green plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, v.4, p.655-684, 1996.

Houghton, J.T.; Ding, Y.; Griggs, D.J.; Noguer, M.; van der Linden, P.J.; Dai, X.; Maskell, K.; Johnson, C.A. (eds.). *Climate change 2001: The scientific basis*. Intergovernmental Panel on Climate Change of The World Meteorological Organization and United Nations Environment Programme. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 2001.

Huber, D.M. Strategies to ameliorate glyphosate immobilization of manganese and its impact on the rhizosphere and disease. In: Lorenz N.; Dick, R. (eds) *Proceedings of the Glyphosate Potassium Symposium 2006*. Ohio State University, AG Spectrum, DeWitt, Iowa. 2006

Ireland, C.R.; Percival, M.P.; Baker, N.R. Modification of the induction of photosynthesis in wheat by glyphosate, an inhibitor of amino acid metabolism. *J. Exp. Bot.*, v.37, p.299-308, 1986.

Jackson, M.B. Are plant hormones involved in root-to-shoot communication? *Adv. Bot. Res.*, v.19, p.103–187, 1993.

Jolley, V.D.; Hansen, N.C.; Shiffler, A.K. Nutritional and management related interactions with iron-deficiency stress response mechanisms. *Soil Sci. Plant Nutr.*, v.50, p.973-981, 2004

Kitchen, L.M.; Witt, W.W.; Rieck, C.E. Inhibition of chlorophyll accumulation by glyphosate. *Weed Sci.*, v.29, p.513-516, 1981a.

Kitchen, L.M.; Witt, W.W.; Rieck, C.E. Inhibition of  $\delta$ -aminolevulinic acid synthesis by glyphosate. *Weed Sci.*, v.29, p.571-577, 1981b

Kramer, P.J.; Boyer, J.S. Cell water relations. In: Kramer, P.J.; Boyer, J.S. (Eds.). *Water relations of plants and soils*. San Diego: Academic Press, 1995. p.42-80, 495p.

Krausz, R.F.; Young, B.G. Response of glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*) to trimethylsulfonium and isopropylamine salts of glyphosate. *Weed Technology*, v.15, p.745-749, 2001.

Kremer, R.J.; Means, N.E.; and Kim, S. Glyphosate affects soybean root exudation and rhizosphere microorganisms. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, v.85, p.1165-1174. 2005

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*, v.93, p.179-186. 2001.

Laitinen, P.; Ramo, S.; Siimes, K. Glyphosate translocation from plants to soil – does this constitute a significant proportion of residues in soil? *Plant Soil*, v.300, p.51-60, 2005.

Lee, T. T. Effects of glyphosate on synthesis and degradation of chlorophyll in soybean and tobacco cells. *Weed Res.*, v.21, 161-164, 1981.

Liu, F.; Jensen, C.R.; Andersen, M.N. Hydraulic and chemical signals in the control of leaf expansion and stomatal conductance in soybean exposed to drought stress. *Funct. Plant Biol.*, v.30, p.65–73, 2003.

Liu, F.; Andersen, M.N.; Jacobsen, S.E.; Jensen, C.R. Stomatal control and water use efficiency of soybean (*Glycine max* L. Merr.) during progressive soil drying. *Env. Exp. Botany*, v.54, p.33-40, 2005.

Lichtenthaler, H.K.; Miehe, J.A. Fluorescence imaging as a diagnostic tool for plant stress. *Trends Plant Sci.* v.2, p.316-320, 1997.

Magalhães Filho, J.R.; Amaral, L.R.; Machado, D.F.S.P.; Medina, C.L.; Machado, E.C. Deficiência hídrica, trocas gasosas e crescimento de raízes em laranjeira “Valencia” sobre dois tipos de porta enxerto. *Bragantia*, v.67, n.1, p.75-82, 2008.

Mann, M.E.; Bradley, R.S.; Hughes, M.K. Northern Hemisphere temperatures during the past millennium: inferences, uncertainties, and limitations. *Geophys. Res. Lett.*, v.26, p.759–762, 1999.

Markwell J.; Osterman, J.C., Mitchell J.L. Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter, *Photosynth. Res.* 46 (1995) 467–472.

Maxwell, K.; Johnson, G.N. Chlorophyll fluorescence - A practical guide. *J. Exp. Bot.*, v.51, p.659-668, 2000.

Pinkard, E.A.; Patel, V. Mohammed, C. Chlorophyll and nitrogen determination for plantation-grown *Eucalyptus nitens* and *E. globulus* using a non-destructive meter. *Forest Ecol Manag.*, v.223, p.211–217, 2006.

Pline, W.A.; Wu, J.; Hatzios, K.K. Effects of temperature and chemical additives on the response of transgenic herbicide-resistant soybeans to glufosinate and glyphosate applications. *Pestic. Biochem. Physiol.*, v.65, p.119–131, 1999.

Procópio, S.O.; Santos, J.B.; Silva, A.A.; Matinez, C.A.; Werlang, R.C. Características fisiológicas das culturas de soja e feijão e de três espécies de plantas daninhas. *Planta Daninha*, v.22, n.2, p.211-216, 2004.

Reddy, K.N.; Hoagland, R.E.; Zablutowicz, R.M. Effect of glyphosate on growth, chlorophyll, and nodulation in glyphosate-resistant and susceptible soybean (*Glycine max*) varieties. *J. New Seeds*, v.2, p.37–52, 2000.

Reddy, K.N.; Zablutowicz, R.M. Glyphosate-resistant soybean response to various salts of glyphosate and glyphosate accumulation in soybean nodules. *Weed Sci.*, v.51, p.496–502, 2003.

Reddy, K.N.; Rimando, A.M.; Duke, S.O. Aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate, causes injury in glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. *J. Agric. Food Chem.*, v.52, p.5139–5143, 2004.

Richardson, A.D.; Duigan, S.P.; G.P. Berlyn. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. *New Phytol.*, v.153, p.185-194, 2002.

Rodrigues, J.J.V.; Worsham, A.D.; Corbin, F.T. Exudation of glyphosate from wheat (*Triticum aestivum*) plants and its effects on interplanted corn (*Zea mays*) and soybeans (*Glycine max*). *Weed Technology*, v.30, p.316-320, 1982.

Santos, J.B.; Santos, E.A.; Fialho, C.M.T.; Silva, A.A.; Freitas, M.A. M. Época de dessecação anterior à semeadura sobre o desenvolvimento da soja resistente ao glyphosate. *Planta Daninha*, v.25, p.869-875, 2007.

Shapiro, S.S.; Wilk, M.B. An analysis of variance test for normality. *Biometrika*, v.52, p.591-611, 1965.

Shibles, R.M.; Weber, C.R. Leaf area, solar radiation interception, and dry matter production by various soybean planting patterns. *Crop Science*, v.6, p.575-577, 1965.

Singh, B.K., Siehl, D.L., Connelly, J. A. Shikimate pathway: why does it mean so much to so many? *Oxf. Surv. Plant Mol. Cell Biol.*, v.7, p.143–185, 1991.

Singh, B.; Singh, Y.; Ladha, J.K.; Bronson, K.F.; Balasubramanian, V.; Singh, J.; Khind, C.S. Chlorophyll meter– and leaf color chart–based nitrogen management for rice and wheat in Northwestern India. *Agron. J.*, v.94, p.821-89, 2002.

Sperry, J.S. Hydraulic constraints on plant gas exchange. *Agricultural and Forest Meteorology*, v.104, p.13-23, 2000.

Sprankle, P.; Sandberg, C.L.; Meggit, W.F.; Penner, D. Separation of glyphosate and possible metabolites by thin-layer chromatography. *Weed Sci.*, v.26, p.673-674, 1978.

SPSS, 2000. SysStat © for Windows, Version 10.

Taiz, L.; Zeiger, E. Mineral Nutrition. In: *Plant Physiology*. Sinauer Associates, Sunderland, p. 111-144. 1998.

Toni, L.R.M.; Santana, H.; Zaia, D.A.M. Adsorção de glyphosate sobre solos e minerais. *Química Nova*, v.29, n.4, p.829-833, 2006.

Tournaire-Roux, C.; Sutka, M.; Javot, H.; Gout, E.; Gerbeau, P.; Luu, D.T.; Bligny, R.; Maurel, C. Cytosolic pH regulates root water transport during anoxic stress through gating of aquaporins. *Nature*, v.425, p.393–397, 2003.

Tyerman, S. D.; Bohnert, H. J.; Maurel, C.; Steudle, E.; Smith, J.A.C. Plant aquaporins: Their molecular biology, biophysics and significance for plant–water relations. *J. Exp. Bot.*, v.50, p.1055–1071, 1999.

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

Zlatev, Z.S.; Yordanov, I.T. Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. *Bulg. J. Plant Physiol.*, v.30, n.4, p.3-18, 2004.

Zeidel, M.L.; Nielsen, S.; Smith, B.L.; Ambudkar, S.V.; Maunsbach, A.B.; Agre, P. Ultrastructure, pharmacologic inhibition, and transport selectivity of aquaporin channel-forming integral protein in proteoliposomes. *Biochemistry*, v.33, p.1606-1615, 1994.

Zobiole, L.H.S.; Oliveira Jr, R.S.; Huber, D.M.; Constantin, J.; Castro, C.; Oliveira, F.A.; Oliveira Jr, A. Glyphosate reduces shoot concentrations of mineral nutrients in glyphosate-resistant soybeans. **Plant and Soil**, v. 328, p. 57-69, 2010.



**Tabela 1.** Estimativas dos parâmetros das análises de regressão das variáveis relacionadas à fotossíntese da soja RR tratada com diferentes doses de glyphosate em aplicação única ou sequencial.

**Figura 1A. Taxa fotossintética (A) da aplicação única**

DAE	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado				R <sup>2</sup>
	y0	a	b	c	
58	11,60	-0,0016	7,12E7	-4,45E10	0,98*
38	11,16	-0,0022	3,75E8	-8,09E11	0,99*
35	11,77	-0,0034	8,54E7	-3,34E10	0,99*
26	9,98	0,0022	-6,33E6	1,55E9	0,98*
22	10,26	-0,0070	6,31E6	-1,44E9	0,87*

**Figura 1B. Taxa fotossintética (A) da aplicação sequencial**

DAE	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado				R <sup>2</sup>
	y0	a	b	c	
58	11,55	-0,0060	3,36E6	-5,58E10	0,99*
38	11,05	-0,0006	-2,49E6	8,48E10	0,98*
35	11,80	0,0064	6,36E6	-1,90E9	0,97*
26	10,30	-0,0061	4,72E6	-1,31E9	0,95*
22	10,27	-0,0040	3,80E6	-8,90E10	0,96*

**Figura 1C. Condutância estomática (gs) da aplicação única**

DAE	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado				R <sup>2</sup>
	y0	a	b	c	
58	0,27	-8,02E5	4,94E8	-1,37E11	0,93*
38	0,20	0,0001	-2,04E7	5,92E11	0,93*
35	0,24	7,12E5	-1,74E7	5,59E11	0,94*
26	0,13	0,0001	-1,70E7	4,14E11	0,91*
22	0,12	9,21E5	-1,05E7	3,28E11	0,82*

**Figura 1D. Condutância estomática (gs) da aplicação sequencial**

DAE	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado				R <sup>2</sup>
	y0	a	b	c	
58	0,27	-0,0002	1,71E7	-3,72E11	0,89*
38	0,20	-5,74E5	2,37E8	-3,73E12	0,79*
35	0,23	3,04E6	-7,47E8	2,83E11	0,81*
26	0,13	3,24E5	-8,87E8	2,64E11	0,96*
22	0,13	7,09E5	-6,99E8	2,25E11	0,80*

**Figura 1E. Taxa transpiratória (E) da aplicação única**

DAE	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado				R <sup>2</sup>
	y0	a	b	c	
58	1,44	-0,0001	-3,44E8	6,09E12	0,92*
38	1,40	0,0001	-2,89E8	-3,04E11	0,99*
35	1,38	-0,0008	7,96E7	-2,46E10	0,99*
26	0,75	0,0008	-8,69E7	2,09E10	0,95*
22	0,80	0,0002	9,91E9	-3,40E11	0,92*

**Figura 1F. Taxa transpiratória (E) da aplicação sequencial**

DAE	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado				R <sup>2</sup>
	y0	a	b	c	
58	1,45	-5,95E5	-4,63E7	1,78E10	0,90*
38	1,41	-0,0013	1,02E6	-2,38E10	0,95*

35	1,39	-0,0010	8,13E7	-1,79E10	0,99*
26	0,77	0,0004	-4,88E7	1,21E10	0,98*
22	0,79	0,0004	-4,81E7	1,43E10	0,93*

**Figura 1G. CO<sub>2</sub> subestomático (Ci) da aplicação única**

DAE	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado				R <sup>2</sup>
	y0	a	b	c	
58	92,32	0,0497	-2,77E6	2,14E9	0,99*
38	125,89	-0,0241	7,28E5	-1,96E8	0,99*
35	118,27	-0,0301	8,57E5	-1,95E8	0,99*
26	115,96	0,3494	-0,003	6,42E8	0,99*
22	222,30	0,0293	-4,57E5	1,17E8	0,98*

**Figura 1H. CO<sub>2</sub> subestomático (Ci) da aplicação sequencial**

DAE	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado				R <sup>2</sup>
	y0	a	b	c	
58	92,63	0,1889	-0,0001	2,36E8	0,99*
38	126,66	0,0141	5,26E5	-1,81E8	0,95*
35	117,67	0,1343	-0,0001	4,79E8	0,98*
26	111,51	0,2432	-0,0002	6,84E8	0,99*
22	221,42	-0,0793	6,50E5	-1,53E8	0,96*

**Figura 1I. Eficiência de carboxilação (A/Ci) da aplicação única**

DAE	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado				R <sup>2</sup>
	y0	a	b	C	
58	0,12	-7,53E5	2,72E8	-5,55E12	0,99*
38	0,09	-1,35E5	-2,33E8	7,36E12	0,99*
35	0,09	-2,44E5	-2,26E8	7,60E12	0,99*
26	0,09	-0,0001	6,09E8	-1,22E11	0,98*
22	0,04	-3,76E5	3,80E8	-8,90E12	0,90*

**Figura 1J. Eficiência de carboxilação (A/Ci) da aplicação única**

DAE	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado				R <sup>2</sup>
	y0	a	b	C	
58	0,12	-0,0002	1,13E7	-2,34E11	0,99*
38	0,08	-3,25E5	-9,50E9	5,66E12	0,99*
35	0,09	-0,0001	9,31E8	-2,63E11	0,99*
26	0,09	-0,0001	9,39E8	-2,32E11	0,99*
22	0,04	-1,18E6	3,71E9	-8,18E13	0,99*

\*(n=8, P<0,01)

**Tabela 2.** Regressões e correlações para fluorescência (Fo), máxima fluorescência (Fm) e razão da fluorescência pela máxima fluorescência (Fv/Fm) da soja RR tratada com diferentes doses de glyphosate em aplicação única ou sequencial.

**Figura 2A. Fluorescência (Fo) da aplicação única**

DAE	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado				R <sup>2</sup>
	y0	a	B	C	
58	433,28	-0,1361	9,77E5	-2,41E8	0,98*
38	459,46	-0,2982	0,0002	-4,93E8	0,99*
35	443,00	-0,2322	0,0001	-3,61E8	0,97*
26	443,74	-0,0887	1,85E5	7,83E11	0,96*
22	423,13	0,0515	4,71E5	-2,16E8	0,97*

**Figura 2B. Fluorescência (Fo) da aplicação sequencial**

DAE	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado				R <sup>2</sup>
	y0	a	b	c	
58	434,57	-0,1498	0,0001	-2,54E8	0,99*
38	457,49	-0,2202	0,0001	-2,46E8	0,98*
35	446,50	-0,2096	9,69E5	-1,53E8	0,99*
26	447,36	-0,1418	8,16E5	-1,40E8	0,98*
22	431,40	0,1382	-9,80E5	2,52E8	0,88*

**Figura 2C. Máxima fluorescência (Fm) da aplicação única**

DAE	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado				R <sup>2</sup>
	y0	a	b	c	
58	1800,01	-0,3131	0,0001	-3,05E8	0,99*
38	1553,62	-0,9219	0,0003	-3,20E8	0,97*
35	1592,22	0,1440	-0,0007	1,81E7	0,98*
26	1546,74	0,3851	-0,0008	2,16E7	0,96*
22	1529,21	0,9614	-0,0008	1,88E7	0,99*

**Figura 2D. Máxima fluorescência (Fm) da aplicação sequencial**

DAE	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado				R <sup>2</sup>
	y0	a	b	c	
58	1796,64	-0,0880	-0,0002	6,00E8	0,97*
38	1584,39	-0,5217	-4,99E5	2,43E8	0,99*
35	1589,78	0,0395	-0,0005	1,37E7	0,99*
26	1544,35	-0,1661	2,28E5	-2,24E8	0,97*
22	1533,90	0,6932	-0,0005	1,16E7	0,95*

**Figura 2E. Razão (Fv/Fm) da aplicação única**

DAE	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado				R <sup>2</sup>
	y0	a	b	c	
58	0,77	-3,77E5	2,42E8	-5,12E12	0,96*
38	0,69	0,0002	-3,02E7	9,36E11	0,88*
35	0,72	0,0002	-2,19E7	5,44E11	0,86*
26	0,71	0,0001	-1,39E7	2,48E11	0,96*
22	0,72	0,0001	-1,50E7	4,11E11	0,97*

**Figura 2F. Razão (Fv/Fm) da aplicação única**

DAE	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado				R <sup>2</sup>
	y0	a	b	c	
58	0,76	8,05E5	-9,28E8	2,51E11	0,98*
38	0,71	-5,08E6	6,87E9	-3,87E11	0,99*
35	0,72	0,0001	-1,47E7	3,29E11	0,97*
26	0,71	4,51E5	-1,78E8	-8,25E12	0,98*
22	0,72	3,03E5	-2,46E8	4,41E12	0,82*

\*(n=8, P<0,01)

**Tabela 3.** Regressões e correlações para o teor de clorofila (mg cm<sup>-2</sup>) da soja RR tratada com diferentes doses de glyphosate em aplicação única ou sequencial.

**Figura 3A. Teor de clorofila da aplicação única**

DAE	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado				R <sup>2</sup>
	y0	a	b	C	
58	0,0181	-6,84E6	3,24E9	-9,18E13	0,99*
38	0,0120	-4,17E6	-1,56E9	5,07E13	0,98*
35	0,0123	-1,89E6	-4,63E9	1,38E12	0,99*
26	0,0076	8,57E7	3,12E10	-1,79E13	0,80*
22	0,0077	1,27E6	-1,36E9	3,32E13	0,85*

**Figura 3B. Teor de clorofila da aplicação sequencial**

DAE	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado				R <sup>2</sup>
	y0	a	b	c	
58	0,0180	-9,11E6	5,68E9	-1,64E12	0,99*
38	0,0122	-6,20E6	2,09E9	-3,75E13	0,98*
35	0,0123	-4,76E6	3,00E9	-1,14E12	0,98*
26	0,0076	1,99E6	-1,16E9	1,59E13	0,92*
22	0,0077	1,19E6	-1,66E9	5,42E13	0,96*

\*(n=8, P<0,01)

**Tabela 4.** Regressões e correlações para o total de água absorvida em diferentes estádios de crescimento da soja RR tratada com diferentes doses de glyphosate em aplicação única ou sequencial.

**Figura 4A. Total de água absorvida na aplicação única**

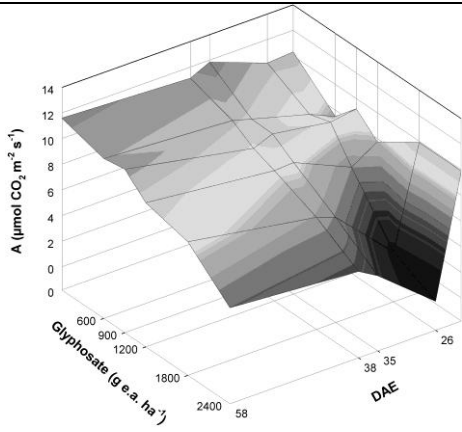
DAE	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado				R <sup>2</sup>
	y0	a	b	c	
58	9919	-4,0458	0,0009	-1,34E7	0,99*
56	8117	-3,2284	0,0009	-1,90E7	0,99*
52	6566	-2,3128	0,0007	-1,66E7	0,99*
49	4971	-1,6345	0,0007	-2,02E7	0,99*
45	4134	-1,0350	0,0004	-1,38E7	0,99*
40	3174	-0,6240	0,0003	-9,26E8	0,99*
38	2221	-0,3712	0,0003	-8,29E8	0,98*
35	1614	-0,0827	-2,81E5	2,57E9	0,93*
30	1340	-0,1447	5,70E5	-1,41E8	0,89*
28	1086	-0,1475	0,0001	-2,72E8	0,94*
26	688	-0,1312	0,0001	-3,18E8	0,89*
22	439	-0,0530	5,84E5	-1,62E8	0,80*
20	301	-2,04E17	1,19E20	2,21E25	0,99*

**Figura 4B. Total de água absorvida na aplicação sequencial**

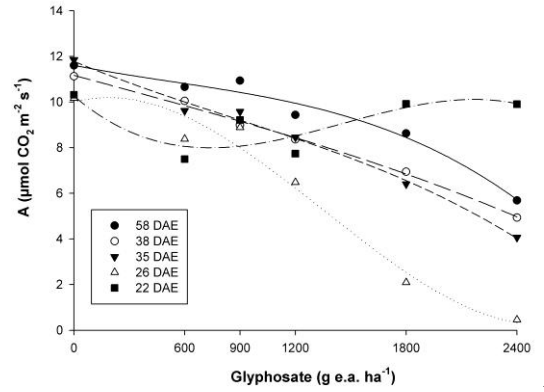
DAE	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado				R <sup>2</sup>
	y0	a	b	c	
58	10048	-5,5940	0,0032	-7,13E7	0,98*
56	8206	-4,1330	0,0025	-6,19E7	0,97*
52	6624	-3,0358	0,0019	-4,86E7	0,97*
49	5021	-1,9991	0,0014	-3,75E7	0,96*
45	4178	-1,3877	0,0011	-3,14E7	0,94*
40	3209	-0,8089	0,0007	-2,20E7	0,90*
38	2237	-0,5102	0,0006	-1,74E7	0,88*
35	1624	-0,2465	0,0003	-1,07E7	0,81*
30	1346	-0,2422	0,0003	-9,73E8	0,80*
28	1101	-0,1651	0,0001	-3,84E7	0,82*
26	701	-0,1294	0,0001	-3,55E8	0,80*
22	442	-0,0337	3,85E5	-1,18E8	0,83*
20	302	-2,04E17	1,19E20	2,21E25	0,99*

\*(n=8, P<0,01)

