

FLÁVIA REGINA DA COSTA

**SELETIVIDADE E SEGURANÇA ALIMENTAR DO USO DE GLUFOSINATE E
GLYPHOSATE EM MILHO TRANSGÊNICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação de
Produção Vegetal da Universidade do Estado de Santa
Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de
Doutora em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Bianco de Carvalho

**LAGES
2018**

Ficha catalográfica elaborada pelo(a) autor(a), com auxílio
do programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UDESC

Costa, Flávia Regina da
Seletividade e segurança alimentar do uso de
glufosinate e glyphosate em milho transgênico /
Flávia Regina da Costa. - Lages, 2018.
81 p.

Orientador: Leonardo Bianco de Carvalho
Tese (Doutorado) - Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias,
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Lages,
2018.

1. Zea mays. 2. Resistência de herbicidas. 3.
Nutrição mineral. 4. Qualidade de grãos. I. de
Carvalho, Leonardo Bianco. II. Universidade do Estado
de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação.
III. Título.

FLÁVIA REGINA DA COSTA

**SELETIVIDADE E SEGURANÇA ALIMENTAR DO USO DE GLUFOSINATE E
GLYPHOSATE EM MILHO TRANSGÊNICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação do curso de Doutorado em Produção Vegetal, do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Produção Vegetal.

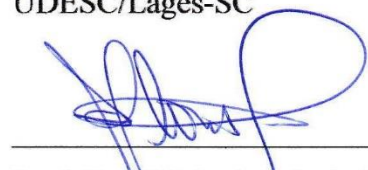
Banca examinadora:

Orientador:

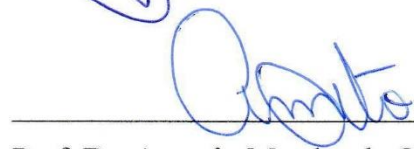


Prof. Dr. Leonardo Bianco de Carvalho
UDESC/Lages-SC

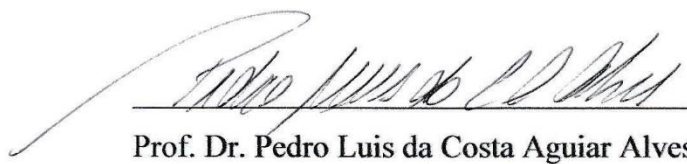
Membros:



Prof. Dr. Clóvis Arruda de Souza
UDESC/Lages-SC



Prof. Dr. Antonio Mendes de Oliveira Neto
IFC/Rio do Sul-SC



Prof. Dr. Pedro Luis da Costa Aguiar Alves
UNESP/Jaboticabal-SP



Dra. Mariluce Pascoina Nepomuceno
UNESP/Jaboticabal-SP

Lages, SC, 31 de julho de 2018.

À minha família, dedico!

AGRADECIMENTOS

À Deus, primeiramente, por ter me dado a vida, sabedoria e inteligência para alcançar meus objetivos.

À minha família, em especial minha mãe Patrícia Regina Pereira, minha irmã Paula Regina da Costa, que sempre me apoiaram e me ajudaram de todas as formas.

Ao meu “namorado” Diego de Souza Pires, que me ajudou nas horas de nervosismo e ansiedade. Me ensinou como ser forte e seguir em frente, mostrando que é possível realizarmos nossos sonhos. Me fez companhia dando todo o seu amor e carinho, te amo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Leonardo Bianco de Carvalho agradeço pela oportunidade e confiança, pela orientação, amizade, dedicação e paciência durante os ensinamentos científicos, além de incentivar-me sempre. Contigo aprendi que a palavra calma tem o poder de clarear os pensamentos e ações. Aprendi também que distância é relativa.

Obrigada minhas amigas Priscilla Félix Schneider e Jussara Cristina Stinghen. Vocês foram essenciais para que esse trabalho fosse concluído, obrigada pelo apoio, paciência em ouvir meus lamentos, parceria e troca de conhecimento.

Thiago e Gesieli: com vocês vivi o melhor do trabalho em equipe. Obrigada pela ajuda dentro e fora do laboratório. Vocês faziam o trabalho duro se tornar divertido.

Aos meus demais amigos: aqueles de infância, os vizinhos, os companheiros de sala de aula, obrigada por cada momento que passamos juntos, que estudamos juntos, cada dia foi importante para que eu chegasse aonde eu cheguei.

A todos os professores que contribuíram para que eu chegasse até aqui.

A todos os professores e colegas de pós-graduação que cederam seu tempo e laboratórios para que eu pudesse concluir minhas análises. Sem a contribuição de vocês não chegaria até aqui.

Ao Governo do Estado de Santa Catarina pela concessão da bolsa de estudos.

Ao CNPq, que disponibilizou os recursos para a execução do projeto através da Chamada Universal – Mcti/CNPq Nº 14/2014.

À Universidade do Estado de Santa Catarina, em especial ao Centro de Ciências Agroveterinárias por me acolher desde minha graduação e mestrado, proporcionando novas oportunidades e novas experiências.

Àqueles que involuntariamente omiti, muito obrigada! Saibam que cada um que passou pela minha vida foi importante e contribuiu para o meu crescimento profissional e principalmente o pessoal. Levaram um pouco de mim e deixaram um pouco de si. Gratidão.

“Sempre que houver alternativas, tenha cuidado. Não opte pelo conveniente, pelo confortável, pelo respeitável, pelo socialmente aceitável, pelo honroso. Opte pelo que faz o seu coração vibrar. Opte pelo que gostaria de fazer, apesar de todas as consequências.”

OSHO

RESUMO

Costa, Flávia Regina da. **Seletividade e segurança alimentar do uso de glufosinate e glyphosate em milho transgênico**. 2018. 81 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal – Área: Proteção de Plantas e Agroecologia) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, Lages, 2018.

Existe controvérsia a respeito do prejuízo causado pelo uso de herbicidas em culturas transgênicas resistentes a herbicidas. Além disso, o frequente uso de agrotóxicos na produção agrícola e a consequente presença de resíduos nos alimentos têm sido alvos de preocupação no âmbito da saúde pública. A maioria das informações sobre este tópico foi sobre soja resistente ao glyphosate e com escassez sobre milho resistente a glyphosate (GR) e resistente ao glufosinate (GluR). O objetivo deste trabalho foi analisar plantas de milho transgênico, com resistência aos herbicidas glyphosate e glufosinate, no que se refere aos efeitos causados pelos herbicidas quanto ao crescimento das plantas e produtividade, macro e micronutrientes, qualidade e resíduos dos grãos. O híbrido P30F53YHR de milho GR mais GluR foi avaliado a campo para os efeitos de glyphosate e glufosinate quanto ao crescimento (altura, número inicial de folhas e altura de inserção da espiga), teor de macro e micronutrientes nas folhas (N, P, K, Ca, Mg, S, Mn, Fe, Cu e Zn), rendimento (número de fileiras de grãos por espiga, massa de mil grãos), produtividade, qualidade dos grãos de milho (amido, proteínas, lipídeos e carotenoides) e seus resíduos. Os tratamentos foram: controle – sem aplicação de herbicidas; 980 g e.a. ha⁻¹ glyphosate aplicados aos 21 dias após a emergência (DAE); 600 g i.a ha⁻¹ glufosinate aplicado aos 21 DAE; aplicações sequenciais de glyphosate: 520 e 980 g de e.a ha⁻¹ aos 14 e 28 DAE, respectivamente; aplicações sequenciais de glufosinate a 300 e 300 g i.a ha⁻¹ aos 14 e 28 DAE, respectivamente; e aplicação sequencial de glyphosate (980 g e.a. ha⁻¹) e glufosinate (600 g i.a. ha⁻¹) aos 14 e 28 DAE, respectivamente. Nenhum dos tratamentos herbicidas afetou o crescimento, produtividade ou conteúdo de N, P, K, Ca, Mg, S, Mn, Fe, Cu ou Zn nas plantas de milho. Nos grãos produzidos, nenhum resíduo do herbicida glufosinate foi encontrado, enquanto o glyphosate foi encontrado (0,12 mg kg⁻¹) apenas no tratamento com aplicação sequencial, mas o que não afetou a qualidade dos grãos.

Palavras-chave: *Zea mays*. Resistência de herbicidas. Nutrição mineral. Qualidade de grãos.

ABSTRACT

COSTA, Flávia Regina da. **Selectivity and food safety of using glufosinate and glyphosate in transgenic maize.** 2018. 81 f. Thesis (Doctorate in Plant Production – Area: Plant Protection and Agroecology) –Santa Catarina State University. Postgraduate Program in Plant Production, Lages, 2018.

There is controversy over the damage caused by the use of herbicides in herbicide resistant transgenic crops. Besides that, the frequent use of agrochemicals in agricultural production and the consequent presence of residues in food have been a concern in public health. Most of the data on this topic were on glyphosate resistant soybean (GR) and with little information available on GR and glufosinate resistant maize (GluR). The aim of this work was to analyze transgenic maize plants with resistance to herbicides glyphosate and glufosinate, regarding the effects caused by herbicides on plant growth and yield, mineral nutrition, quality and grain residues under field conditions. The P30F53YHR hybrid of GR corn plus GluR was evaluated for the effects of glyphosate and glufosinate on growth (height, initial leaf number and ear insertion height), macro and micronutrient content in leaves (N, P, K, Ca, Mg, S, Mn, Fe, Cu and Zn), yield (number of rows of grains per spike, mass of one thousand grains), yield, quality of corn grains (starch, proteins, lipids and carotenoids) and their residues. The treatments were: herbicide-free control; 980 g a.e. ha⁻¹ glyphosate at 21 days after emergence (AED); 600 g a.i. ha⁻¹ glufosinate at 21 DAE; sequential glyphosate applications: 520 and 980 g a.e. ha⁻¹ at 14 and 28 DAE, respectively; sequential applications of glufosinate at 300 and 300 g a.i. ha⁻¹ at 14 and 28 DAE, respectively; and sequential application of glyphosate (980 g a. e. ha⁻¹) and glufosinate (600 g a.i. ha⁻¹) at 14 and 28 DAE, respectively. None of the herbicidal treatments affected the growth, production or content of N, P, K, Ca, Mg, S, Mn, Fe, Cu or Zn in corn plants. In grain of field-grown plants, no glufosinate was found and glyphosate (0.12 mg kg⁻¹) was only found in the sequential glyphosate treatment, but that did not affect the quality of the grains.

Keywords: *Zea mays*. Herbicide resistance. Plant mineral nutrition. Grain quality.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características químicas do solo da área experimental campus CAV/UDESC, Lages- SC, no ano agrícola 2015/16.....	47
Tabela 2 – Características de crescimento em milho transgênico submetido a tratamentos com glyphosate e glufosinate.	56
Tabela 3 – Características de rendimento e produtividade em milho transgênico submetido a tratamentos com glyphosate e glufosinate.	57
Tabela 4 – Teor foliar de macronutrientes no estágio de embonecamento de milho transgênico submetido a tratamentos com glyphosate e glufosinate.	58
Tabela 5 – Teor foliar de micronutrientes no estágio de embonecamento de milho transgênico submetido a tratamentos com glyphosate e glufosinate.	60
Tabela 6 – Características de qualidade de grãos de milho transgênico submetido a tratamentos com glyphosate e glufosinate.	61
Tabela 7 – Resíduos de glyphosate e glufosinate em grãos de milho transgênico submetido a tratamentos com glyphosate e glufosinate.	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	porcentagem
<	menor que
>	maior que
±	mais ou menos
®	marca registrada
µm	micrometro
µm g ⁻¹	micrometro por grama
¹⁴ C	Carbono marcado
ADP	Adenosina difosfato
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
ATP	Adenosina trifosfato
B	Boro
Ca	Cálcio
CAV/UDESC	Centro de Ciências Agroveterinárias/Universidade do Estado de Santa Catarina
CCPR	Comitê de Resíduos de Pesticidas em Alimentos
Cfb	Clima temperado úmido com verão temperado
CIRAM	Centro de Informações de Recursos Ambientais e de Hidrologia de Santa Catarina
Cl	Cloro
cm	centímetro
cmol dm ⁻³	centimol por decímetro cúbico
CO ₂	Dióxido de carbono
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
Cu	Cobre
DAE	Dias após emergência
DL ₅₀	Dose letal 50%
DNA	Ácido desoxirribonucleico
e.a	equivalente ácido
EPAGRI	Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina

EPSPS	5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase
EU	European Commission
EUA	Estados Unidos da América
EUCP	EU- Coordinated Control Program
FAO	Food and Agricultural Organization
FCAV/UNESP	Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Universidade Estadual Paulista
Fe	Ferro
g	grama
g e.a ha ⁻¹	grama de equivalente ácido por hectare
g e.a kg ⁻¹	grama de equivalente ácido por quilograma
g i.a ha ⁻¹	grama de ingrediente ativo por hectare
g kg ⁻¹	grama por quilograma
g L ⁻¹	grama por litro
GD	graus-dia
GOGAT	glutamato sintetase
GS	glutamina sintetase
GS1	glutamina sintetase citosólica
GS2	glutamina sintetase plastídica
H ⁺	íon hidrogênio
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
IDA	Ingestão Diária Aceitável
IN	Instrução Normativa
K	Potássio
kg	quilograma
kg ha ⁻¹	quilograma por hectare
KPa	quilo pascal
L	litro
L ha ⁻¹	litro por hectare
LAS	Laboratório de Análise de Sementes
LMR	Limite Máximo de Resíduo
m	metro

M	Mol
Mg	Magnésio
mg	miligrama
mg dm ⁻³	miligrama por decímetro cúbico
mg kg ⁻¹	miligrama por quilo
mL	mililitro
mm	milímetro
Mn	Manganês
Mo	Molibdênio
N	Nitrogênio
NaOH	Hidróxido de sódio
NH ₃ ⁺	amônia
nº	número
N-P-K	Nitrogênio-Fósforo-Potássio
µg g ⁻¹	micrograma por grama
° ' "	graus, minutos e segundos
°C	graus Celsius
P	Fósforo
PARA	Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos
PDP	Pesticide Data Program
PEP	fosfoenolpiruvato
pH	Potencial hidrogeniônico
Pi	Fósforo inorgânico
ppm	partes por milhão
RAS	Regras para Análise de Sementes
S	Enxofre
S3P	chiquimato-3-fosfato
Tb	temperatura base
t ha ⁻¹	toneladas por hectare
Tmáx	temperatura máxima
Tmín	temperatura mínima
un	unidade
USDA	United States Department of Agriculture

WHO

World Health Organization

Zn

Zinco

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	23
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	25
2.1	A CULTURA DO MILHO.....	25
2.1.1	Escala fenológica.....	26
2.1.1.1	<i>Estádios vegetativos.....</i>	26
2.1.1.2	<i>Estádios reprodutivos.....</i>	27
2.1.2	Os grãos de milho.....	28
2.1.3	Importância dos nutrientes na planta de milho.....	30
2.2	EVENTOS TRANSGÊNICOS PARA RESISTÊNCIA A HERBICIDAS NA CULTURA DO MILHO NO BRASIL.....	31
2.3	O HERBICIDA GLYPHOSATE.....	37
2.4	O HERBICIDA GLUFOSINATE.....	39
2.5	IMPACTO DOS HERBICIDAS NO DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS TRANSGÊNICAS.....	40
2.6	RESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS.....	42
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	45
3.1	IMPLANTAÇÃO EXPERIMENTAL.....	46
3.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	48
3.3	TRATAMENTOS FITOSSANITÁRIOS.....	49
3.4	AVALIAÇÕES.....	49
3.4.1	Crescimento.....	49
3.4.2	Componentes do rendimento e produtividade.....	49
3.4.3	Teores de macro e micronutrientes nas folhas.....	50
3.4.4	Qualidade dos grãos.....	50
3.4.4.1	<i>Amido.....</i>	51
3.4.4.2	<i>Lipídeos (Extrato etéreo).....</i>	52
3.4.4.3	<i>Proteínas.....</i>	52
3.4.4.4	<i>Carotenoides.....</i>	53
3.4.5	Resíduo dos herbicidas.....	54
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	54
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
5	CONCLUSÕES.....	65
	REFERÊNCIAS.....	67

1 INTRODUÇÃO

Para suprir a demanda alimentar da população, que é crescente, é essencial investir no aumento da produtividade nas áreas agrícolas, resolver problemas socioambientais, aumentar a renda do produtor rural, elevar a oferta de alimentos e consequentemente provocar o equilíbrio dos preços. Tudo isso utilizando as áreas já agricultáveis, tornando-as mais produtivas (CURY, 2015).

A biotecnologia como aliada, proporciona o aumento qualitativo e quantitativo do que é produzido anualmente para atender à crescente demanda por alimento no mundo (MELHORANÇA FILHO et al., 2010). Com o conhecimento e domínio das técnicas relacionadas à biotecnologia, puderam-se gerar plantas com determinadas características, inclusive de espécies diferentes, com maior rapidez e adquiridas de maneira mais específica, diminuindo o número de características indesejáveis (FRIZZAS, 2003). Destas técnicas, surgiram as plantas denominadas transgênicas ou geneticamente modificadas que carregam, em seu genoma, a adição de DNA oriundo de uma fonte diferente do germoplasma paternal inseridos por diferentes técnicas (SOBRAL, 2003).

O cultivo de culturas transgênicas resistentes a herbicidas tem sido uma das principais preocupações no que se refere aos possíveis efeitos desses produtos sobre o desenvolvimento e qualidade do produto colhido, incluindo resíduos nos grãos (NODARI; GUERRA, 2003). No Brasil, estão disponíveis mais de 200 cultivares de milho transgênico (CRUZ et al., 2015), os quais podem conter tecnologias de resistência separadamente ou associadas na mesma planta, como por exemplo a resistência a herbicidas, como o glyphosate e o glufosinate.

A possibilidade do uso dos herbicidas glyphosate e glufosinate, aplicados em pós-emergência da cultura, representa uma nova alternativa de controle das plantas daninhas em função da eficiência e viabilidade econômica, características essenciais no conceito de praticabilidade (GAZZIERO; PRETE, 2004), desde que seja utilizada como parte de um manejo integrado, alternando-a com outras práticas já existentes (REDDY, 2001; BERTRAM; PEDERSEN, 2004). Existem diversas espécies com materiais transgênicos resistentes a herbicidas como a soja, canola, algodão, arroz e o milho (MONQUERO, 2005).

Apesar dos materiais transgênicos oferecerem vantagens, pouco se conhece sobre o impacto que a aplicação desses herbicidas gera na cultura do milho e como este vai influenciar o mercado de grãos (ALVES et al., 2015). Na cultura da soja os resultados são contraditórios (BOTT et al., 2008; ANDRADE; ROSOLEM, 2011) e não retratam sobre a qualidade final do produto colhido, no caso, os grãos.

