

RAFAEL RECH

**GLYPHOSATE E GLUFOSINATE ALTERAM CRESCIMENTO INICIAL E
NUTRIÇÃO MINERAL DE MILHO RESISTENTE AOS HERBICIDAS?**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias de Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Bianco de Carvalho

LAGES

2017

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

RECH, RAFAEL

GLYPHOSATE E GLUFOSINATE ALTERAM CRESCIMENTO
INICIAL E NUTRIÇÃO MINERAL DE MILHO RESISTENTE AOS
HERBICIDAS? / RAFAEL RECH. - Lages , 2017.
55 p.

Orientador: Leonardo Bianco de Carvalho
Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado de
Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em
Produção Vegetal, Lages, 2017.

1. N-(fosfometil)glicina. 2. 2-amino-4-
(hidroximetil-fosfinil)butirato de amônio. 3.
Herbicida. 4. Fisiologia de plantas. 5. Zea mays.
I. Bianco de Carvalho, Leonardo. II. Universidade
do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-
Graduação. III. Título.

RAFAEL RECH

**GLYPHOSATE E GLUFOSINATE ALTERAM CRESCIMENTO INICIAL E
NUTRIÇÃO MINERAL DE MILHO RESISTENTE AOS HERBICIDAS?**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em Produção Vegetal,
da Universidade do Estado de Santa Catarina como requisito para a obtenção
do título de Mestre em Produção Vegetal.

Banca examinadora:



Orientador: _____

Prof. Dr. Leonardo Bianco de Carvalho
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Membro: _____

Prof. Dr. Clóvis Arruda de Sousa
Universidade do Estado de Santa Catarina



Membro: _____

Prof. Dr. Mariluce Pascoina Nepomuceno
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Lages, 10/08/2017

À minha família dedico!

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, saúde, proteção, sem o qual nada seria possível.

A meus pais Décio e Vanir pelo apoio a qualquer hora, pelo incentivo a minha educação e pelo amor dedicado a formação de nossa família.

Meus irmãos Rodrigo e Renata pelo exemplo, e pelos ensinamentos que aprendi tanto na carreira acadêmica como na vida.

A pessoa mais especial que o mundo me apresentou, Elise, minha namorada e companheira que nunca mediu esforços em apoiar a continuação da minha carreira acadêmica, pelo apoio nas decisões tomadas e pelo amor dedicado.

Ao meu orientador Prof. Dr. Leonardo Bianco de Carvalho pela orientação desde a época de graduação pela orientação no mestrado, pelos ensinamentos, pelo apoio, compreensão e paciência agradeço.

Agradeço aos professores que tive aula, digo que cada minuto em convivência com os mesmos foram de suma importância para a realização desde trabalho e principalmente para formação do cidadão que aqui esta escrevendo.

Aos amigos não é possível citar nomes, pois foram tantos, mas aqueles que participaram de forma especial sabem do que estou falando. Obrigado as repúblicas do CAV por ter formado esse circulo de amizade forte que nunca terá fim.

Obrigado a instituição UDESC pela concessão da bolsa de estudos durante o período de mestrado e ao Centro de Ciências Agroveterinarias CAV pela oportunidade, sem a qual nada seria possível.

A aqueles que aqui não foram citados, ainda, agradeço!

RESUMO

RECH, Rafael. **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. Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, Lages, Santa Catarina, Brasil, 2017.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos causados pelos herbicidas glyphosate e glufosinate sobre o crescimento e a nutrição mineral de plantas de milho transgênico (*Zea mays*) com resistência aos dois herbicidas. Os experimentos foram realizados em casa de vegetação com aplicações únicas e sequenciais dos herbicidas e manutenção de testemunhas utilizando o híbrido P30F53YHR, o qual é resistente aos herbicidas glyphosate e glufosinate. Os tratamentos utilizados foram: (T1) manutenção de testemunha sem aplicação de herbicida; (T2) aplicação única de glyphosate a 980 gramas de equivalente ácido por hectare (980 g e.a. ha⁻¹), aos 21 dias após a emergência (DAE); (T3) aplicação única de glufosinate a 600 gramas de ingrediente ativo por hectare (600 g i.a. ha⁻¹), aos 21 DAE; (T4) aplicação sequencial de glyphosate a 520 + 980 g e.a. ha⁻¹, aos 14 e 28 DAE, respectivamente; (T5) aplicação sequencial de glufosinate a 300 + 300 g i.a. ha⁻¹, aos 14 e 28 DAE, respectivamente; e (T6) aplicação sequencial de glyphosate (980 g e.a. ha⁻¹) e glufosinate (600 g i.a. ha⁻¹), aos 14 e 28 DAE, respectivamente; sendo conduzido em delineamento inteiramente casualizado com oito repetições. Foram realizadas avaliações de altura das plantas e determinação do número de folhas, em intervalos de 7 DAE, iniciando-se aos 21 DAE e estendendo-se até o estágio de pré-florescimento. No final do período experimental foi realizada a pesagem da massa seca da planta, sendo separado um exemplar de folha padrão para determinar os teores de macronutrientes e micronutrientes em tecidos foliares. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste das variâncias, comprovando que a aplicação única ou sequencial dos herbicidas glyphosate e glufosinate não afetam ($P > 0,05$) o teor foliar de macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S) e o teor de micronutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn), mantendo-se similares aos valores relativos à testemunha após aplicação dos herbicidas. A altura média de plantas e o número de folhas médio de plantas de milho aumentaram entre 21 e 63 DAE, com valores médios variando de 62,3 a 286,5 cm e 5 a 18 unidades, respectivamente, não havendo diferença entre os tratamentos dentro de cada período de avaliação. A massa seca acumulada pelas plantas de milho, aos 63 DAE, variou de 116,6 a 122,2 g, não havendo diferença entre os tratamentos. O glyphosate e o glufosinate não afetam o desenvolvimento do milho 30F53YHR.