**Taxa fotossintética da aplicação única**

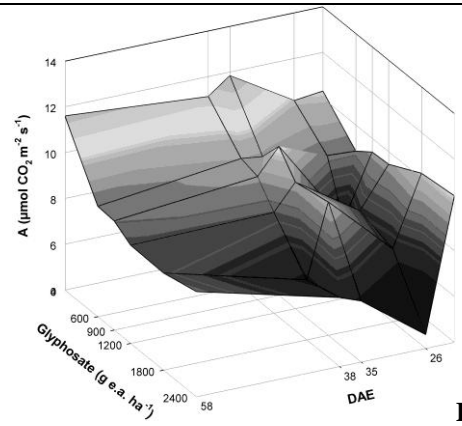


**A**

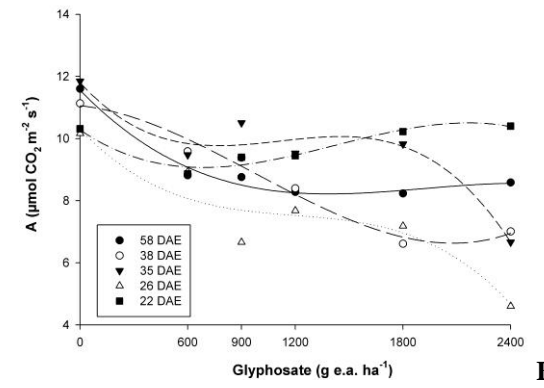


**A**

**Taxa fotossintética da aplicação sequencial**

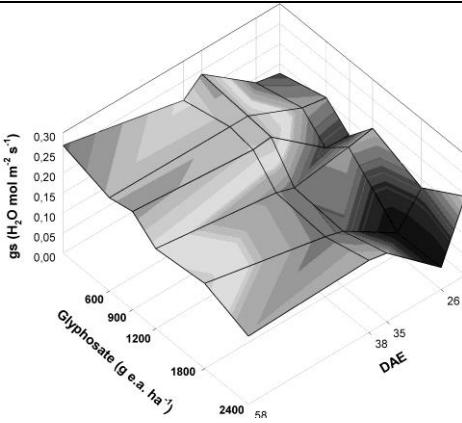


**B**

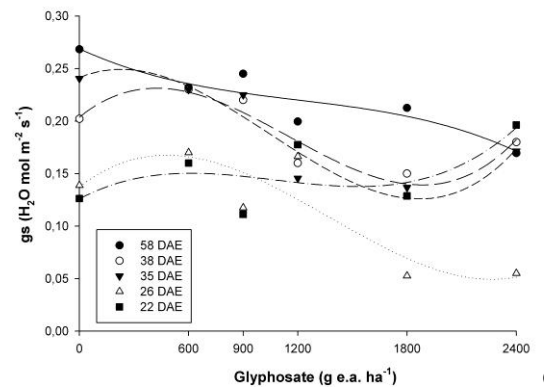


**B**

**Condutância estomática da aplicação única**

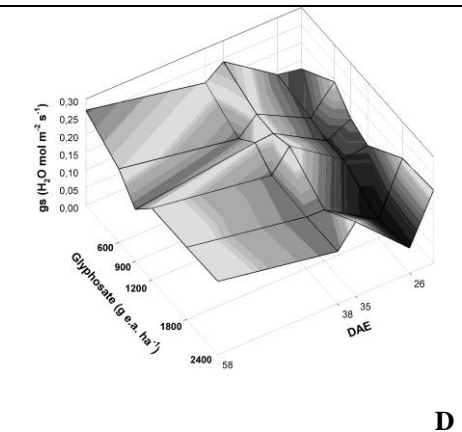


**C**

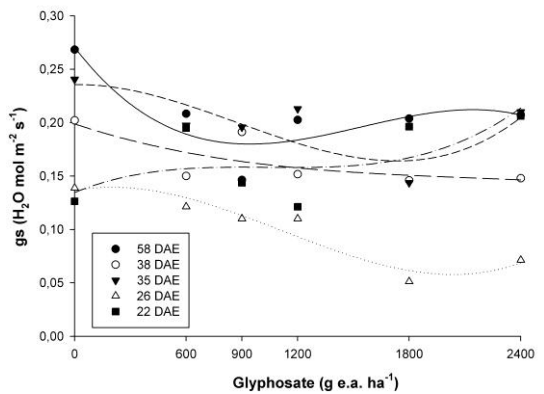


**C**

**Condutância estomática da aplicação sequencial**

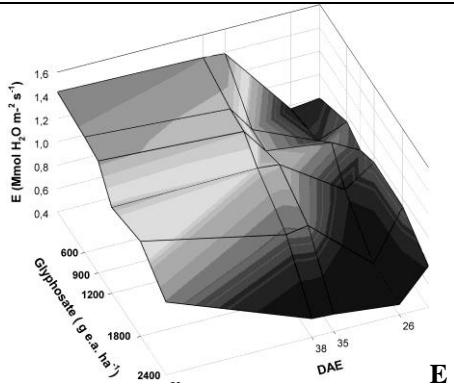


**D**

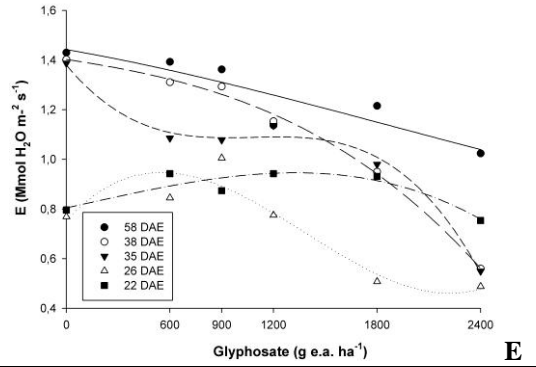


**D**

**Taxa transpiratória da aplicação única**

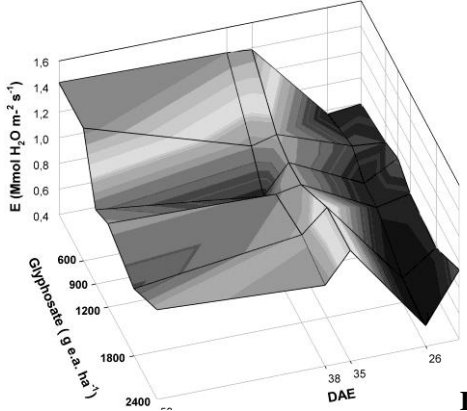


**E**

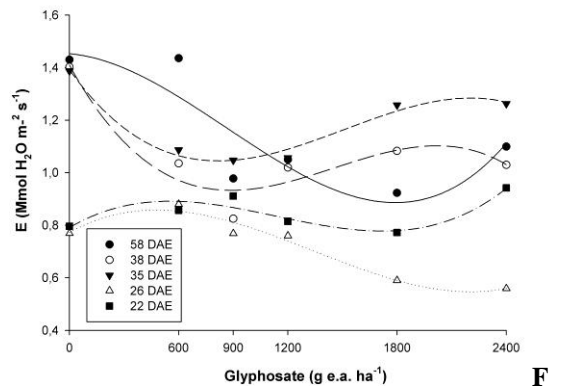


**E**

**Taxa transpiratória da aplicação sequencial**

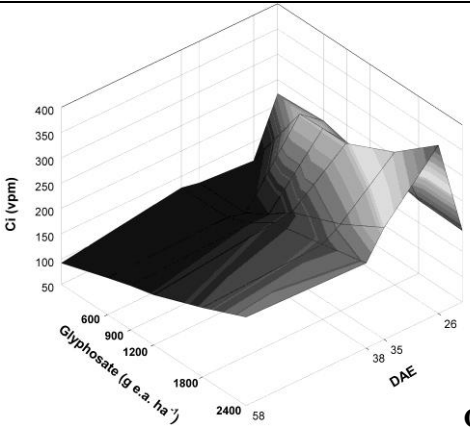


**F**

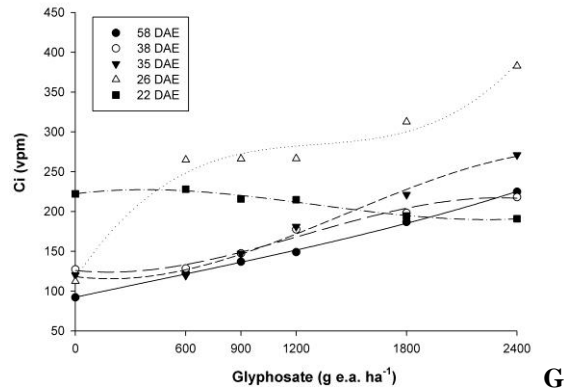


**F**

**CO2 subestomático da aplicação única**

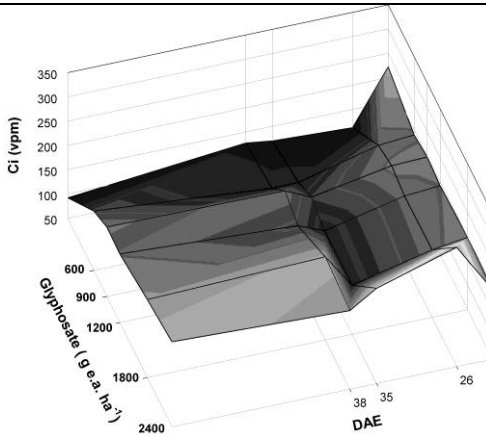


**G**

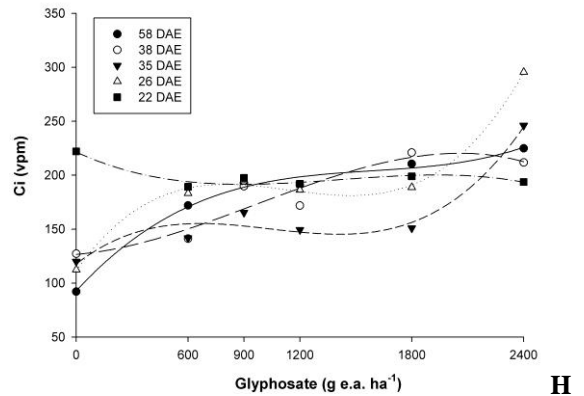


**G**

**CO2 subestomático da aplicação sequencial**



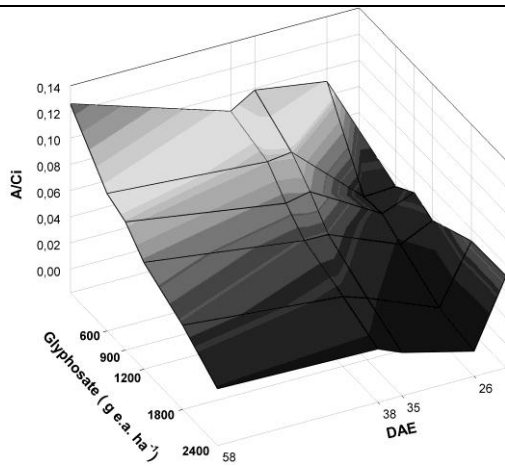
**H**



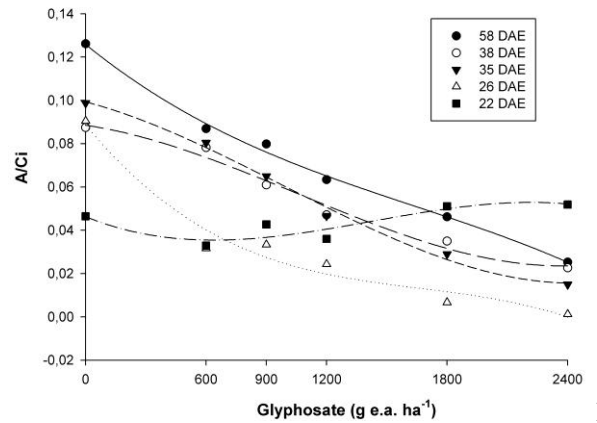
**H**



### Eficiência de carboxilação da aplicação única

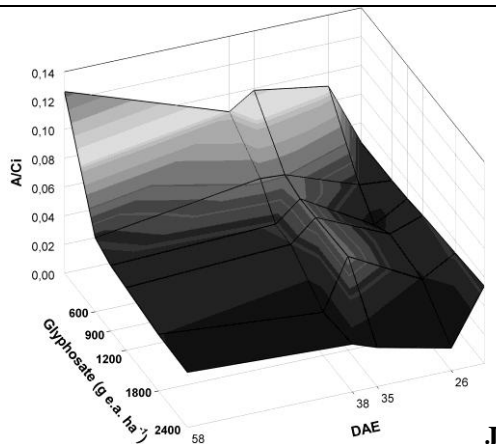


I

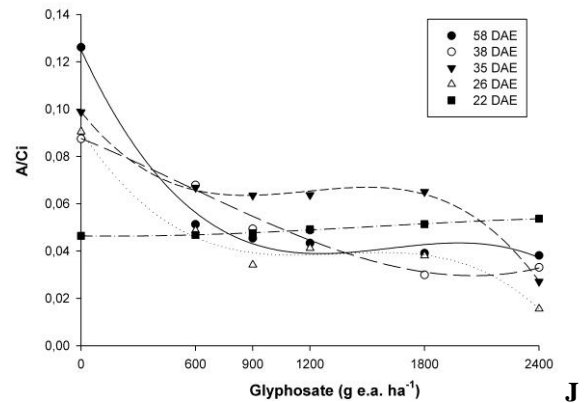


I

### Eficiência de carboxilação da aplicação sequencial



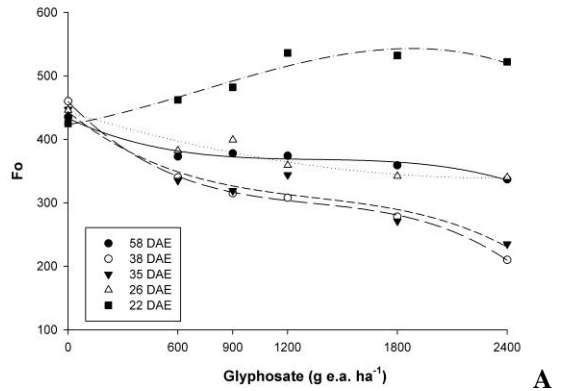
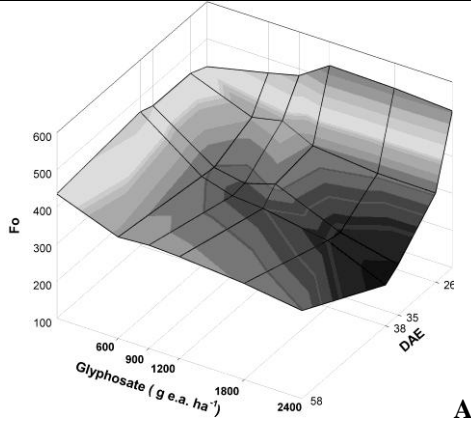
J



J

**Figura 1.** Taxa fotossintética (A), condutância estomática (gs), taxa transpiratória (E), CO<sub>2</sub> subestomático (Ci) e eficiência de carboxilação (A/Ci) na soja GR após aplicação de doses crescentes de glyphosate em duas modalidades de aplicação. Cada ponto representa a média de quatro repetições independentes.

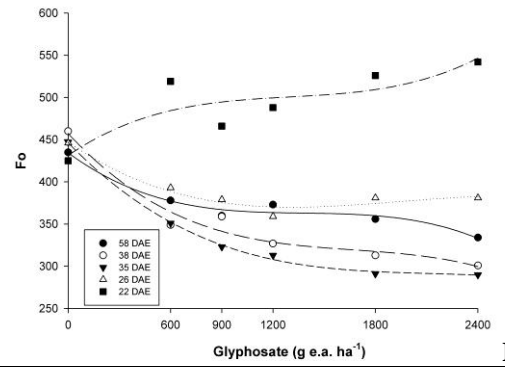
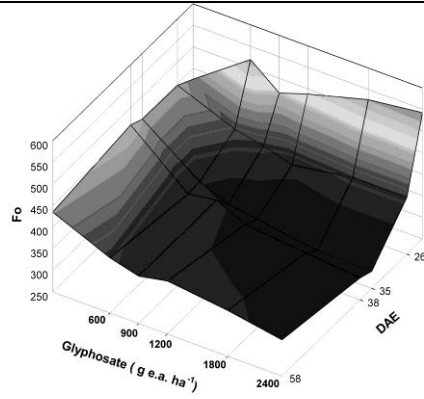
**Fluorescência (Fo) da aplicação única**



**A**

**A**

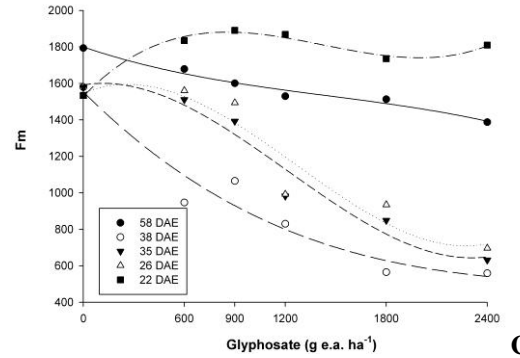
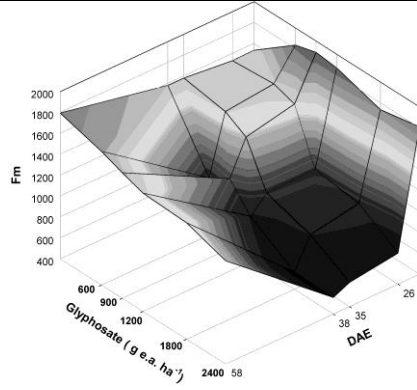
**Fluorescência (Fo) da aplicação sequencial**



**B**

**B**

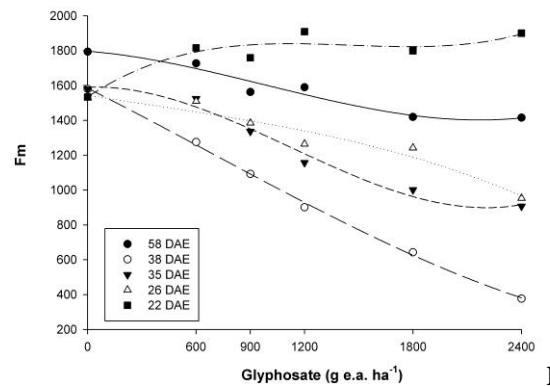
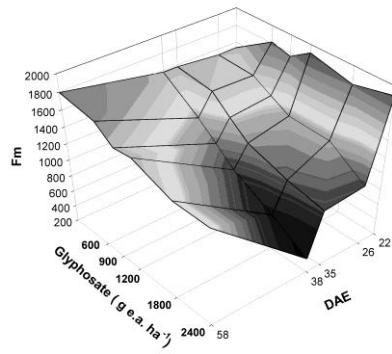
**Máxima fluorescência (Fm) da aplicação única**



**C**

**C**

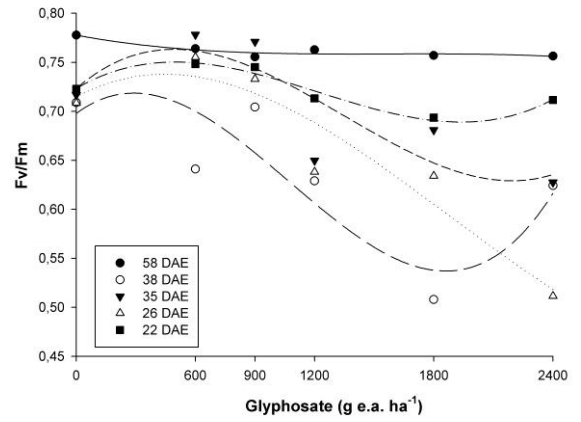
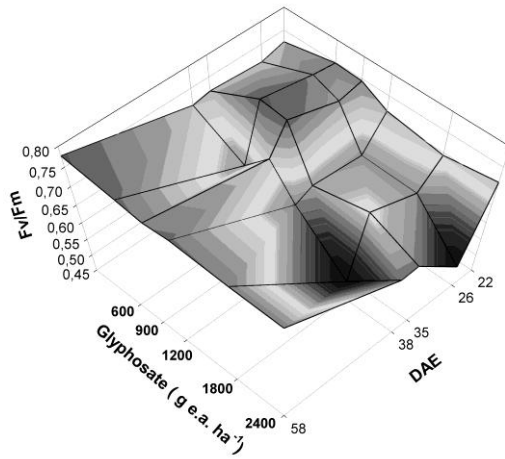
**Máxima fluorescência (Fm) da aplicação sequencial**



**D**

**D**

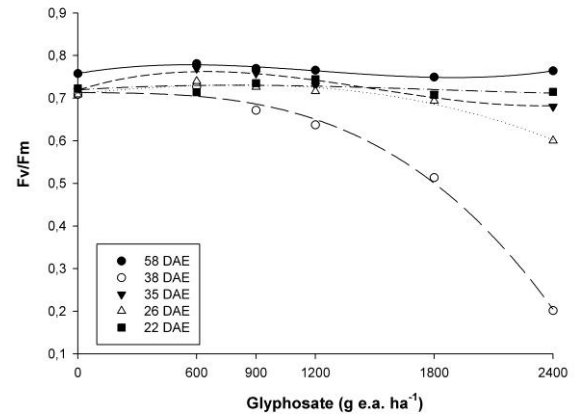
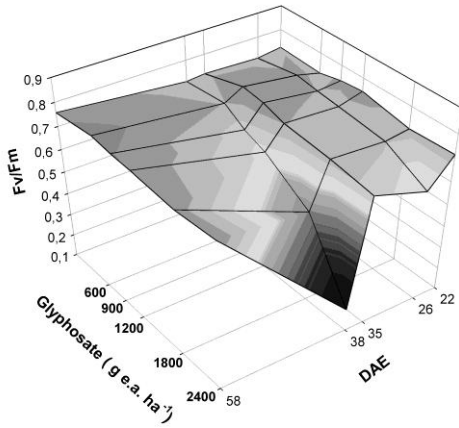
Razão (Fv/Fm) da aplicação única



E

E

Razão (Fv/Fm) da aplicação sequencial

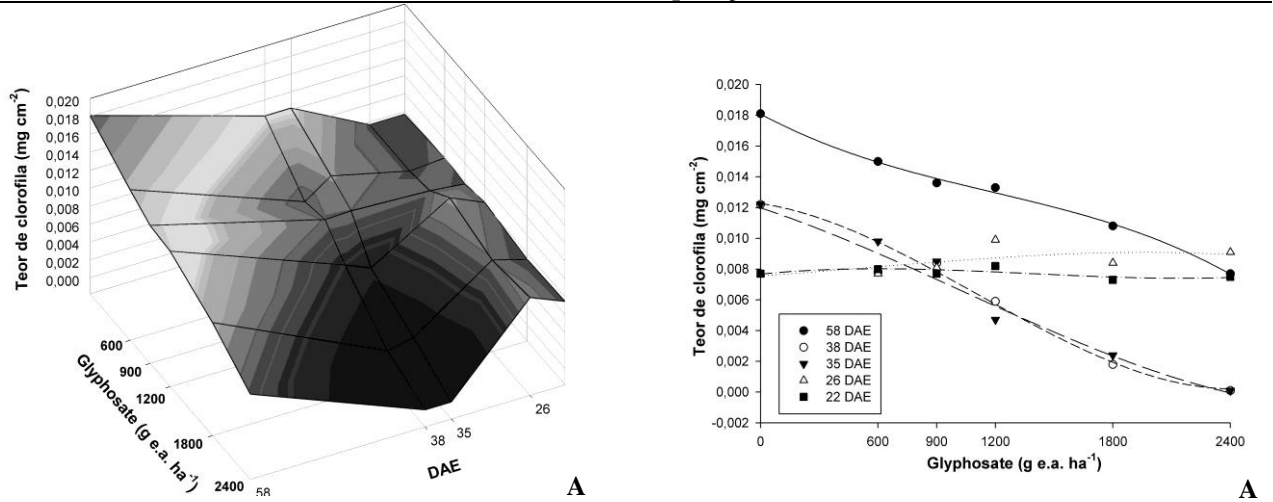


F

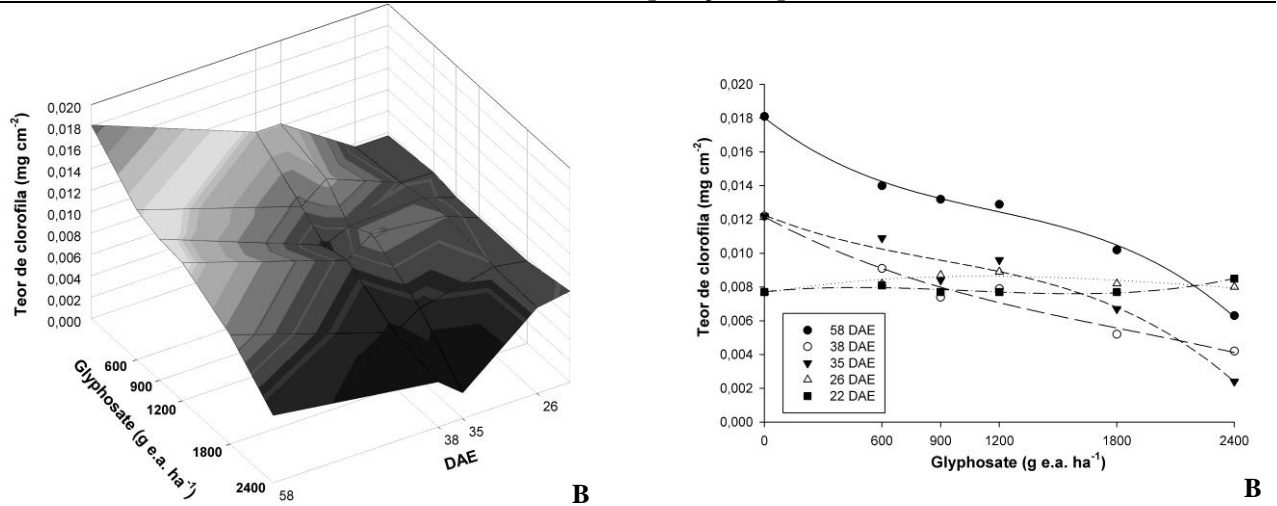
F

**Figura 2.** Fluorescência (Fo), Máxima Fluorescência (Fm), Razão fluorescência pela máxima fluorescência (Fv/Fm) sob condições constantes na soja GR após aplicação de doses crescentes de glyphosate em duas modalidades de aplicação. Cada ponto representa a média de quatro repetições independentes.