Como as informações científicas são escassas ou contraditórias a respeito do impacto desses herbicidas sob a nutrição e a qualidade dos grãos de milho com as tecnologias de resistência aos herbicidas glyphosate e glufosinate, separadas ou associadas, tampouco de resíduo desses produtos nos grãos, é evidente a importância de se estudar os efeitos desses herbicidas em milho transgênico resistente a esses herbicidas para garantir a qualidade do produto a ser consumido.

O objetivo foi estudar o impacto da aplicação de glyphosate e glufosinate sobre o crescimento, a produtividade, teor de macro e micronutrientes nas folhas, a qualidade dos grãos e a presença de resíduo dos herbicidas em grãos de milho resistente a ambos os herbicidas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A CULTURA DO MILHO

O milho (*Zea mays* L.) pertence à família Poaceae e representa um dos principais cereais cultivados em todo o mundo, sendo fonte alimentar para seres humanos e animais, fornecendo produtos para diversos setores, incluindo matérias-primas para a indústria (GONÇALVES et al., 2003; CASSMAN et al., 2003; DOURADO NETO et al., 2004). No início de seu cultivo, o milho era utilizado basicamente para a subsistência humana. Com o passar do tempo foi ganhando importância e transformou-se no principal insumo para a produção de aves e suínos, além de sua importância estratégica para a segurança alimentar do brasileiro ao longo das últimas décadas (SENAR, 2016).

O Brasil, no ano de 2016, encontrava-se na terceira colocação quando se refere aos maiores produtores mundiais, ficando atrás dos Estados Unidos da América - EUA (primeiro maior produtor) e China (segundo maior produtor). O total produzido pelo Brasil nas duas safras 2015/16 foi de 66,979 milhões de toneladas, contra 345,486 dos EUA e 224,580 milhões de toneladas da China (USDA, 2016). Segundo a CONAB (2016), a área com milho de primeira safra 2015/16 apresentou redução de 12,3%, atingindo aproximadamente 5,4 milhões de hectares, quando comparada com a safra anterior, que totalizou 6,2 milhões de hectares. A produção do cereal atingiu 25,8 milhões de toneladas, representando decréscimo de 14,1% em relação ao volume alcançado no exercício anterior. O Estado de Santa Catarina na mesma safra de 2015/16, produziu 2,712 milhões de toneladas, obtendo uma produtividade média de 7.330 kg ha⁻¹, a qual é superior à média nacional que foi de 4.207 kg ha⁻¹.

O milho é uma planta anual de ciclo vegetativo variado, evidenciando desde cultivares extremamente precoces, até mesmo aqueles cujo ciclo pode atingir 300 dias. Porém, nas condições brasileiras, a cultura do milho apresenta ciclo que varia de 110 a 180 dias de acordo com a classificação dos cultivares em superprecoce, precoce ou normal (período compreendido entre a emergência e o florescimento) (FORNASIERI FILHO, 2007).

Por apresentar grande extensão territorial, o Brasil proporciona à cultura do milho ser produzida em duas épocas de cultivo. Pois essa cultura pode ser cultivada desde as latitudes de 58° Norte (Rússia e Canadá) até 40° Sul (Argentina), em localidades situadas abaixo do nível do mar (região do Mar Cáspio) até regiões com mais de 2.500 m de altitude (Andes peruanos) (FANCELLI; DOURADO NETO, 2004).

O cultivo de safra pode iniciar com semeadura no final de julho e se estender até meados de janeiro, dependendo das características climáticas e da região a ser cultivada. O cultivo de safrinha é semeado entre meados de janeiro a meados de março (SANGOI et al., 2007). O cultivo do milho safrinha é mais realizado nas regiões Sudeste e Centro-Oeste do Brasil (CRUZ et al., 2010).

2.1.1 Escala fenológica

De acordo com Ritchie, Hanwey e Benson (1993) a escala fenológica é dividida em duas partes: o estágio vegetativo e o reprodutivo. A cada folha totalmente expandida corresponde um estágio vegetativo. A letra V representa os estádios vegetativos juntamente com um algarismo que corresponde ao número de folhas totalmente expandidas. Uma folha é considerada expandida quando ela apresenta a região do colar, que separa a bainha da lâmina foliar, totalmente visível. Assim, é possível visualizar as aurículas e a lígula na região do colar (SANGOI et al., 2007). Os estádios reprodutivos são representados pela letra R e um algarismo correspondente à sequência dos mesmos estádios da escala de Hanway (1963).

2.1.1.1 Estádios vegetativos

- a) VE – emergência da cultura. Este estágio é atingido quando o coleóptilo atinge a superfície do solo e se torna visível;
- b) V3 – três folhas expandidas. Neste estágio todos os nós e entrenós encontram-se comprimidos na base do colmo e o meristema apical situa-se abaixo da superfície do solo;
- c) V6 – seis folhas expandidas. Neste estágio o meristema apical já se transformou no primórdio floral da inflorescência masculina que dará origem ao pendão, encontrando-se acima da superfície do solo. Tem início um período de grande expansão de entrenós a partir do quinto nó na base do colmo. Já podem ter ocorrido a degeneração e perda das duas folhas mais baixas;
- d) V9 – nove folhas expandidas. Neste estágio o pendão começa a se desenvolver rapidamente e o colmo continua em rápida elongação. A gema localizada entre o quinto e sétimo nó abaixo do meristema apical está sendo diferenciada num primórdio de espiga, iniciando o desenvolvimento da inflorescência feminina;

- e) V12 – doze folhas expandidas. Neste estágio a gema axilar que dará origem a espiga (inflorescência feminina) inicia a fase de expansão longitudinal e o número de espiguetas por fileira está sendo determinado. É um período importante para a definição do número de óvulos em cada espiga. Neste momento a planta pode ter perdido de duas a quatro das folhas inferiores;
- f) V15 – quinze folhas expandidas. Neste estágio o número potencial óvulos já está praticamente definido e os estilo-estigmas estão iniciando seu crescimento na inflorescência feminina, começando o período mais crítico do desenvolvimento da planta para a determinação do rendimento de grãos;
- g) V18 – dezoito folhas expandidas. Neste momento o crescimento dos estilo-estigmas ocorre rapidamente, assim como a expansão do ráquis (futuro sabugo) e do ramo lateral cuja extremidade a espiga se desenvolve. A inflorescência feminina de inserção superior já cresceu o suficiente para que sua ponta seja visível na parte superior das bainhas foliares que a circundam;
- h) VT – pendoamento. Tem seu início quando o último ramo do pendão está completamente visível acima da folha bandeira e os estilo-estigmas ainda não emergiram.

2.1.1.2 *Estádios reprodutivos*

- a) R1- espigamento. Este estágio inicia quando os estilo-estigmas são exteriorizados das brácteas da espiga. Neste período é determinado o número de óvulos que serão fertilizados;
- b) R2 – grãos em forma de bolha. Os grãos apresentam coloração esbranquiçada, alto teor de água e baixa concentração de açúcares;
- c) R3 – grãos leitosos. É a fase em que os grãos contêm o máximo teor de açúcares solúveis, apresentando sabor e textura adequados para a colheita de milho verde. Neste momento, há um rápido crescimento do embrião que pode ser visualizado pela dissecação do grão. Os estilo-estigmas estão secos e apresentam coloração marrom;
- d) R4 – grão pastoso. Neste estágio há redução do conteúdo de água e aumento no teor de sólidos nos grãos, dando aos grãos uma consistência de massa. Os açúcares solúveis que tinham se acumulado até R3 são gradativamente transformados em amido. Os grãos já acumularam aproximadamente metade da massa final apresentada na maturação;

- e) R5 – estágio de formação do dente (para milhos dentados e farináceo-duros). É caracterizado pela formação de uma depressão na coroa dos grãos de híbridos dentados. Os grãos apresentam grande acúmulo de amido e acentuada perda de umidade;
- f) R6 – maturação fisiológica. Este estágio é atingido quando os grãos estão com seu máximo peso seco. Há a formação de uma camada preta logo abaixo do ponto de inserção do grão com o sabugo da espiga;

2.1.2 Os grãos de milho

Os grãos de milho são denominados botanicamente por cariopse. São formados por quatro principais estruturas (Figura 1): pericarpo ou casca, endosperma, embrião ou gérmen e pedicelo ou ponta, as quais diferem em composição química e também na organização dentro do grão (PAES, 2006). São ricos em energia e sua composição sofre variação de acordo com o material genético, tipo de solo, nível de adubação, condições climáticas e estágio de maturação da planta (PATERNIANI; VIEGAS, 1987; GOMES et al., 2004).

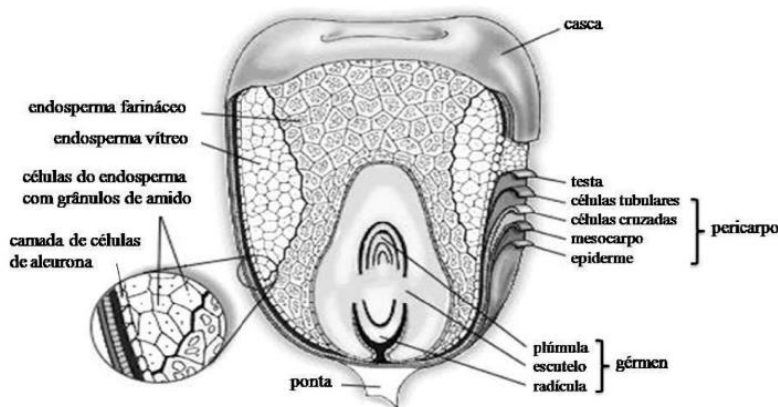
Os grãos do milho são, geralmente, amarelos ou brancos, podendo apresentar colorações variando desde o preto até o vermelho. O peso individual do grão varia, em média, de 250 a 300 mg e sua composição média em base seca é 72% de amido, 9,5% proteínas, 9% fibra (a maioria resíduo detergente neutro) e 4% de óleo (PAES, 2006). Carvalho e Nakagawa (2000) sugerem que a composição química média do grão inteiro de milho seco indicado nas estruturas físicas específicas do grão seja de 71,5% de amido, 10,30% de proteína, 4,8% de óleo, 1,97% de açúcar e 1,44% de cinza.

Desde setembro de 2013, através da Instrução Normativa (IN) nº 60 de 22/12/2011 Brasil (2011), o Ministério da Agricultura estabeleceu que o milho seja classificado baseado na consistência e formato do grão, em quatro grupos: duro, dentado, semiduro e misturado.

O grão é duro quando apresentar o mínimo de 85% em peso de grãos com as características de duro, ou seja, apresentando endosperma predominantemente córneo, exibindo aspecto vítreo; quanto ao formato, considera-se duro o grão que se apresentar predominantemente ovalado e com a coroa convexa e lisa. O grão é dentado quando apresentar o mínimo de 85% em peso de grãos com as características de dentado, ou seja, com consistência parcial ou totalmente farinácea; quanto ao formato, considera-se dentado o grão que se apresentar predominantemente dentado com a coroa apresentando uma reentrância acentuada.

O grão é semiduro quando apresentar o mínimo de 85% em peso de grãos com consistência e formato intermediários entre duro e dentado. E grão misturado, quando não estiver compreendido nos grupos anteriores, especificando-se no documento de classificação as percentagens da mistura de outros grupos (BRASIL, 2011).

Figura 1 – Composição física do grão de milho.



Fonte: Google Imagens, 2018.

O pedicelo, ou ponta, é a menor estrutura do grão e a única não coberta pelo pericarpo. É o responsável pela ligação do grão ao sabugo e é composto basicamente de material proteico, não exercendo influência na qualidade final do grão (CARVALHO E NAKAGAWA, 2000).

De acordo com Paes (2006), o endosperma representa aproximadamente 83% do peso seco do grão, consistindo principalmente de amido, organizado na forma de grânulos. No endosperma estão também presentes as proteínas de reserva, chamadas zeínas. Essas proteínas formam os corpos proteicos que compõem a matriz que envolve os grânulos de amido dentro das células no endosperma. Com base na distribuição dos grânulos de amido e da matriz de proteína, o endosperma é classificado em dois tipos: farináceo e vítreo. No endosperma farináceo, os grânulos de amido são arredondados e estão dispersos, não havendo matriz proteica circundando essas estruturas, resultando em espaços vagos durante o processo de secagem do grão. Por outro lado, no endosperma vítreo, a matriz proteica é densa, com corpos proteicos estruturados, que circundam os grânulos de amido de formato poligonal, não permitindo espaços entre estas estruturas. A denominação vítreo/farináceo refere-se ao aspecto dos endospermas nos grãos quando sujeitos à luz.

Ainda no endosperma, especificamente, na camada de aleurona e no endosperma vítreo, a mesma autora diz que estão presentes os carotenoides, substâncias lipídicas que conferem a

cor aos grãos de milho. Zeaxantina, luteína, betacriptoxantina, alfa e beta carotenos são os principais carotenoides nos grãos de milho.

O gérmen ou embrião compõe a fração viva do grão, dispõe de todo o aparato enzimático necessário para promover a degradação e o transporte de suas próprias substâncias de reserva, para nutrir o crescimento do eixo embrionário durante o processo de germinação (SILVA; CORRÊA, 2008). Concentra quase a totalidade dos lipídeos (óleo e vitamina E) (83%) e dos minerais (78%) do grão, além de conter quantidades importantes de proteínas (26%) e açúcares (70%) (PAES, 2006).

2.1.3 Importância dos nutrientes na planta de milho

O fornecimento adequado de nutrientes às culturas é de suma importância para que seu crescimento e desenvolvimento sejam otimizados e sejam alcançadas altas produtividades.

Os macronutrientes nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) (também chamados de nutrientes principais) são absorvidos pela planta em maior proporção que os micronutrientes boro (B), zinco (Zn), cobre (Cu), ferro (Fe), molibdênio (Mo), cloro (Cl) e manganês (Mn) (também chamados de elementos traço) (RONQUIM, 2010).

A Lei do "Fator Mínimo" formulada por Von Liebig (1840), menciona que a produtividade de qualquer cultura é governada por qualquer mudança na quantidade e qualidade do fator escasso, chamado de fator mínimo, e a medida que o fator mínimo é aumentado, a produtividade também aumenta na proporção da oferta daquele fator até outro fator se tornar mínimo. No entanto, o rendimento não é limitado somente por uma substância mineral. Para a planta atingir um bom desenvolvimento, os nutrientes devem estar disponíveis em quantidades suficientes, mas também devem ser absorvidos em proporções balanceadas (RONQUIM, 2010).

A cultura do milho é altamente exigente em fertilizantes químicos, principalmente os nitrogenados (COELHO et al., 2012). O suprimento inadequado de nitrogênio é considerado um dos principais fatores limitantes ao rendimento de grãos do milho, devido ao N exercer importante função nos processos bioquímicos da planta (TAIZ; ZEIGER, 2013). Já que são constituintes das proteínas, enzimas, coenzimas, ácidos nucleicos e clorofila (FORNASIERI FILHO, 2007). Ferreira et al. (2001), relatam que o N é responsável por melhorar consideravelmente os teores de proteína do grão, interferindo diretamente na sua produtividade e qualidade.

Gonçalves Junior et al. (2007) concluíram que a cultura do milho necessita de cuidados especiais, principalmente de adubação, que contenham nutrientes que o solo não disponibiliza em quantidade suficiente, principalmente N, P, K e Zn que são os nutrientes essenciais para o desenvolvimento da planta.

Almeida et al. (2016) afirmam que o fósforo (P) é um elemento de grande importância, participando de vários processos metabólicos nas plantas. Este elemento desempenha um importante papel nas plantas, uma vez que está fortemente ligado a inúmeros processos metabólicos, atuando também na constituição do ATP (adenosina trifosfato), do DNA e de enzimas, como a fosforilase. Visto que o principal papel do P na fisiologia da planta, é fornecer energia para reações biossintéticas e para o metabolismo vegetal (FABRICE et al., 2015; SFREDO, 2008).

Nos grãos, a ordem de remoção desses nutrientes é bastante alterada. O fósforo é quase todo translocado para os grãos (80%), seguido do nitrogênio (68%), enxofre (58%), magnésio (26%), potássio (20%) e cálcio (4%) (VEDOVATO; FINAMORE, 2016).

Quanto aos micronutrientes, é interessante observar as pequenas quantidades dos elementos para a manutenção da cultura. Entretanto, sua falta poderá acarretar sérios prejuízos à produção (CRUZ, 1993).

Para o milho, a folha inteira oposta e abaixo da espiga superior, excluída a nervura central, coletada por ocasião do aparecimento da inflorescência feminina (embonecamento) é comumente utilizada para avaliar o estado nutricional dessa cultura. A análise nesse estágio fisiológico é feita pelos seguintes motivos: a) o estágio de desenvolvimento e a posição da folha são facilmente reconhecidos; b) a remoção de uma folha não afeta a produção; e) o efeito de diluição dos nutrientes nessa fase é mínimo, porque o potencial de crescimento e armazenamento dos órgãos vegetativos atingiram o ponto máximo e, d) o requerimento de nutrientes é alto nessa fase (COELHO; FRANÇA, 1995).

2.2 EVENTOS TRANSGÊNICOS PARA RESISTÊNCIA A HERBICIDAS NA CULTURA DO MILHO NO BRASIL

O aumento do rendimento de grãos de milho por área tem acontecido graças ao avanço tecnológico proporcionado pelo desenvolvimento de cultivares com genética superior. Dentre as cultivares transgênicas, há uma predominância de híbridos simples (CRUZ et al., 2015).