Palavras-chave: N-(fosfometil)glicina, 2-amino-4-(hidroximetil-fosfinil)butirato de amônio, Herbicida, Fisiologia de plantas, *Zea mays*, Organismo geneticamente modificado.

ABSTRACT

RECH, Rafael. **Does glyphosate and glufosinate alter initial growth and mineral nutrition of herbicide-resistant corn?** 2017. 55 f. Dissertation (MSc in Plant Production) - Santa Catarina State University. Post Graduate Program in Plant Production, Lages, Santa Catarina, Brazil, 2017.

The objective of this present work was to evaluate the effects of herbicides glyphosate and glufosinate on the growth and mineral nutrition of transgenic maize plants (*Zea mays*) with tolerance to both herbicides. The experiments were carried out under greenhouse conditions with single and sequential application of herbicides and maintenance of controls using the hybrid P30F53YHR, which is resistant to the herbicides glyphosate and glufosinate. The treatments used were: (T1) maintenance of control without herbicide application; (T2) single application of glyphosate at 980 grams of acid equivalent per hectare ($980 \text{ g a.e. ha}^{-1}$) at 21 days after emergence (DAE); (T3) single application of glufosinate at 600 grams of active ingredient per hectare ($600 \text{ g a.i. ha}^{-1}$) at 21 DAE; (T4) sequential application of glyphosate at $520 + 980 \text{ g a.e. ha}^{-1}$, at 14 and 28 DAE, respectively; (T5) sequential application of glufosinate to $300 + 300 \text{ g a.i. ha}^{-1}$, at 14 and 28 DAE, respectively; and (T6) sequential application of glyphosate ($980 \text{ g a.e. ha}^{-1}$) and glufosinate ($600 \text{ g a.i. ha}^{-1}$) at 14 and 28 DAE, respectively; being conducted in a completely randomized design with eight replicates. Stature evaluations of the plants and determination of the number of leaves were carried out at intervals of 7 DAE, starting at 21 DAE and extending to the pre-flowering stage. At the end of the experimental period the dry mass of the plant was weighed and a standard leaf sample was separated to determination of the macronutrient and micronutrient contents in leaf tissues. Statistical analyzes were performed by the variance test, demonstrating that the single or sequential application of the glyphosate and glufosinate herbicides did not affect ($P > 0.05$) the leaf content of macronutrients (N, P, K, Ca, Mg and S) and the micronutrient content (Cu, Fe, Mn and Zn), remaining similar to the control values after application of the herbicides. The average height of plants and the average number of leaves of maize plants increased between 21 and 63 DAE, with mean values ranging from 62.3 to 286.5 cm and 5 to 18 units, respectively, with no difference between the treatments within each evaluation period. The dry mass accumulated by maize plants, at 63 DAE, ranged from 116.6 to 122.2 g, with no difference between treatments. The glyphosate and glufosinate do not affect the development of 30F53FYHR maize.

Keywords: N-(phosphonomethyl)glycine, 2-amino-4-(hidroximetil-fosfinil) butanoic acid, Herbicide, Plant physiology, *Zea mays*, Genetically modified organism.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Incremento na altura média e no número de folhas médio de milho resistente a glyphosate e glufosinate. Barras verticais indicam a média do erro padrão das médias de oito repetições dos tratamentos testados (testemunha sem aplicação; glyphosate em aplicação única; glufosinate em aplicação única; glyphosate e glyphosate em aplicação sequencial; glufosinate e glufosinate em aplicação sequencial; e glyphosate e glufosinate em aplicação sequencial)28
- Figura 2 - Massa seca acumulada por plantas de milho resistente a glyphosate e glufosinate submetidas à aplicação única (glyphosate; glufosinate) ou sequencial (glyphosate e glyphosate; glufosinate e glufosinate; glyphosate e glufosinate) dos herbicidas ou não expostas aos herbicidas (testemunha), aos 63 dias após a emergência. Barras verticais indicam a média do erro padrão de oito repetições.....29
- Figura 3 - Teor de macronutrientes foliar em plantas de milho resistente a glyphosate e glufosinate submetidas à aplicação única (glyphosate; glufosinate) ou sequencial (glyphosate e glyphosate; glufosinate e glufosinate; glyphosate e glufosinate) dos herbicidas ou não expostas aos herbicidas (testemunha), aos 63 dias após a emergência. Barras verticais indicam o erro padrão da média de quatro repetições.....30
- Figura 4 - Teor de micronutrientes foliar em plantas de milho resistente a glyphosate e glufosinate submetidas à aplicação única (glyphosate; glufosinate) ou sequencial (glyphosate e glyphosate; glufosinate e glufosinate; glyphosate e glufosinate) dos herbicidas ou não expostas aos herbicidas (testemunha), aos 63 dias após a emergência. Barras verticais indicam o erro padrão da média de quatro repetições.....31