### Teor de clorofila da aplicação única

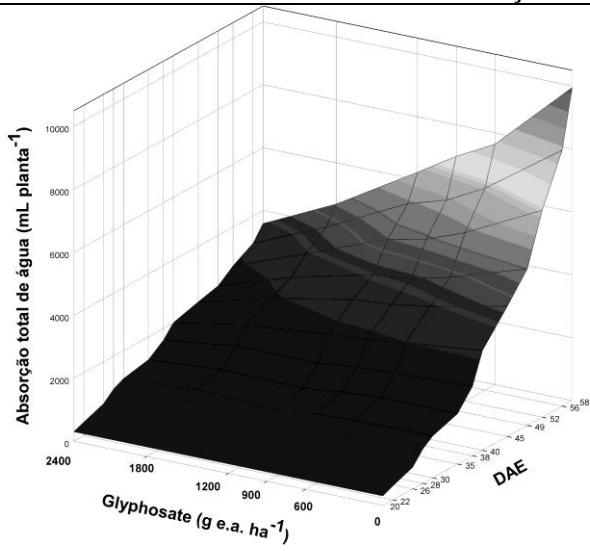


### Teor de clorofila da aplicação sequencial

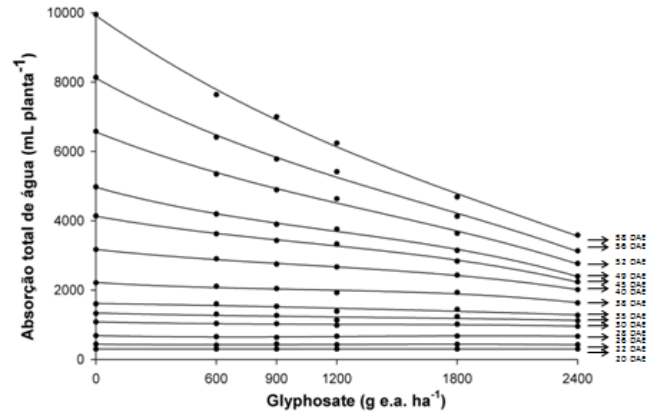


**Figura 3.** Teor de clorofila (mg cm<sup>-2</sup>) na soja GR após aplicação de doses crescentes de glyphosate em duas modalidades de aplicação. Cada ponto representa a média de quatro repetições independentes.

### Absorção total de água da aplicação única

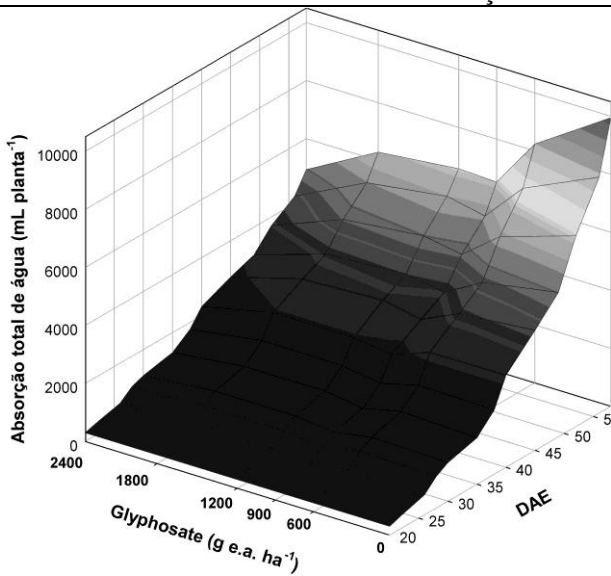


A

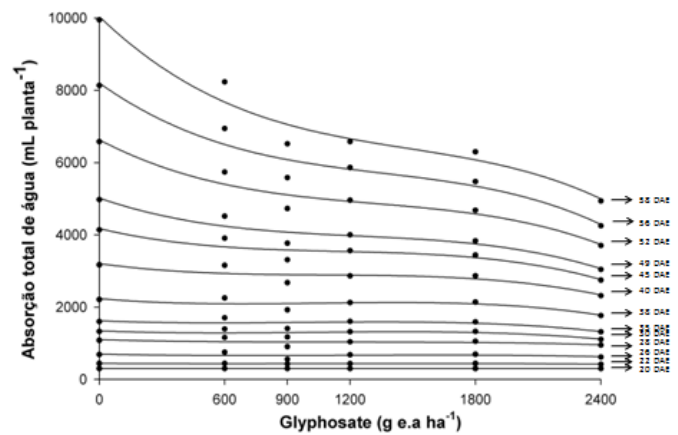


A

### Absorção total de água da aplicação sequencial

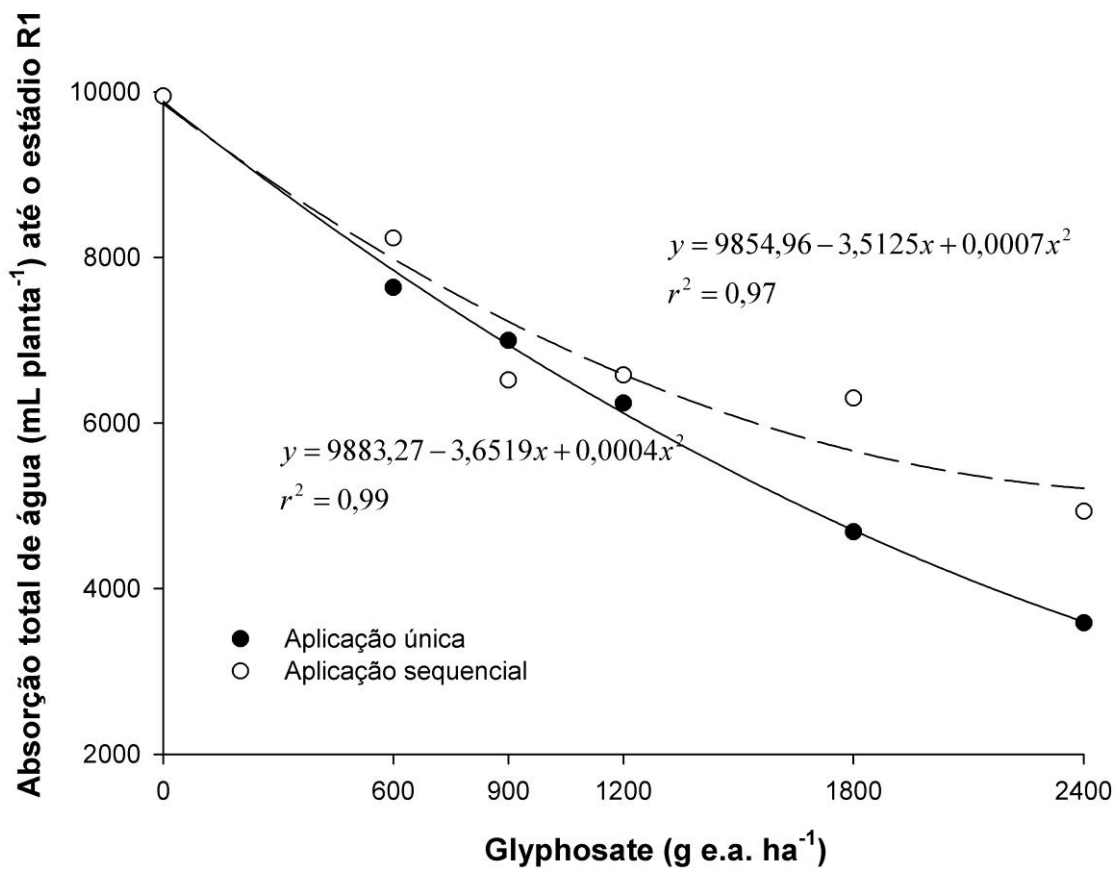


B

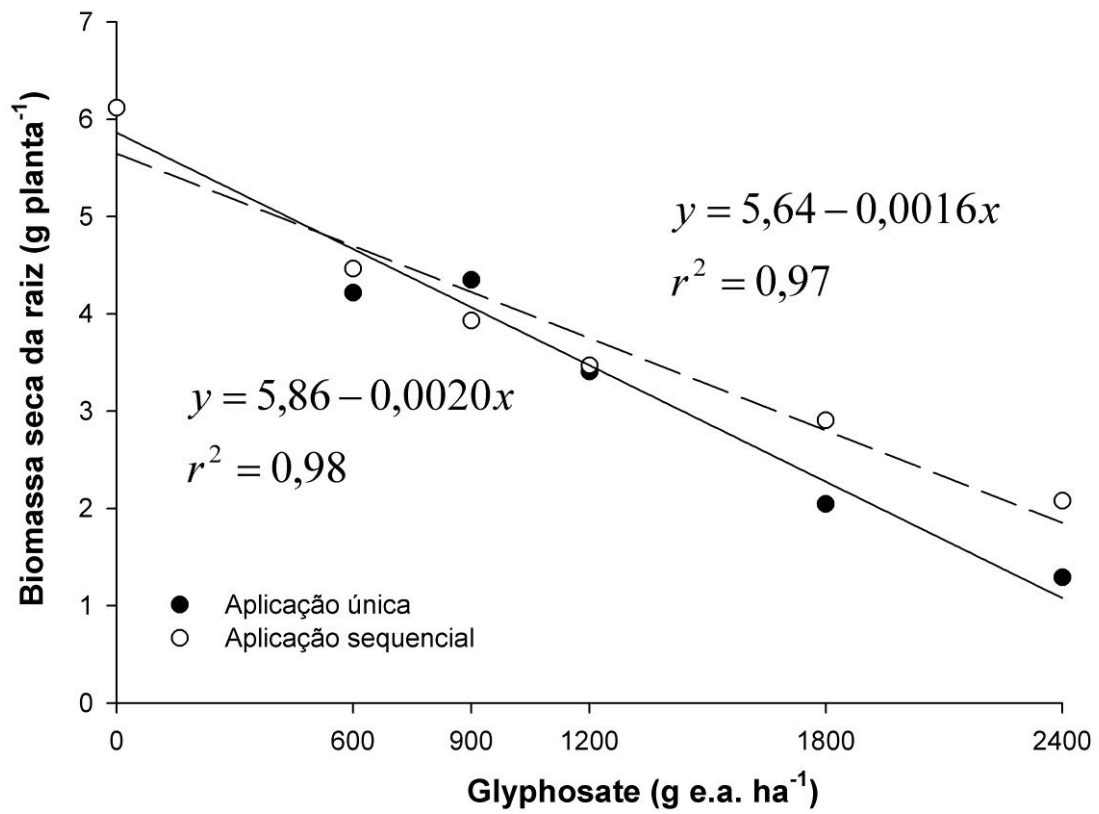


B

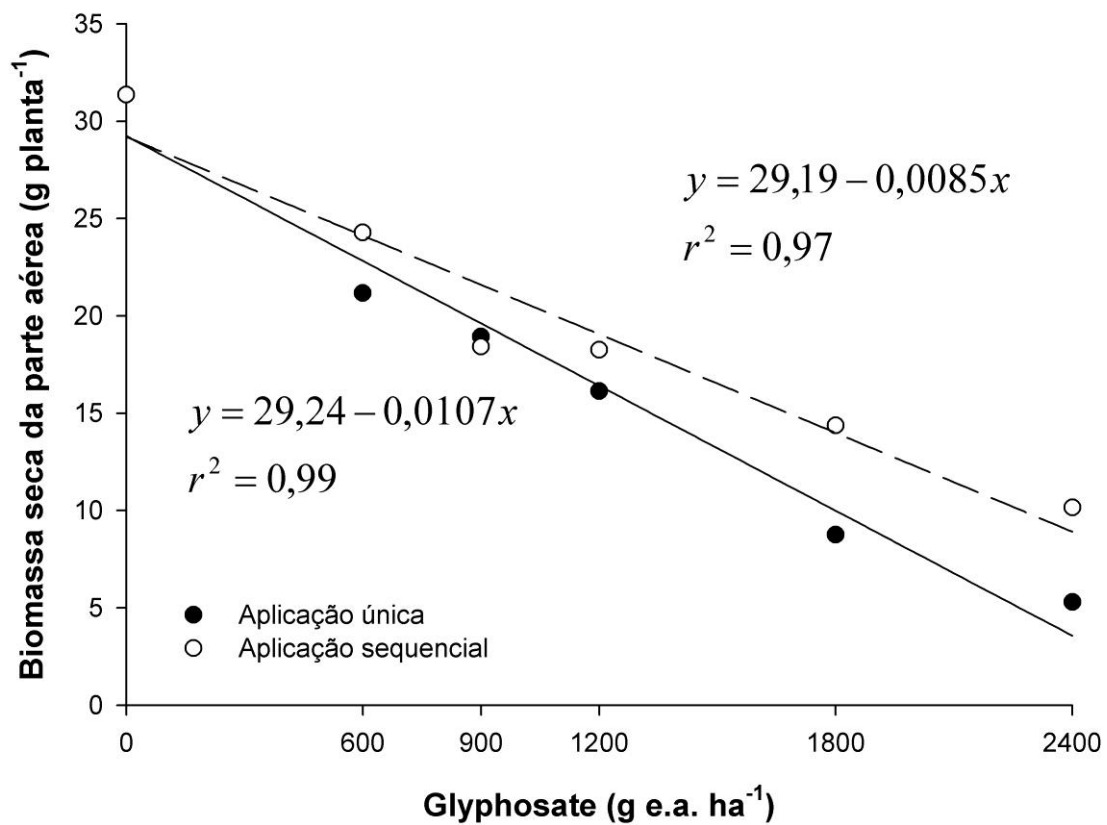
**Figura 4.** Absorção total de água em diferentes DAE sob doses crescentes de glyphosate. Cada ponto representa a média de quatro repetições independentes.



**Figura 5.** Absorção total de água da soja RR até o estágio R1 (58 DAE) sob doses crescentes de glyphosate. Dados representam a média de oito repetições.

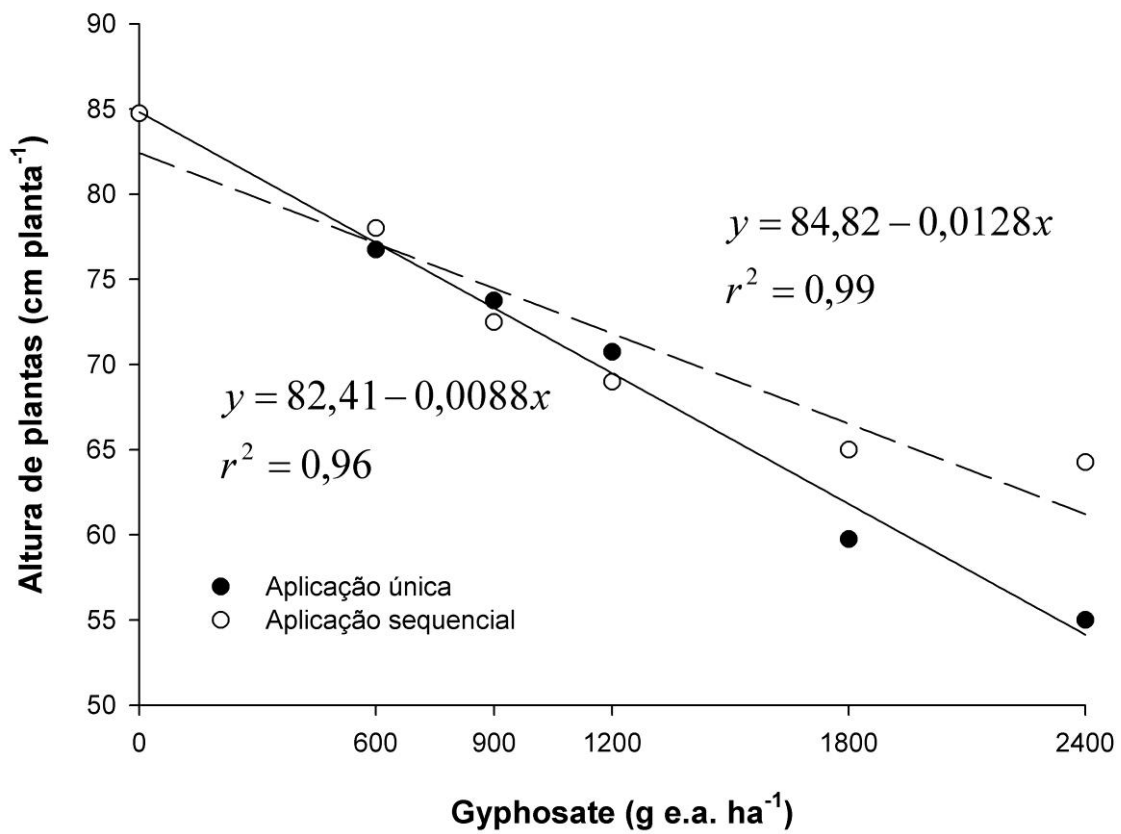


**Figura 6.** Biomassa seca da raiz da soja RR no estágio R1 após tratamento com glyphosate. Dados representam a média de oito repetições.

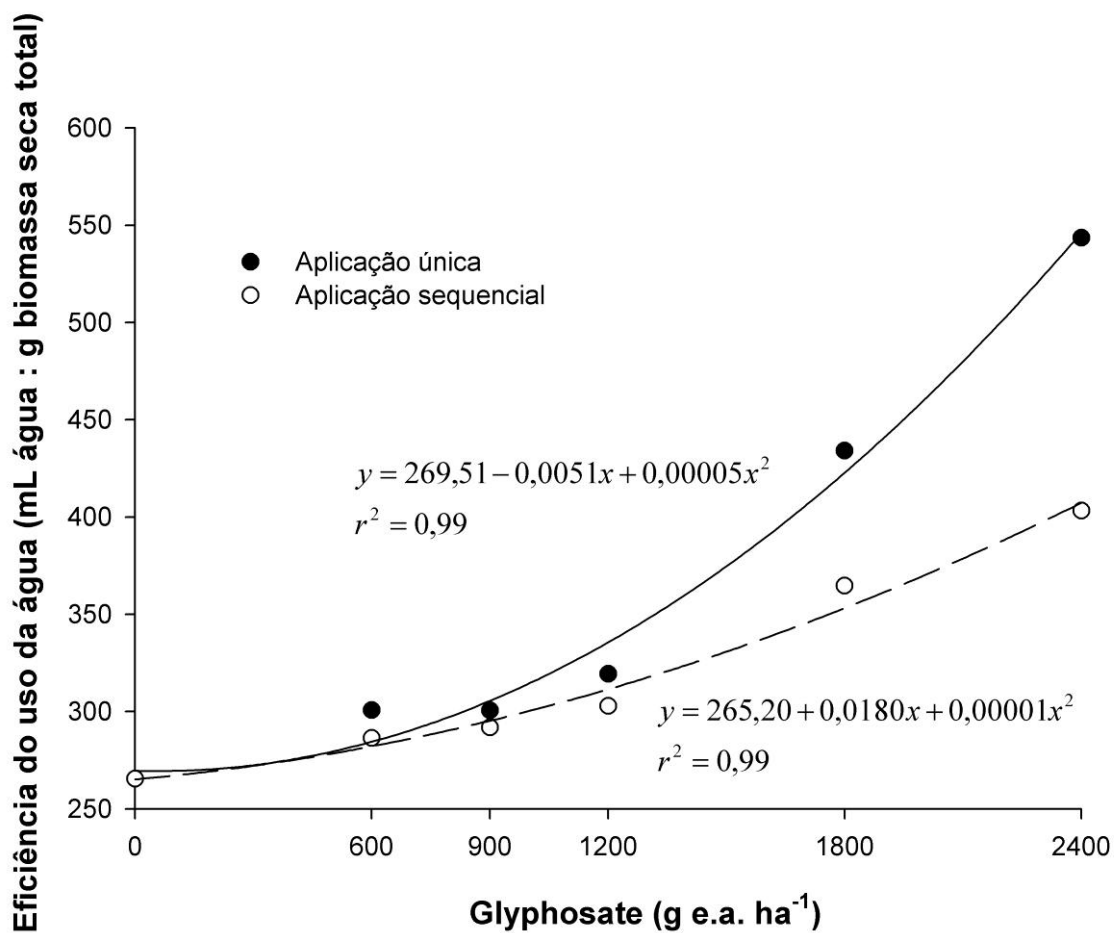


**Figura 7.** Biomassa seca da parte aérea da soja RR no estágio R1 após tratamento com glyphosate. Dados representam a média de oito repetições.





**Figura 8.** Altura da soja RR no estágio R1 após tratamento com glyphosate. Dados representam a média de oito repetições.



**Figura 9.** Eficiência do uso da água (EUA) da soja RR sob doses crescentes de glyphosate. Dados representam a média de oito repetições.

## 5. CAPÍTULO 3

### O glyphosate afeta a fotossíntese na primeira e na segunda geração de soja resistente ao glyphosate<sup>3</sup>

#### 5.1 Resumo

A área plantada de soja convencional tem diminuído a cada ano, enquanto a área de soja resistente ao glyphosate (RR) tem drasticamente aumentado principalmente pela grande adoção do glyphosate no atual sistema de manejo de plantas daninhas. Com o uso generalizado do glyphosate, muitos agricultores têm observado injúrias visuais em algumas variedades de soja RR após a aplicação. Uma nova geração designada como “segunda geração – RR2” foi desenvolvida recentemente e estas cultivares RR2 já estão comercialmente disponíveis aos agricultores e prometem ser mais produtivas em relação às cultivares RR anteriores. No entanto, pouca informação está atualmente disponível sobre o desempenho da soja RR2, havendo somente relatos comerciais ou pelos agricultores. Desta forma, uma avaliação de diferentes doses de glyphosate aplicadas em diferentes estádios fenológicos da primeira e da segunda geração de soja revelou significativa diminuição na fotossíntese. Em geral, o aumento da dose de glyphosate e aplicações tardias (V6) pronunciaram a diminuição dos parâmetros fotossintéticos e conseqüentemente diminuíram a área foliar e a produção de biomassa da parte aérea. Em contraste, para raiz, ocorreram resultados inversos em que aplicações precoces (V2) foram mais danosas na raiz que para parte aérea. Baixas doses e aplicações precoces causaram menos danos para a parte aérea das plantas de soja RR, sugerindo que com aplicações precoces (V2), as plantas, provavelmente, possuem mais tempo para se recuperar dos efeitos do glyphosate ou de seus metabólitos em relação a aplicações tardias.

**Palavras-chave:** soja resistente ao glyphosate (*Glycine max* L.); glyphosate; fotossíntese; biomassa.

#### 5.2 Abstract

The crop area planted to conventional soybeans has decreased annually while that planted to glyphosate-resistant (RR) soybean has drastically increased mainly due to the wide adoption of glyphosate in current weed management systems. With the extensive use of glyphosate, many farmers have noted visual plant injury in RR soybean varieties after glyphosate application. A new generation designated as “second generation – RR2” has been recently developed and these RR2 cultivars already are commercially available for farmers and promoted as higher yielding relative to the previous RR cultivars. However, little information is currently available about the performance of RR2

---

<sup>3</sup>Trabalho publicado na Revista Plant and Soil, 2010 (Title: Glyphosate affects photosynthesis in first and second generation of glyphosate-resistant soybeans)

soybean beyond commercial and farmer testimonial data. Thus, an evaluation of different glyphosate rates applied in different growth stages of the first and second generation of RR soybeans, revealed a significant decrease in photosynthesis. In general, increased glyphosate rate and late applications (V6) pronounced decrease photosynthetic parameters and consequently decreased in leaf area and shoot biomass production. In contrast, low rate and early applications were less damage for the RR soybean plants, suggesting that with early applications (V2), plants probably have more time to recover from glyphosate or its metabolites effects regarding late applications.