O Conselho de Informações sobre Biotecnologia (CIB) (2018) disponibiliza um banco de dados completo com todos os organismos geneticamente modificados (OGMs) aprovados no Brasil. Os eventos que contém resistência aos herbicidas são:

- 1) T25 (Liberty Link) - milho resistente ao herbicida glufosinate. Foi obtido por meio da introdução do gene *pat*, proveniente da bactéria de solo *Streptomyces viridochromogenes*. A técnica de obtenção foi transformação de protoplastos;
- 2) NK603 (Roundup Ready 2) - Milho resistente ao herbicida glyphosate. Foi obtido por meio da introdução de duas cópias do gene *cp4 epsps* (5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato sintase), proveniente da bactéria de solo *Agrobacterium tumefaciens*. A técnica de obtenção foi transformação por biobalística;
- 3) GA21- TG - milho resistente ao herbicida glyphosate. Foi obtido por meio da introdução de duas cópias do gene *cp4 epsps* (5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato sintase), proveniente da bactéria de solo *Agrobacterium tumefaciens*. A técnica de obtenção foi transformação por biobalística;
- 4) TC1507 (Herculex) - milho resistente a insetos da ordem Lepidóptera e ao herbicida glufosinate. A resistência a insetos é conferida pelo gene *cry1F*, proveniente da bactéria de solo *Bacillus thuringiensis* (Bt). Já o gene *pat* foi isolado de *Streptomyces viridochromogenes* e é responsável pela tolerância ao herbicida. A técnica de obtenção foi transformação por biobalística;
- 5) MON88017 (YieldGard VT Rootworm/RR2) - milho resistente a insetos da ordem Coleóptera e ao herbicida glyphosate. Foi obtido por meio da inserção dos genes *cp4 epsps*, proveniente de *Agrobacterium tumefaciens* e *cry3Bb1*, proveniente da bactéria de solo *Bacillus thuringiensis* (Bt). Os genes conferem, respectivamente, a resistência ao herbicida e aos insetos. A técnica de obtenção foi transformação mediada por *Agrobacterium tumefaciens*;
- 6) MON89034 x MON88017 (Genuity® VT Triple Pro™) - milho resistente a insetos das ordens Lepidóptera e Coleóptera e ao herbicida glyphosate. Foi obtido pelo cruzamento dos eventos MON89034 e MON88017. Reúne os genes que conferem resistência a insetos *cry1A.105*, *cry2Ab2* e *cry3Bb1* (isolados da bactéria de solo *Bacillus thuringiensis* – Bt) e *cp4 epsps*, responsável pela resistência ao glyphosate (proveniente da bactéria *Agrobacterium tumefaciens*);
- 7) TC1507 x DAS-59122-7 (Herculex XTRA™) - milho resistente a insetos das ordens Lepidóptera e Coleóptera e ao herbicida glufosinate. Foi obtido pelo cruzamento dos

- eventos TC1507 e DAS-59122-7. Contém os genes *cry1F*, *cry34Ab1* e *cry35Ab1*, que conferem resistência a insetos (isolados da bactéria de solo *Bacillus thuringiensis* – Bt) e *pat*, proveniente da bactéria *Streptomyces viridochromogene* e confere resistência ao glufosinate;
- 8) DAS-40278-9 (Enlist) - milho resistente a herbicidas à base de ácido diclorofenoxiacético (2,4-D). Foi obtido por meio da introdução do gene *aad-1*, encontrado originalmente na bactéria de solo *Sphingobium herbicidovorans*, responsável pela característica de resistência. A técnica de obtenção foi transformação mediada por fibras whiskers de carbeto de silício;
 - 9) MON810 x NK603 (YieldGard/ RR2) - milho resistente a insetos da ordem Lepidóptera e ao herbicida glyphosate. Foi obtido pelo cruzamento dos eventos MON810 e NK603. O MON810 contém o gene *cry1Ab*, proveniente da bactéria do solo *Bacillus thuringiensis* (Bt), que confere resistência a insetos. O NK603 possui o gene *cp4 epsps*, de *Agrobacterium tumefaciens*, que confere resistência ao herbicida;
 - 10) Bt11 x GA21 (TL/TG) - milho resistente a insetos da ordem Lepidóptera e aos herbicidas glyphosate e glufosinate. Foi obtido pelo cruzamento dos eventos Bt11 e GA21. O primeiro contém o gene *cry1Ab*, proveniente da bactéria de solo *Bacillus thuringiensis* (Bt), responsável pela resistência a insetos, e também o gene *pat*, que confere resistência ao herbicida glufosinate, derivado da *Streptomyces viridochromogenes*. O evento GA21 possui o gene *epsps*, que também confere resistência ao glyphosate;
 - 11) NK603 x TC1507 (Herculex™ I RR) - milho resistente a insetos da ordem Lepidóptera e aos herbicidas glyphosate e glufosinate. Foi obtido pelo cruzamento dos eventos NK603 e TC1507. O NK603 possui o gene *cp4 epsps*, que confere resistência ao glyphosate e é proveniente de *Agrobacterium tumefaciens*. O TC1507 confere resistência a insetos por conter o gene *cry1F*, proveniente da bactéria do solo *Bacillus thuringiensis* (Bt), e resistência ao glufosinate pela expressão do gene *pat*, de *Streptomyces viridochromogenes*;
 - 12) Bt11 x MIR162 x GA21 (Agrisure® Viptera™ 3110 TGTL Viptera) - milho resistente a insetos da ordem Lepidóptera e aos herbicidas glyphosate e glufosinate. Foi obtido pelo cruzamento dos eventos Bt11, MIR162 e GA21. A resistência a insetos e ao glufosinate vêm do Bt11, que contém os genes *cry1Ab* (isolado da bactéria de solo *Bacillus thuringiensis* – Bt) e *pat* (de *Streptomyces viridochromogenes*). O MIR162

também contribui com a resistência a insetos, com a presença do gene *vip3Aa19*. O GA21 é responsável pela tolerância ao glifosato, pela expressão do gene *epsps*;

- 13) MON89034 x NK603 (YieldGard VT Pro 2) - milho resistente a insetos da ordem Lepidóptera e ao herbicida glyphosate. Foi obtido pelo cruzamento dos eventos MON89034 e NK603. O MON89034 possui os genes *cry1A.105* e *cry2Ab2*, provenientes da bactéria do solo *Bacillus thuringiensis* (Bt), que confere resistência a insetos. Já o NK603 possui gene *cp4 epsps*, proveniente de uma cepa de *Agrobacterium tumefaciens*, que confere resistência ao glyphosate;
- 14) MON89034 x TC1507 x NK603 (Power Core) - milho resistente a insetos da ordem Lepidóptera e aos herbicidas glyphosate e glufosinate. Foi obtido pelo cruzamento dos eventos MON89034, TC1507 e NK603. Contém os genes *cry2Ab2*, *cry1A.105* e *cry1F*, provenientes da bactéria do solo *Bacillus thuringiensis* (Bt), que conferem resistência a insetos. O gene *pat* confere resistência ao glufosinate e o *cp4 epsps* ao glyphosate;
- 15) TC1507 x MON810 x NK603 (Optimum Intrasect) - milho resistente a insetos da ordem Lepidóptera e aos herbicidas glyphosate e glufosinate. Foi obtido pelo cruzamento dos eventos TC1507, MON810 e NK603. Contém os genes *cry1F* e *cry1Ab* (isolados da bactéria de solo *Bacillus thuringiensis* – Bt – e conferem resistência a insetos), *pat* (proveniente da bactéria *Streptomyces viridochromogenes*, que confere resistência ao glufosinate) e *cp4 epsps* (de *Agrobacterium tumefaciens*, que confere resistência ao glyphosate);
- 16) TC1507 x MON810 - milho resistente a insetos da ordem Lepidóptera e ao herbicida glufosinate. Foi obtido por meio do cruzamento convencional das linhagens TC1507 e MON810. Contém os genes *cry1F* e *cry1Ab* (isolados da bactéria de solo *Bacillus thuringiensis* – Bt – e que conferem resistência a insetos) e *pat* (proveniente da bactéria *Streptomyces viridochromogenes*, que confere resistência ao glufosinate);
- 17) Bt11 x MIR162 x MIR604 x GA21 (Agrisure® Viptera™ 3111, Agrisure® Viptera™ 4) - milho resistente a insetos das ordens Lepidóptera e Coleóptera e aos herbicidas glyphosate e glufosinate. Foi obtido pelo cruzamento de quatro variedades transgênicas parentais: Bt11, MIR162, MI604 e GA21. Contém os genes *cry1Ab*, *pat*, *vip3Aa*, *mcry3A* e *mepsps*. Os genes *cry1Ab*, *vip3Aa* e *mcry3A* são provenientes da bactéria do solo *Bacillus thuringiensis* (Bt) e são responsáveis pela resistência a insetos. O gene *mepsps* é proveniente de *Agrobacterium tumefaciens* e confere resistência ao glyphosate e o gene *pat* confere resistência ao glufosinate, proveniente da bactéria *Streptomyces viridochromogenes*;

- 18)** NK603 x T25 (Roundup Ready™ Liberty Link™ Maize) - milho resistente aos herbicidas glyphosate e glufosinate. Foi obtido pelo cruzamento entre os eventos NK603 (Roundup Ready 2) e T25 (Liberty Link). Contém os genes *pat*, isolado da bactéria de solo *Streptomyces viridochromogenes*, e *cp4 epsps*, proveniente da bactéria *Agrobacterium tumefaciens*. Os genes conferem resistência ao glufosinate e ao glyphosate, respectivamente;
- 19)** TC1507 x MON810 x MIR162 - milho resistente a insetos da ordem Lepidóptera e ao herbicida glufosinate. Foi obtido pelo cruzamento dos eventos TC1507, MON810 e MIR162. O evento TC1507 contém o gene *cry1F*, que confere resistência a insetos, e o gene *pat*, resistência ao herbicida. O milho MON810, que contém o gene *cry1Ab*, e o milho MIR162, com o gene *vip3Aa20*, também contribuem para a expressão da resistência a insetos. Todos esses genes são provenientes da bactéria do solo *Bacillus thuringiensis* (Bt);
- 20)** TC1507 x MON810 x MIR162 x NK603 - milho resistente a insetos da ordem Lepidóptera e aos herbicidas glyphosate e glufosinate. Foi obtido pelo cruzamento dos eventos TC1507, MON810, MIR162 e N 603. Contém os genes *cry1Fa2*, *cry1Ab* e *vip3Aa20*, isolados da bactéria de solo *Bacillus thuringiensis* (Bt), que conferem resistência a insetos; *pat*, de *Streptomyces viridochromogenes*, que confere resistência ao glufosinate e *cp4 epsps*, de *Agrobacterium tumefaciens*, que confere resistência ao glyphosate;
- 21)** DAS-40278-9 x NK603 - milho resistente aos herbicidas à base de ácido diclorofenoxiacético (2,4-D) e ao glyphosate. Foi obtido pelo cruzamento dos eventos DAS-40278-9 e NK603. Contém os genes *cp4 epsps*, proveniente da bactéria de solo *Agrobacterium tumefaciens*, e *aad-1*, encontrado na bactéria de solo *Sphingobium herbicidovorans*. O primeiro confere resistência ao glyphosate, e o segundo ao 2,4D;
- 22)** Bt11 x MIR162 (Agrisure® Viptera™ 2100) - milho resistente a insetos da ordem Lepidóptera e ao herbicida glyphosate. Foi obtido pelo cruzamento dos eventos Bt11 e MIR162. Contém os genes *pat*, isolado da bactéria do solo *Streptomyces viridochromogenes*, que confere resistência ao herbicida, e os genes *cry1Ab* e *vip3Aa20*, provenientes da bactéria do solo *Bacillus thuringiensis* (Bt), que conferem resistência a insetos;
- 23)** Bt11 x MIR162 x MIR604 x TC1507 x 5307 x GA21 (Agrisure® Duracade™ 5222) - milho resistente a insetos das ordens Lepidóptera e Coleóptera e aos herbicidas glyphosate e glufosinate. Foi obtido pelo cruzamento dos eventos Bt11, MIR162,

- MIR604, TC1507, 5307 e GA21. Contém os genes *ecry3.1Ab*, *mcry3A*, *cry1Ab*, *cry1Fa2* e *vip3Aa20*, isolados da bactéria do solo *Bacillus thuringiensis* (Bt), que conferem resistência a insetos. Também reúne os genes *mepsps* (do milho) e *pat* (de *Streptomyces viridochromogenes*). O primeiro é responsável pela resistência ao glyphosate e o segundo ao glufosinate;
- 24)** MON89034 x TC1507 x NK603 x DAS-40278-9 - milho resistente a insetos das ordens Lepidóptera e Coleóptera e aos herbicidas à base de ácido diclorofenoxiacético (2,4-D), glyphosate e glufosinate. Foi obtido pelo cruzamento dos eventos MON89034, TC1507, NK603 e DAS-40278-9. Contém os genes *cry1Fa2*, *cry2Ab2* e *cry1A.105* (isolados da bactéria do solo *Bacillus thuringiensis* – Bt) que conferem resistência a insetos. Possui também os genes *cp4 epsps* (de *Agrobacterium tumefaciens*), que confere resistência ao glyphosate; *pat* (de *Streptomyces viridochromogenes*) que confere resistência ao glufosinate e *aad-1* (de *Sphingobium herbicidovorans*) que confere resistência ao 2,4D;
- 25)** MON89034 x MON88017 x TC1507 x DAS-59122-7 (Genuity® SmartStax™) - milho resistente a insetos das ordens Lepidóptera e Coleóptera e aos herbicidas glyphosate e glufosinate. Foi obtido pelo cruzamento das eventos MON89034, MON88017, TC1507 e DAS-59122-7. Contém os genes *cry1F*, *cry2Ab2*, *cry35Ab1*, *cry34Ab1*, *cry3Bb1* e *cry1A.105*, que conferem resistência a insetos (isolados da bactéria do solo *Bacillus thuringiensis* – Bt); *cp4 epsps*, que confere resistência ao glyphosate (de *Agrobacterium tumefaciens*) e *pat*, que confere resistência ao glufosinate (de *Streptomyces viridochromogenes*);
- 26)** MON87411 - milho resistente a insetos da ordem Coleóptera e ao herbicida glyphosate. Foi obtido pela introdução dos genes *cry3Bb1* (isolado da bactéria de solo *Bacillus thuringiensis* – Bt), *dvsnf7* (de *Diabrotica virgifera*) e *cp4 epsps* (proveniente da bactéria *Agrobacterium tumefaciens*). Os dois primeiros conferem resistência a insetos, e o último confere resistência ao glyphosate. A técnica de obtenção foi transformação mediada por *Agrobacterium tumefaciens*;
- 27)** MON87427 (Roundup Ready™ Maize) - milho resistente ao herbicida glyphosate. Foi obtido por meio da introdução do gene *cp4 epsps*, isolado da bactéria de solo *Agrobacterium tumefaciens*. A técnica de obtenção foi transformação mediada por *Agrobacterium tumefaciens*;
- 28)** Bt11 x MIR162 x MON 89034 x GA21 - milho resistente a insetos das ordens Lepidóptera e Coleóptera e aos herbicidas glyphosate e glufosinate. Foi obtido pelo cruzamento dos eventos Bt11, MIR162, MON89034 e GA21. Contém os

genes *cry1Ab*, *cry2Ab2*, *cry1A.105* e *vip3Aa20*, que conferem resistência a insetos (isolados da bactéria do solo *Bacillus thuringiensis* – Bt); *mepsps*, que confere resistência ao glyphosate (do milho) e *pat*, que confere resistência ao glufosinate (de *Streptomyces viridochromogenes*);

- 29)** Bt11 x MIR162 x MON 89034 - Milho resistente a insetos das ordens Lepidóptera e Coleóptera e ao herbicida e glufosinate. Foi obtido pelo cruzamento dos eventos Bt11, MIR162, MON89034. Contém os genes *cry1Ab*, *cry2Ab2*, *cry1A.105* e *vip3Aa20*, que conferem resistência a insetos (isolados da bactéria do solo *Bacillus thuringiensis* – Bt); e *pat*, que confere resistência ao glufosinate (de *Streptomyces viridochromogenes*);
- 30)** MON89034 x TC1507 x NK603 x MIR162 - milho resistente a insetos e aos herbicidas glyphosate e glufosinate. Foi obtido pelo cruzamento dos eventos MON89034, TC1507, NK603 e MIR162. Contém os genes *cry1F*, *cry2Ab2*, e *vip3Aa20*, que conferem resistência a insetos (isolados da bactéria do solo *Bacillus thuringiensis* – Bt); o gene *cp4 epsps*, que confere resistência ao glyphosate (de *Agrobacterium tumefaciens*) e o gene *pat*, isolado de *Streptomyces viridochromogenes*, que confere resistência ao glufosinate.

2.3 O HERBICIDA GLYPHOSATE

O glyphosate [*N*-(fosfonometil)glicina] é um herbicida pós-emergente, não-seletivo, de ação sistêmica (FRANZ et al., 1997), e que vem sendo utilizado na agricultura há mais de 35 anos. É o herbicida de maior importância mundial e isso se deve a sua grande versatilidade de uso na agricultura (MOREIRA; CHRISTOFFOLETI, 2008). Destaca-se em virtude da capacidade de controlar uma grande variedade de espécies vegetais (PRESTON; WAKELIN, 2008).

Possui diferentes formulações, sendo fabricado como sal de isopropilamina, formulação concentrado solúvel, com 360 gramas de equivalente ácido (e.a.); como sal de amônio, formulado em grânulos dispersíveis em água, com 720 g e.a. kg⁻¹; ou sal potássico, formulação concentrado solúvel, com 500 g e.a. kg⁻¹ (GAZZIERO et al., 2009).

O glyphosate é absorvido pelas folhas e translocado para os tecidos meristemáticos das plantas preferencialmente via floema (MONQUERO et al., 2004; CASELEY; COUPLAND, 1985; FRANZ et al., 1997) devido à armadilha iônica para as formas dissociadas do herbicida no floema. Após a penetração do glyphosate através da cutícula, o herbicida é transportado

através da membrana plasmática dos tecidos fotossintetizantes por meio de carreadores de fosfato, finalizando o processo de absorção. A translocação do herbicida ocorre no simplasto, através dos tecidos vasculares até as zonas meristemáticas onde se localiza o sítio de ação do glyphosate (enzima 5-enol-piruvil-chiquimato-3-fosfato sintase – EPSPS) (SATICHIVI et al., 2000).

A translocação do glyphosate pelo floema segue o fluxo de açúcares produzidos na fotossíntese, deslocando-se das folhas para as raízes ou frutos, onde serão utilizados na respiração, assimilação ou acumulação depois de sua conversão a substâncias como amido, por exemplo (RODRIGUES, 2009). O movimento do herbicida na planta é assim influenciado pela quantidade de açúcar translocada para cada uma dessas partes durante o ciclo de vida da planta (MONQUERO et al., 2004), o que influencia na eficácia do herbicida (WANAMARTA; PENNER, 1989), principalmente em dependência do estágio de aplicação.

A molécula do glyphosate atua na rota do ácido chiquímico competindo pelo mesmo sítio de ação da enzima EPSPS, que catalisa a reação na qual chiquimato-3-fosfato (S3P) reage com fosfoenolpiruvato (PEP), formando 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato (EPSP) e fósforo inorgânico (Pi) (GEIGER; FUCHS, 2002; KOGER et al., 2005; MARÍA et al., 2005; MOLDES et al., 2008; REDDY et al., 2008). Essa reação ocorre em duas etapas, iniciando pela ligação da enzima EPSPS ao S3P, formando o complexo EPSPs-S3P; em seguida, o PEP liga-se a esse complexo, permitindo o prosseguimento da reação, finalizando com a produção de EPSP; quando a planta é exposta ao produto herbicida, o glyphosate não irá se ligar à enzima EPSPS livre, mas sim ao complexo EPSPS-S3P, impedindo que ocorra a sua interação com PEP, ao formar o complexo inativo EPSPS-S3P-glyphosate (FRANZ et al., 1997; TAN et al., 2006).