**Key words:** glyphosate-resistant soybean; (*Glycine max* L.); glyphosate; photosynthesis; biomass.

### 5.3 Introdução

A soja é a espécie mais cultivada no mundo com uma área de produção global que continua crescendo a cada ano, principalmente pelo amplo uso de glyphosate no atual sistema de manejo de plantas daninhas baseado na soja resistente ao glyphosate ou Roundup Ready® (RR). A primeira geração de soja foi introduzida em 1996 nos Estados Unidos (Duke et al., 2005) e desenvolvida pela inserção do gene cp4 EPSPs, sequencialmente derivado de uma bactéria comum do solo *Agrobacterium* sp. estirpe cp4 (Franz et al., 1997). Este gene (cp4 EPSPs) leva à maior produção de 5-enol-piruvil chiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs) que é menos sensível à inibição do glyphosate comparado com a EPSPs endógena (nativa) de plantas de soja não-transgênicas.

Uma nova geração designada como “segunda geração-RR2” foi recentemente desenvolvida baseada em uma nova técnica por meio da inserção do gene mediado pela *Agrobacterium* no meristema da soja, em que células que foram induzidas diretamente para produzir a parte aérea tornaram-se plantas transgênicas (Martinell et al., 2002). Esta técnica permitiu a inserção direta de genes dentro de cultivares elites de soja, como a soja Asgrow variedade A3244 (Paschal, 1997). Utilizando cultivares elites como base genética, a característica agrônômica superior da A3244 pode migrar outras variedades por meio de cruzamentos como, por exemplo, com a MON 89788 (Taylor et al., 2007). Em 2008, estas cultivares RR2 estavam comercialmente disponíveis para agricultores como promotoras de maiores produtividades em relação às cultivares RR antecessoras.

Embora o principal argumento da biotecnologia RR seja a redução do volume de herbicidas (Gianessi & Carpenter, 2000), acredita-se que com a introdução da RR2, os agricultores utilizarão ainda mais glyphosate, uma vez que este não causa danos às cultivares resistentes ao glyphosate e permite uma janela mais ampla de aplicação. No entanto, poucas informações estão atualmente disponíveis em relação ao desempenho da RR2, havendo somente dados comerciais e relatos por agricultores. Além disso, muitos agricultores relatam sintomas visuais de injúrias em algumas variedades de soja RR1 após aplicação de glyphosate (Zablotowicz & Reddy, 2007). Tais sintomas conhecidos como “yellow flashing” ou amarelecimento das folhas superiores têm sido atribuídos ao acúmulo do primeiro metabólito fitotóxico do glyphosate, o ácido aminometilfosfônico (AMPA) (Reddy et al., 2004).

Observações em campo, no Brasil e no Centro-Norte dos Estados Unidos também sugerem que frequentes aplicações de glyphosate induzem a deficiência de Fe, Zn e Mn em variedades de soja RR (Huber, 2006; Johal & Huber, 2009). Um estudo prévio demonstrou que o glyphosate reduziu as concentrações dos nutrientes minerais da parte aérea na soja RR em comparação à soja RR sem tratamento ou suas parentais isogênicas (não-RR) sem tratamento, com o efeito sendo mais pronunciado nas cultivares de grupo de maturação precoce (Zobiolo et al., 2010a). O efeito da diminuição da concentração dos nutrientes minerais da parte aérea pode ser atribuído a reduções nos parâmetros fotossintéticos como resultado do dano direto pelo glyphosate à clorofila (Pihakaski & Pihakaski 1980; Kitchen et al., 1981; Reddy et al., 2004) ou pela imobilização de micronutrientes essenciais pelo glyphosate, pela sua habilidade em formar complexos insolúveis entre glyphosate-metal (Jaworski 1972; Kabachnik et al., 1974; Bromilow et al., 1993; Coutinho & Mazo, 2005).

Além disso, Zobiolo et al. (2010b), em outros estudos com uma cultivar de grupo de maturação precoce mais sensível ao glyphosate, avaliaram a influência do aumento de doses de glyphosate na fotossíntese e na eficiência do uso da água nas plantas. Eles demonstraram que com o aumento da dose de glyphosate, todos os parâmetros fotossintéticos e a fluorescência da clorofila diminuíram drasticamente, conseqüentemente demonstrando que a

fotossíntese, a eficiência no uso da água e a produção de biomassa da soja RR foram fortemente afetados pelo glyphosate. De fato, poucos dados estão disponíveis em relação aos efeitos do glyphosate na fisiologia da soja RR, especialmente aqueles relacionados à fotossíntese, e ainda menos informações em relação ao efeito do glyphosate nas cultivares de soja RR2. Desta forma, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a fotossíntese da soja RR1 e RR2 tratadas com diferentes doses de glyphosate.

## **5.4 Materiais e Métodos**

### **5.4.1 Solo e condições de crescimento**

Dois experimentos foram conduzidos em casa-de-vegetação com sistema evaporativo de refrigeração (26–30: 22–26°C dia/noite), fotoperíodo de 12h de luz, irradiância ao meio dia de 400-700 nm e densidade de fluxo fotossintético de 1.500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  no topo do dossel das plantas, na Universidade de Missouri, Columbia, MO, EUA, entre julho e outubro, 2009. As unidades experimentais para ambos os experimentos foram vasos de cerâmica com capacidade de 5  $\text{dm}^3$  preenchidos com solo argiloso (Mexico silt loam) coletado do horizonte A. As propriedades químicas foram:  $C_{\text{org}}$ : 25,2  $\text{g kg}^{-1}$ ; P: 15,87  $\text{mg kg}^{-1}$ ; K: 45,86  $\text{mg kg}^{-1}$ ; Ca: 1.782,64  $\text{mg kg}^{-1}$ ; Mg: 123,89  $\text{mg kg}^{-1}$ ; Fe: 80,70  $\text{mg kg}^{-1}$ ; Mn: 43,23  $\text{mg kg}^{-1}$ ; B: 14,06  $\text{mg kg}^{-1}$ ; Cu: 1,78  $\text{mg kg}^{-1}$ ; Zn: 9,82  $\text{mg kg}^{-1}$ ; Mo: 1,61  $\text{mg kg}^{-1}$ ;  $\text{pH}_{(\text{CaCl}_2)}$ : 6,77. O solo foi seco ao ar e peneirados com auxílio de malha 5 mm. Foi mantido um conteúdo de água no solo (0,33  $\text{g.g}^{-1}$ ) durante todo o experimento.

### **5.4.2 Semente e aplicação do glyphosate**

Sementes da cv. BRS 242 RR (RR1-primeira geração) e sementes da “nova geração” da soja RR cv. AG3539 (RR2-segunda geração), foram esterilizadas por 2 min em solução de 2% NaClO e após foram inoculadas com 100 mL 50  $\text{kg}^{-1}$  de sementes da cultura de *Bradyrhizobium japonicum*, estirpes SEMIA 587 e SEMIA 5019 ( $5 \times 10^9$  bactérias por grama). Seis sementes foram semeadas por vaso a 3 cm de profundidade e posteriormente no estádio V1 foi feito o desbaste deixando uma planta por vaso.

Plantas em diferentes estádios de crescimento V2, (12 e 10 DAS – dias após semeadura), V4 (25 e 22 DAS), e V6 (32 e 35 DAS) para RR1 e RR2, respectivamente, receberam a aplicação de formulação comercial de glyphosate potássico 540 g e.a. L<sup>-1</sup> (Roundup Weather Max<sup>®</sup>, Monsanto Company) em diferentes doses (800, 1.200 e 2.400 g e.a. ha<sup>-1</sup>). Exceto para a maior dose (2.400 g e.a. ha<sup>-1</sup>), as outras doses foram adotadas com base nas recomendações de Gazziero et al. (2008), segundo o qual as doses recomendadas para aplicação única de glyphosate no estágio V4 na soja RR, varia entre 600 e 1.200 g e.a. ha<sup>-1</sup>. As aplicações foram realizadas em uma mesa automática de aplicação utilizando bicos tipo jato plano (Teejet, Spraying Systems Co., Wheaton, IL), com volume de 187 L ha<sup>-1</sup> a 150 kPa. As aplicações não causaram escorrimento superficial das folhas e as plantas foram irrigadas apenas no dia seguinte para assegurar a absorção do herbicida pela folha. Os vasos foram irrigados diariamente a fim de manter o solo úmido, garantindo assim o conteúdo de água no solo.

#### **5.4.3 Análise da fotossíntese**

No último trifólio totalmente expandido (folha diagnóstica) no estágio R1, os parâmetros fotossintéticos como taxa fotossintética (A), condutância estomática (gs), taxa transpiratória (E) e a concentração de CO<sub>2</sub> subestomático (Ci) foram avaliados pelo analisador de gás infravermelho (IRGA; Li-Cor, LI 6400XT, Lincoln, NE, USA). Houve pequena diferença de tempo entre as cultivares até que atingissem o estágio R1, sendo este estágio atingido pela RR1 aos 42 DAS e pela RR2 aos 38 DAS.

Foi acoplado um fluorômetro (LI6400-40) em pulso-modulado integrado com o LI 6400XT para os parâmetros de fluorescência da clorofila. A câmara do sistema fotossintético (LI6400-40) tem uma área de amostra de 2 cm<sup>2</sup> e uma fonte de luz interna (LED) vermelha-azul que foi utilizada para obter a desejada densidade de fluxo fotossintético (PPFD) e as medidas da fluorescência da clorofila. Para avaliações da taxa de transporte de elétrons (ETR), a frequência modulada de luz foi de 10 kHz, sob iluminação actínica e aumento 20 kHz durante o pulso de saturação. O pulso de saturação foi regulado para 0.8 s. A

eficiência quântica do transporte de elétrons através do fotossistema 2 (PhiPS2) foi calculada pela seguinte equação:

$$\text{PhiPS2} = \frac{F_m' - F_s}{F_m'}$$

em que  $F_m'$  é a máxima fluorescência durante o flash de saturação de luz e  $F_s$  é fluorescência “estável” na luz (Genty et al., 1989). O PhiPS2 pode ser usado para calcular a ETR como:

$$\text{ETR} = \text{PhiPS2} * f * \text{PPFD} * \alpha \text{ absorção da folha}$$

em que  $f$  é a fração quântica absorvida que é utilizada pelo fotossistema 2 (PS2) e é tipicamente assumida como 0.4 para plantas C3 (Kumudini et al., 2008).

O coeficiente não-fotoquímico da fluorescência da clorofila ( $q_N$ ) e o coeficiente de proporção de abertura dos centros de reações ( $q_P$ ) foram também estimados pelas seguintes equações (Krause & Weis 1991):

$$q_P = \frac{F_m' - F_s}{F_m' - F_o'}$$

$$q_N = \left( \frac{F_m}{F_m'} \right) - 1$$

Com estas variáveis analisadas, a razão  $F_v' / F_m'$  foi calculada de acordo com a equação de Demming-Adams & Adams (1992):

$$F_v' / F_m' = \frac{F_m' - F_o'}{F_m'}$$

Todas as avaliações fotossintéticas foram feitas sob fluxo de ar constante de  $500 \mu\text{mol s}^{-1}$ . A concentração de  $\text{CO}_2$  foi  $400 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  utilizando um sistema injetor de  $\text{CO}_2$  (modelo 6400-01, Li-Cor), e a temperatura foi mantida a  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ . O IRGA foi calibrado para fornecer temperatura similar da folha e do ar dentro da câmara de amostragem a uma PPFD constante de  $1.500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ .



#### **5.4.4 Leituras SPAD**

As leituras com o sensor SPAD (Minolta SPAD 502) foram realizadas no mesófilo foliar (evitando-se as nervuras) da folha diagnose (Singh et al., 2002; Richardson et al., 2002; Pinkard et al., 2006). Duas folhas foram escolhidas por planta em cada vaso. Imediatamente após cada avaliação foi calculada a média do resultado como um único índice SPAD.

#### **5.4.5 Área foliar e biomassa**

A parte área da planta foi cortada rente ao solo e separado das raízes. A área foliar foi obtida utilizando um medidor de área foliar (Delta T. Devices) medindo-se a planta inteira para obter a área total ( $\text{cm}^2 \text{ planta}^{-1}$ ). As raízes foram cuidadosamente removidas do solo, lavadas em água corrente, acondicionadas em sacos de papel e secas em circulação forçada de ar a 65 – 70°C até atingir peso constante. A massa seca foi determinada pelo peso das partes das plantas.

#### **5.4.6 Análise dos dados e arranjo experimental**

Ambos os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizados em esquema fatorial (3 x 3 x 2) +1 com quatro repetições. O primeiro fator foi as doses de glyphosate (800, 1.200 e 2.400 g e.a.  $\text{ha}^{-1}$ ), o segundo fator o estágio de aplicação (V2, V4 e V6) e o terceiro fator foi a cultivar de soja RR (cv. BRS 242 RR - primeira geração “RR1” e a cv. AG3539 RR - segunda geração “RR2”). O tratamento adicional foi constituído de plantas sem aplicação de glyphosate. Os dados foram submetidos à análise de variância, e quando os valores de F foram significativos ( $P < 0.01$ ), análises de regressão foram conduzidas. Os dados foram analisados utilizando PROC MIXED pelo programa estatístico SAS (SAS Institute, 2006) e as equações ajustadas utilizando o modelo polinomial  $y = a + bx + cx^{0.5}$  pelo pacote estatístico SigmaPlot 10.0 (SPSS, 2000).

### **5.5 Resultados**

### 5.5.1 Parâmetros fotossintéticos

Em ambos os experimentos, a taxa fotossintética (A) no estádio R1, foi severamente afetada pela aplicação do glyphosate. Entretanto, os efeitos foram mais pronunciados com o aumento da dose de glyphosate e aplicações tardias (Figura 1A). As diferentes cultivares RR1 e RR2 foram afetadas pelo glyphosate, embora a taxa fotossintética na RR2 tenha sido maior do que na RR1. Considerando os tratamentos sem glyphosate, RR1 apresentou 16,43 – 17,17  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , enquanto a RR2 apresentou entre 26,82 – 26,97  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , ao redor de 60% maior que em RR1 (Tabela 1). Estes resultados estão de acordo com aqueles observados por agricultores, os quais relatam que variedades de soja apresentam injúrias visuais após a utilização de glyphosate (Zablotowicz & Reddy, 2007).

No geral, a condutância estomática (gs) diminuiu com o aumento da dose de glyphosate, no entanto não houve diferença entre a época de aplicação na RR1. Além disso, para o estádio V4 na RR2, não houve diferença significativa entre as doses de glyphosate, porém todas as doses de glyphosate diminuíram a gs (Figura 1B). A condutância estomática diminuiu com o aumento da dose de glyphosate e uma pequena diminuição foi observada para a taxa transpiratória (E) em ambas as cultivares, mas o efeito foi maior na RR2 em relação à RR1 (Figura 1C, Tabela 1). Não houve diferenças significativas na E entre as doses de glyphosate na RR1, embora na RR2 a E diminuiu com o aumento da dose (Figura 1C). O estádio V6 na RR2 que recebeu a aplicação foi o mais sensível à aplicação do glyphosate em relação aos outros estádios de aplicação; não houve diferença entre V4 e V6 na RR1 mas ambas foram menores que V2 (Figura 3).

Magalhães Filho et al. (2008) observaram que um fechamento estomático parcial levou à diminuição da gs e um aumento da concentração de  $\text{CO}_2$  subestomático ( $\text{Ci}$ ). Desta forma, com o aumento da dose de glyphosate e aplicações tardias, foram observados diminuições de gs e aumento de  $\text{Ci}$  para ambas as cultivares. De fato, a assimilação de  $\text{CO}_2$  foi severamente diminuída pelo glyphosate (Figura 1D), exceto para o estádio V2 da RR2 no qual não foi observada esta tendência.

Todos os parâmetros analisados com o fluorômetro foram afetados pelo glyphosate. A taxa de transporte de elétrons (ETR) diminuiu com o aumento da dose de glyphosate (Figura 2A). Para ambas as cultivares, aplicações tardias foram mais danosas do que aplicações precoces. Comparando as duas cultivares sem glyphosate, ETR da RR2 foi maior que RR1, a qual apresentou  $104,90 - 106,37 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , enquanto RR2 estava entre  $168,59 - 168,79 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , apresentando uma E de 60% a mais que RR1 (Tabela 2), a mesma porcentagem de redução observada para A (Tabela 1). Queiroz et al. (2002) também encontraram relação linear entre  $g_s$  e ETR, descrevendo uma relação na qual diminuições na condutância estomática refletem aparente redução na taxa de transporte de elétrons (Tabela 3).

A fluorescência mínima ( $F_o'$ ) e máxima ( $F_m'$ ) das folhas adaptadas à luz diminuiu com o aumento de glyphosate, com isso a eficiência intrínseca do fotossistema 2 ( $F_v'/F_m'$ ) foi também afetada pelo aumento da dose de glyphosate (Figuras 2B – 2D). Esta razão  $F_v'/F_m'$  foi mais afetada por aplicações tardias na RR2 que em RR1 (Figura 2D). Além disso, a fluorescência “estável” na luz ( $F_s$ ) foi também afetada pelo aumento da dose de glyphosate e conseqüentemente a eficiência quântica do transporte de elétrons através do fotossistema 2, a produtividade quântica baseada na assimilação de  $\text{CO}_2$  ( $\Phi_i\text{CO}_2$ ), o coeficiente não-fotoquímico da fluorescência da clorofila ( $q_P$ ) e o coeficiente de proporção de abertura dos centros de reações ( $q_P$ ) foram também afetados pelo glyphosate (Figuras 2F – 2I). No entanto, o dano foi maior na RR2 que em RR1, e como observado previamente, as aplicações tardias afetaram mais intensamente estes parâmetros do que aplicações precoces.

### **5.5.2 SPAD, área foliar e produção de biomassa**

Plantas que rereberam a aplicação de glyphosate mostraram sintomas cloróticos, resultando em diferentes valores do índice SPAD entre os tratamentos (Figura 3A). Tendências para diminuições proporcionais dos parâmetros fotossintéticos e da clorofila relacionados com as doses de glyphosate foram também observados para as avaliações do SPAD. No geral,

RR2 também foi mais afetada que RR1, e aplicações precoces apresentaram menos interferências que aplicações tardias.

A área foliar e a produção de biomassa da parte aérea foram extremamente afetadas pelo glyphosate, sendo RR2 mais sensível que RR1, e aplicações tardias causando maiores reduções do que aplicações precoces (Figuras 3B e 3C). Ao contrário das outras variáveis analisadas, as diminuições entre as doses de glyphosate apresentaram poucas diferenças, mas ambas as doses de glyphosate afetaram a produção de biomassa da parte aérea. Em relação ao peso seco da raiz, foi observado comportamento diferente no gráfico, no qual os estádios de aplicação foram mais influenciados que as doses de glyphosate. O estágio precoce de aplicação (V2) foi mais afetado que os estádios de aplicação tardia (V4 e V6), ilustrado pelas significativas diminuições no peso seco da raiz (Figura 3D).

## 5.6 Discussão

Injúrias visuais normalmente ocorrem na soja RR após aplicação do glyphosate. Elas são geralmente consideradas não-persistentes, em função do “yellow flashing” tender a desaparecer dentro das primeiras duas semanas após aplicação do herbicida (Reddy & Zablotowicz, 2003). No entanto, neste estudo, os sintomas persistiram até o estágio R1, demonstrando que os parâmetros fotossintéticos e a fluorescência da clorofila foram afetados pela aplicação única de glyphosate (Figuras 1 e 2). Medidas da troca de gases nas folhas e fluorescência da clorofila têm sido utilizadas em combinações para fornecer mais informações detalhadas em relação ao processo fotossintético do que utilizar cada técnica isolada (Long & Bernacchi, 2003).

Zobiolo et al. (2010a) observaram que a aplicação única (1.200 g e.a. ha<sup>-1</sup>) teve maior efeito nos parâmetros fotossintéticos e produção de biomassa que em aplicações sequenciais (600 + 600 g e.a. ha<sup>-1</sup>). Resultados similares foram observados por Zobiolo et al. (2010b) durante a avaliação de diferentes doses de glyphosate (600 a 2.400 g e.a. ha<sup>-1</sup>) em aplicações únicas e sequenciais na soja RR. Eles encontraram no estágio R1 que a taxa fotossintética (A) para a aplicação única foi inferior em relação à aplicação sequencial e variou entre 11 e 5  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  para a aplicação única (600 a 2.400 g e.a. ha<sup>-1</sup>) e 11 a 8

$\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  para a aplicação sequencial (600 a 2.400 g e.a.  $\text{ha}^{-1}$ ), respectivamente.

Da Matta et al. (2001) determinaram A e máxima taxa fotossintética ( $A_{\text{max}}$ ) na soja em saturação de  $\text{CO}_2$  e encontraram valores para A de  $18.2 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e  $A_{\text{max}}$  de  $25 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Kumudini et al. (2008) também encontraram A ao redor de  $26 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  no estádio R3 da cv. Asgrow 3905. Os resultados obtidos no presente estudo estão em acordo com os demais, ou seja, os tratamentos sem glyphosate foram fotossinteticamente superiores em relação aqueles com glyphosate (Figura 1a); entretanto, a A para RR2 foi superior que RR1, o que sugere maior atividade fotossintética.

Zobiolo et al. (2010a) relatam que A, gs e E foram reduzidas pelo glyphosate, possivelmente pelo direto dano do glyphosate aos cloroplastos (Campbell et al., 1976; Pihakaski & Pihakaski, 1980; Nilsson, 1985) ou pela imobilização do Mg e Mn requerido para a formação da clorofila e fotossíntese. Uma vez que o glyphosate é um forte quelante metálico (Jaworski, 1972; Kabachnik et al., 1974; Coutinho & Mazo 2005), ele pode imobilizar micronutrientes essenciais requeridos como componentes, cofatores e reguladores de funções fisiológicas, entre eles Fe (Bellaloui et al., 2009) e Mn (Johal & Huber, 2009). De acordo com Cakmak et al. (2009), o período de ocorrência do “yellow flashing” depende da habilidade das plantas em se recuperar pela absorção adequada pela raiz de elementos específicos que são imobilizados pelo glyphosate no tecido das plantas.

Resultados similares observados por Zobiolo et al. (2010a) foram também encontrados neste estudo, A, gs e E foram significativamente reduzidos pelo aumento da dose de glyphosate e por aplicações tardias (Figuras 1b e 1c). Outros estudos têm mostrado alta correlação entre condutância estomática da folha e A dentro de diversos tipos de vegetação distribuídos ao redor do mundo (Körner, 1995). Como o fechamento estomático é um importante fator que contribui para a depreciação da assimilação de  $\text{CO}_2$ , o estômato também responde à diminuição na fixação de  $\text{CO}_2$  pela diminuição na condutância estomática e aumento da concentração do  $\text{CO}_2$  subestomático (Centritto et al., 1999); isto está em consonância com o significativo aumento de  $C_i$  à medida que a dose de glyphosate foi aumentada (Figura 1d). Zobiolo et

al. (2010b) também observaram significativo aumento do Ci após aplicação do glyphosate e no estágio R1.

A energia luminosa usada na fotossíntese pode ser dissipada como calor, e/ou re-emitida como luz e longo comprimento de ondas, sendo este último processo conhecido como fluorescência (Maxwell & Johnson, 2000). De acordo com Horton et al. (1996), diminuições na taxa fotossintética estão associadas com diminuições em  $F_v'/F_m'$  com consequente aumento da excitação de energia nas antenas do fotossistema II e são geralmente considerados indicativos de “baixa regulação” no transporte de elétron. Estes resultados foram também observados neste estudo, observando-se que diminuições em A (Figura 1a) refletiram em diminuições em  $F_v'/F_m'$  (Figura 2d).

A eficiência de produtividade quântica do fotossistema 2 representa a capacidade da planta em converter a energia luminosa em energia química (Genty et al., 1989). Desta forma, considerando que o glyphosate afetou  $F_o'$ ,  $F_m'$  e  $F_s$ , consequentemente  $F_v'/F_m'$ ,  $\Phi_{PS2}$ ,  $\Phi_{CO2}$ , ETR, qP e qN foram também afetados pelo glyphosate (Figura 2). No entanto, houve comportamento diferenciado para o estágio de aplicação e a dose de glyphosate. Maiores doses e aplicações mais tardias resultaram em grande diminuição na fluorescência (Figura 2). Além disso, RR2 foi mais sensível à aplicação de glyphosate que RR1.

Como comentado anteriormente, a fluorescência da clorofila indica o potencial que o PS2 está utilizando da energia absorvida pela clorofila, que é vulnerável e danosa sob excesso de luz (Maxwell & Johnson 2000). Diminuições em  $F_v'/F_m'$  indicam a fotoinibição do PS2 (Martínez-Ferri et al. 2004). O fluxo de elétrons pelo PS2 indica de modo geral a taxa de fotossíntese. Sabe-se que PS2 é o componente mais vulnerável do aparelho fotossintético ao dano induzido pela luz. Danos no PS2 frequentemente serão a primeira manifestação de estresse na folha (Maxwell & Johnson 2000).  $\Phi_{PS2}$  mede a proporção de luz absorvida pela clorofila associada com o PS2 que é utilizada na fase fotoquímica. Desta forma, ela pode dar uma medida da taxa linear de transporte de elétrons e um indicativo da fotossíntese (Genty et al., 1989; Maxwell & Johnson 2000). Portanto, o glyphosate, provavelmente, afetou o PS2 nas plantas que receberam aplicação deste herbicida (Figura 2).

Genty et al. (1989) encontraram uma resposta linear entre  $\Phi_{CO_2}$ ,  $qP$  e  $F_v'/F_m'$  pela abertura dos centros de reação do PS2, e têm utilizado isso como curva de calibração para estimar a taxa não-cíclica de transporte de elétrons com a atividade da rubisco (Cheng et al., 2001). Sabe-se que a dissipação térmica da luz absorvida ajuda a proteger o dano ao aparelho fotossintético, particularmente pelo controle do dano à proteína D1 do PS2 (Long et al., 1994). Como o coeficiente não-fotoquímico da fluorescência da clorofila ( $q_N$ ) indica a dissipação de calor, protegendo o aparelho fotossintético contra efeitos deletérios do efeito da luz (Jiang et al., 2006), o presente estudo sugere que o glyphosate deve exercer efeitos negativos no PS2, os quais foram mais pronunciados com doses maiores e aplicações tardias. A inibição da fotossíntese com glyphosate também ocorre na reação de Hill em cloroplastos isolados, assim como também em tecidos de plantas intactas (Campbell et al., 1976).

Os valores de SPAD diminuíram significativamente com o aumento da dose de glyphosate. O aparelho SPAD mede a absorção no comprimento de 650 e 940 nm para estimar os níveis de clorofila (Richardson et al., 2002), portanto o teor de clorofila não se recuperou após o tratamento com glyphosate, como evidenciado pelos sintomas cloróticos persistentes até o estágio R1. De fato, o teor de clorofila diminuiu de forma proporcional ao aumento da dose de glyphosate (Figura 3a). Esta diminuição pode ocorrer pelo direto dano ao cloroplasto (Campbell et al., 1976; Pihakaski & Pihakaski, 1980; Nilsson, 1985) na presença do glyphosate. Zobiolo et al. (2010a) também notaram que a soja RR de diferentes grupos de maturação expostas à aplicação única ou sequencial de glyphosate, frequentemente, apresentou concentração de clorofila menor do que aquelas não-expostas ao herbicida. Glyphosate pode também impedir a síntese de clorofila pela inibição da formação de porfirina pelos precursores do ácido  $\delta$ -aminolevulinico (ALA) (Cole, 1985; Zaidi et al., 2005).

Thompson et al. (1996) observaram forte correlação entre o teor de clorofila com valores SPAD e área foliar na soja e demonstraram que os valores de SPAD poderiam ser utilizados para distinguir genótipos de alto ou baixa área foliar. Ao contrário, análises de regressão de dados similares por

Fritschi & Ray (2007) indicaram que tanto valores de SPAD como teor de clorofila não foram bons indicadores para área foliar entre 833 linhagens examinadas. No presente estudo, SPAD correlacionou não somente com a área foliar, mas também com a produção de biomassa foliar (Figuras 3a – 3c), a qual diminuiu significativamente com o aumento da dose e aplicações tardias.

A duração da injúria na soja RR tratada com glyphosate está correlacionada com os níveis de AMPA formados dentro da planta (Zablotowicz & Reddy, 2007). Este primeiro metabólito fitotóxico é tóxico para a soja RR pela redução de clorofila e biomassa da parte aérea (Reddy et al., 2004). Outros autores também relataram redução de peso seco da parte aérea e raiz na soja RR, utilizando glyphosate a 1.680 g e.a. ha<sup>-1</sup> (Reddy et al., 2000) e 6.300 g e.a. ha<sup>-1</sup> (King et al., 2001). De forma similar, Bott et al. (2008) também notaram que doses recomendadas de glyphosate aplicadas na soja RR, diminuíram significativamente a bioamassa e enlogação da raiz.

Zobiole et al. (2010b) encontraram que com o aumento da dose aplicada de glyphosate, a biomassa da raiz e parte aérea foram afetadas, provavelmente por efeitos aditivos detrimenais na fotossíntese. No presente estudo, o dano causado pelo glyphosate foi mais intenso na parte aérea que na raiz (Figuras 3c – 3d). Comparando o peso seco da parte aérea em relação a raiz nas diferentes épocas de aplicação (V2, V4 e V6), o peso seco da parte aérea diminuiu mais com aplicações tardias em relação a aplicações precoces. Em contraste, as raízes exibiram um comportamento oposto, sugerindo que com aplicações precoces (V2), plantas provavelmente possuem mais tempo de recuperação dos efeitos do glyphosate. De acordo com Shibles & Weber (1965), a produção de biomassa total da soja depende fundamentalmente da energia suprida pela fotossíntese, a qual é baseada na energia solar para sintetizar compostos carbônicos. Desta forma, com área foliar adequada, a produção de carbono é otimizada com esta captação de energia (Taiz & Zeiger, 1998). Portanto, reduções na fotossíntese (Figuras 1 e 2), área foliar e conseqüentemente na biomassa da parte aérea observadas no estágio R1 (Figura 2), distante da aplicação do herbicida, sugerem que o glyphosate ou seus metabólitos devem exercer efeitos residuais persistentes na fisiologia da



planta. A molécula de glyphosate pode permanecer na planta até completa maturação fisiológica (Duke et al. 2003; Arregui et al. 2004).

Ainda que a RR2 tenha mostrado maiores taxas fotossintéticas e transpiratórias (Figura 1a), ela produziu menor área foliar e biomassa da parte aérea e raiz em relação à RR1 (Figura 3b – 3d). Desta forma, RR1 possui maior atividade fisiológica (fotossíntese e respiração) e clorofila funcional do que a RR2. porém ambas as cultivares foram afetadas pelo glyphosate ou seus metabólitos. Recentes estudos demonstraram que o glyphosate diminuiu a eficiência do uso da água pela soja RR (Zobiolo et al. 2010b), sugerindo que plantas de soja RR são mais sensíveis à seca e menos eficiente em converter água em biomassa em aplicação de glyphosate comparado com plantas sem tratamento.

## **5.7 Conclusão**

O glyphosate causou efeitos indesejáveis na fotossíntese e produção de biomassa na primeira e segunda geração de soja RR. Aplicações precoces (V2) foram mais danosas na raiz que na parte aérea, embora aplicações tardias (V6) afetaram mais a parte aérea do que a raiz.

## **5.8 Agradecimentos**

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq), pela bolsa de estudos e suporte desta pesquisa. Os autores também agradecem ao Dr. Bruce Hibbard (USDA-ARS), pelo uso das casas-de-vegetação e Carey Page (University of Missouri), pela assistência com as aplicações de herbicida. As marcas comerciais no texto são apenas informativas e não representam nenhuma recomendação oficial do USDA-ARS, da Universidade Estadual de Maringá e da University of Missouri.

## **5.9 Referências**

Arregui, M.C.; Lenardón, A.; Sanchez, D.; Maitre, M.I.; Scotta, R.; Enrique, S. Monitoring glyphosate residues in transgenic glyphosate-resistant soybean. *Pest. Manage. Sci.*, v.60, p.163-166, 2004.

Bellaloui, N.; Reddy, K.N.; Zablutowicz, R.M.; Abbas, H.K.; Abel, C.A. Effects of glyphosate on seed iron and root ferric (III) reductase in soybean cultivars. *J. Agric. Food Chem.*, v.57, p.9569-9574, 2009.

Bott, S.; Tesfamariam, T.; Candan, H.; Cakmak, I.; Romheld, V.; Neumann, G. Glyphosate-induced impairment of plant growth and micronutrient status in glyphosate-resistant soybean (*Glycine max* L.). *Plant and Soil*, v.312, p.185-194, 2008.

Bromilow, R.H.; Chamberlain K.; Tench, A.J.; Williams, R.H. Phloem translocation of strong acids: Glyphosate, substituted phosphonic, and sulfonic acids in *Ricinus communis* L. *Pestic. Sci.*, v.37, p.39-47, 1993.

Cakmak, I.; Yazici, A.; Tutus, Y.; Ozturk, L. Glyphosate reduced seed and leaf concentrations of calcium, manganese, magnesium, and iron in non-glyphosate resistant soybean. *Eur. J. Agron.*, v.31, p.114-119, 2009.

Campbell, W.F.; Evans, J.O.; Reed, S.C. Effect of glyphosate on chloroplast ultrastructure of quackgrass mesophyll cells. *Weed Sci.*, v.24, p.22-25, 1976.

Centritto, M.; Magnani, F.; Lee, H.S.J.; Jarvis, P.G. Interactive effects of elevated [CO<sub>2</sub>] and drought on cherry (*Prunus avium*) seedlings: II. Photosynthetic capacity and water relations. *New Phytol.*, v.141, p.141-153, 1999.

Cheng, L.; Fuchigami, L.H.; Breen, P.J. The relationship between photosystem II efficiency and quantum yield for CO<sub>2</sub> assimilation is not affected by nitrogen content in apple leaves. *J. Exp. Bot.*, v.52, p.1865-1872, 2001.

Cole, D.J. Mode of action of glyphosate – a literature analysis. In: Grossbard, E.; Atkinson, D. (eds) *The herbicide glyphosate*. Butterworths, London, pp 48-74, 1985,

Coutinho, C.F.B.; Mazo, L.H. Complexos metálicos com o herbicida glyphosate: Revisão. *Química Nova*, v.28, p.1038-1045, 2005.

Da Matta, F.M.; Loos, R.A.; Rodrigues, R.; Barros, R.S. Actual and potential photosynthetic rates of tropical crop species. *R. Bras. Fisiol. Veg.*, v.13, p.24-32, 2001.

Demming-Adams, B.; Adams, W.W. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, v.43, p.599-626, 1992.

Duke, S.O.; Rimando, A.M.; Pace, P.F.; Reddy, K.N.; Smeda, R.J. Isoflavone, glyphosate, and aminomethylphosphonic acid levels in seeds of glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. *J. Agric. Food Chem.*, v.51, p.340-344, 2003.

Duke, S.O. Taking stock of herbicide-resistant crops ten years after introduction. *Pest. Manage. Sci.*, v.61, p.211-218, 2005.

Franz, J.E.; Mao, M.K.; Sikorski, J.A. *Glyphosate: A Unique Global Herbicide*; ACS Monograph 189; American Chemical Society: Washington, DC, 1997.

Fritschi, F.B.; Ray, J.D. Soybean leaf nitrogen, chlorophyll content, and chlorophyll *a/b* ratio. *Photosynthetica*, v.45, p.92-98, 2007.

Genty, B.; Briantais, J.M.; Baker, N.R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta*, v.990, p.87-92, 1989.

Gianessi, L.P.; Carpenter, J.E. *Agricultural Biotechnology: Benefits of Transgenic Soybeans*, National Center for Food and Agricultural Policy, 2000.

Horton, P.; Ruban, A.V.; Walters, R.G. Regulation of light harvesting in green plants. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, v.4, p.655-684, 1996.

Huber, D.M. Strategies to ameliorate glyphosate immobilization of manganese and its impact on the rhizosphere and disease. In: Lorenz N., Dick R. (eds) *Proceedings of the glyphosate potassium symposium 2006*. Ohio State University, AG Spectrum, DeWitt, Iowa. 2006

Jaworski, E.G. Mode of action of N-phosphonomethyl-glycine: inhibition of aromatic amino acid biosynthesis. *J. Agric. Food Chem.*, v.20, p.1195–1198, 1972.

Jiang, C-D.; Gao, H-Y.; Zou, Q.; Jiang, G-M.; Li, L-H. Leaf orientation, photorespiration and xanthophyll cycle protect young soybean against high irradiance in field. *Environ. Exp. Bot.*, v.55, p.87-96, 2006.

Johal, G.S.; Huber, D.M. Glyphosate effects on diseases of plants. *Euro J. Agron.*, v.31, p.144-152, 2009.

Kabachnik, M.I.; Medved, T.Ya.; Dyatolva, N.M.; Rudomino, M.V. Organophosphorus complexones. *Russian Chem. Reviews*, v.43, p.733-744, 1974.

King, C.A.; Purcell, L.C.; Vories, E.D. Plant growth and nitrogenase activity of glyphosate-tolerant soybean in response to foliar glyphosate applications. *Agron. J.*, v. 93, p.79–186, 2001.

Kitchen, L.M.; Witt, W.W.; Rieck, C.E. Inhibition of chlorophyll accumulation by glyphosate. *Weed Sci.*, v.29, p.513-516, 1981.

Körner, C. Leaf diffusive conductances in the major vegetation types on the globe. In: Schulze, E.D.; Caldwell, M.M. (eds.) *Ecophysiology of photosynthesis*. Springer, Berlin, Heidelberg and New York, pp. 463-490, 1995.

Krause, G.H.; Weis, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Ann. Rev. Physiol. Plant Mol. Biol.*, v.42, p.313-349, 1991.

Kumudini, S.; Prior, E.; Omielan, J.; Tollenaar, M. Impact of *Phakospora pachyrhizi* infection on soybean leaf photosynthesis and radiation absorption. *Crop Sci.*, v.48, p.2343-2350, 2008.

Long, S.P.; Humphries, S.W.; Falkowski, P.G. Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, v.45, p.633-662, 1994.

Long, S.P.; Bernacchi, C.J. Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *J. Exp. Bot.*, v.54, p.2393-2401, 2003.

Magalhães Filho, J.R.; Amaral, L.R.; Machado, D.F.S.P.; Medina, C.L.; Machado, E.C. Deficiência hídrica, trocas gasosas e crescimento de raízes em laranja "Valencia" sobre dois tipos de porta enxerto. *Bragantia*, v.67, p.75-82, 2008.

Martinell, B.J.; Julson, L.S.; Emler, C.A.; Huang, Y.; McCabe, D.E.; Williams, E.J. Soybean *Agrobacterium* transformation method. United States Patent 6,384,301, 2002.

Martínez-Ferri, E.; Manrique, E.; Valladares, F.; Balaguer, L. Winter photoinhibition in the field involves different processes on four co-occurring Mediterranean tree species. *Tree Physiol.*, v.24, p.981-990, 2004.

Maxwell, K.; Johnson, G.N. Chlorophyll fluorescence, a practical guide. *J. Exp. Bot.*, v.51, p.659-668, 2000.

Nilsson, G. Interactions between glyphosate and metals essential for plant growth. In E. Grossbard, E.; Atkinson, D. (eds). *The herbicide glyphosate*. London: Butterworth, 1985. p.35-47.

Paschal, E.H. Soybean cultivar 88154622393. United States Patent 5,659,114, 1997.

Pihakaski, S.; Pihakaski, K. Effects of glyphosate on ultrastructure and photosynthesis of *Pellia epiphylla*. *Annals of Botany*, v.46, p.133-141, 1980

Pinkard, E.A.; Patel, V. Mohammed, C. Chlorophyll and nitrogen determination for plantation-grown *Eucalyptus nitens* and *E. globulus* using a non-destructive meter. *Forest Ecol Manag.* v.223, p.211-217, 2006.

Queiroz, C.G.S.; Garcia, Q.S.; Lemos Filho, J.P. Atividade fotossintética e peroxidação de lipídios de membrana em plantas de aroreira-do-sertão sob estresse hídrico e após reidratação. *Braz. J. Plant Physiol.*, v.14, p.59-63, 2002.

Reddy, K.N.; Hoagland, R.E.; Zablutowicz, R.M. Effect of glyphosate on growth, chlorophyll, and nodulation in glyphosate-resistant and susceptible soybean (*Glycine max*) varieties. *J. New Seeds*, v.2, p.37–52, 2000.

Reddy, K.N.; Zablutowicz, R.M. Glyphosate-resistant soybean response to various salts of glyphosate and glyphosate accumulation in soybean nodules. *Weed Sci.*, v.51, p.496–502, 2003.

Reddy, K.N.; Rimando, A.M.; Duke, S.O. Aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate, causes injury in glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. *J. Agric. Food Chem.*, v.52, p.5139–5143, 2004.

Richardson, A.D.; Duigan, S.P.; G.P. Berlyn. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. *New Phytol.*, v.153, p.185-194, 2002.

SAS Institute, SAS/STAT version 9.1, SAS Institute, Cary, NC, 2006.

Shibles, R.M.; Weber, C.R. Leaf area, solar radiation interception, and dry matter production by various soybean planting patterns. *Crop Science*, v.6, p.575-577, 1965.

Singh, B., Singh, Y.; Ladha, J.K.; Bronson, K.F.; Balasubramanian, V. Singh, J. and Khind, C.S. Chlorophyll meter- and leaf color chart-based nitrogen management for rice and wheat in Northwestern India. *Agron. J.*, v.94, p.821-89, 2002.

SPSS, SysStat © for Windows, Version 10, 2000.

Taiz, L.; Zeiger, E. Mineral Nutrition. In: *Plant Physiology*, Sinauer Associates: Sunderland, p. 111-144. 1998.

Taylor, M.; Hartnell, G.; Lucas, D.; Davis, S.; Nemeth, M. Comparison of broiler performance and carcass parameters when fed diets containing soybean meal produced from glyphosate-tolerant (MON 89788) control, or conventional reference soybeans. *Poult Sci.*, v.86, p.2608-2614, 2007.

Thompson, J.A.; Schweitzer, L.E.; Nelson, R.L. Association of specific leaf weight, an estimate of chlorophyll, and chlorophyll content with apparent photosynthesis in soybean. *Photosynth. Res.*, v.49, p.1-10, 1996.

von Caemmerer, S.; Farquhar, G.D. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta*, v.153, p.376–387, 1981.

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

Zaidi, A.; Khan, M.S.; Rizvi, P.Q. Effect of herbicides on growth, nodulation and nitrogen content of greengram. *Agron. Sustain. Dev.*, v.25, p.497–504, 2005.

Zlatev, Z.S.; Yordanov, I.T. Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. *Bulg. J. Plant Physiol.*, v.30, p.3-18, 2004.

Zobiolo, L.H.S.; Oliveira Jr, R.S.; Huber, D.M.; Constantin, J.; de Castro, C.; Oliveira, F.A.; Oliveira Jr, A. Glyphosate reduces shoot concentration of mineral nutrients in glyphosate-resistant soybeans. *Plant Soil*, v.328, p.57-69, 2010a.

Zobiolo, L.H.S.; Oliveira Jr, R.S.; Kremer, R.J.; Constantin, J.; Bonato, C.M.; Muniz, A.S. Water use efficiency and photosynthesis of glyphosate-resistant soybean as affected by glyphosate. *Pest. Biochem. Physiol.*, 2010b, v.97, p.182-193.

**Tabela 1.** Regressões e correlações para as variáveis analisadas em diferentes sojas RR tratadas com diferentes doses únicas de glyphosate.

Estádio fenológico	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado			R <sup>2</sup>
	A	b	c	
Fig. 1A. Taxa fotossintética (A)				
<b>RR1</b>				
V2	17,17	-0,0021		0,94*
V4	16,43	-0,0045	0,0567	0,99*
V6	16,61	0,0009	-0,2888	0,91*
<b>RR2</b>				
V2	26,97	-0,0025	-0,2142	0,92*
V4	26,86	0,0066	-0,7055	0,98*
V6	26,92	0,0051	-0,7871	0,98*
Fig. 1B. Condutância estomática (gs)				
<b>RR1</b>				
V2	0,0781	0,0001	-0,0004	0,95*
V4	0,0779	0,0003	-0,0005	0,89*
V6	0,0790	0,0004	-0,0006	0,85*
<b>RR2</b>				
V2	0,0788	-0,0007	-0,0007	0,95*
V4	0,0783	0,0002	-0,0022	0,99*
V6	0,0785	0,0001	-0,0024	0,99*
Fig. 1C. Taxa transpiratória (E)				
<b>RR1</b>				
V2	2,32	0,00001	-0,0095	0,93*
V4	2,33	0,00005	-0,0048	0,96*
V6	2,35	0,00001	-0,0152	0,85*
<b>RR2</b>				
V2	1,68	-0,0003	-0,0009	0,94*
V4	1,68	0,0003	-0,0352	0,96*
V6	1,68	0,0004	-0,0455	0,98*
Fig. 1D. Concentração de CO <sub>2</sub> subestomático (Ci)				
<b>RR1</b>				
V2	-97,38	0,0271	1,9643	0,99*
V4	-101,10	0,1409	-1,2103	0,94*
V6	-100,92	-0,1096	12,1038	0,97*
<b>RR2</b>				
V2	-233,67	-0,0232	1,7628	0,89*
V4	-240,02	0,0992	1,5069	0,88*
V6	-240,03	0,2653	-2,3876	0,94*

\* (n=6, P<0,01).

**Tabela 2.** Regressões e correlações para as variáveis analisadas em diferentes sojas RR tratadas com diferentes doses únicas de glyphosate.

Estádio fenológico	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado			R <sup>2</sup>
	a	b	c	
Fig. 2A. Taxa de transporte fotossintético de elétrons (ETR)				
<b>RR1</b>				
V2	104,90	-0,0187	0,4049	0,99*
V4	105,24	-0,0222	0,2936	0,99*
V6	106,37	0,0084	-1,7151	0,89*
<b>RR2</b>				
V2	168,79	-0,0338	-0,0925	0,95*
V4	168,79	0,0302	-3,5564	0,97*
V6	168,59	0,0388	-4,5506	0,98*
Fig. 2B. Fluorescência mínima (Fo')				
<b>RR1</b>				
V2	658,56	-0,0806	1,4221	0,99*
V4	661,21	-0,1407	2,3242	0,97*
V6	662,18	0,0842	-8,2857	0,94*
<b>RR2</b>				
V2	594,02	-0,0480	1,2231	0,84*
V4	592,32	-0,0492	0,4489	0,99*
V6	594,20	-0,0750	-1,3955	0,98*
Fig. 2C. Fluorescência máxima (Fm')				
<b>RR1</b>				
V2	1892,24	-0,4779	13,1817	0,98*
V4	1906,97	-0,6289	10,4994	0,97*
V6	1921,36	0,3216	-36,7188	0,88*
<b>RR2</b>				
V2	1329,92	-0,1963	1,0210	0,94*
V4	1328,01	0,0491	-12,8223	0,98*
V6	1330,33	0,0067	-17,7717	0,98*
Fig. 2D. Eficiência intrínseca do fotossistema 2 (Fv'/Fm')				
<b>RR1</b>				
V2	962,99	-0,1376	4,2889	0,98*
V4	967,81	-0,2358	4,5409	0,96*
V6	975,22	0,1844	-14,3569	0,81*
<b>RR2</b>				
V2	999,86	-0,1160	1,4807	0,93*
V4	998,82	-0,0358	-3,7956	0,98*
V6	1001,66	-0,0921	-6,7785	0,97*
Fig. 2E. Fluorescência "estável" na luz (Fs)				
<b>RR1</b>				
V2	0,6778	-0,00007	0,0017	0,99*
V4	0,6798	-0,0001	0,0022	0,96*
V6	0,6873	0,00007	-0,0092	0,85*



<b>RR2</b>				
V2	0,5509	-0,00006	0,0001	0,97*
V4	0,5521	0,00002	-0,0050	0,94*
V6	0,5526	0,00001	-0,0064	0,96*

Fig. 2F. Eficiência quântica do transporte fotossintético de elétrons através do Fotossistema 2 (PhiPS2)

<b>RR1</b>				
V2	0,4944	-0,00008	0,0019	0,99*
V4	0,4960	-0,0001	0,0013	0,99*
V6	0,5013	0,00004	-0,0081	0,89*
<b>RR2</b>				
V2	0,2482	-0,00004	-0,0001	0,94*
V4	0,2482	-0,00004	-0,0052	0,96*
V6	0,2479	0,00005	-0,0067	0,98*

Fig. 2G. Produtividade quântica baseada na assimilação de CO<sub>2</sub> (PhiCO<sub>2</sub>)

<b>RR1</b>				
V2	0,0410	-0,00001	0,0003	0,98*
V4	0,0411	-0,00001	0,0001	0,99*
V6	0,0416	0,00005	-0,0006	0,90*
<b>RR2</b>				
V2	0,0250	-0,00001	-0,0002	0,91*
V4	0,0204	0,00004	-0,0005	0,98*
V6	0,0204	0,00003	-0,0006	0,98*

Fig. 2H. Coeficiente não-fotoquímico da fluorescência (qN).