A inibição da enzima EPSPS pela ação do glyphosate afeta a rota metabólica do chiquimato, a qual produz os três aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano. Além disso, essa rota é responsável pela formação dos compostos fenólicos, que podem representar até 35% da biomassa vegetal (BOUDET et al., 1985).

Dessa forma, o glyphosate atua inibindo a síntese de aminoácidos aromáticos essenciais, que são precursores de outros produtos, como lignina, alcaloides, flavonoides e ácidos benzoicos (TAN et al., 2006; REDDY et al., 2008), substâncias indispensáveis para a síntese de proteínas e ao crescimento das plantas.

2.4 O HERBICIDA GLUFOSINATE

O glufosinate [Ammonium - DL - homoalanin -4-yl- (methyl) phosphinate] é um herbicida não-seletivo, de pós-emergência, amplamente utilizado na agricultura em escala mundial, em função tanto da alta eficácia quanto do amplo espectro de controle de plantas daninhas. É um herbicida de contato, sendo derivado de aminoácidos e por conter fósforo é classificado como derivado de ácidos fosfínicos, uma toxina microbiana natural isolada a partir de duas espécies de fungos *Streptomyces hygroscopicus* (BARBERIS, 2012).

O glufosinate comercial tem em sua composição Ammonium 4-[hydroxy(methyl)phosphinoyl] -DL-homoalaninate ou ammonium DLhomoalanin-4- (methyl) phosphinate (glufosinate-sal de amônio) com 200 g L⁻¹ (20,0% m/v) e ingredientes inertes.

O ingrediente ativo pode mover-se dentro das folhas, mas não se conhece claramente a translocação para outras partes da planta, tais como rizomas subterrâneos ou estolões (SILVA, 2012). O glufosinate tem alguma mobilidade no floema e xilema (SHELP et al., 1992). No entanto, não tendem a se translocar por um maior número de folhas do que as tratadas (MASCHHOFF et al., 2000), sendo principalmente transportado pelo xilema para as pontas da folha devido a transpiração (ANDERSON et al., 1993). Porém, Haas e Mueller (1987), Mersey et al. (1990) e Steckel et al. (1997) observaram translocação de ¹⁴C marcado no glufosinate através do floema para as raízes em algumas espécies.

Em condições naturais, o nitrogênio é um elemento cuja disponibilidade é limitada. Diante disso, ao longo da evolução, as plantas encontraram mecanismos para perder a menor quantidade possível de nitrogênio. Para isso, a amônia liberada em altas concentrações na rota metabólica da foto-oxidação da glicina deve ser de alguma forma utilizada (BRUNHARO et al., 2014). A glutamina sintetase (GS) é uma importante enzima na assimilação do nitrogênio presente nos estromas dos cloroplastos, fotorrespiração e balanço de carbono em plantas. A localização da glutamina sintetase pode ser classificada em dois grupos: a isoforma citossólica (GS1) e a isoforma plastídica (GS2) (UNNO et al., 2006).

Esta enzima catalisa a transferência do íon amônia (NH₃⁺) para o grupo δ-carboxílico do glutamato para formar a glutamina. Essa reação acontece com a transformação de uma molécula de ATP para ADP e P. O nitrogênio fixado na forma de amida na glutamina é transferido, por uma reação de redução de amina, a α- cetoglutarato. Esta última reação é catalisada pela glutamato sintetase (GOGAT), e duas moléculas de glutamato são formadas (MEEK; VILLAFRANCA, 1980).

A partir dessa rota metabólica, o glutamato funciona como uma fonte de amônio em diversas outras rotas metabólicas como a produção de aspartato (GIVAN, 1980) asparagina (LEA, 1993), além de ter a função de desintoxicação da amônia produzida a partir da redução do nitrato.

O ingrediente ativo glufosinate é um substrato análogo ao glutamato, inibindo a enzima glutamina sintetase, uma enzima central no metabolismo da amônia em plantas (MANDERSCHIED; WILD, 1986). Ele compete pelos locais em que o glutamato se liga à glutamina sintetase onde, uma vez que o glufosinate tem sucesso, a ligação se torna irreversível (LOGUSCH et al., 1991). A irreversível ligação entre o glufosinate e a glutamina sintetase resulta em rápida acumulação, em níveis tóxicos, de amônia dentro da célula (KISHORE; SHAH, 1988; TACHIBANA et al., 1986).

2.5 IMPACTO DOS HERBICIDAS NO DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS TRANSGÊNICAS

Culturas que apresentem eventos transgênicos permitem aos produtores maior flexibilidade no momento da aplicação de herbicidas (ASKEW; WILCUT, 1999; CULPEPPER; YORK, 1999; SCOTT et al. 2001). Trazem benefícios econômicos instantâneos, como, por exemplo, Brookes e Barfoot (2014) estimam que a utilização de soja resistente a herbicidas trouxe uma economia de 38% aos agricultores que a adotaram, principalmente devido ao melhor manejo das plantas daninhas e redução de custos operacionais.

Somado aos benefícios econômicos, as culturas resistentes a herbicidas também trazem facilidade de manejo, eficácia, menor impacto ambiental e maior segurança sanitária. Por outro lado, o mesmo sucesso obtido por elas trouxe problemas como a utilização exclusiva de um único ingrediente ativo no sistema, elevando a pressão de seleção sobre as plantas daninhas e selecionando biótipos resistentes. (BRUNHARO et al., 2014).

Todavia, a utilização de herbicidas em culturas transgênicas tem causado insegurança quando se trata do impacto que estes podem causar no desenvolvimento de plantas transgênicas. Para o glyphosate, por exemplo, Pline et al. (2002) verificaram alterações na morfologia floral em algodão resistente ao herbicida. Essas diferenças morfológicas resultam numa menor deposição de pólen nos estigmas, juntamente com a inibição do desenvolvimento de pólen, fornecendo uma explicação para os relatos de aumento da abscisão da cápsula em algodão resistente ao glyphosate quando utilizado o herbicida.

Reddy et al. (2001b) avaliaram em casa de vegetação o crescimento, conteúdo de clorofila, nodulação e conteúdo de legemoglobina no nódulo de soja resistente ao glyphosate, e concluíram que o tratamento com glyphosate a 1,12 kg ha⁻¹ da soja resistente teve pouco ou nenhum efeito sobre o teor de clorofila e a massa seca da parte aérea e das raízes, mas o tratamento com glyphosate a 2,24 kg ha⁻¹ reduziu esses parâmetros em três dos cinco ensaios.

Correia e Santos (2013) estudaram o efeito de tratamentos herbicidas nos teores foliares de macro e micronutrientes e na produção de grãos de milho híbrido DKB390 RR resistente ao herbicida glyphosate e observaram que os herbicidas glyphosate e mesotrione isolados não causaram nenhuma injúria visível às plantas. Os demais herbicidas ocasionaram sintomas visuais de fitointoxicação muito leve. Os tratamentos não afetaram os teores foliares dos nutrientes, mas aqueles pulverizados com glyphosate (nas três dosagens) e atrazine acumularam maior quantidade de cobre nas folhas. Ainda observaram que a aplicação isolada de glyphosate (1200 g ha⁻¹), nicosulfuron, tembotrione e da mistura atrazine mais nicosulfuron ocasionaram redução na produção de grãos.

Na cultura do algodão resistente ao glufosinate, Braz et al. (2012) avaliaram a seletividade de aplicações sequenciais de glufosinate isolado e em associação com pyriithiobac-sodium em algodão transgênico LL[®], estes autores observaram que a associação do pyriithiobac-sodium ao glufosinate causou maiores níveis de fitointoxicação inicial, embora não tenham havido mais sintomas duas semanas após as aplicações. Além disso, a qualidade de fibra do algodoeiro não foi influenciada por nenhum dos tratamentos herbicidas. O glufosinate isolado foi seletivo para o algodão LL[®] em até três aplicações em pós-emergência e o algodoeiro apresentou ainda tolerância a uma aplicação da mistura de glufosinate + pyriithiobac-sodium, e não se observou qualquer efeito negativo sobre a produtividade de algodão em caroço.

Ao analisarem amostras de grãos e forrageiras para mensurar os componentes, fibras, aminoácidos, ácidos graxos, vitamina E, minerais, ácido fítico, inibidores de tripsina e metabólitos secundários em grãos e fibra em forragem comparando milho convencional ao milho resistente ao glyphosate, Ridley et al. (2002) concluíram que os valores para todos os componentes bioquímicos avaliados para o evento de milho NK603 foram semelhantes aos do convencional ou estavam dentro do intervalo publicado para os híbridos comerciais de milho não transgênicos. Além disso, o perfil composicional do evento de milho Roundup Ready NK603 foi comparado com híbridos de milho tradicionais cultivados na Europa calculando um intervalo de tolerância de 99% para descrever a variabilidade de composição na população de variedades tradicionais de milho no mercado. Essas comparações, juntamente com a história do uso seguro do milho como componente comum de ração animal e alimento humano, sustentam

a conclusão de que o evento de milho Roundup Ready NK603 é equivalente à composição e tão seguro e nutritivo quanto os híbridos de milho convencionais cultivados comercialmente hoje.

2.6 RESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS

O frequente uso de agrotóxicos na produção agrícola e a consequente presença de resíduos nos alimentos têm sido alvos de preocupação no âmbito da saúde pública, exigindo, das diversas esferas de governo, investimento e organização para implementar ações de controle do uso de agrotóxicos (ANVISA, 2016).

A segurança de alimentos está relacionada à presença de perigos veiculados pelos alimentos no momento do consumo. Como esses riscos podem ocorrer em qualquer estágio da cadeia é essencial o controle adequado de forma a garantir a segurança do alimento (LIMA; CORRÊA, 2012).

O decreto número 4.074, de 4 de janeiro de 2002 determina o termo agrotóxico como: ‘produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos’.

O Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) foi iniciado em 2001 como um projeto pela Anvisa e, em 2003, transformou-se em programa, com o objetivo de avaliar continuamente os níveis de resíduos de agrotóxicos nos alimentos de origem vegetal que chegam à mesa do consumidor, sendo um indicador da ocorrência de resíduos de agrotóxicos em alimentos.

A permissão de uso de agrotóxicos está condicionada há vários estudos, entre eles a toxicidade avaliada pela determinação da ingestão diária aceitável (IDA) e do limite máximo de resíduo (LMR). A IDA é expressa em mg kg^{-1} de massa corpórea, estabelecida por longa avaliação toxicológica em animais experimentais, definida como sendo “a quantidade de uma substância química que pode ser ingerida diariamente pelo homem durante toda a vida, sem risco apreciável a sua saúde, à luz dos conhecimentos disponíveis na época da avaliação”. Já o LMR é definido como a “quantidade máxima de resíduo de agrotóxico oficialmente aceita no alimento, em decorrência da aplicação adequada numa fase específica, desde sua produção até o consumo, expressa em partes do agrotóxico, afim ou seus resíduos por milhão de partes de

alimento (ppm ou mg kg^{-1})”. A Anvisa (2016) reforça que o LMR é um parâmetro agrônômico, estabelecido legalmente durante o registro do agrotóxico, em função da cultura agrícola e das instruções de uso contempladas na bula. Todavia, ele está diretamente relacionado com a qualidade dos alimentos comercializados e constitui um dos componentes para o cálculo da exposição e avaliação do risco dietético que antecede o registro de um agrotóxico ou autorização da inclusão de novas culturas no registro.

A avaliação dos dados toxicológicos dos agrotóxicos, a recomendação da IDA e os cálculos dos LMR são estabelecidos por órgãos subordinados às Nações Unidas, como: Food and Agricultural Organization (FAO), World Health Organization (WHO) e o *Codex Alimentarius* Mundial, através do seu Comitê de Resíduos de Pesticidas em Alimentos (CCPR). O monitoramento de agrotóxicos em amostras ambientais e alimentares tem aumentado nos últimos anos uma vez que muitos países estabelecem limites máximos de resíduos (LMR) de agrotóxicos nos produtos alimentares.

A Anvisa utiliza como referência os controles realizados nos Estados Unidos e na União Europeia. O Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, do inglês United States Department of Agriculture (USDA), conduz o Programa de Dados de Pesticidas (Pesticide Data Program – PDP) desde 1991. Trata-se de um programa nacional de monitoramento que fornece subsídios para a formação do banco de dados de resíduos de agrotóxicos em alimentos mais abrangente nos EUA.

A União Europeia, por intermédio dos países membros, da Islândia e da Noruega, também possui programas de monitoramento para avaliar os níveis de resíduos de agrotóxicos em alimentos. O Regulamento (EC) 396/2005 impõe aos países membros a obrigação de realizarem controles para assegurar que os alimentos estão em conformidade com os limites legais.

O regulamento estabelece a existência de dois tipos de programas de controle: (i) O EU-Programa de Controle Coordenado (EUCP), do inglês EU- Coordinated Control Programme, que define os alimentos e agrotóxicos que devem ser monitorados por todos os países participantes, de forma a obter uma representatividade estatística da situação dos resíduos nos alimentos disponíveis aos consumidores europeus; (ii) Os programas de controle nacional realizados por cada país participante. São complementares ao EUCP e possuem foco em certos tipos de produtos, agrotóxicos ou alimentos importados em que se observou aumento no número de irregularidades em anos anteriores.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento no campo foi realizado na safra de verão 2015/2016 nas dependências do campus do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina - CAV/UDESC, localizado a 27°47'33" sul e 50°18'10" oeste, e altitude média de 915 m.

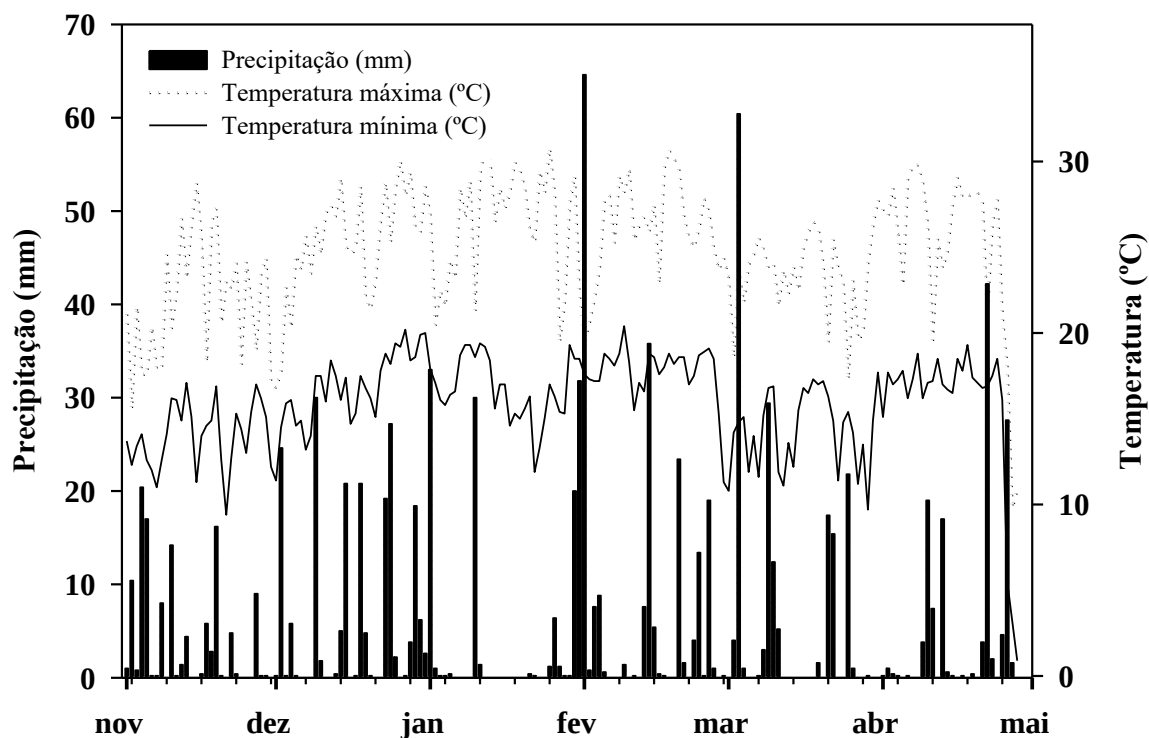
Segundo classificação climática de Köppen, Lages é caracterizada como Cfb, temperado, úmido com chuvas uniformemente distribuídas durante todo o ano. A temperatura varia entre 12 °C e 22 °C, com média anual de 16,5 °C e precipitação anual de 1.685 mm (ALVARES et al., 2013).

Os dados meteorológicos referentes à temperatura do ar, utilizados para a determinação da soma térmica, foram obtidos junto ao Centro de Informações de Recursos Ambientais e de Hidrologia de Santa Catarina (CIRAM). Este órgão pertence à Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI, 2016).

A precipitação pluviométrica total diária no período da safra 2015/16 pode ser observada na Figura 2. A precipitação pluviométrica acumulada foi de 1.604.

Para calcular a soma térmica em graus-dia (GD) utilizou-se a expressão $GD = \sum [(T_{\text{máx}} + T_{\text{mín}}) / 2 - T_b]$, onde: GD = Unidade térmica diária; $T_{\text{máx}}$ = Temperatura máxima do dia considerado; $T_{\text{mín}}$ = Temperatura mínima do dia considerado e T_b = Temperatura base inferior. O limiar térmico (temperatura base) para o desenvolvimento da cultura do milho no Brasil é de 10 °C (SANGOI et al., 2007).

Figura 2 – Precipitação pluviométrica total diária (mm) do município de Lages/SC durante o período da safra de verão 2015/16.



Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

3.1 IMPLANTAÇÃO EXPERIMENTAL

A cultura antecedente era aveia e o sistema de cultivo utilizado foi o convencional. O híbrido escolhido foi da empresa Dupont, divisão Pioneer Sementes: P30F53YHR, de ciclo precoce, grão do tipo semiduro de coloração alaranjada. Possui os eventos transgênicos Yield Gard® e Herculex® para o controle de lagartas (YH) e Liberty Link® (LL) e Roundup Ready® (RR) o qual atendia os requisitos de resistência aos dois herbicidas estudados (glufosinate e glyphosate).

O solo da área experimental é classificado como Cambissolo húmico alumínico (EMBRAPA, 2013). As correções de acidez e fertilidade do solo foram realizadas de acordo com recomendações do Manual de Adubação e Calagem para o Rio Grande do Sul e Santa Catarina (CQFS-RS/SC, 2004), após a realização de análise de solo da camada arável (0 a 20 cm) (Tabela 1). A análise de solo foi realizada no Laboratório de Análises de Solos do

CAV/UDESC em outubro de 2015. O teto produtivo estimado para os cálculos de adubação foi de 12 t ha⁻¹.

Tabela 1 – Características químicas do solo da área experimental campus CAV/UDESC, Lages-SC, no ano agrícola 2015/16.

Características	Valores
Argila	47 (%)
pH H ₂ O	5,6
Índice SMP	5,9
Matéria Orgânica	2,74 (%)
P	45,139 mg dm ⁻³
K	133 mg dm ⁻³
Ca	9 cmolc dm ⁻³
Mg	3 cmolc dm ⁻³
H+Al	4,891 cmolc dm ⁻³
Al	0,3 cmolc dm ⁻³
CTC efetiva	12,731 cmolc dm ⁻³
CTC pH 7,0	17,282 cmolc dm ⁻³

Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

A adubação de base da área experimental consistiu em utilizar 735 kg ha⁻¹ de adubo N-P-K, na formulação 5-20-10. Para adubação de cobertura, foram utilizados 295 kg ha⁻¹ de nitrogênio na forma de ureia e 40 kg ha⁻¹ de cloreto de potássio. A aplicação da ureia foi dividida em duas, sendo a primeira em estágio V6-8 e a segunda em V12 da cultura do milho, e o cloreto de potássio foi aplicado com a primeira aplicação da ureia. A aplicação/distribuição do adubo foi superficial próxima à linha de semeadura.

A semeadura foi realizada no dia 26 de novembro de 2015, mecanicamente, com população de 70.000 plantas por hectare (dentro das recomendações do fabricante de acordo com localização e época de semeadura).

3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com oito repetições. Os tratamentos experimentais foram divididos em aplicações únicas e sequenciais dos herbicidas, sendo:

1. Manutenção de testemunha sem aplicação de herbicida – controle;
2. Aplicação única de glyphosate a 980 g e.a. ha⁻¹, aos 21 dias após emergência (DAE) – estágio V5;
3. Aplicação única de glufosinate a 600 g i.a. ha⁻¹, aos 21 DAE – estágio V5;
4. Aplicação sequencial de glyphosate a 520 + 980 g e.a. ha⁻¹, aos 14 (estádio V3) e 28 DAE (estádio V7), respectivamente;
5. Aplicação sequencial de glufosinate a 300 + 300 g i.a. ha⁻¹, aos 14 (estádio V3) e 28 DAE (estádio V7), respectivamente;
6. Aplicação sequencial de glyphosate a 980 g e.a. ha⁻¹ e glufosinate a 600 g i.a. ha⁻¹, aos 14 (estádio V3) e 28 DAE (estádio V7), respectivamente.

As parcelas experimentais foram compostas por quatro linhas com 12 metros de comprimento, espaçamento de 50 cm entre as linhas (densidade de 70.000 plantas - 3,5 sementes por metro). A área útil de cada unidade experimental foi composta pelas duas linhas centrais, descartando-se um metro das extremidades.

A aplicação dos herbicidas foi realizada com pulverizador costal pressurizado a CO₂ à pressão de 200 kPa, munido de barra de pulverização contendo quatro pontas tipo leque TeeJet 80.02 VS e calibrado para volume de calda de 200 L ha⁻¹. Os herbicidas utilizados foram Roundup Original® (glyphosate) e Finale® (glufosinate).

As plantas daninhas que emergiram após a aplicação dos herbicidas foram eliminadas por meio de capina manual para que não houvesse interferência da comunidade infestante sobre a cultura, inclusive nas parcelas de manutenção da testemunha (tratamento 1).

3.3 TRATAMENTOS FITOSSANITÁRIOS

Necessitou-se realizar uma aplicação do inseticida Ampligo® (clorantraniliprole 100 g L⁻¹ e lambda-cialotrina 50 g L⁻¹) de acordo com a recomendação da bula do produto, devido à ocorrência da *Spodoptera frugiperda* (lagarta-do-cartucho). A aplicação do inseticida foi realizada com pulverizador costal com capacidade de 20 L, 28 DAE.

3.4 AVALIAÇÕES

3.4.1 Crescimento

Foram mensurados a altura, número de folhas e altura de inserção da espiga em cinco plantas aleatórias por parcela. Na primeira avaliação de altura de planta (estádio vegetativo) mediu-se a distância da base do colmo até o ápice da envergadura da última folha expandida duas semanas após a aplicação do herbicida (única ou primeira da sequencial). O número de folhas foi determinado por contagem direta de acordo com a escala de Ritchie, Hanwey e Benson (1993). A altura final de plantas aos 143 DAE (momento da colheita - quando a umidade dos grãos das plantas fora da área útil estava entre 18% e 25%) foi medida a distância da base da planta (rente a superfície do solo) até a extremidade do pendão. Ainda nesse momento mediu-se a altura de inserção da espiga, da base da planta (rente superfície do solo) até o nó de inserção da espiga superior. Para a medição, utilizou-se uma régua de topografia (mira) graduada em centímetros (altura máxima de 5 m).

3.4.2 Componentes do rendimento e produtividade

Para a realização da contagem do número de fileiras de grãos por espiga, massa de mil grãos e massa total de grãos, utilizou-se as espigas das cinco plantas aleatórias que foram aferidas para a altura final. O número de fileiras de grãos por espiga foi realizado por contagem direta, as massas foram determinadas em balança semi-analítica com precisão de 0,01 g.

As espigas da área útil de cada parcela foram colhidas e tiveram seus grãos pesados (balança semi-analítica com precisão de 0,01 g). A partir da determinação da produtividade da

área útil das parcelas, extrapolou-se a produtividade em hectares. As espigas foram colhidas manualmente e trilhadas parte manualmente e parte numa trilhadora estacionária. Realizou-se a correção da umidade dos grãos para 13%.

3.4.3 Teores de macro e micronutrientes nas folhas

No aparecimento da inflorescência feminina (embonecamento), cinco exemplares de folha padrão (folha oposta e abaixo da espiga), seguindo recomendação de MALAVOLTA et al. (1997), foram coletadas, lavadas em sequência (SARRUGE; HAAG, 1974) e postas a secar em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C por sete dias. O material seco foi moído em moinho tipo Willey, malha 20, e acondicionado em sacos de plástico para posterior análise nutricional.

O material vegetal acondicionado foi enviado para a Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), onde foram determinados os teores de macronutrientes e micronutrientes em tecidos foliares.

Os métodos de extração para determinação do teor de nutrientes, seguiu-se as metodologias utilizadas por Carvalho et al. (2013) para macronutrientes e Fonseca et al. (2010) para micronutrientes. Os teores de N e P foram obtidos pelo método semi-micro Kjeldahl e por colorimetria de fósforo-vanadato-molibdato, respectivamente. Os teores de K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn e Zn foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica, e o teor de S foi obtido pelo método turbidimétrico.

3.4.4 Qualidade dos grãos

Os grãos colhidos e armazenados na etapa anterior do experimento foram amostrados conforme as Regras de Análise de Sementes (RAS) (BRASIL, 2009), para então serem moídos em moinho tipo Willey, malha 20 e então acondicionados em sacos plásticos devidamente identificados e armazenados em geladeira para serem utilizados nas análises posteriores.

3.4.4.1 Amido

Para determinar o teor de amido, baseou-se no método de Lane e Eynon (1923) (também conhecido como método de Fehling) e em McCready et al. (1950). Pesou-se 5 g de amostra.

Cada amostra foi colocada em um Erlenmeyer de 300 mL com 150 mL de água destilada. Adicionou-se 4 gotas de solução de hidróxido de sódio a 10% e aqueceu-se em autoclave a 120 °C por uma hora.

Deixou-se esfriar, adicionou-se 10 mL de ácido clorídrico a 50% e recolocou-se as amostras na autoclave por mais 30 minutos a 120 °C.

Retirou-se as amostras da autoclave, deixou-se esfriar até temperatura ambiente para então ajustar pH 7 em cada amostra com solução de hidróxido de sódio a 10%.

Depois de ajustado o pH, a solução foi transferida para um balão volumétrico de 250 mL tendo seu volume completado com água destilada. Nessa solução determinou-se glicídios por titulação com solução de Fehling.

Para realização da leitura e quantificação do amido, transferiu-se então para um Erlenmeyer de 50 mL, com pipeta volumétrica, 10 mL de cada uma das soluções Fehling (A e B). Essa solução foi aquecida até ponto de ebulição e gotejou-se a solução da amostra até que o líquido sobrenadante passasse de azul para vermelho alaranjado. Manteve-se a ebulição adicionou-se 2 a 4 gotas de solução de azul de metileno a 1%, onde a solução retornou para a coloração azul, então realizou-se a titulação com a solução padrão de glicose (0,5%) previamente preparada e acondicionada em bureta automática até a descoloração do indicador (cor laranja). O volume gasto de glicose (solução padrão) de cada amostra foi anotado para a quantificação.

Para calcular o teor de amido utilizou-se a seguinte fórmula: % Amido = $250 \times TL \times 0,9 \times 100 / (LM \times PA)$.

Onde: 250 é o volume total da diluição da amostra; TL é calculado: $TL = (L \times p) / 100$, sendo L os mL da solução de glicose gastos, e p peso da glicose usada (g%); 0,9 é o fator de transformação de glicose em amido; 100 é para expressar o amido em porcentagem da amostra; LM (mL) é a leitura da titulação com glicose da amostra (quantidade de glicose para titular cada amostra); PA é o peso da amostra usada, seca ou úmida. A análise foi realizada no Laboratório de Análise de Sementes – LAS, no CAV/UDESC.

3.4.4.2 Lipídeos (*Extrato etéreo*)

Utilizando a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008) e AOAC (Association of Official Analytical Chemists) (1995), balões de Soxhlet (limpos) foram colocados com antecedência em estufa a 105 °C por 24 horas. Esfriou-se o balão em dessecador por

aproximadamente uma hora para realizar a pesagem do balão (devidamente identificado). Pesou-se também o papel filtro e aproximadamente 2 a 3 gramas de amostra.

Colocou-se o papel filtro, com a amostra, devidamente dobrado no extrator. Conectou-se o extrator ao balão e adicionou-se o solvente orgânico (éter de petróleo) em volume suficiente para cobrir o papel filtro com a amostra. Depois disso acoplou-se o extrator mais balão ao condensador. A temperatura da placa de aquecimento foi ajustada para que a velocidade de gotejamento fosse de 3 a 4 gotas por segundo.

A partir do primeiro refluxo, o tempo de espera foi de 4 horas para a extração. Após esse período, o solvente foi recuperado. Os balões com a gordura extraída foram colocados em estufa a uma temperatura de 105 °C durante 2 horas. Passado esse período, os balões foram colocados em dessecador para esfriar por um período de uma hora, para depois de frios, realizar a pesagem dos mesmos.

Para conhecer a porcentagem de gordura utilizou-se a fórmula: % GB ou % EE = (peso da gordura/ peso da amostra seca) x 100. Onde, peso da gordura = (peso do balão + gordura) – (peso do balão). Esta análise foi realizada no Laboratório de Bromatologia do CAV/UEDESC.

3.4.4.3 *Proteínas*

O teor de proteínas totais foi determinado a partir do conteúdo de nitrogênio total nos grãos, determinado pela digestão por H₂O₂ e H₂SO₄ com mistura de digestão. A recuperação do nutriente nitrogênio é semelhante à obtida com os métodos de Kjeldahl (TEDESCO et al., 1995).

Pesou-se 0,5g de amostra e colocou-se em tubo de digestão. Adicionou-se 1 mL de H₂O₂ 30% e em seguida 2 mL de H₂SO₄. Depois adicionou-se 0,7g de mistura digestora.

Os tubos foram colocados em bloco digestor a uma temperatura de 250 °C durante uma hora e depois elevou-se a temperatura para 350 °C por mais duas horas. Passado esse período, deixou-se esfriar as amostras.

Depois de frias as amostras, foram adicionados 5 mL de água destilada e as amostras foram agitadas. Colocou-se o volume obtido em frascos tipo “snap-cap” para deixar decantando por algumas horas antes de coletar a alíquota para a determinação do nutriente.

Feito isso, pipetou-se 10 mL do extrato para um frasco de destilação de 100 mL. Adicionou-se 5 mL de NaOH 10M e iniciou-se a destilação. Coletou-se de 35 a 40 mL de destilado em Erlenmeyer de 50 mL contendo 5 mL de indicador de ácido bórico para então ser realizada a titulação com H₂SO₄ 0,025M.

Para calcular a porcentagem de nitrogênio usou-se a fórmula: $\% N = (\text{mL H}^+ \text{ amostra} - \text{mL H}^+ \text{ branco} / \text{peso amostra} \times 10.000) \times 700$.

O fator para converter o teor de nitrogênio em proteína utilizado foi o de 6,25. A análise foi realizada no Laboratório de Análise de Sementes – LAS, no CAV/UEDESC.

3.4.4.4 Carotenoides

Para a extração e quantificação de carotenoides utilizou-se a metodologia proposta por Rodriguez-Amaya e Kimura (2004), na qual 15 g de amostra foram transferidas para um gral de porcelana, adicionados 3 g de celite. Em seguida, adicionou-se alíquotas de acetona em quantidade suficiente para cobrir a amostra e realizou-se a maceração. A mistura obtida foi filtrada em funil de vidro com placa sinterizada (tamanho de poro de 20 a 30 μm) conectado a um kitassato de 500 mL. O sólido retorna para o gral para uma nova extração. O processo de extração foi repetido três vezes.

O filtrado recolhido foi transferido para um funil de separação de 500 mL já contendo 20 mL de éter de petróleo. Adicionou-se lentamente água destilada para a lavagem. Procedeu-se sucessivas lavagens, até que a coloração da fase aquosa se apresentasse límpida, para ser então descartada.

A solução etérea que permaneceu no funil foi transferida para um balão volumétrico de 25 mL com o auxílio de um funil com sulfato de sódio anidro (5 g) completando o volume do balão com éter de petróleo. Prosseguiu-se com a leitura das amostras em espectrofotômetro na absorvância de 450nm.

O teor de carotenoides totais foi calculado através da equação: Carotenoides totais ($\mu\text{g g}^{-1}$) = $(\text{ABS} \times \text{Vf} \times 10^4) / \text{M} \times \epsilon$. Onde: ABS = absorvância; Vf = volume final (mL); M = massa da amostra (g); ϵ = 2592 (coeficiente de absorvância do β -caroteno em éter de petróleo). A análise foi realizada no Laboratório de Fisiologia Vegetal, no CAV/UEDESC.

3.4.5 Resíduo dos herbicidas

Resíduos de glyphosate e glufosinate em grãos de milho foram quantificados e detectados por cromatografia líquida/espectrometria de massa em tandem (TC-MS / MS). Amostras de 100g de grãos de milho foram enviadas a um laboratório comercial especializado, a NSF International Bioensaio (Viamão – RS, Brasil), onde foram realizados os processos de

preparação, extração, detecção e quantificação. Este laboratório utilizou o procedimento POP 05.130/15, incluindo os métodos LC EN 15662 e GC EN 12393, que é baseado no método oficial AOAC 2007.01 (LEHOTAY, 2007) para a determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

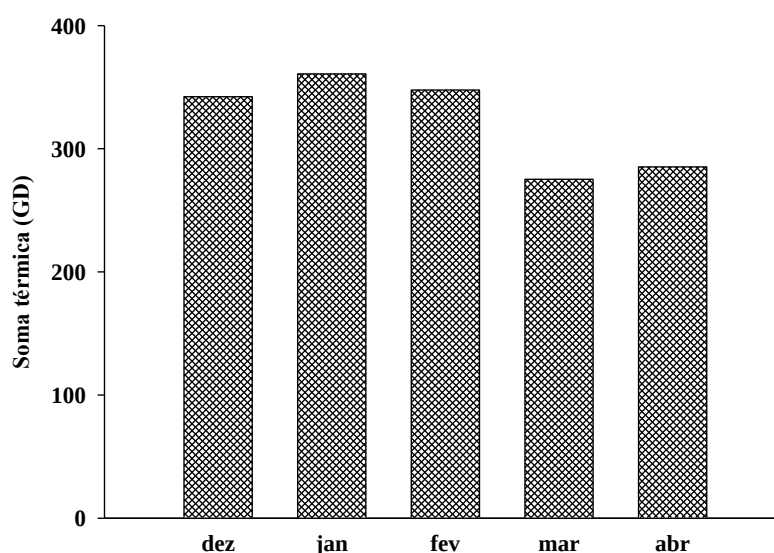
Os dados foram previamente testados para normalidade dos resíduos (testes de Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Smirnov) e homogeneidade das variâncias (testes de Levene e Barlett). Em sequência, utilizou-se o teste estatístico não paramétrico Kruskal-Wallis, pois para quase todas as variáveis não foi verificada a distribuição normal dos resíduos e/ou homogeneidade das variâncias.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O milho é uma espécie que consome uma grande quantidade de água durante o seu ciclo de desenvolvimento, e, segundo Cruz et al. (2010), a exigência mínima é de 600 mm de precipitação bem distribuídos ao longo do ciclo de desenvolvimento para uma produção satisfatória. Expressa alta sensibilidade a estiagens e a ocorrência de períodos com redução do aporte hídrico às plantas em períodos críticos do desenvolvimento da cultura, como do florescimento à maturação fisiológica, pode ocasionar redução direta no rendimento final (BERGAMASCHI et al., 2004). Ainda, Bergamaschi et al. (2001) afirmam que, durante o florescimento a cultura demanda cerca de 7 mm diários de água disponível no solo. Durante a condução do experimento, a precipitação pluviométrica acumulada foi de 1.604 mm (Figura 2), valor superior ao exigido e bem distribuídos ao longo do ciclo da cultura.

O híbrido de milho escolhido, o P30F53, apresenta necessidade de soma térmica de 1556 graus-dia (GD) até a maturidade fisiológica. Na Figura 3 é possível observar a distribuição da soma térmica ao longo do ciclo da cultura. O soma térmica desde a semeadura até o início da colheita no ano estudado foi de 1610,95 GD.

Figura 3 – Soma térmica (GD) mensal da safra de verão 2015/16, em Lages/SC.



Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

Os meses de dezembro, janeiro e fevereiro foram os meses que mais contribuíram à soma térmica (342,2; 360,75; 347,65 GD, respectivamente). O mês de maio com a menor

contribuição (85,9 GD), e os meses de março e abril com 275,15 e 285,2 GD, respectivamente de contribuição.