<b>RR1</b>				
V2	2991,64	-0,4209	11,4480	0,97*
V4	3030,50	-0,2587	-0,00005	0,96*
V6	3031,61	0,2134	-35,0441	0,88*
<b>RR2</b>				
V2	2234,74	-0,1921	-2,0108	0,97*
V4	2236,65	0,1660	-20,7165	0,96*
V6	2237,66	0,1483	-24,5873	0,97*

Fig. 2I. Proporção de abertura dos centros de reação (qP).

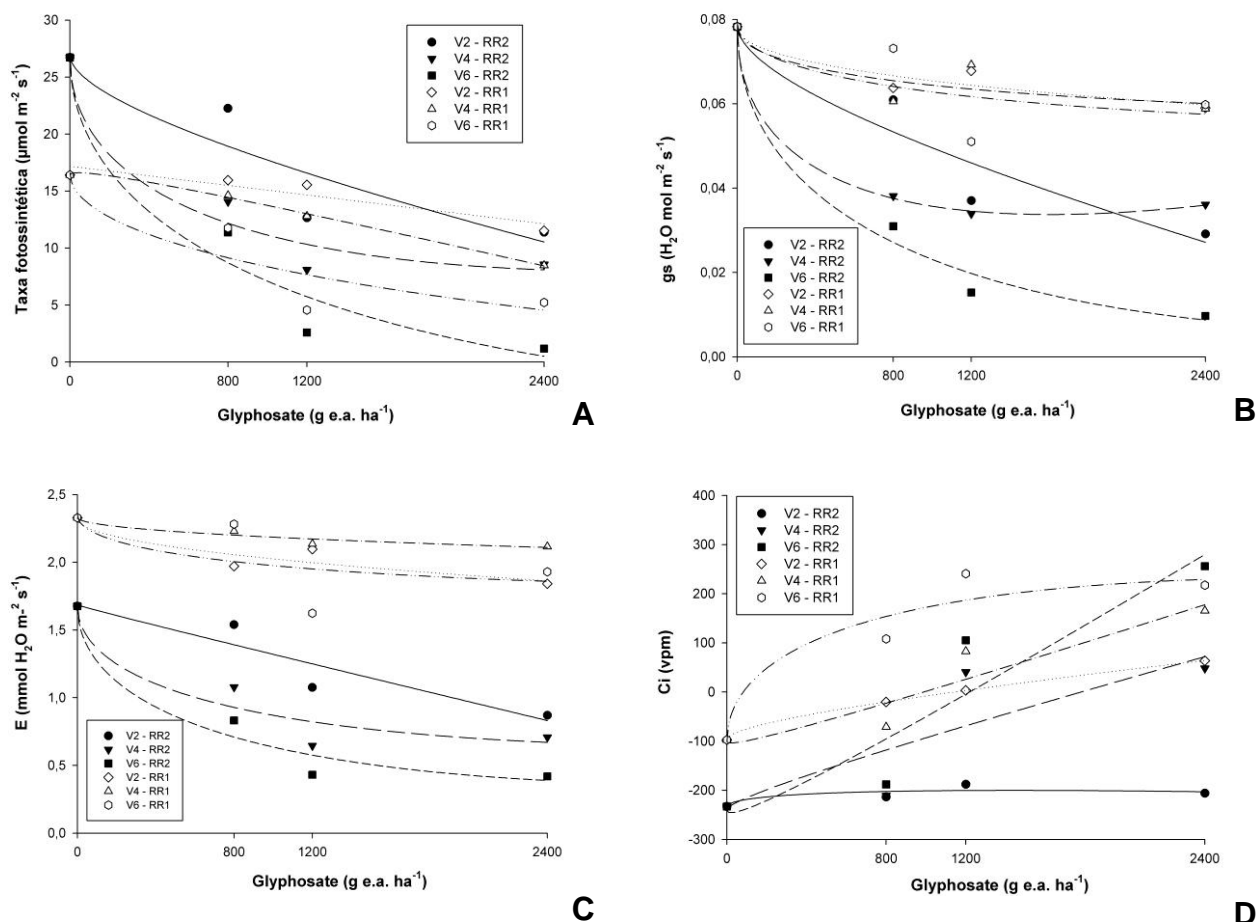
<b>RR1</b>				
V2	0,8011	-0,00005	-0,0026	0,98*
V4	0,8015	-0,00002	-0,0037	0,99*
V6	0,8032	-0,00004	-0,0065	0,99*
<b>RR2</b>				
V2	0,4514	-0,00006	0,0002	0,91*
V4	0,4518	0,00005	-0,0068	0,94*
V6	0,4507	0,00008	-0,0094	0,98*

\* (n=6, P<0,01).

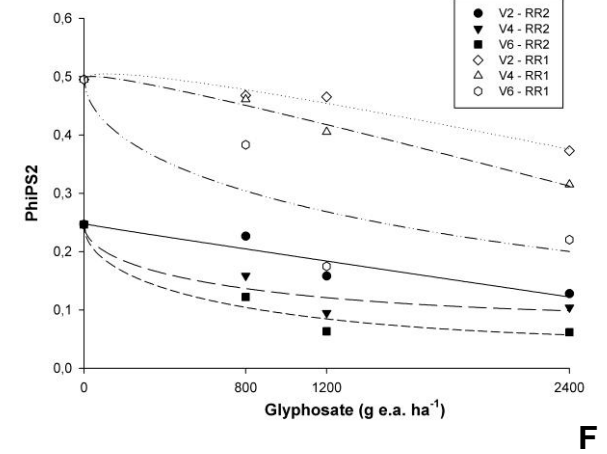
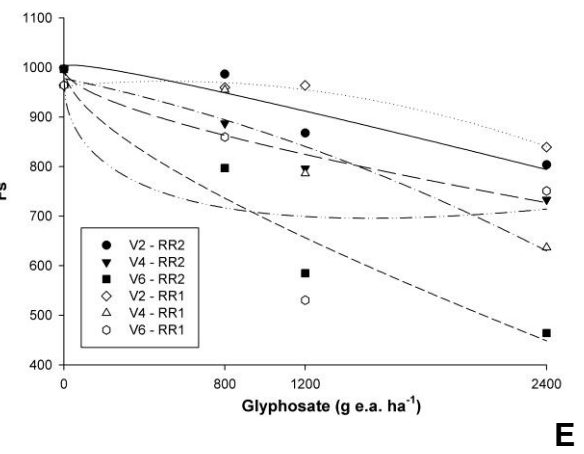
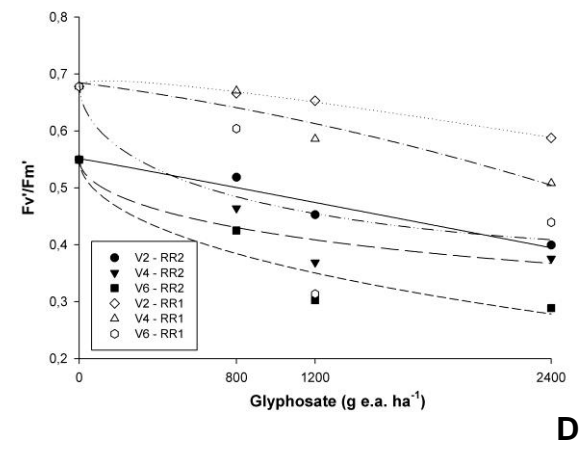
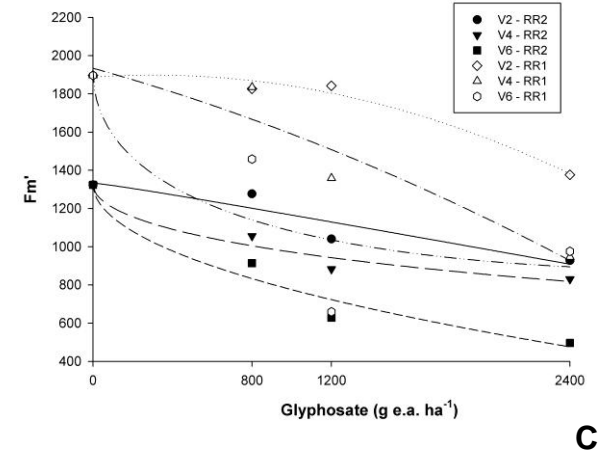
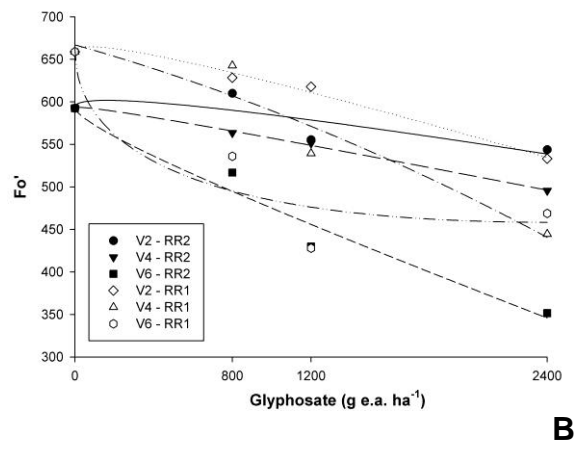
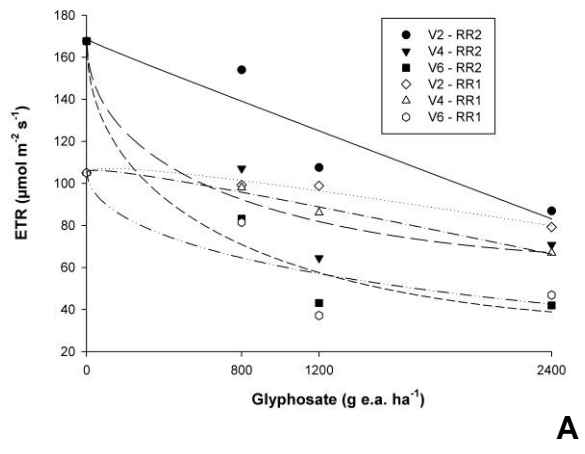
**Tabela 3.** Regressões e correlações para as variáveis analisadas em diferentes sojas RR tratadas com diferentes doses únicas de glyphosate.

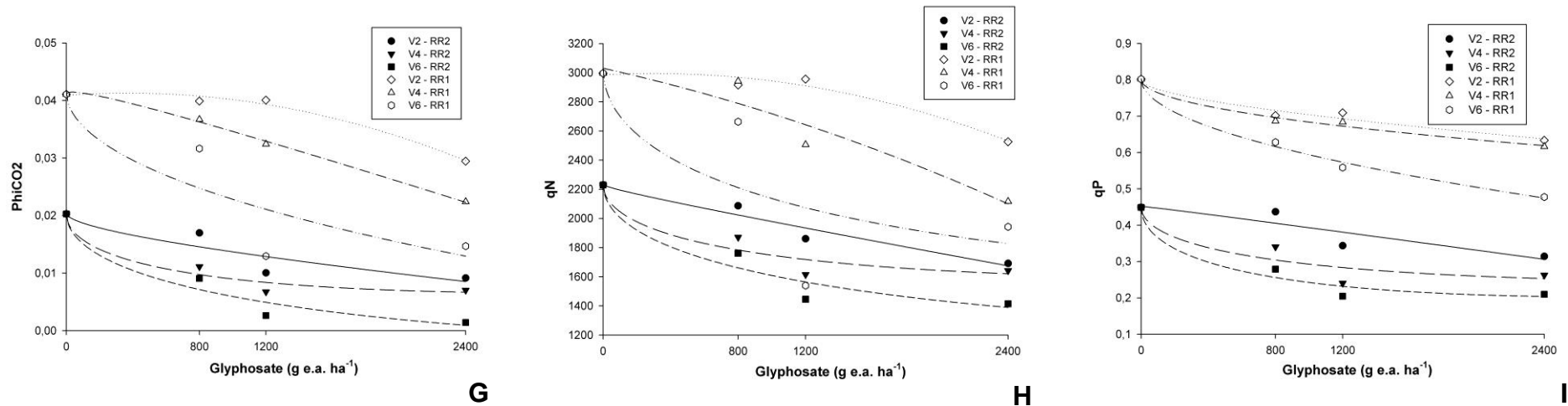
Estádio fenológico	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado			R <sup>2</sup>
	a	b	C	
Fig. 3A. Índice SPAD				
<b>RR1</b>				
V2	47,40	0,0036	-0,4679	0,99*
V4	47,49	0,0001	-0,4077	0,99*
V6	47,81	0,0003	-0,7545	0,97*
<b>RR2</b>				
V2	47,82	0,0003	-0,4165	0,97*
V4	48,09	0,0004	-0,6662	0,93*
V6	47,95	-0,0006	-0,7581	0,97*
Fig. 3B. Área foliar				
<b>RR1</b>				
V2	1123,44	0,2532	-20,4416	0,99*
V4	1124,03	0,1880	-20,6840	0,99*
V6	1124,83	0,3442	-31,3526	0,99*
<b>RR2</b>				
V2	921,38	0,2752	-22,2286	0,99*
V4	920,93	0,2824	-22,6457	0,99*
V6	920,43	0,2902	-24,3698	0,99*
Fig. 3C. Biomassa seca da parte aérea				
<b>RR1</b>				
V2	7,54	0,0014	-0,1403	0,99*
V4	7,51	0,0018	-0,1698	0,99*
V6	7,52	0,0021	-0,2064	0,99*
<b>RR2</b>				
V2	6,16	0,0018	-0,1541	0,99*
V4	6,15	0,0020	-0,1664	0,99*
V6	6,15	0,0020	-0,1832	0,99*
Fig. 3D. Biomassa seca da raiz				
<b>RR1</b>				
V2	2,05	0,0003	-0,0429	0,99*
V4	2,05	0,0003	-0,0432	0,99*
V6	2,05	0,0003	-0,0390	0,97*
<b>RR2</b>				
V2	1,64	0,0004	-0,0387	0,99*
V4	1,65	0,0004	-0,0356	0,99*
V6	1,64	0,0004	-0,0300	0,99*

\* (n=6, P<0,01).

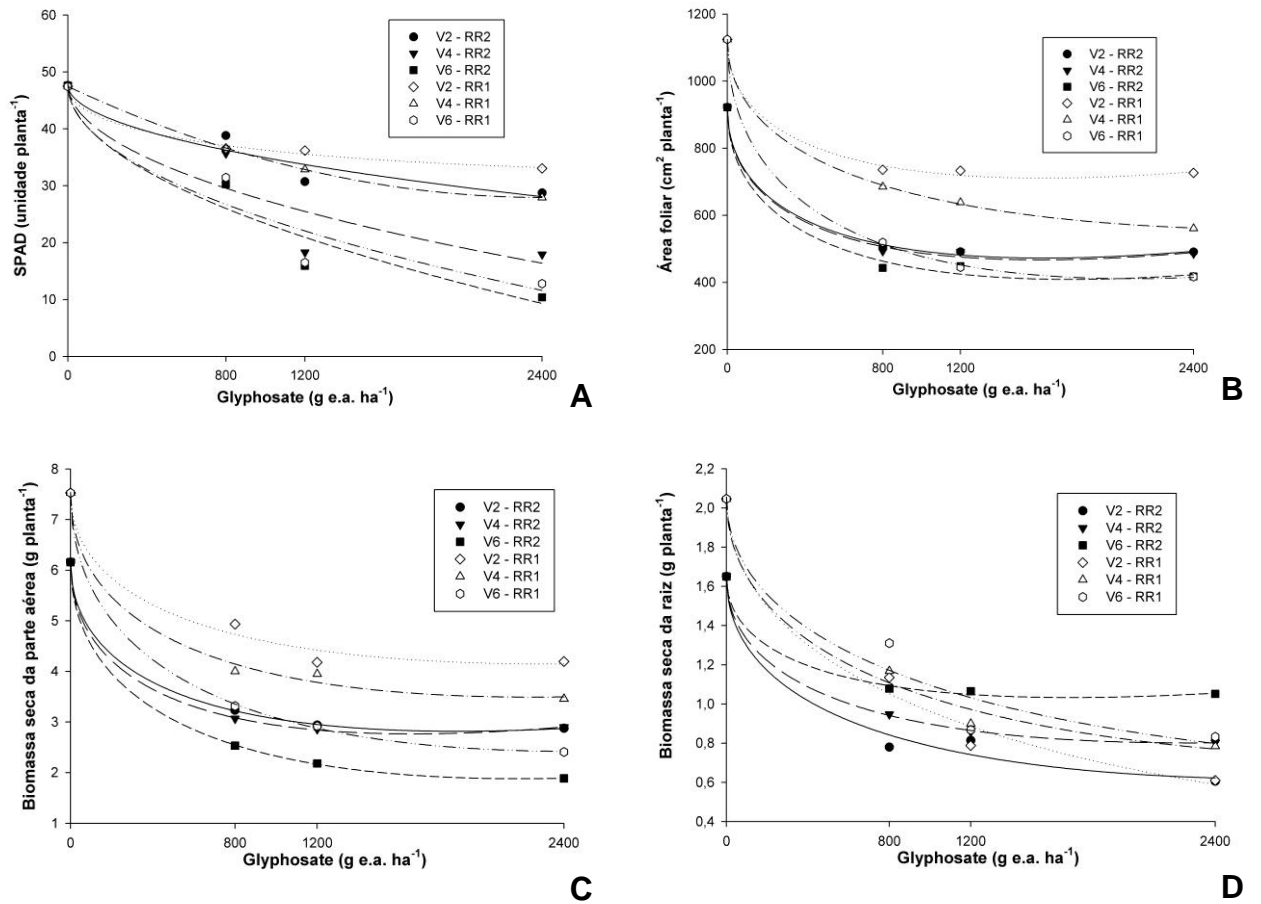


**Figura 1.** Taxa fotossintética (A), condutância estomática (gs), taxa transpiratória (E) e concentração de CO<sub>2</sub> sub-estomático (Ci) em diferentes sojas RR sob aumento da dose de glyphosate aplicado em diferentes estádios fenológicos V2, V4 and V6 (n=6, *P*<0,01).





**Figura 2.** Taxa de transporte fotossintético de elétrons (ETR), fluorescência mínima ( $F_o'$ ), fluorescência máxima ( $F_m'$ ), fluorescência “estável” na luz ( $F_s$ ), eficiência intrínseca do fotossistema 2 ( $F_v'/F_m'$ ), eficiência quântica do transporte fotossintético de elétrons através do Fotossistema 2 ( $\Phi_{PS2}$ ), produtividade quântica baseada na assimilação de  $CO_2$  ( $\Phi_{CO_2}$ ), coeficiente não-fotoquímico da fluorescência ( $q_N$ ) e proporção de abertura dos centros de reações ( $q_P$ ) em diferentes sojas RR sob aumento da dose de glyphosate aplicado em diferentes estádios fenológicos V2, V4 and V6 ( $n=6$ ,  $P<0,01$ ).



**Figura 3.** Índice SPAD, área foliar, biomassa seca da parte aérea e raiz em diferentes sojas RR sob aumento da dose de glyphosate aplicado em diferentes estádios fenológicos V2, V4 and V6 ( $n=6$ ,  $P<0,01$ ).

## Acúmulo de nutrientes em soja convencional e soja RR

### 6.1 Resumo<sup>4</sup>

A área de soja resistente ao glyphosate (RR) tem aumentado a cada ano. Embora a tecnologia RR seja usada em muitos países produtores de soja, não existe recomendação de adubação própria para esta tecnologia, e pouco tem sido relatado sobre a influência do glyphosate no estado nutricional da soja RR. Herbicidas sistêmicos como glyphosate podem ter vários efeitos ainda não entendidos na eficiência de absorção dos nutrientes. Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo comparar o acúmulo de macro e micronutrientes em diferentes estádios fenológicos entre uma cultivar convencional e transgênica, com mesmo ciclo vegetativo e reprodutivo, em diferentes sistemas de manejo de plantas daninhas. De modo geral, o acúmulo de nutrientes na soja convencional foi superior a soja RR. A menor produção de biomassa na cultivar RR tratada com glyphosate, indica que um nível maior de nutrientes pode ser requerido pelas cultivares RR para atingir a eficiência fisiológica e provavelmente uma nova recomendação de adubação para as culturas RR deve ser levada em consideração pela redução da eficiência nutricional imposta pelo glyphosate no estado nutricional.

**Palavras-chave:** glyphosate, absorção de nutrientes, *Glycine max* L.

### 6.2 Abstract

The crop area of glyphosate-resistant (RR) soybean has increased each year. Although RR technology is used in most countries producing soybeans, there are no particular fertilizer recommendations for using this technology, and not much has been reported on the influence of glyphosate on RR soybean nutrient status. Systemic herbicides, such as glyphosate, might have several effects still not understood on the efficiency of nutrient uptake. Thus, the aim of this work was to compare the macro and micronutrients accumulation in different phenological stages between a conventional and transgenic cultivar, with the same crop cycle, under different weed management. In general, the nutrient accumulation on the conventional soybean was superior to the RR soybean, however the low biomass production noticed for glyphosate-treated RR soybean, indicates that a superior level of nutrients might be required for RR cultivars to achieve the physiological efficiency, and probably new fertilizer recommendations for RR crops might take into consideration, as a result of the apparent reduction of nutrient efficiency imposed by glyphosate.

**Key words:** glyphosate, nutrient uptake, *Glycine max* L.

### 6.3 Introdução

---

<sup>4</sup>Trabalho submetido a revista Planta Daninha, 2010 (Título: Acúmulo de nutrientes em soja convencional e soja RR)

A produção de soja resistente ao glyphosate (RR) continua a crescer anualmente no Brasil e no mundo, principalmente pelos benefícios desta tecnologia no manejo de plantas daninhas. Atualmente, a área plantada de soja RR no Brasil ultrapassa os 10 milhões de hectares, área relativamente pequena se comparada com a cultivada em outros países como EUA e Argentina que plantam ao redor de 26 e 16 milhões de hectares de soja transgênica, respectivamente (USDA, 2010).

Embora a tecnologia RR seja usada em muitos países produtores destas culturas RR, não existe recomendação de adubação específica para as mesmas. Recentes pesquisas demonstram que o estado nutricional da soja RR pode ser afetado pelo glyphosate (Zobiolo, 2010a), com significativa diminuição nos teores foliares de macro e micronutrientes. O efeito da diminuição dos teores nutricionais da soja RR poderia ser atribuído à redução dos parâmetros fotossintéticos como resultado direto dos danos do glyphosate à clorofila (Kitchen et al., 1981, Reddy et al., 2004) ou à imobilização de micronutrientes pelo glyphosate, pela habilidade deste herbicida em formar complexos insolúveis entre glyphosate-metal (Jaworski, 1972; Coutinho & Mazo, 2005). Esses resultados são suportados pelos resultados encontrados por Bott et al. (2008), os quais também observaram significativas reduções do teor foliar de Mn e da biomassa de raiz após a aplicação de glyphosate na soja RR.