Ainda se tratando de exigências climáticas, sabe-se que a temperatura é o principal fator climático que interfere na velocidade do crescimento do milho, afetando a eficiência da fotossíntese e o ciclo da cultura (SANGOI et al., 2010). Na safra de verão de 2015/16 as temperaturas médias do ar mensais variaram de 20,9 °C no mês fevereiro a 12 °C no mês de maio. Os meses de dezembro (20,1 °C) e janeiro (20,6 °C) se assemelharam ao mês de fevereiro. Os demais meses, novembro, março e abril, apresentaram temperaturas médias iguais a 17,6 °C, 18,1 °C e 18,5 °C, respectivamente. O milho é pouco cultivado em regiões que possuem temperatura média dos meses de verão é inferior a 19 °C e as temperaturas noturnas inferiores a 13 °C (SANGOI et al., 2007).

Quando avaliados, o glyphosate isolado, o glufosinate isolado ou a aplicação sequencial do glyphosate com glufosinate não afetaram a altura inicial da planta, a altura final da planta, a altura da inserção da espiga ou o número de folhas inicial (Tabela 2).

Tabela 2 – Características de crescimento em milho transgênico submetido a tratamentos com glyphosate e glufosinate.

Tratamentos	Altura inicial ¹	Altura final ²	Altura inserção espiga	Número de folhas inicial
	----- cm -----		-----un-----	
Controle	75,9±13,3	243,7±5,8	113,0±5,9	7±0,4
G980	82,9±9,1	241,1±8,9	116,3±9,1	8±0,4
Glu600	83,9±7,9	242,8±10,5	113,7±12,5	8±0,5
G520+G980	73,5±7,7	245,8±9,8	119,3±10,5	7±0,4
Glu300+Glu300	74,1±11,1	251,8±6,2	118,9±6,8	7±0,5
G980+Glu600	74,4±6,8	253,4±12,3	119,3±10,2	7±0,4

Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

G980: aplicação única de glyphosate a 980 g e.a. ha⁻¹ aos 21 DAE; Glu600: aplicação única de glufosinate a 600 g de i.a. ha⁻¹ aos 21 DAE; G520+G980: aplicação sequencial de glyphosate a 520 g e.a. ha⁻¹ (aos 14 DAE) e 980 g e.a. ha⁻¹ aos 28 DAE; Glu300+Glu300: aplicação sequencial de glufosinate 300 g i.a. ha⁻¹ (aos 14 DAE) e 300 g i.a. ha⁻¹ aos 28 DAE; G980+Glu600: aplicação sequencial de glyphosate 980 g e.a. ha⁻¹ aos 14 DAE e 600 g i.a. ha⁻¹ aos 28 DAE. ¹Realizada duas semanas após a primeira aplicação do herbicida; ²Realizada na colheita. Não houve diferença estatística (p> 0,05) entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis. Média ± desvio padrão.

Segundo as características do híbrido de milho P30F53YHR, a altura final de planta fica entre 260 a 280 cm e altura de inserção de espiga fica entre 110 a 120 cm. Os valores encontrados para altura final de planta são um pouco inferiores (mínima de 241,1 e máxima de 253,4 cm), mas, dentro do descrito para altura de inserção de espiga (Tabela 2). Os valores corroboram os encontrados por Fagherazzi (2015), Durli (2016) e Leolato (2016) para o P30F53

quando não utilizaram regulador de crescimento. Assim como para Salomão (2017), mesmo em consórcio com outras espécies.

Da mesma forma, não houve efeitos sobre fileiras de grãos por espiga, massa de 1000 grãos, massa total de grãos e rendimento (Tabela 3). O número de fileiras por espiga para a cultura do milho é definido no estágio V8 e o número de grãos por espiga é definido próximo ao florescimento, no estágio V17 (MAGALHÃES; DURÃES, 2006).

Tabela 3 – Características de rendimento e produtividade em milho transgênico submetido a tratamentos com glyphosate e glufosinate.

Tratamentos	NFGE un	MMG -----g-----	MTG	PROD kg ha ⁻¹
Controle	16±0,9	340,9±26,9	832,9±121,1	7.073±1.281
G980	16±0,3	349,6±15,5	935,1±103,5	7.711±950
Glu600	16±0,3	346,7±15,3	891,9±163,6	7.257±1.482
G520+G980	16±0,6	330,6±21,1	827,4±119,5	6.567±1.579
Glu300+Glu300	16±0,8	339,1±16,5	860,0±77,8	7.906±2.015
G980+Glu600	15±0,4	342,5±19,7	876,8±115,5	7.863±467

Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

G980: aplicação única de glyphosate a 980 g e.a. ha⁻¹ aos 21 DAE; Glu600: aplicação única de glufosinate a 600 g de i.a. ha⁻¹ aos 21 DAE; G520+G980: aplicação sequencial de glyphosate a 520 g e.a. ha⁻¹ (aos 14 DAE) e 980 g e.a. ha⁻¹ aos 28 DAE; Glu300+Glu300: aplicação sequencial de glufosinate 300 g i.a. ha⁻¹ (aos 14 DAE) e 300 g i.a. ha⁻¹ aos 28 DAE; G980+Glu600: aplicação sequencial de glyphosate 980 g e.a. ha⁻¹ aos 14 DAE e 600 g i.a. ha⁻¹ aos 28 DAE. NFGE: número de fileira de grãos por espiga; MMG: massa de mil grãos; MTG: massa total de grãos (5 espigas); PROD: produtividade. Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis. Média ± desvio padrão.

Os valores de produtividade foram inferiores ao teto estimado (12.000 kg ha⁻¹). Isso pode ter ocorrido devido a semeadura tardia (29/11/2015), que impede a cultura do milho expressar um maior potencial nas condições estudadas (Lages/SC). Na semeadura tardia, há uma redução no subperíodo emergência-pendoamento. Nesse período ocorre a formação das estruturas reprodutivas da planta. Este encurtamento compromete o desenvolvimento da espiga e o acúmulo de reservas para o enchimento de grãos (SANGOI et al., 2007).

A produtividade alcançada ficou, na média, próxima a encontrada para o Estado de Santa Catarina na mesma safra 2015/16 com valor igual a 7.330 kg ha⁻¹, e superior à média nacional, 4.207 kg ha⁻¹, de acordo com a Conab (2016).

Assim como na soja resistente ao glyphosate, o tratamento com glyphosate do milho resistente ao herbicida não teve efeito sobre o crescimento e rendimento das plantas (BOHN et al., 2014; KANDEL et al., 2015; DUKE et al., 2012, 2018b). Além disso, nem o glufosinate

sozinho nem o glyphosate associado ao glufosinate tiveram qualquer efeito em qualquer destes parâmetros.

Os resultados obtidos concordam com Williams et al. (2015), em que o glyphosate não apresentou efeito sobre a produtividade do milho resistente a este herbicida, embora eles tenham encontrado um leve aumento no rendimento. Enquanto Silva et al., (2018) não encontraram nenhum efeito ou um ligeiro aumento no rendimento do tratamento com glyphosate da soja resistente ao herbicida.

Doses não tóxicas de glyphosate as vezes causam estímulo do crescimento, incluindo a produtividade, um efeito de hormese (BRITO et al., 2018). Não encontramos dados sobre o efeito do glufosinate na produção de milho resistente a este herbicida, mas há vários estudos sobre o rendimento do milho resistente ao glufosinate sem um controle na ausência do herbicida, no entanto, os rendimentos foram maiores com maiores taxas de aplicação de glufosinate devido ao manejo inadequado de plantas daninhas na menor taxa (THARP; KELLS, 1999).

Para o teor foliar dos macronutrientes (N, P, K, Ca, S, Mg), não houve efeitos significativos de glyphosate sozinho, glufosinate sozinho ou aplicação sequencial de glyphosate e glufosinate (Tabela 4), como também não houve efeito de qualquer um desses tratamentos herbicidas sobre o conteúdo foliar dos micronutrientes Cu, Zn, Mn e Fe (Tabela 5).

Tabela 4 – Teor foliar de macronutrientes no estágio de embonecamento de milho transgênico submetido a tratamentos com glyphosate e glufosinate.

Tratamentos	N	P	K	Ca	Mg	S
	----- g kg ⁻¹ -----					
Controle	15,5±1,7	2,09±0,10	21,4±0,9	2,9±0,2	3,1±0,2	2,5±0,2
G980	16,1±2,4	2,22±0,27	22,1±2,0	3,2±0,3	3,3±0,2	2,3±0,4
Glu600	15,5±1,3	2,27±0,19	23,3±1,7	3,3±0,4	3,4±0,3	3,0±0,4
G520+G980	17,1±2,9	2,24±0,17	23,0±2,3	2,9±0,5	3,1±0,4	2,8±0,4
Glu300+Glu300	15,8±0,9	2,35±0,16	21,7±1,3	3,2±0,4	3,2±0,4	2,5±0,4
G980+Glu600	16,3±2,2	2,34±0,21	22,3±1,8	3,0±0,3	3,1±0,5	2,6±0,3

Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

G980: aplicação única de glyphosate a 980 g e.a. ha⁻¹ aos 21 DAE; Glu600: aplicação única de glufosinate a 600 g de i.a. ha⁻¹ aos 21 DAE; G520+G980: aplicação sequencial de glyphosate a 520 g e.a. ha⁻¹ (aos 14 DAE) e 980 g e.a. ha⁻¹ aos 28 DAE; Glu300+Glu300: aplicação sequencial de glufosinate 300 g i.a. ha⁻¹ (aos 14 DAE) e 300 g i.a. ha⁻¹ aos 28 DAE; G980+Glu600: aplicação sequencial de glyphosate 980 g e.a. ha⁻¹ aos 14 DAE e 600 g i.a. ha⁻¹ aos 28 DAE. Não houve diferença estatística (p > 0,05) entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis. Média ± desvio padrão.

Os valores de nitrogênio (N) foram de 15,5 até 17,1 g kg⁻¹, os de fósforo (P) variaram de 2,09 a 2,35 g kg⁻¹, para potássio (K) o valor máximo encontrado foi de 23,3 e mínimo de

21,4 g kg⁻¹. Para cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) as variações mínimas foram de 2,9; 3,1 e 2,3; e máximas de 3,3; 3,4 e 3,0 respectivamente.

Malavolta (1980) indica 30 g kg⁻¹ de N na MS no tecido foliar do milho como valor crítico de N na folha. Mais tarde, em 1997, o mesmo autor indicou como níveis adequados de N estão na faixa de 27,5 a 32,5 g kg⁻¹ por ocasião da diagnose foliar.

Fleck et al. (2001) avaliaram a porcentagem de nitrogênio (N) na fitomassa da planta de milho convencional 15 dias após a aplicação de doses reduzidas de glufosinate (até 80 g i.a. ha⁻¹), quando as mesmas se encontravam no estágio de 10 folhas completas, não tendo observado efeitos negativos no teor deste nutriente.

Para o nutriente potássio (K), Malavolta et al. (1997) afirmam que valores entre 17,5 e 22,5 g kg⁻¹ são considerados adequados para análise de tecido foliares de milho. Os autores também sugerem valores de 1,5 a 2,0 g kg⁻¹ de S. O nutriente é dependente dos teores de matéria orgânica do solo, sendo que solos com baixo teor de matéria orgânica podem apresentar deficiência de S (RHEINHEIMER, 2005). Para Ca e Mg os valores sugeridos vão de 2,5 a 4,0 g kg⁻¹.

Para fósforo (P), Gott et al. (2014) em interpretação de análise foliar no estágio de pré-florescimento do milho, sugerem a faixa de 3,3 a 3,8 g kg⁻¹, valores esses maiores do que os encontrados, mas Malavolta (1997) cita valores entre 2,5 a 3,5 g kg⁻¹.

Apesar dos valores de N estarem divergindo dos relacionados pelos autores acima, não foi observado durante a condução do experimento sintomas de deficiência do mesmo. Adicionado a esse fato, os valores não diferem estatisticamente do controle (tratamento sem a aplicação dos herbicidas), objetivo principal de comparação, sendo também o único macronutriente fora da faixa de suficiência. Malavolta (1997) complementa que a acumulação do nutriente pode ser facilmente afetada por diversos fatores como clima, solo e cultivar utilizada, pois o nitrogênio é um elemento altamente móvel e assim passivo a essas variações ambientais.

Quando se trata dos micronutrientes, para cobre (Cu) encontrou-se valor mínimo de 5,7 e máximo de 6,9 mg kg⁻¹. O elemento ferro (Fe) apresentou valor mínimo de 53,2 e máximo de 70,3 mg kg⁻¹. Para manganês (Mn) o valor mínimo obtido foi de 41,1 e o máximo de 48,0 mg kg⁻¹. E para zinco (Zn) os valores foram de 10,1 e 12,0 mg kg⁻¹ de mínimo e máximo respectivamente.

Tabela 5 – Teor foliar de micronutrientes no estágio de embonecamento de milho transgênico submetido a tratamentos com glyphosate e glufosinate.

Tratamentos	Cu	Fe	Mn	Zn
	-----mg kg ⁻¹ -----			
Controle	5,7±0,5	57,9±5,5	41,1±4,9	10,2±1,1
G980	6,0±1,2	70,3±17,9	46,3±5,7	12,0±1,7
Glu600	6,4±1,0	57,7±5,0	45,9±7,1	11,4±1,8
G520+G980	6,3±0,9	53,2±4,4	41,4±8,0	10,1±2,2
Glu300+Glu300	5,9±0,8	63,0±15,1	42,7±8,9	11,1±1,7
G980+Glu600	6,9±0,9	66,2±7,3	48,0±4,5	11,9±1,6

Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

G980: aplicação única de glyphosate a 980 g e.a. ha⁻¹ aos 21 DAE; Glu600: aplicação única de glufosinate a 600 g de i.a. ha⁻¹ aos 21 DAE; G520+G980: aplicação sequencial de glyphosate a 520 g e.a. ha⁻¹ (aos 14 DAE) e 980 g e.a. ha⁻¹ aos 28 DAE; Glu300+Glu300: aplicação sequencial de glufosinate 300 g i.a. ha⁻¹ (aos 14 DAE) e 300 g i.a. ha⁻¹ aos 28 DAE; G980+Glu600: aplicação sequencial de glyphosate 980 g e.a. ha⁻¹ aos 14 DAE e 600 g i.a. ha⁻¹ aos 28 DAE. Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis. Média ± desvio padrão.

Os micronutrientes Cu e Fe se enquadram dentro da faixa de suficiência sugerida por Malavolta et al. (1997) (Cu – 6 a 20 mg kg⁻¹; Fe – 50 a 250 mg kg⁻¹), enquanto Mn e Zn apresentaram valores ligeiramente abaixo da faixa de suficiência (Mn – 50 a 150 mg kg⁻¹; Zn – 15 a 50 mg kg⁻¹), mas não apresentaram sintomas de deficiência visíveis durante a condução da cultura.

Contudo, os resultados concordam com os de Correia e Santos (2013), que não encontraram efeitos do glyphosate sobre os teores foliares de N, P, K, Ca, Mg, S, Mn, Fe, Cu e Zn no milho resistente glyphosate. No entanto, eles relataram que apenas a dose de 1,2 kg ha⁻¹ de glyphosate reduziu ligeiramente o rendimento do milho resistente ao herbicida. Cutulle et al. (2018) relataram que o estresse leve causado pelos herbicidas mesotrione, topramezona e nicossulfuron aumenta os teores de Mg, Fe e Mn nas folhas de milho não transgênico.

Rech (2017), avaliando macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S) e teor de micronutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn), com o híbrido de milho P30F53YHR, em casa de vegetação, não encontrou diferença entre os tratamentos, mantendo-se similares aos valores relativos à testemunha após aplicação dos herbicidas.

Comparativamente a soja resistente ao glyphosate, o tratamento com glyphosate do milho resistente ao herbicida não teve efeito sobre o teor de macro e micronutrientes das plantas (BOHN et al., 2014; KANDEL et al., 2015; DUKE et al., 2012; 2018).

Os teores de amido, proteínas, carotenoides e lipídios dos grãos de milho resistente a glyphosate e glufosinate não foram afetados por nenhum tratamento herbicida realizado (Tabela

6). Isso ocorreu mesmo que o modo de ação desses herbicidas envolva a inibição direta da síntese de aminoácidos aromáticos e alifáticos e, como consequência, de proteínas e outros produtos derivados.

Tabela 6 – Características de qualidade de grãos de milho transgênico submetido a tratamentos com glyphosate e glufosinate.

Tratamentos	Amido	Proteínas	Lipídeos	Carotenoides
	-----%-----			$\mu\text{g g}^{-1}$
Controle	68,3±6,1	8,2±0,6	7,2±1,2	4,3±0,5
G980	73,7±6,6	7,8±1,0	7,5±1,3	3,8±0,8
Glu600	68,4±6,2	8,5±0,9	7,8±1,1	4,0±0,6
G520+G980	76,2±8,1	8,2±0,8	7,5±1,1	4,6±0,7
Glu300+Glu300	70,6±11,1	8,6±1,1	7,9±1,4	4,9±0,4
G980+Glu600	72,5±5,9	9,4±1,8	7,3±1,1	4,3±0,4

Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

G980: aplicação única de glyphosate a 980 g e.a. ha^{-1} aos 21 DAE; Glu600: aplicação única de glufosinate a 600 g de i.a. ha^{-1} aos 21 DAE; G520+G980: aplicação sequencial de glyphosate a 520 g e.a. ha^{-1} (aos 14 DAE) e 980 g e.a. ha^{-1} aos 28 DAE; Glu300+Glu300: aplicação sequencial de glufosinate 300 g i.a. ha^{-1} (aos 14 DAE) e 300 g i.a. ha^{-1} aos 28 DAE; G980+Glu600: aplicação sequencial de glyphosate 980 g e.a. ha^{-1} aos 14 DAE e 600 g i.a. ha^{-1} aos 28 DAE. Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis. Média $\pm$ desvio padrão.

O teor de amido ficou entre 68,3% (valor mínimo) e 76,2% (valor máximo). Para proteínas os valores foram de 7,8% (mínimo) a 9,4% (máximo). Lipídeos ficaram entre 7,2 a 7,9%, e carotenoides 3,8 e 4,9 $\mu\text{g g}^{-1}$. Na literatura, o valor para a composição dos grãos de milho em base seca é, em média, de 71% de amido, 10% proteínas, 4-5% de óleo (PAES, 2006; CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

Quando trata-se de carotenoides, a variabilidade para teor e perfil de carotenoides é observada em cultivares e linhagens de milho (JANICK-BUCKNER et al., 1999). Análises de nutrientes no milho mostram diferenças significativas na concentração de carotenoides totais (que varia de 0 a 68 $\mu\text{g g}^{-1}$) e de carotenos (que varia de 0,0 a 4,1 $\mu\text{g g}^{-1}$) (BLESSIN et al., 1963; QUACKENBUSH et al., 1963; BERARDO et al., 2004; CARDOSO et al., 2009). Rios et al. (2010) avaliaram o efeito da aplicação de herbicidas pós-emergentes no teor de carotenoides em grãos de milho verde e concluíram que os herbicidas tembotrione e o nicosulfuron não causaram efeitos deletérios nos teores de carotenoides totais ou nas frações com atividade provitamina A.

Reddy et al. (2010) afirmam que o glyphosate aplicado nas doses de 840 e 1260 g/ha não afetou a produção de milho, nitrogênio, e composição de sementes (proteína, óleo e amido conteúdo) em híbridos de milho resistentes a glyphosate e glufosinate.

Na análise de resíduos, o único herbicida encontrado nos grãos para qualquer um dos tratamentos foi uma concentração muito baixa de glyphosate no tratamento com a maior dose em aplicação sequencial do herbicida - G520+G980 (Tabela 7). Das oito repetições/amostras avaliadas, cinco apresentaram valores $<0,05 \text{ mg kg}^{-1}$, enquanto as outras três apresentaram valores iguais a $0,08 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,07 \text{ mg kg}^{-1}$ e $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$.

Tabela 7 – Resíduos de glyphosate e glufosinate em grãos de milho transgênico submetido a tratamentos com glyphosate e glufosinate.

Tratamento	Glyphosate	Glufosinate
	----- mg kg^{-1} -----	
Controle	ND	ND
G980	ND	ND
Glu600	ND	ND
G520+G980	$0,12 \pm 0,07^*$	ND
Glu300+Glu300	ND	ND
G980+Glu600	ND	ND

Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

G980: aplicação única de glyphosate a $980 \text{ g e.a. ha}^{-1}$ aos 21 DAE; Glu600: aplicação única de glufosinate a $600 \text{ g de i.a. ha}^{-1}$ aos 21 DAE; G520+G980: aplicação sequencial de glyphosate a $520 \text{ g e.a. ha}^{-1}$ (aos 14 DAE) e $980 \text{ g e.a. ha}^{-1}$ aos 28 DAE; Glu300+Glu300: aplicação sequencial de glufosinate $300 \text{ g i.a. ha}^{-1}$ (aos 14 DAE) e $300 \text{ g i.a. ha}^{-1}$ aos 28 DAE; G980+Glu600: aplicação sequencial de glyphosate $980 \text{ g e.a. ha}^{-1}$ aos 14 DAE e $600 \text{ g i.a. ha}^{-1}$ aos 28 DAE. ND – não detectado. * Significativo a $p > 0,05$ para o teste de Kruskal-Wallis. Média $\pm$ desvio padrão de 3 repetições/amostras (entre as 8 amostras analisadas) nas quais o glyphosate foi detectado acima do limite de quantificação ($> 0,05 \text{ mg kg}^{-1}$).

A dose máxima recomendada pelo fabricante do Roundup® Original para o controle de plantas daninhas é de seis litros de produto comercial, mas deve ser considerado qual(is) espécie(s) estão presentes na área e qual o grau de infestação das plantas daninhas. Adicionalmente, a indicação é para aplicação em área total em pré-plantio da cultura e pós-emergência das plantas daninhas em sistema de plantio direto, diferente do que foi executado neste trabalho.

A quantidade zero ou muito pequena de glyphosate encontrado no grão de milho resistente ao herbicida tratado com glyphosate contrasta com as quantidades relativamente grandes encontradas na soja resistente ao glyphosate tratada com esse herbicida (BOHN et al., 2014, DUKE et al., 2018, DUKE et al., 2003, BOHM et al., 2014). Outros autores não encontraram glyphosate quando aplicaram o herbicida em sementes de milho resistente ao glyphosate (HEALY et al., 2008).

Mesmo se tratando de produto comercial diferente, Farmer (2014) diz que a maioria das aplicações de glyphosate no milho Roundup Ready ocorre antes dos grãos de milho começarem a se desenvolver; portanto, muito pouco do herbicida está presente nos grãos, e então os

resíduos nos grãos são baixos. Os resíduos típicos de grãos de milho Roundup Ready estão bem abaixo de uma parte por milhão (ppm). A mesma autora afirma que níveis baixos não representam problemas de saúde. Estudos do milho Roundup Ready mostraram que a quantidade de glyphosate na planta do milho após uma aplicação foliar cai bastante e rapidamente, devido à lavagem dos resíduos da superfície, com diluição à medida que a planta cresce e se distribui pela planta e raízes.

De acordo com o *Codex Alimentarius* da FAO (2018), está estabelecido como limite máximo de resíduos (LMR) para glyphosate o valor de 5 mg kg^{-1} e para glufosinate $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$. Para a Anvisa (2016), o LMR para glyphosate é de $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ e $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$ para glufosinate. A Comissão Europeia (EU) (2018) apresenta LMR de $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ para o glyphosate e $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$ do herbicida glufosinate para o milho.

Além desses valores, a análise anual do USDA de resíduos de pesticidas em milho nos EUA não relatou glyphosate em sementes de milho dos quais 90% são milho resistentes ao glyphosate (USDA, 2018).

Isso é intrigante por causa da propriedade móvel do glyphosate no floema e sua propensão para translocar para sumidouros metabólicos, como o desenvolvimento de sementes (DUKE, 1988). É provável que o glyphosate seja mais diluído no milho do que no grão de soja porque o rendimento do milho é geralmente cerca de três vezes maior do que o da soja. Isso não explica totalmente a discrepância entre milho e soja. Não se conhece análises prévias do glufosinate em grão de milho resistente para o herbicida.

A presença do glyphosate nos grãos, mesmo que seja mínima, indica que o herbicida atinge os grãos antes da maturidade fisiológica, porque após esse processo, fica cessada a conexão entre planta-mãe e grãos. Contudo, apesar da rota do chiquimato estar presente em plantas e em muitos microrganismos, ela é completamente ausente em mamíferos, peixes, pássaros, répteis e insetos. Estas formas de vida não dependem da rota do chiquimato porque retiram da dieta os produtos aromáticos que necessitam. Ademais, nas plantas, a EPSPS é encontrada nos cloroplastos e plastídios. (LEVIN; SPRINSON, 1964; YAMADA; CASTRO, 2007).

Vencill (2002) relatou sobre a ingestão de glyphosate, dizendo que o herbicida é praticamente atóxico, pois em ratos por ingestão com notificação aguda, a dose letal (DL_{50}) é $> 5.000 \text{ mg kg}^{-1}$.

A ingestão diária aceitável (IDA) expressa em mg kg^{-1} de massa corpórea determina a quantidade de uma substância química que pode ser ingerida diariamente pelo homem durante toda a vida, sem risco apreciável a sua saúde, à luz dos conhecimentos disponíveis na época da

avaliação. A ANVISA (2018) determina que a IDA para o herbicida glyphosate é de 0,042 mg kg⁻¹ pc., valor este menor que a média encontrada nas amostras, mas ainda dentro do LMR permitido pelos órgãos competentes.

A ANVISA (2017;2018) também determina o intervalo de segurança dos herbicidas (o intervalo de tempo entre a última aplicação do produto e a colheita da cultura). Para a cultura do milho não é determinado o intervalo de segurança do herbicida glyphosate quando aplicado em pós-emergência das plantas daninhas e pré-emergência da cultura. Para o milho transgênico, que expressa resistência ao herbicida glyphosate, o intervalo de segurança é de 90 dias, quando o herbicida for aplicado em pós-emergência da cultura e das plantas daninhas. Para o herbicida glufosinate, o intervalo de segurança para a cultura do milho transgênico, resistente ao herbicida, é de 50 dias quando o herbicida for aplicado em pós-emergência da cultura e das plantas daninhas.

No presente estudo, o intervalo entre a última aplicação realizada (28 DAE) e a colheita (143 DAE) passou dos 100 dias, respeitando o intervalo de segurança determinado.

5 CONCLUSÕES

O milho transgênico resistente a glyphosate e glufosinate exposto aos herbicidas não apresenta alteração no teor de macro e micronutrientes, permitindo que a planta cresça e se desenvolva normalmente, sem prejuízo à produtividade de grãos.

As plantas de milho transgênico, com resistência aos herbicidas glyphosate e glufosinate, não apresentam alteração na qualidade de seus grãos quando expostas a esses herbicidas.

O herbicida glufosinate, nas doses recomendadas, não acumula resíduos nos grãos de milho resistente aos herbicidas glyphosate e glufosinate.

O herbicida glyphosate pode acumular resíduos, em pequenas quantidades, nos grãos de milho resistente aos herbicidas glyphosate e glufosinate.

O intervalo de segurança para cultura foi respeitado, os resíduos encontrados para o herbicida glyphosate estão dentro do LMR recomendado, tornando o produto seguro para uso e consumo.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, T. et al. Eficiência de fertilizante fosfatado protegido na cultura do milho. **Scientia Agraria**, Piracicaba, v. 17, p. 29-35, 2016.

ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, Stuttgart, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013.

ALVES, B. M. et al. Divergência genética de milho transgênico em relação à produtividade de grãos e à qualidade nutricional. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 5, p. 884-891, Maio, 2015.

ANDERSON, D. M. et al. The influence of soil moisture, simulated rainfall and time of application on the efficacy of glufosinate-ammonium. **Weed Research**, Oxford, v. 33, p. 149-160, 1993.

ANDRADE, G. J. M.; ROSOLEM, C. A. Uptake of manganese in RR soybean under glyphosate application. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa-MG, v. 35, p. 961-968, 2011.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos – PARA. **Relatório das análises de amostras monitoradas no período de 2013 a 2015**. Brasília, 25 de novembro de 2016. 246p. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/446359/Programa+de+An%C3%A1lise+de+Res%C3%ADduos+de+Agrot%C3%B3xicos+-+Relat%C3%B3rio+2012+%282%C2%BA+etapa%29/3bc220f9-8475-44ad-9d96-cbbc988e28fa>>. Acesso em: 06 jun. 2018.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). **Índice Monográfico do componente Glifosato (Versão 2.0)**. Brasília, 08 de janeiro de 2018. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=2550911&_101_type=document&redirect=http%3A%2F%2Fportal.anvisa.gov.br%2Fresultado-de-busca%3Fp_p_id%3D3%26p_p_lifecycle%3D0%26p_p_state%3Dnormal%26p_p_mode%3Dview%26p_p_col_id%3Dcolumn-1%26p_p_col_count%3D1%26_3_groupId%3D0%26_3_keywords%3Dglifosato%26_3_cur%3D1%26_3_struts_action%3D%252Fsearch%252Fsearch%26_3_format%3D%26_3_formDate%3D1441824476958>. Acesso em: 30 ago. 2018.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). **Índice Monográfico do componente Glufosinato**. Brasília, 17 de outubro de 2017. Disponível em:

<http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=2838575&_101_type=document&redirect=http%3A%2F%2Fportal.anvisa.gov.br%2Fresultado-de-busca%3Fp_p_id%3D3%26p_p_lifecycle%3D0%26p_p_state%3Dnormal%26p_p_mode%3Dview%26p_p_col_id%3Dcolumn-1%26p_p_col_count%3D1%26_3_groupId%3D0%26_3_keywords%3Dglufosinato%26_3_currency%3D1%26_3_struts_action%3D%252Fsearch%252Fsearch%26_3_format%3D%26_3_formDate%3D1441824476958>. Acesso em: 30 ago. 2018.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). **Official methods of analysis**. 16 ed. Washington, D.C.: 1995. 1094 p.

ASKEW, S. D.; WILCUT, J. W. Cost and weed management with herbicide programs in glyphosate-resistant cotton (*Gossypium hirsutum*). **Weed Technology**, Cambridge, v. 13, p. 308–313, 1999.

BARBERIS, L. R. M. **Metodologia para determinação de efeitos fisiológicos e metabólicos do glufosinate em soja**. 2012. 66 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2012.

BERARDO, N. et al. Carotenoids concentration among maize genotypes measured by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [S.I], v. 5, p. 393-398, 2004.

BERGAMASCHI, H. et al. Estimating maize water requirements using agrometeorological data. **Revista Argentina de Agrometeorologia**, Córdoba, v. 1, p. 23-27, 2001.

BERGAMASCHI, H. et al. Distribuição hídrica no período crítico do milho e produção de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n.9, p. 831- 839, 2004.

BERTRAM, M. G., PEDERSEN, P. Adjusting management practices using glyphosate-resistant soybean cultivars. **Agronomy Journal**, Madison, v. 96, p. 462- 468, 2004.

BLESSIN, C. W. et al. Carotenoids of corn and sorghum. 5. Distribution of xanthophylls and carotenes in hand-dissected and dry-milled fractions of yellow dent corn. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 40, p. 582-586, 1963.

BOHM, G. M. B, et al. Glyphosate effects on yield, nitrogen fixation, and seed quality in glyphosate-resistant soybean. **Crop Science**, Madison, v. 54, p. 1737-1743, 2014.

BOHN, T, et al. Compositional differences in soybeans on the market: Glyphosate accumulates in Roundup Ready GM soybeans. **Food Chemistry**, London, v. 153, p. 207-215, 2014.

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

BOUDET, A. M. et al. Recent advances in the regulation of the prearomatic pathway. In: VAN SUMERE, C. F.; LEA, P. J. (Eds.). **Annual proceedings of the Phytochemical Society of Europe**. Oxford: Clarendon Press, 1985. v. 25, p. 135-159.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Agropecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/SNDA, 2009. 365 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Agropecuária e Abastecimento. Instrução Normativa (IN) nº60 de 22 de dezembro de 2011. Estabelece o Regulamento Técnico do Milho. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 23 de dezembro de 2011.

BRAZ, G. B. P. et al. Seletividade de amônio-glufosinate isolado e em mistura com pyriithobac-sodium em algodoeiro transgênico LL[®]. **Planta daninha**, Viçosa-MG, v. 30, n. 4, p. 853-860, 2012.

BRITO, I. P. F. S. et al. Hormetic effects of glyphosate on plants. **Pest Management Science**, Sussex, v. 74, p. 1064-1070, 2018.

BROOKES, G.; BARFOOT, P. Economic impact of GM crops: The global income and production effects 1996-2012. **GM Crops & Food**, [S.I.], v. 5, n. 1, p. 1-11, 2014.

BRUNHARO, C. A. C. G. et al. Aspectos do mecanismo de ação do amônio glufosinato: culturas resistentes e resistência de plantas daninhas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, v. 13, n. 2, p. 163-177, mai./ago, 2014.

CARDOSO, W. S. et al. Variabilidade de genótipos de milho quanto à composição de carotenoides nos grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 2, p. 164-173, Fev. 2009.

CARVALHO, L. B. et al. Accumulation of dry mass and macronutrients by sourgrass plants. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 31, p. 785-792, 2013.

CARVALHO, N, M; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

CASELEY, J. C.; COUPLAND, D. Environmental and plant factors affecting glyphosate uptake movement and acidity. In: GROSSBARD, E.; ATKINSON, D. A. **The herbicide glyphosate**. London: Butterworths, p. 92-123, 1985.

CASSMAN, K.G. et al. Meeting cereal demand while protecting natural resources and improving environment quality. **Annual Review of Environment and Resources**, Palo Alto, v. 28, n. 1, p. 315-358, nov. 2003.

CONSELHO DE INFORMAÇÕES SOBRE BIOTECNOLOGIA (CIB). **Produtos aprovados**. Disponível em: <<https://cib.org.br/produtos-aprovados/>>. Acesso em: 25 ago. 2018.

CODEX ALIMENTARIUS. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). **Codex Pesticides Residues in Food Online Database**. 2018. Disponível em: <<http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticides/en/>>. Acesso em: 20 de abr. 2018.

COELHO, A. M. et al. **Fertilidade dos solos**: Nutrição e adubação do milho. In: CRUZ, J.C. Cultivo do Milho (Sistema de Produção, 1). Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 8ª ed. 2012.

COELHO, A. M.; FRANÇA, G. E. **Seja doutor do seu milho**: Nutrição e Adubação. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1995. 25 p.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO (CQFS RS/SC) **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Porto Alegre, SBCS/Núcleo Regional Sul, 2004. 400 p.

CONAB (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO). **Acompanhamento safra brasileira de grãos**, v. 12 Safra 2015/16 - Décimo Segundo levantamento, Brasília, p. 104-115, setembro 2016.

CORREIA, N. M; DOS SANTOS E. A. Foliar levels of macro and micronutrients in glyphosate-tolerant maize submitted to herbicides. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 3165-3172, 2013.

CRUZ, J. C. et al. **Milho safrinha**. Agencia Embrapa de Informação e Tecnologia. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/milho/arvore/CONT000fya0krse02wx5ok0pvo4k3mp7ztkf.html>> Acesso em: 15 set. 2017.

CRUZ, J. C. et al. **Cultivo do Milho**: Plantio. 6. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. (Sistemas de Produção, 1). Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_6_ed/manejo_milho.htm>. Acesso em: 27 ago. 2016.

CRUZ, J. C. et al. **Quatrocentas e Setenta e Sete Cultivares de Milho estão Disponíveis no Mercado de Sementes do Brasil para a Safra 2015/16**. Documentos 184. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2015.

CULPEPPER, A. S.; YORK, A. C. Weed management and net returns with transgenic herbicide-resistant, and nontransgenic cotton (*Gossypium hirsutum*). **Weed Technology**, Cambridge, v. 13, p. 411–420, 1999.

CUTULLE, M. A. et al. Several pesticides influence the nutritional content of sweet corn. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Rockville Pikev, v. 66, n. 12, p. 3086-3092, 2018.

CURY, F. **Agricultura e desmatamento – A produção de alimentos tem culpa?** DRAFT. 28 de Agosto de 2015. Disponível em: <<https://projetodraft.com/agricultura-e-desmatamento-a-producao-de-alimentos-tem-culpa/>>. Acesso em: 20 abr. 2018.

DOURADO NETO et. al. Aplicação e influência do fitorregulador no crescimento das plantas de milho. **Revista da FZVA**. Uruguaiana, v. 11, n. 1, p. 1-9, 2004.

DUKE, S. O. **Glyphosate**. In Herbicides-Chemistry. Degradation and Mode of Action Vol. III. Kearney. P. C.; Kaufman. D. D. Eds. New York. Marcel Dekker. Inc. 1988. pp. 1-70.

DUKE, S. O. et al. Isoflavone, glyphosate, and aminomethylphosphonic acid levels in seeds of glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Rockville Pikev, v. 51, p. 340-344, 2003.

DUKE, S. O, et al. Effects of glyphosate on mineral content of glyphosate-resistant soybeans (*Glycine max*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Rockville Pikev, v.60, p.6764-6771, 2012.