Um estudo subsequente visando avaliar a influência do aumento da dose de glyphosate na soja RR, revelou que o aumento da dose de glyphosate promoveu redução dos parâmetros fotossintéticos, na absorção e eficiência no uso da água (Zobiolo et al., 2010b) assim como também no acúmulo de macro e micronutrientes nas folhas (Zobiolo et al., 2010c). Tal resultado pôde também explicar as reduções na absorção de nutrientes causadas pelo glyphosate na soja RR, previamente observadas (Zobiolo et al., 2010a). Para Reddy et al. (2004), as injúrias causadas na soja RR podem ser relacionadas ao acúmulo de AMPA (ácido aminometilfosfônico), primeiro metabólito fitotóxico do glyphosate.

Considerando o fato de que muitos agricultores relatam que algumas cultivares de soja RR são visualmente injuriadas pelo glyphosate (Zablotowicz & Reddy, 2007) e que em todo o mundo um tema bastante atual são os problemas causados pelo glyphosate na soja RR, e que existe apenas um vago



conhecimento da interferência do glyphosate na nutrição mineral da soja RR, este trabalho teve como objetivo avaliar o acúmulo comparativo de macro e micronutrientes em uma cultivar convencional submetida à aplicação de um herbicida seletivo convencional e de uma cultivar de soja RR submetida, à aplicação de glyphosate, em relação às mesmas variedades conduzidas sob capina manual.

#### 6.4 Material e Métodos

O experimento foi instalado durante o ano agrícola 2007/2008, na área experimental da Embrapa Soja, Londrina – PR, situada na latitude 23°23' S, longitude 51°11' W e altitude 565 m, O solo da área experimental foi classificado como Latossolo Vermelho distroférrico (EMBRAPA, 2006) com 766 g kg<sup>-1</sup> de argila, 182 g kg<sup>-1</sup> de silte, 52 g kg<sup>-1</sup> de areia e as seguintes características químicas da camada arável (0-20 cm): pH CaCl<sub>2</sub> 5,36; 16,55 mg dm<sup>-3</sup> de P (Mehlich-1); 0,65 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de K<sup>+</sup>; 4,41 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Ca<sup>2+</sup>; 2,82 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Mg<sup>2+</sup>; 3,83 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de H+Al e; 10,98 g dm<sup>-3</sup> de C orgânico. A caracterização química foi realizada de acordo com os procedimentos propostos em Embrapa (1999). Os dados climáticos durante a condução do experimento encontram-se na Tabela 1.

A cultura da soja foi implantada por meio de semeadura direta com densidade inicial de 18 sementes por metro linear, em 14 de novembro de 2007, dez dias após a dessecação com glyphosate na dose comercial de 2 L ha<sup>-1</sup> (480 g e.a. L<sup>-1</sup>), sendo que a emergência teve início sete dias após a semeadura. A adubação de semeadura foi constituída de 40 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 40 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> sob a fórmula de KCl e superfosfato simples. Antes da semeadura, as sementes de soja (*Glycine max* L.) convencional (cv. BRS 184) e transgênica (cv. BRS 243 RR) foram tratadas com 100 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes com a mistura 13,5 g L<sup>-1</sup> de cobalto e 135 g L<sup>-1</sup> molibdênio. As sementes foram então inoculadas com 300 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes da cultura de *Bradyrhizobium elkanii*, estirpes SEMIA 587 e SEMIA 5019, na concentração de 5x10<sup>9</sup> rizóbios por grama. Quando as plantas atingiram o estágio V1, foi realizado o desbaste deixando-se em média 15 plantas por metro linear, com densidade populacional de aproximadamente 334.000

plantas  $\text{ha}^{-1}$ . Os demais tratamentos culturais foram feitos segundo as recomendações regionais (EMBRAPA, 2007).

O experimento foi delineado em blocos ao acaso com cinco repetições, utilizando um esquema fatorial ( $2 \times 2$ ), sendo o primeiro fator representado pelas cultivares (BRS 184 e BRS 243 RR) e o segundo pelo manejo de plantas daninhas (com herbicida e capina manual). Os tratamentos consistiram em: T1 – BRS 184 + capina manual, T2 – BRS 184 + herbicida, T3 – BRS 243 RR + capina manual, T4 – BRS 243 RR + herbicida. Independente dos tratamentos aplicados, todas as parcelas foram manualmente capinadas a cada sete dias.

Para determinar as datas das aplicações adotou-se o critério de que estas seriam realizadas no momento em que a infestação de folhas largas atingisse o estágio predominante de duas folhas verdadeiras. Dessa forma, plantas de soja no estágio V4 (24 dias após emergência, DAE) foram sujeitas a tratamentos (dose e herbicidas) comumente aplicados na cultura da soja convencional e transgênica (EMBRAPA, 2007). No caso da soja convencional (BRS 184), foram utilizados os herbicidas fluazifop-p-butyl ( $200 \text{ g L}^{-1}$ ) + fomesafen ( $240 \text{ g L}^{-1}$ ) aplicados nas doses recomendadas de  $1,5$  e  $1,0 \text{ L p.c. ha}^{-1}$ , respectivamente. Para a soja transgênica (BRS 243 RR), foi aplicado o herbicida glyphosate formulado comercialmente como sal de isopropilamina ( $480 \text{ g e.a. L}^{-1}$ ) na dose de  $2 \text{ L p.c. ha}^{-1}$ . As aplicações de herbicidas foram realizadas com um pulverizador costal de pressão constante à base de  $\text{CO}_2$ , equipado com pontas tipo leque XR-110.02, pressão de  $2,0 \text{ kgf cm}^{-2}$ , com volume de calda equivalente a  $190 \text{ L ha}^{-1}$ . As condições climáticas, no momento da aplicação, eram de temperatura entre  $24$  e  $28^\circ\text{C}$ , umidade relativa do ar entre  $80$  e  $90\%$ , solo úmido e velocidade do vento entre  $6$  e  $8 \text{ km h}^{-1}$ .

As unidades experimentais foram constituídas de parcelas com 12 linhas de semeadura espaçadas em  $0,45 \text{ m}$  entre fileiras, com área de  $90 \text{ m}^2$  ( $6 \times 15 \text{ m}$ ), tomando-se como área útil as quatro linhas centrais, exceto  $1,5 \text{ m}$  de cada extremidade. Foram realizadas 12 coletas durante o ciclo da cultura em diferentes estádios fenológicos V2, V4, V6, R1, R3, R4, R5.1, R5.3, R5.5, R6, R7, R8 (17, 24, 31, 53, 60, 67, 78, 90, 97, 107, 113 e 123 DAE, respectivamente). As coletas das partes aéreas das plantas foram executadas em seis plantas ao acaso em uma área de  $1 \text{ m}^2$  dentro das quatro linhas centrais da parcela, procedendo-se à separação em folhas, pecíolos, caules e,

quando existentes, vagens e grãos. A área foliar foi determinada durante os estádios V2 a R3 utilizando-se o integrador de área foliar, modelo LI – 3100. As duas cultivares apresentaram praticamente o mesmo ciclo de desenvolvimento vegetativo, reprodutivo e total compreendido entre 124 a 125 dias para altitudes de 500 a 800 m (EMBRAPA, 2008).

Após cada coleta, as diversas partes das plantas foram lavadas com água deionizada, secas em estufa com circulação forçada de ar a 65°C, e posteriormente moídas em moinho tipo Wiley. A análise química das amostras foi realizada no Laboratório de Análises Químicas de Solo e de Tecido Vegetal da Embrapa Soja, segundo metodologia descrita por Sarruge & Haag (1974), sendo digestão sulfúrica para N e seca para os demais nutrientes. Todos os elementos, exceto N, foram determinados utilizando o equipamento AES Perkin Elmer ICP. Nitrogênio foi determinado com o uso do método micro-Kjeldahl (Baker and Thompson, 1992).

A colheita foi realizada aos 125 DAE com uma colhedora de parcelas Wintersteiger, modelo Classic, em uma área útil da parcela de 16,2 m<sup>2</sup> constituída das três linhas centrais, descontando as extremidades. A produtividade foi calculada em kg ha<sup>-1</sup> a 13% de umidade. Os dados foram submetidos à análise de variância, e quando os valores de F foram significativos (P<0,01), análises de regressão foram conduzidas. Os dados de produtividade foram analisados pelo teste LSD utilizando PROC GLM (SAS, 2006) e equações foram ajustadas utilizando modelos de regressão por meio do programa estatístico SigmaPlot 10.0 (SPSS, 2000). O ajuste para o acúmulo de matéria seca total, de grãos, da área foliar e dos nutrientes em função do tempo, foi realizado por meio do modelo de “Gaussian” com três parâmetros, descrito a partir da seguinte equação genérica:

$$\hat{y} = ae^{\left[ -0,5 \left( \frac{x-x_0}{b} \right)^2 \right]} \quad \text{Eq. 1}$$

em que:  $\hat{y}$  = acúmulo de variável analisada; a = corresponde ao valor de máximo acúmulo;  $x_0$  = corresponde ao valor de x, em DAE, que proporciona o máximo em  $\hat{y}$ ; b = corresponde à amplitude no valor de x, em DAE, entre o ponto de inflexão e o ponto de máximo;

À partir do modelo ajustado foi possível determinar, o valor do ponto de inflexão (PI) na curva da seguinte forma:

$$PI = x_0 - b \quad \text{Eq. 2}$$

Matematicamente, o PI corresponde ao valor de x em que a curvatura do modelo ajustado muda de sinal e, na prática, isto corresponde ao valor de x, em DAE, em que a taxa de acúmulo diário, ainda que positiva, passa a decrescer.

### 6.5 Resultados e Discussão

Para ambos os tratamentos, o incremento de matéria seca (MS) foi lento até o estágio V6, o qual ocorreu aos 31 DAE (Figura 1). Após este estágio, observou-se maior taxa de incremento de MS, sendo que a partir do estágio R1 a produção de MS aumentou de forma acentuada atingindo valores máximos entre 112 e 116 DAE com 24,96, 24,42, 24,06 e 20,59 g planta<sup>-1</sup> de MS total para os tratamentos T1, T2, T3 e T4, respectivamente (Tabela 2). Resultados semelhantes foram encontrados por Pedrinho Junior et al. (2004), com acúmulo máximo aos 104 DAE com 36,6 g planta<sup>-1</sup>. O maior acúmulo observado de MS observado neste trabalho, provavelmente ocorreu pelo fato do experimento conduzido por Pedrinho Junior et al. (2004) ter sido conduzido em condições de casa-de-vegetação, diferente dos resultados do presente experimento, os quais são provenientes de parcelas instaladas a campo.

A cultivar transgênica na presença do herbicida glyphosate (T4) acumulou menos MS que os demais tratamentos (Figura 1, Tabela 2). Esses resultados estão de acordo com os observados para a área foliar, a qual também foi afetada pelo glyphosate (Figura 2, Tabela 3) na soja transgênica em comparação à não-utilização (T3). No geral, a área foliar da soja convencional foi superior à transgênica (Tabela 3). Esses resultados são suportados por outros autores que também encontraram reduções na biomassa seca da parte aérea e raiz da soja RR com glyphosate nas doses 1.200 g a.e. ha<sup>-1</sup> (Zobiolo et al., 2010a), 1.680 g a.e. ha<sup>-1</sup> (Reddy et al., 2000) e 6.300 g a.e. ha<sup>-1</sup> (King et al., 2001). A redução de biomassa causada pelo glyphosate na soja RR pode ser atribuída ao acúmulo do ácido aminometilfosfônico (AMPA), seu principal metabólito (Reddy et al., 2004) ou às reduções na taxa de fotossintética, na conversão de fotoassimilados (Zobiolo et al., 2010b) e na

biodisponibilidade de nutrientes nos tecidos foliares (Cakmak et al., 2009; Zobiolo et al., 2010a). Estes resultados também encontram respaldo nos trabalhos desenvolvidos por Bott et al. (2008), os quais observaram que a aplicação do glyphosate na soja RR, reduziu significativamente a biomassa e a enlogação da raiz.

A produção de grãos, por sua vez, teve início a partir dos 78 DAE (estádio R5.1), com acúmulo máximo de 12,90, 12,61, 10,55 e 8,17 g planta<sup>-1</sup> para os tratamentos T1 a T4, respectivamente, observado entre 122 e 123DAE (Figura 1, Tabela 2).

Zobiolo et al. (2010c) relataram que a diminuição de biomassa na soja RR na presença do glyphosate pode ser consequência do menor acúmulo e disponibilidade de nutrientes, causado pela propriedade quelante deste herbicida. Diversos estudos e observações em campo têm mostrado que o glyphosate afeta a disponibilidade dos micronutrientes nas plantas (Franzen et al., 2003; Bott et al., 2008; Johal & Huber, 2009; Zobiolo et al., 2010a) o que tem sido correlacionado com sua habilidade de formar complexos insolúveis com metais (Madsen et al., 1978; Glass, 1984; Coutinho & Mazo, 2005). De acordo com Eker et al. (2006), após a absorção do glyphosate, a absorção e o transporte de micronutrientes catiônicos pode ser inibida pela formação de complexos pouco solúveis entre glyphosate e metais dentro do tecido da planta. O glyphosate, por pertencer ao grupo químico dos aminoácidos fosfonados, apresenta assim como seu precursor, a glicina, comportamento zwitteriônico, com duas cargas em pH neutro, uma positiva no grupo amino e uma negativa no grupo aniônico fosfonado, possuindo a habilidade de formar complexos fortes com metais (Coutinho & Mazo, 2005).

De modo geral, diversos fatores podem influenciar a absorção dos nutrientes, entre eles a capacidade de exploração do sistema radicular, as condições edafoclimáticas, as propriedades dos solos, a disponibilidade de água e provavelmente agentes químicos externos como o glyphosate, pela característica de complexação com cátions metálicos. Como observado nas Figuras 3 e 4, as curvas de acúmulo de macro e micronutrientes para a soja transgênica na presença do glyphosate (T4) resultaram em menor acúmulo de nutrientes em comparação aos demais tratamentos. Da mesma forma, comparando-se o máximo acúmulo de nutrientes obtidos pelo parâmetro do

modelo ajustado nas Tabelas 4, 5 e 6, o T4 apresentou sempre valores inferiores aos demais tratamentos.

Assim como na produção de matéria seca, observa-se que até 31 DAE o acúmulo de macro e micronutrientes é baixo (Figuras 3 e 4). À partir dos 31 DAE, a taxa de acúmulo aumenta de forma acentuada, atingindo no geral o ponto máximo para os macronutrientes aos 104 DAE e para os micronutrientes aos 94 DAE, havendo, no entanto, diferenças entre os tratamentos.

Como o valor do ponto de inflexão pode ser entendido como sendo o dia em que o acúmulo diário dos macronutrientes da planta chegou ao seu valor máximo, sendo a taxa de absorção diária crescente até esse momento e levando em conta a média dos valores de pontos de inflexão observados para a soja, tem-se que a taxa máxima de acúmulo de MS, macro e micronutrientes acontece aos 79, 73 e 66 DAE, respectivamente. Pedrinho Junior et al. (2004) também encontraram valores médios de acúmulo máximo de MS e de macronutrientes aos 78 e 75 DAE, respectivamente. Estes autores também observaram acúmulo máximo de N, P, K, Ca, Mg e S aos 100, 108, 109, 111 e 106 DAE, respectivamente, sendo que as plantas apresentaram 780 mg planta<sup>-1</sup> de N, 102 mg planta<sup>-1</sup> de P, 880 mg planta<sup>-1</sup> de K, 850 mg planta<sup>-1</sup> de Ca, 260 mg planta<sup>-1</sup> de Mg e 65 mg planta<sup>-1</sup> de S. No presente trabalho, com exceção do N e S, os valores de acúmulo máximo para P, K, Ca e Mg apresentaram valores inferiores aqueles apresentados por Pedrinho Junior et al. (2004).

No geral, os valores de acúmulo máximo para macro e micronutrientes não apresentaram diferenças entre T1, T2 e T3. No entanto, o T4 sempre apresentou valores inferiores aos demais tratamentos. Estes resultados estão de acordo com aqueles apresentados por Zobiolo et al. (2010c), em que, ao avaliarem a influência de diversas doses de glyphosate no acúmulo de nutrientes na soja RR, constataram que com o aumento da dose de glyphosate ocorreu diminuição proporcional no acúmulo de macro e micronutrientes. Segundo Zobiolo et al. (2010c), as diminuições no acúmulo de nutrientes ocorridas na soja RR pelo glyphosate, provavelmente ocorreram pela menor taxa fotossintética da planta e menor absorção de nutrientes, fatores associados às propriedades quelantes do glyphosate em relação à disponibilidade dos nutrientes (Eker et al., 2006; Bott et al., 2008).

Observou-se que a exigência nutricional variou com a fase do ciclo de desenvolvimento da soja, tanto para macro quanto para micronutrientes (Figuras 3 e 4), e que acompanha a taxa de acúmulo de matéria seca durante o estágio vegetativo até o final do florescimento (Figura 1). De modo geral, o acúmulo máximo diário dos nutrientes coincidiu com o período inicial de frutificação de ambos os tratamentos, quando ocorre o estabelecimento de uma força mobilizadora de nutrientes e assimilados, pelo aumento da atividade metabólica, associada à atividade hormonal e à divisão e crescimento celular (Taiz & Zeiger, 1995). Considerando a média dos pontos de máximo acúmulo dos nutrientes, a ordem de extração para os macronutrientes foi: N > K > Ca > Mg > P > S e para os micronutrientes: Fe > Mn > Zn > B > Cu.

Segundo Sfredo & Sarruge (1990), a dinâmica da absorção de nutrientes pelas plantas é um fator que influencia no desempenho de uma cultura em determinada região ou país. Independente do tratamento aplicado, a cultivar convencional submetida ao tratamento químico convencional acumulou mais MS nos grãos do que a cultivar transgênica submetida ao glyphosate. No entanto, comparando-se apenas os tratamentos com a cultivar transgênica, observou-se que o uso de glyphosate reduziu a MS dos grãos em aproximadamente 23% (Tabela 2). Provavelmente, a menor conversão de fotoassimilados na presença do glyphosate (Zobiolo et al., 2010a, 2010b) resultou em menor aparato fotossintético o que, conseqüentemente, implicou no menor acúmulo de MS nos grãos para o T4 em relação ao T3.

Em relação à produtividade ( $\text{kg ha}^{-1}$ ), não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 8).

Os resultados do presente experimento são suportados por Zobiolo et al. (2010a) que sugeriram que cultivares convencionais de soja possam apresentar níveis críticos de nutrientes diferentes comparado com a soja RR tratada com glyphosate, pois o nível crítico de determinado nutriente na planta pode ser variável em função das variações na capacidade de absorver e/ou utilizar o nutriente (Fageria, 1976; Fageria, 1987; Muniz et al., 1985; Fonseca et al., 1988, Scherer, 1998). A menor produção de biomassa nas cultivares RR tratadas com glyphosate indica que um nível maior de nutrientes pode ser requerido pelas cultivares RR para atingir a eficiência fisiológica e que eventualmente novos parâmetros deverão ser estabelecidos para a otimização

da nutrição mineral da soja RR tratada com glyphosate, tendo em vista os efeitos deste herbicida no metabolismo da planta.

## 6.6 Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq), pela bolsa de estudos e pelo apoio financeiro e à Embrapa Soja, pelo apoio para a realização da pesquisa e condução do experimento. As marcas comerciais no texto são apenas informativas e não representam nenhuma recomendação oficial da Universidade Estadual de Maringá, da Embrapa do USDA-ARS.

## 6.7 Literatura citada

BAKER, W. H.; THOMPSON, T. L. Determination of total nitrogen in plant samples by Kjeldahl. In: PLANK, C. O. Plant Analysis Reference Procedures for the Southern Region of the United State, Southern Cooperative Series Bulletin 368. Athens: The Georgia Agricultural Experiment Station, University of Georgia, 1992, p 13-16.

BOTT, S. et al. Glyphosate-induced impairment of plant growth and micronutrient status in glyphosate-resistant soybean (*Glycine max* L.). **Plant Soil**, v. 312, p. 185-194, 2008.

CAKMAK, I. Glyphosate reduced seed and leaf concentrations of calcium, manganese, magnesium and iron in non-glyphosate resistant soybean. **Eur. J. Agron.**, v. 31, p. 114-119, 2009.

COUTINHO, C. F. B.; MAZO, L. H. Metallic complex with glyphosate: a review. **Química Nova**, v. 28, p. 1038-1045, 2005.

EKER, S. et al. Foliar-applied glyphosate substantially reduced uptake and transport of iron and manganese in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. **J. Agric. Food Chem.**, v.54, p. 10019-10025, 2006.

FAGERIA, N. K. Critical P, K, Ca and Mg contents in the tops of rice and peanut plants. **Plant Soil**, v. 45, p. 421-431, 1976.



FAGERIA, N. K. Variação em diferentes estádios de crescimento do nível crítico de fósforo em plantas da arroz. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 11, p. 77-80, 1987.

FONSECA, D. M. et al. Níveis críticos de fósforo em amostras de solos para o estabelecimento de *Andropogon gayanus*, *Brachiaria decumbens* e *Hyparrhenia rufa*. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 12, p. 49-58, 1988.

EMBRAPA. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Brasília, 1999. 370p.

EMBRAPA. Sistema brasileiro de classificação de solos. 2. ed. Rio de Janeiro, Embrapa Solos, 2006. 306p.

EMBRAPA. Tecnologias de produção de soja – Paraná. Londrina, Embrapa CNPSo, 2007. 218p.

EMBRAPA. Cultivares de soja 2007/2008 região centro-sul. Documentos 299, Londrina: Embrapa Soja: Fundação Meridional, 2008. 80 p.

FRANZEN, D.W.; O'BARR, J. H.; ZOLLINGER, R. K. Interaction of a foliar application of iron HEDTA and three postemergence broadleaf herbicides with soybeans stressed from chlorosis. **J. Plant Nutr.**, v. 26, p. 2365-2374, 2003.

GLASS, R. L. Metal complex formation by glyphosate. **J. Agric. Food Chem.**, v. 32, p. 1249-1253, 1984.

JAWORSKI, E. G. Mode of action of N-phosphonomethyl-glycine: inhibition of aromatic amino acid biosynthesis. **J. Agri. Food Chem.**, v. 20, p. 1195-1198, 1972.

JOHAL, G. S.; HUBER, D. M. Glyphosate effects on disease and disease resistance in plants. **Euro. J. Agron.**, v. 31, p. 144-152, 2009.

KING, A. C.; PUECELL, L. C.; VORIES, E. D. Plant growth and nitrogenase activity of glyphosate-tolerant soybean in response to glyphosate applications. **Agron. J.**, v. 93, p. 179-186, 2001.

KITCHEN, L. M.; WITT, W. W.; RIECK, C. E. Inhibition of chlorophyll accumulation by glyphosate. **Weed Sci.**, v. 29, p. 513-516, 1981.

MADSEN, H. E. L.; CHRISTENSEN, H. H.; GOTTLIEB-PATERSEN, C. Stability constants of copper (II), zinc, manganese (II), calcium, and magnesium complexes of *N*-(phosphonomethyl)glycine (glyphosate). **Acta Chem. Scand.**, v. 32, p. 79-83, 1978.

MIYAZAWA, M.; PAVAN, M.A.; BLOCH, M.F. Análise química de tecido vegetal. Londrina, IAPAR, 1992, 17p. (IAPAR, Circular, 74).

MUNIZ, A. S. et al. Nível crítico de fósforo na parte aérea da soja como variável do fator capacidade de fósforo no solo. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 9, p. 237-243, 1985.

PEDRINHO JUNIOR, A. F. F.; BIANCO, S.; PITELLI, R. A. Acúmulo de massa seca e macronutrientes por plantas de *Glycine max* e *Richardia brasiliensis*. **Planta Daninha**, v. 22, p. 53-61, 2004.