DUKE, S. O. The history and current status of glyphosate. **Pest Management Science**, Sussex, v. 74, p. 1027-1034, 2018.

DUKE, S. O. et al. Lack of transgene and glyphosate effects on yield and mineral and amino acid content of glyphosate-resistant soybean. **Pest Management Science**, Sussex, v. 74, p. 1166-1173, 2018.

DURLI, M. M. **Uso do regulador de crescimento etil trinexapac como alternativa para aumentar a resposta do milho à adubação nitrogenada em cobertura**. 2016. 111 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2016.

EMBRAPA (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA). **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. Brasília: Embrapa CNPS, 2013. 353 p.

EPAGRI (EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA). **Boletim agropecuário número 39**. 16 de agosto de 2016. Disponível em:
<http://docweb.epagri.sc.gov.br/website_cepa/Boletim_agropecuario/boletim_agropecuario_n39.pdf>. Acesso em: 29 ago. 2016.

EUROPEAN COMMISSION. **European Commission Pesticides Database**. 2018. Disponível em: <<http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=pesticide.residue.CurrentMRL&language=EN>> e em:
<<http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=pesticide.residue.CurrentMRL&language=EN&pestResidueId=120>>. Acesso em: 14 jun. 2018.

FABRICE, C. E. S. et al. Recuperação de pastagens de "Brachiaria decumbens" degradada com introdução de *Stylosanthes* e adubação fosfatada. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador-BA, v. 16, p. 758-771, 2015.

FAGHERAZZI, M. M. **Respostas morfo-agronômicas do milho à aplicação de trinexapac-ethyl em diferentes estádios fenológicos e doses de nitrogênio**. 2015. 93 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2015.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho**. 2 ed. Guaíba: Agropecuária, 2004. 360 p.

FARMER, D. **How long does glyphosate remain in roundup ready corn after it is applied?** GMO answers, 2014. Disponível em: <<https://gmoanswers.com/ask/how-long-does-glyphosate-remain-roundup-ready-corn-after-it-applied>>. Acesso em: 23 abr. 2018.

FERREIRA, A. C. B. et al. Características agronômicas e nutricionais do milho adubado com nitrogênio, molibdênio e zinco. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 1, p. 131-138, 2001.

FLECK, Nilson Gilberto et al. Ação dos herbicidas atrazine e glufosinato de amônio no aproveitamento de nitrogênio pelas plantas de milho. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 19, n. 2, p. 235-245, maio/ago. 2001.

FONSECA A. F. et al. Extraction methods and availability of micronutrients for wheat under a no-till system with a surface application of lime. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 67, p. 60-70, 2010.

FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do milho**. Jaboticabal: Funep, 2007. 574 p.

FRANZ, J.; MAO, M.K.; SIKORSKI, J.A. **Glyphosate**: a unique global herbicide. Washington, D.C.: ACS, 1997. 653 p.

FRIZZAS, M. R. **Efeito do Milho Geneticamente Modificado MON810 Sobre a Comunidade de Insetos**. 2003. 192 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Piracicaba, Universidade de São Paulo, 2003.

GAZZIERO, D. L. P.; PRETE, C. E. C. Resistência é a Questão. **Revista Cultivar**, Porto Alegre, n. 4, p. 22- 24, 2004.

GAZZIERO, D. L. P. et al. Plantio direto no Brasil e o glyphosate. In: VELINI, E. D. et al. **Glyphosate**. Fepaf: Botucatu, p. 191-210, 2009.

GEIGER, D. R.; FUCHS, M. A. Inhibitors of aromatic amino acid biosynthesis (glyphosate). In: BÖGER, P.; WAKABAYASHI, K.; HIRAI, K. (Eds.). **Herbicide classes in development**. Berlin: Springer-Verlag, p. 59-85, 2002.

GIVAN, C. V. Aminotransferases in higher plants. In: MIFLIN, B. J. **The biochemistry of Plants: Amino Acids and Derivatives**. New York: Academic. p. 329-357, 1980.

GOMES, M, S. et al. Variabilidade genética em linhagens de milho nas características relacionadas com a produtividade de silagem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 9, p. 879-885, 2004.

GONÇALVES, R. A. et al. Rendimento e composição química de cultivares de milho em moagem a seco e produção de grãos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 3, p. 643-650, 2003.

GONÇALVES JUNIOR, A. C. et al. Produtividade do milho em resposta a adubação com NPK e Zn em argissolo vermelho-amarelo eutrofico e latossolo vermelho eutrofico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1231-1236, jul./ago., 2007.

GOTT, R. M. et al. Índices diagnósticos para interpretação de análise foliar do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 11, p. 1110–1115, jun. 2014.

HAAS, P.; MULLER, F. Behaviour of glufosinateammonium in weeds. In: BRITISH CROP PROTECTION CONFERENCE WEEDS, 1987, Bracknell. **Proceedings...** Bracknell: BCPC, p. 1075, 1987.

HANWAY, J. J. Growth stages of corn (Zea mays). **Agronomy Journal**, Madison, vol. 55, n. 5, 487-492, 1963.

HEALY C. et al. Results of a 13-week safety assurance study with rats fed grain from corn rootworm-protected glyphosate-tolerant MON 88017 corn. **Food and Chemical Toxicology**, [S.I.], v. 46, p. 2517-2524, 2008.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**, 4 ed., 1 ed. digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

JANICK-BUCKNER, D. et al. Biochemical and ultrastructural analysis of the y10 mutant of maize. **Journal of Heredity**, Cary, v. 90, p. 507-513, 1999.

KANDEL, Y. R. et al., Effect of glyphosate application on sudden death syndrome of glyphosate-resistant soybean under field conditions. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 99, p. 347-354, 2015.

KISHORE, G.M.; SHAH, D. M. Amino acid biosynthesis inhibitors as herbicides. **Annual Review of Biochemistry**, [S.I.], v. 57, n. 4, p. 627-663, 1988.

KOGER, C. H. et al. Rice (*Oryza sativa*) response to drift rates of glyphosate. **Pest Management Science**, Sussex, v. 61, n. 12, p. 1161-1167, 2005.

LANE, J. H.; EYNON, L. Determination of reducing sugars by means of Fehling's solution with methylene blue as internal indicator. **Journal of the Society Chemical Industry**, [S.I.], v. 42, p. 32-36, 1923.

LEA, P. J. Nitrogen metabolism. In: LEA, P.J.; LEEGOOD, R.C. (Eds). **Plant Biochemistry and Molecular Biology**. New York: Wiley. p.155-180, 1993.

LEOLATO, L. S. **Uso do regulador de crescimento etil trinexapac e resposta do milho ao incremento na densidade de plantas em duas épocas de semeadura**. 2016. 142 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2016.

LEHOTAY, S. Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: Collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.90, p.485-520, 2007.

LEVIN, J. G.; SPRINSON, D. B. The enzymatic formation and isolation of 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate. **Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v. 239, p. 1142-1150, 1964.

LIMA, M. A.; CORRÊA, I. M.; **Entendendo os limites de resíduos de agrotóxicos em alimentos**. 2012. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.esalq.usp.br/departamentos/leb/disciplinas/Casimiro/LFN/Leitura_recomendada/Entendendo%20os%20limites%20de%20residuos%20de%20agrototoxicos%20em%20alimento%20s.pdf>. Acesso em: 15 fev. 2018.

LOGUSCH, E.W.; WALKER, D.M.; MCDONALD, J.F., FRANZ, J.E. Inhibition of plant glutamine synthetases by substituted phosphinothricins. **Plant Physiology**, [S.I.], v. 95, p. 1057–1062, 1991.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. **Fisiologia da Produção de Milho**. Circular Técnica 76. Embrapa. Dezembro, 2006. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPMS/19620/1/Circ_76.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2018.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. 251 p.

MALAVOLTA, E. et al. **Avaliação do estado nutricional das plantas**. Princípios e aplicações. 2ª ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997, 319p.

MANDERSCHIED, R.; WILD, A. Studies on the mechanism of inhibition by phosphinothricin of glutamine synthetase isolated from *Triticum aestivum* L. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 123, n. 2, p. 135-142, 1986.

MARÍA, N. et al. Alterations induced by glyphosate on lupin photosynthetic apparatus and nodule ultrastructure and some oxygen diffusion related proteins. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 43, n. 10-11, p. 985-996, 2005.

MASCHHOFF, J. R. et al. Effect of ammonium sulfate on the efficacy, absorption, and translocation of glufosinate. **Weed Science**, Champaign, v. 48, n. 1, p. 2-6, 2000.

MCCREADY, R. M. et al. Determination of starch and amylose in vegetables: application to peas. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 22, p. 1156-1158, 1950.

MEEK, T. D.; VILLAFRANCA, J. J. Kinect mechanism of Escherichia coli glutamine synthetase. **Biochemistry**, Washington, v. 19, n. 1, p. 5513- 5519, 1980.

MELHORANÇA FILHO, A. L. et al., Efeito de glyphosate sobre características produtivas em cultivares de soja transgênica e convencional. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 3, p. 322-333, Maio/Junho 2010.

MERSEY, B, G. et al. Factors affecting the herbicidal activity of glufosinate-ammonium: adsorption, translocation, and metabolism in barley and green foxtail. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego-CA, v. 37, p. 90-98, 1990.

MOLDES, C. A. et al. Biochemical responses of glyphosate resistant and susceptible soybean plants exposed to glyphosate. **Acta Physiologiae Plantarum**, [S.I.], v. 30, n. 4, p. 469-479, 2008.

MONQUERO, P. A. et al. Absorção, translocação e metabolismo do glyphosate por plantas tolerantes e suscetíveis a este herbicida. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 22, n. 3, p. 445-451, 2004.

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

MOREIRA, M. S; CHRISTOFFOLETI, P. J. Resistência de Plantas daninhas aos herbicidas inibidores da EPSPs (Grupo G). In: CHRISTOFFOLETI, P. J. (Coord.). **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 3. ed. Campinas: HRAC-BR, 2008. p. 9-34.

NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. Plantas transgênicas e seus produtos: impactos, riscos e segurança alimentar (Biossegurança de plantas transgênicas). **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 1, p. 105-116, 2003.

PAES, M. C. D. **Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho**. Circular Técnica 75. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006.

PATERNIANI, E; VIÉGAS, G. P. **Melhoramento e produção de milho**. Campinas: Fundação Cargill, 1987.795p.

PLINE, W. A. et al. Reproductive abnormalities in glyphosate-resistant cotton caused by lower CP4-EPSPs levels in the male reproductive tissue. **Weed Science**, Champaign, v. 50, p. 438-447, 2002.

PRESTON, C.; WAKELIN, A. M. Resistance to glyphosate from altered herbicide translocation patterns. **Pest Management Science**, Sussex, v. 64, n. 4, p. 372-376, 2008.

QUACKENBUSH, F. W. et al. Carotenoid, oil, and tocopherol content of corn inbreds. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 40, p. 250-259, 1963.

RECH, R. **Glyphosate e glufosinate alteram crescimento inicial e nutrição mineral de milho resistente aos herbicidas?** 2017. 55 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade do Estado de Santa Catarina. Lages, 2017.

REDDY, K. N. Glyphosate-resistant soybean as a weed management tool: opportunities and challenges. **Weed Biology and Management**, Japan, v. 1, n. 4, p. 193-203, 2001.

REDDY, K. N. et al. Effect of Glyphosate on Growth, Chlorophyll, and Nodulation in Glyphosate-Resistant and Susceptible Soybean (*Glycine max*) Varieties. **Journal of New Seeds**, [S.I.], v. 2, n. 3, p. 37-52, 2001b.

REDDY, K. N. et al. Aminomethylphosphonic acid accumulation in plant species treated with glyphosate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Rockville Pikev, v. 56, n. 6, p. 2125-2130, 2008.

REDDY, K. N. Glyphosate Effect on Shikimate, Nitrate Reductase Activity, Yield, and Seed Composition in Corn. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Rockville Pikev, v. 58, n. 6, p. 3646-3650, 2010.

RHEINHEIMER, D. S. et al. Resposta de culturas à aplicação de enxofre e a teores de sulfato num solo de textura arenosa sob plantio direto. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 562-569, maio/jun. 2005.

RIDLEY, W. P. Comparison of the Nutritional Profile of Glyphosate-Tolerant Corn Event NK603 with That of Conventional Corn (*Zea mays* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Rockville Pikev, v. 50, p. 7235 – 7243, 2002.

RIOS, S. A. et al. Carotenoides em grãos de milho verde após a aplicação de herbicidas pós-emergentes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 1, p. 106-109, jan. 2010.

RITCHIE, S.W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. **How a corn plant develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1993. 26p. (Special Report, 48).

RODRIGUES, J. D. **Absorção e transporte de solutos nas plantas**. In: VELINI, E. D. et al. Glyphosate. Botucatu: Fepaf, 2009. 493 p.

RODRIGUEZ-AMAYA D. B.; KIMURA, M. **HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis**. Washington, DC and Cali: IFPRI and CIAT, 2004. 58p. (HarvestPlus Technical Monograph)

RONQUIM, C. C. **Conceitos de fertilidade do solo e manejo adequado para as regiões tropicais**. Boletim de Pesquisa e desenvolvimento 8. Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite, 2010.

SALOMÃO, E. C. **Consórcio milho – plantas de cobertura e viabilidade técnica da soja safrinha**. Dois Vizinhos, 2017. 73f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2017.

SANGOI, L. et al. **Desenvolvimento e exigências climáticas da planta de milho para altos rendimentos**. Lages: Graphel, 2007. 96 p.

SANGOI, L.; SILVA, P. R. F.; ARGENTA, G. **Estratégias de manejo do arranjo de plantas para aumentar o rendimento de grãos de milho**. Lages. 2010. 64 p.

SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ, 1974. 54 p.

SCOTT, G. H. et al. Economic evaluation of HADSSy computer program for weed management in nontransgenic and transgenic cotton. **Weed Science**, Champaign, v. 49, p. 549–557, 2001.

SENAR (SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM RURAL). **Milho é uma das principais fontes de alimento do brasileiro, com importância estratégica nas exportações do agronegócio**. Notícias, 24/05/2016. Disponível em: <<http://www.senar.org.br/noticia/milho-e-uma-das-principais-fontes-de-alimento-do-brasileiro-com-importancia-estrategica-nas>>. Acesso em: 29 ago. 2016.

SFREDO, G. J. **Soja no Brasil: calagem, adubação e nutrição mineral**. Embrapa Soja, Londrina, Paraná. 2008.

SHELP, B. J. et al. Glufosinate (phosphinothricin) mobility in young soybean shoots. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 139, n. 1, p. 626-628, 1992.

SILVA, J. S.; CORRÊA, P. C. **Estrutura, composição e propriedades dos grãos**. In: SILVA, J. S. et al. Secagem e Armazenagem de Produtos Agrícolas. Viçosa: Aprenda Fácil, 2008. 560p.

SILVA, I. P. F. **Velocidade de absorção do glufosinate e seus efeitos em plantas daninhas e algodão**. 2012. 82 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2012.

SILVA, M. S. et al. Glyphosate stimulates the accumulation of N-compounds, grain yield and seed vigor in glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 10. p. 157-166, 2018.

SOBRAL, J. K. **A comunidade bacteriana endofítica e epifítica de soja (Glycine Max) e estudo da interação endófitos-planta**. 2003. 174 p. Tese (Doutorado) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”, Piracicaba, 2003.

SATICHIVI, N. M. et al. Absorption and translocation of glyphosate isopropylamine and trimethylsulfonium salts in *Abutilon theophrasti* and *Setaria faberi*. **Weed Science**, Champaign, v. 48, p. 675-679, 2000.

STECKEL, G. J. et al. Absorption and translocation of glufosinate on four weed species. **Weed Science**, Champaign, v. 45, n. 3, p. 378-381, 1997.

TACHIBANA, K. et al. Accumulation of ammonia in plants treated with bialaphos. **Journal of Pesticide Science**, Japan, v. 11, n. 1, p. 33- 37, 1986.

TAN, S. Herbicidal inhibitors of amino acid biosynthesis and herbicide-tolerant crops. **Amino Acids**, Wien, v. 30, n. 2, p. 195-204, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artemed, 2013. 954p.
TEDESCO, M.J. et al. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre: UFRGS, Departamento de Solos, 1995. 174 p.

THARP, B. E.; KELLS, J. J. Influence of herbicide application rate, timing, and interrow cultivation on weed control and corn (*Zea mays*) yield in glufosinate-resistant and glyphosate-resistant corn. **Weed Technology**, Cambridge, v. 13, p. 807-813, 1999.

UNNO, H. et al. Atomic structure of plant glutamine synthetase. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 281, n. 1, p. 29287- 29296, 2006.

USDA (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE). **World Corn Production, Consumption, and Stocks**. Disponível em:
<<http://apps.fas.usda.gov/psdonline/psdReport.aspx?hidReportRetrievalName=World+Corn+Production%2c+Consumption%2c+and+Stocks&hidReportRetrievalID=459&hidReportRetrievalTemplateID=7>>. Acesso em: 02 set. 2016.

USDA (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE). **Pesticide Data Program**. 2018. Disponível em: <<https://www.ams.usda.gov/datasets/pdp>>. Acesso em: 15 mar. 2018.

VEDOVATO, J.; FINAMORE, W. Adubação foliar na cultura do milho safrinha. **A Revista Eletrônica da Faculdade de Ciências Exatas e da Terra Produção/Construção e tecnologia**, Dourados, v. 5, n. 8, 2016.

VENCILL, W. K. **Herbicide handbook**. Weed Science Society of America, 8 ed. Lawrence, KS, 2002, 193 p.

VON LIEBIG, J. **Die chemie in ihrer Anwendung auf Agrikultur und Physiologie**. Veinegn: Braunschweig, 1840, 342 p.

WANAMARTA, G. D.; PENNER, D. Foliar absorption of herbicides. **Weed Science**, Champaign, v. 4, p. 215-231, 1989.

WILLIAMS M. M, et al. Goss's wilt incidence in sweet corn is independent of transgenic traits and glyphosate. **HortScience**, Alexandria, v. 50, p. 1791-1794, 2015.

YAMADA, T.; CASTRO, P. R. C. Efeitos do glifosato nas plantas: implicações fisiológicas e agronômicas. **International Plant Nutrition Institute**. Encarte técnico – Informações Agronômicas nº119. Setembro/2007.

YENISH, J. P.; YOUNG, F. L. Effect of Preharvest Glyphosate Application on Seed and Seedling Quality of Spring Wheat (*Triticum aestivum*). **Weed Technology**, Cambridge, v. 14, p. 212–217, 2000.