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

REDDY, K. N.; RIMANDO, A. M.; DUKE, S. O. Aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate, causes injury in glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. **J. Agric. Food Chem.**, v. 52, p. 5139-5143, , 2004.

SARRUGE, JR. & HAAG, H.P. Análise química em plantas. Piracicaba, ESALQ, 1974. 56p.

SAS Institute, 2006. SAS/STAT version 9.1, SAS Institute, Cary, NC

SCHERER, E. E. Níveis críticos de potássio para a soja em Latossolo húmico de Santa Catarina. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 22, p. 57-62, 1998.

SFREDO, G. J. & SARRUGE, J. R. Acúmulo de micronutrientes em plantas da girassol. **Pesq. Agrop. Bras.**, v.25, p. 499-503, 1990.

SPSS, 2000. SysStat © for Windows, Version 10.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**, Sinauer Associates, Sunderland, 1998, 719 p.

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

ZOBIOLE, L.H.S. et al. Glyphosate reduces shoot concentration of mineral nutrients in glyphosate-resistant soybeans. **Plant and Soil**, v.328, p. 57-69, 2010a

ZOBIOLE, L. H. S. et al. Water use efficiency and photosynthesis of glyphosate-resistant soybean as affected by glyphosate. **Pest. Biochem. Physiol.**, v.97, p. 182-193, 2010b

ZOBIOLE, L. H. S. et al. Nutrient accumulation and photosynthesis in glyphosate resistant soybeans is reduced under glyphosate use. **J. Plant Nutri.**, v.33, p. 1860-1873, 2010c.

ZOBIOLE, L. H. S. et al. Marcha de absorção de nutrientes na cultura do girassol. **R. Bras. Ci. Solo**, v.34, p.425-433, 2010d.

**Tabela 1.** Dados climáticos da área experimental da Embrapa Soja, Londrina-PR, durante a condução do experimento.

<b>Mês</b>	<b>Temperatura média (°C)</b>	<b>Umidade relativa média do ar (%)</b>	<b>Pluviosidade acumulada (mm)</b>
Novembro	22,2	71,7	178,4
Dezembro	23,7	73,5	208,8
Janeiro	22,1	86,9	224,8
Fevereiro	22,8	85,6	152,9
Março	22,7	80,1	140,1

**Tabela 2.** Estimativas dos parâmetros dos modelos ajustados para o acúmulo de matéria seca total e de grãos em função do tempo e os respectivos valores do ponto de inflexão (PI).

Variáveis Dependentes	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado <sup>3</sup>			P.I. (X <sub>0</sub> -b)	R <sup>2</sup>
	a	X <sub>0</sub>	B		
MS total <sup>1</sup>	g planta <sup>-1</sup>	dias após a emergência			
T1	24,96	115,0	35,5	79	0,99*
T2	24,42	111,9	34,2	77	0,99*
T3	24,06	116,0	35,9	80	0,99*
T4	20,59	114,9	34,9	80	0,99*
MS grãos					
T1	12,89	122,6	12,7	109	0,99*
T2	12,61	122,5	13,7	108	0,99*
T3	10,55	122,4	12,0	110	0,99*
T4	8,17	122,5	12,4	110	0,99*

<sup>1</sup>Somatório da MS das folha, dos pecíolos, do caule, das vagens e dos grãos;

<sup>2</sup>MS somente dos grãos;

<sup>3</sup>a = corresponde ao valor de máximo acúmulo; x<sub>0</sub> = corresponde ao valor de x, em DAE, que proporciona o máximo em  $\hat{y}$ ; b = corresponde a amplitude no valor de x, em DAE, entre o ponto de inflexão e o ponto de máximo; T1 = BRS 184 + capina manual, T2 = BRS 184 + herbicida seletivo, T3 = BRS 243 RR + capina manual, T4 = BRS 243 RR + glyphosate;

\* (n=5, P<0,01)

**Tabela 3.** Estimativas dos parâmetros dos modelos ajustados para área foliar da soja em função do tempo e os respectivos valores do ponto de inflexão (PI).

Tratamentos	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado <sup>1</sup>			P.I. (X <sub>0</sub> -b)	R <sup>2</sup>
	a	X <sub>0</sub>	b		
	cm <sup>2</sup> planta <sup>-1</sup>	dias após a emergência			
T1	6461,67	59,75	19,98	39	0,99*
T2	6318,55	59,10	19,54	39	0,99*
T3	5950,83	60,29	20,14	40	0,99*
T4	5292,31	62,22	21,25	40	0,99*

<sup>1</sup>a = corresponde ao valor de máximo acúmulo; x<sub>0</sub> = corresponde ao valor de x, em DAE, que proporciona o máximo em  $\hat{y}$ ; b = corresponde a amplitude no valor de x, em DAE, entre o ponto de inflexão e o ponto de máximo; T1 = BRS 184 + capina manual, T2 = BRS 184 + herbicida seletivo, T3 = BRS 243 RR + capina manual, T4 = BRS 243 RR + glyphosate;

\* (n=5, P<0,01)

**Tabela 4.** Estimativas dos parâmetros dos modelos ajustados para o acúmulo de macronutrientes primários em função do tempo e os respectivos valores do ponto de inflexão (P.I.)

Tratamentos <sup>1</sup>	Estimativa dos parâmetros do modelo ajustado <sup>2</sup>			P.I. (X <sub>0</sub> -b)	R <sup>2</sup>
	a	X <sub>0</sub>	B		
	mg planta <sup>-1</sup>	dias após a emergência			
<i>Nitrogênio</i>					
T1	705,92	112,14	34,17	78	0,99*
T2	691,54	108,51	31,76	79	0,99*
T3	626,22	112,02	35,00	77	0,99*
T4	571,50	103,28	27,22	76	0,99*
<i>Fósforo</i>					
T1	79,11	117,15	33,05	84	0,98*
T2	75,44	111,06	31,01	80	0,98*
T3	65,70	113,50	32,90	81	0,99*
T4	61,26	105,77	25,15	81	0,99*
<i>Potássio</i>					
T1	385,93	107,13	36,47	71	0,99*
T2	351,65	101,78	34,35	67	0,99*
T3	369,56	109,02	36,47	72	0,98*
T4	328,79	104,20	31,56	73	0,99*

<sup>1</sup>Somatório da MS das folha, dos pecíolos, do caule, das vagens e dos grãos;

<sup>2</sup>a = corresponde ao valor de máximo acúmulo; x<sub>0</sub> = corresponde ao valor de x, em DAE, que proporciona o máximo em  $\hat{y}$ ; b = corresponde a amplitude no valor de x, em DAE, entre o ponto de inflexão e o ponto de máximo; T1 = BRS 184 + capina manual, T2 = BRS 184 + herbicida seletivo, T3 = BRS 243 RR + capina manual, T4 = BRS 243 RR + glyphosate;

\* (n=5, P<0,01)

**Tabela 5.** Estimativas dos parâmetros dos modelos ajustados para o acúmulo de macronutrientes secundários em função do tempo e os respectivos valores do ponto de inflexão (P.I.)

Tratamentos <sup>1</sup>	Estimativa dos parâmetros do modelo			P.I.	R <sup>2</sup>
	ajustado <sup>2</sup>				
	a	X <sub>0</sub>	b		
	mg planta <sup>-1</sup>	----- dias após a emergência -----			
<i>Cálcio</i>					
T1	196,61	90,57	26,56	64	0,98*
T2	198,62	90,48	26,12	64	0,99*
T3	187,71	91,32	25,45	65	0,99*
T4	165,62	90,97	22,46	68	0,98*
<i>Magnésio</i>					
T1	84,23	102,37	35,96	66	0,97*
T2	86,94	99,79	33,32	66	0,98*
T3	82,35	99,58	32,50	67	0,98*
T4	67,43	98,86	31,19	67	0,98*
<i>Enxofre</i>					
T1	61,04	111,02	37,37	73	0,99*
T2	59,67	110,83	37,14	73	0,99*
T3	58,63	110,31	35,17	75	0,99*
T4	54,37	102,18	27,46	74	0,99*

<sup>1</sup>Somatório da MS das folha, dos pecíolos, do caule, das vagens e dos grãos;

<sup>2</sup>a = corresponde ao valor de máximo acúmulo; x<sub>0</sub> = corresponde ao valor de x, em DAE, que proporciona o máximo em  $\hat{y}$ ; b = corresponde a amplitude no valor de x, em DAE, entre o ponto de inflexão e o ponto de máximo; T1 = BRS 184 + capina manual, T2 = BRS 184 + herbicida seletivo, T3 = BRS 243 RR + capina manual, T4 = BRS 243 RR + glyphosate;

\* (n=5, P<0,01)



**Tabela 6.** Estimativas dos parâmetros dos modelos ajustados para o acúmulo de micronutrientes em função do tempo e os respectivos valores do ponto de inflexão (P.I.)

Tratamentos <sup>1</sup>	Estimativa dos parâmetros do modelo			P.I.	R <sup>2</sup>
	ajustado <sup>2</sup>				
	a	X <sub>0</sub>	b		
	mg planta <sup>-1</sup>	dias após a emergência			
<i>Zinco</i>					
T1	0,85	95,40	27,06	68	0,97*
T2	0,86	93,76	25,18	68	0,97*
T3	0,82	95,80	24,30	71	0,98*
T4	0,73	93,96	22,67	71	0,97*
<i>Manganês</i>					
T1	2,71	95,51	28,54	66	0,98*
T2	2,65	95,66	28,53	67	0,98*
T3	2,55	96,10	27,47	68	0,99*
T4	2,29	95,16	21,51	73	0,98*
<i>Ferro</i>					
T1	8,72	96,20	25,36	70	0,99*
T2	8,39	95,91	24,19	71	0,98*
T3	8,57	95,28	24,57	70	0,99*
T4	7,27	95,69	23,95	71	0,98*
<i>Cobre</i>					
T1	0,23	90,61	29,07	61	0,97*
T2	0,22	92,96	29,41	63	0,97*
T3	0,22	92,40	29,02	63	0,96*
T4	0,18	96,50	31,06	65	0,97*
<i>Boro</i>					
T1	0,71	91,18	34,41	56	0,98*
T2	0,73	90,64	34,20	56	0,98*
T3	0,74	94,84	31,56	63	0,98*
T4	0,61	89,52	30,95	58	0,97*

<sup>1</sup>Somatório da MS das folha, dos pecíolos, do caule, das vagens e dos grãos;

<sup>2</sup>a = corresponde ao valor de máximo acúmulo; x<sub>0</sub> = corresponde ao valor de x, em DAE, que proporciona o máximo em  $\hat{y}$ ; b = corresponde a amplitude no valor

de x, em DAE, entre o ponto de inflexão e o ponto de máximo; T1 = BRS 184 + capina manual, T2 = BRS 184 + herbicida seletivo, T3 = BRS 243 RR + capina manual, T4 = BRS 243 RR + glyphosate; \* (n=5, P<0.01)

**Tabela 7.** Peso de 100 grãos (g) de plantas de soja convencional e transgênica, submetida a diferentes tratamentos de controle de plantas daninhas.

Tratamentos			
g planta <sup>-1</sup>			
T1	T2	T3	T4
15,18* a	15,64 a	10,80 b	11,05 b
DMS = 0,49;			
CV% = 2,42			

\*Médias dentro das colunas seguidas pelas mesmas letras não são significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste LSD.

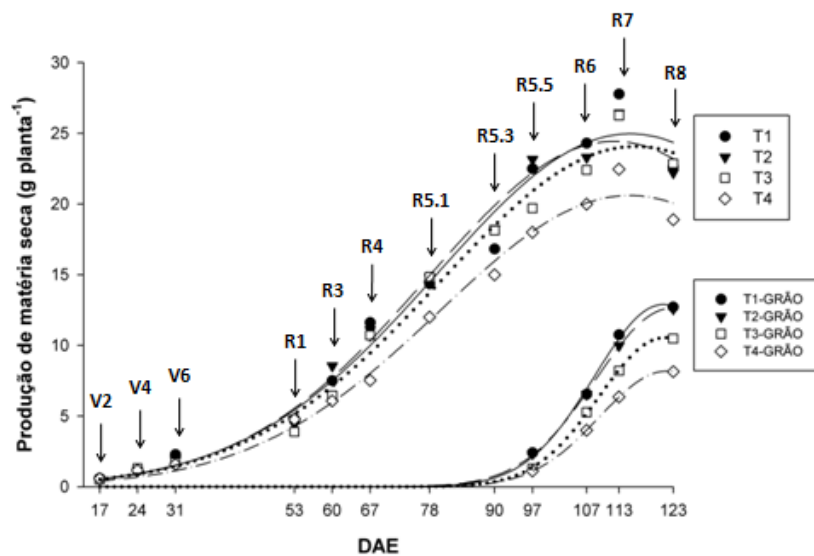
T1 = BRS 184 + capina manual, T2 = BRS 184 + herbicida seletivo, T3 = BRS 243 RR + capina manual, T4 = BRS 243 RR + glyphosate;

**Tabela 8.** Produtividade de grãos (kg ha<sup>-1</sup>) de soja convencional e transgênica, submetidas a diferentes manejos de plantas daninhas.

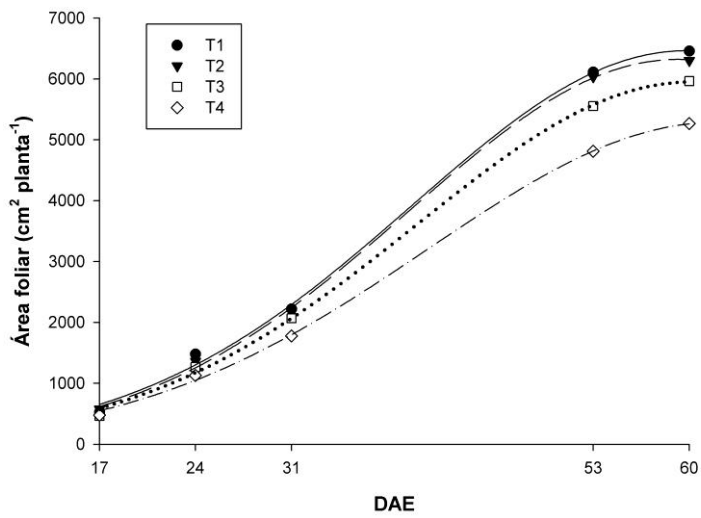
Tratamentos			
g planta <sup>-1</sup>			
T1	T2	T3	T4
3.134 a	3.252 a	3.069 a	3.046 a
DMS = 434,45			
CV% = 6,26			

\*Médias dentro das colunas seguidas pelas mesmas letras não são significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste LSD.

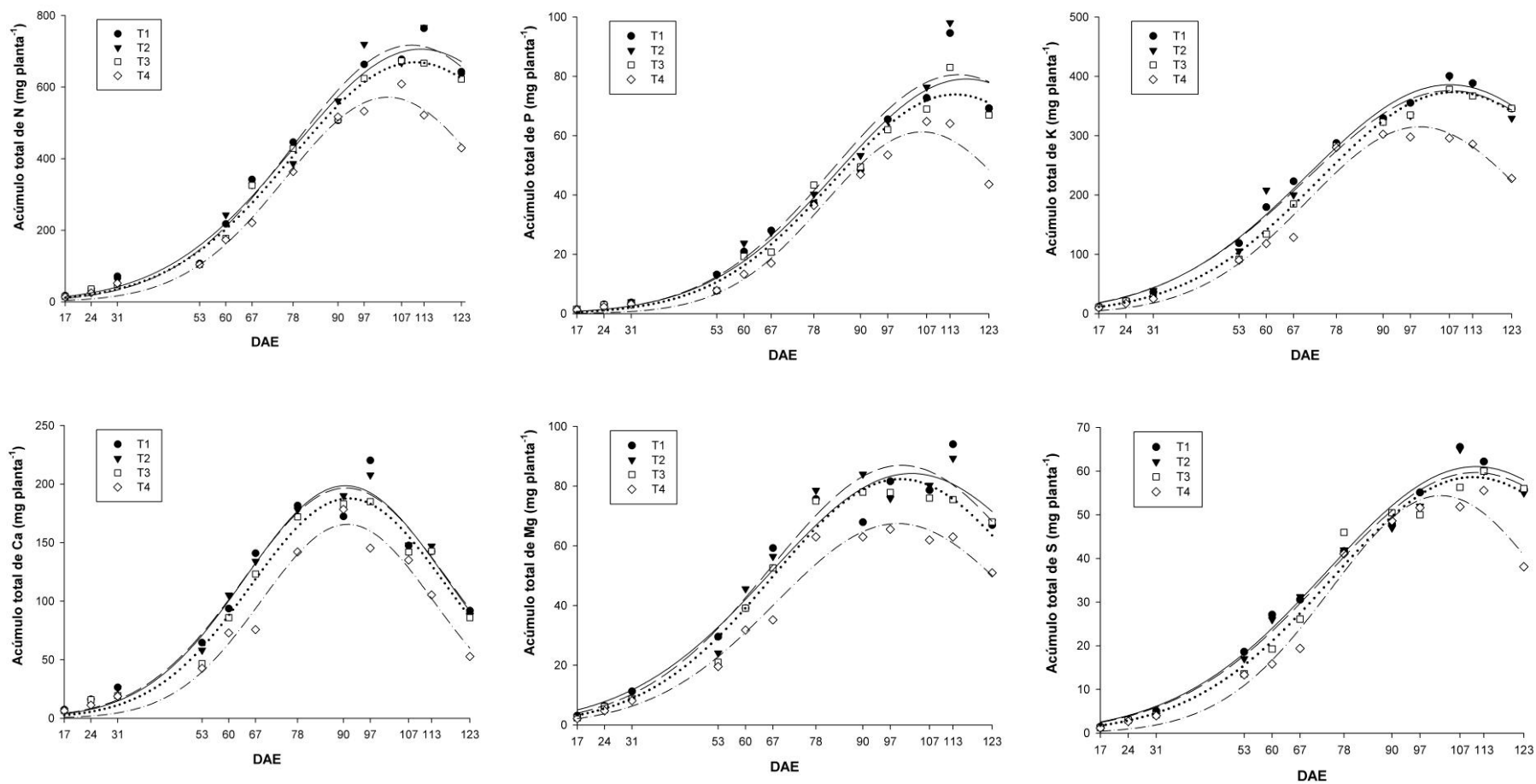
T1 = BRS 184 + capina manual, T2 = BRS 184 + herbicida seletivo, T3 = BRS 243 RR + capina manual, T4 = BRS 243 RR + glyphosate;



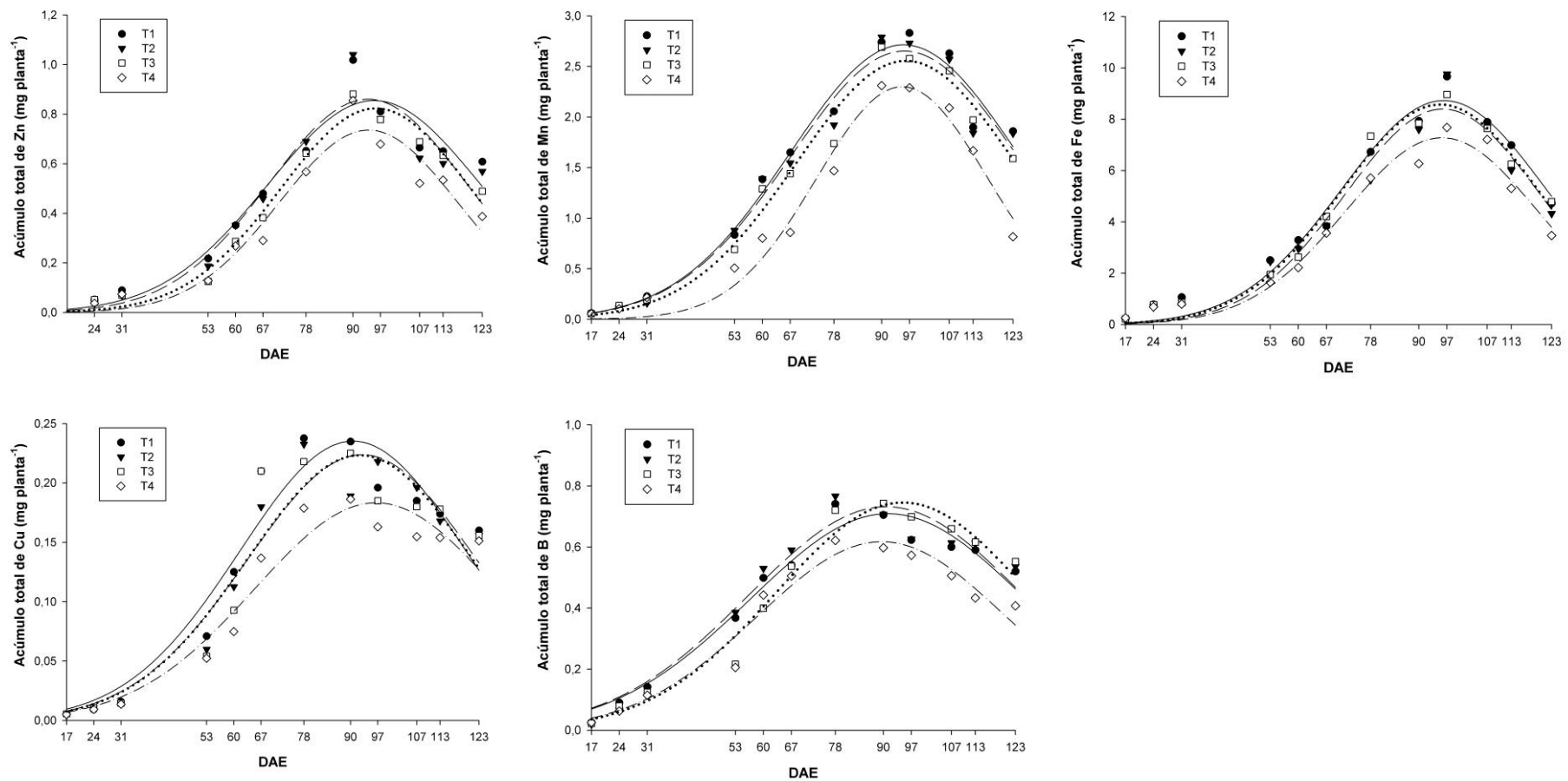
**Figura 1.** Acúmulo de matéria seca total e de grãos de soja em função do tempo e diferentes tratamentos. T1 = BRS 184 + capina manual, T2 = BRS 184 + herbicida seletivo, T3 = BRS 243 RR + capina manual, T4 = BRS 243 RR + glyphosate;



**Figura 2.** Área foliar da soja em função do tempo e diferentes tratamentos. T1 = soja convencional + capina; T2 = soja concencional + herbicida seletivo; T3 = soja transgênica + capina; T4 = soja transgênica + herbicida glyphosate



**Figura 3.** Acúmulo de macronutrientes em função do tempo e diferentes tratamentos. T1 = BRS 184 + capina manual, T2 = BRS 184 + herbicida seletivo, T3 = BRS 243 RR + capina manual, T4 = BRS 243 RR + glyphosate;



**Figura 4.** Acúmulo de micronutrientes em função do tempo e diferentes tratamentos. T1 = BRS 184 + capina manual, T2 = BRS 184 + herbicida seletivo, T3 = BRS 243 RR + capina manual, T4 = BRS 243 RR + glyphosate;

## **7. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

As injúrias visuais observadas em variedades de soja RR e RR2 após a aplicação de glyphosate devem-se à diminuição dos parâmetros fotossintéticos causados pelo dano direto ao cloroplasto associado à quelatização de importantes cátions requeridos para a formação da clorofila e fotossíntese. Reduções na fotossíntese causadas pelo glyphosate em soja RR levam à menor absorção e eficiência do uso da água, com consequente redução na absorção, acúmulo de nutrientes e biomassa. A eficiência do uso da água na cultivar precoce BRS242RR foi extremamente afetada pelas aplicações de glyphosate.

Os efeitos negativos do glyphosate são proporcionais às doses aplicadas e pronunciados com aplicações mais tardias em relação a aplicações mais precoces. Tais constatações podem levar à adequação das recomendações relacionadas à soja RR e RR2, tanto com relação às épocas de aplicação do glyphosate quanto como de eventuais especificidades em relação à nutrição mineral destas plantas.