LISTA DE ABREVIATURAS

g e.a. ha⁻¹ – Grama (s) de equivalente ácido por hectare

g i.a. ha⁻¹ – Grama (s) de ingrediente ativo por hectare

mg dm⁻³ – Miligrama (s) por decímetro cúbico

cmol_c dm⁻³ – Centimol de carga por decímetro cúbico

L ha⁻¹ – Litros por hectare

g – grama (s)

% – Por cento (percentual)

°C – Graus Celsius

g kg⁻¹ – Grama (s) por quilograma

mg kg⁻¹ – Miligrama (s) por quilograma

® – Registrado

pH – Potencial de hidrogênio

RR – Roundup Ready®

LL – Liberty Link®

DAE – Dias após a emergência

DAA – Dias após a aplicação

SAP – Semanas após a aplicação

MO – Matéria orgânica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	23
2.1	DESCRIÇÃO DO EXPERIMENTO.....	23
2.2	AVALIAÇÕES.....	24
2.2.1	Avaliações do crescimento e desenvolvimento das plantas.....	24
2.2.2	Avaliações da massa seca de plantas.....	25
2.2.3	Avaliações dos teores de macronutrientes e micronutrientes.....	25
2.3	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	26
3	RESULTADOS.....	27
4	DISCUSSÃO.....	33
5	CONCLUSÃO.....	47
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

1 INTRODUÇÃO

A cultura do milho possui grande importância e destaque no cenário nacional e mundial, e para garantir a redução das perdas de produtividade decorrentes da interferência de plantas daninhas, bem como melhores condições de manejo, o uso de tecnologias no cultivo é uma alternativa. Dentre as diversas tecnologias existentes para a cultura do milho está a transgenia, a qual veio para revolucionar o manejo de pragas, doenças e plantas daninhas. Em relação a transgenia de plantas resistentes a herbicidas, as quais são utilizadas no manejo de plantas daninhas na cultura do milho, destacam-se as tecnologias Roundup Ready® (RR), resistente ao herbicida glyphosate, e Liberty Link® (LL), resistente ao herbicida glufosinate.

Segundo Carvalho (2013), a resistência de plantas daninhas a herbicidas é, nos dias de hoje, a principal preocupação dos estudiosos em manejo de plantas daninhas. Dentre os fatores que aceleram esse processo, podemos citar o uso de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação como uma das principais ações que levam ao aparecimento de biótipos resistentes. O sistema utilizado atualmente nas lavouras brasileiras é dependente do controle químico, aumentando a importância de híbridos que possuem transgenia de resistência a mais de um herbicida. O híbrido 30F53YHR possui resistência aos herbicidas glyphosate e glufosinate (inibidores da EPSPs e inibidores da enzima Glutamina Sintetase, respectivamente), fator de grande importância no controle de plantas daninhas resistentes a herbicidas, por possibilitar o uso de dois herbicidas com diferentes mecanismos de ação.

A possibilidade de existir efeitos de herbicidas sobre o desenvolvimento e a qualidade do produto colhido em culturas transgênicas resistentes a esses produtos vem apresentando relevante preocupação com o cultivo destas culturas. No Brasil, atualmente, para o milho transgênico resistente a herbicidas, há disponibilidade de híbridos com a tecnologia RR (resistente ao glyphosate) e LL (resistente ao glufosinate), isoladamente ou associadas na mesma planta. Essas tecnologias possibilitam a utilização dos dois herbicidas, os quais não são seletivos, no controle de plantas daninhas, sem que estes afetem a cultura de interesse. O glyphosate apresenta como mecanismo de ação a inibição da enzima EPSPs (5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintase)

(GREEN, 2009), responsável por sintetizar aminoácidos aromáticos, ligando-se a enzima, impedindo sua ação, e em decorrência disso ocorre acúmulo de compostos tóxicos que promovem fitotoxicidade na planta (ROMAM, 2007). O herbicida glufosinate liga-se a enzima glutamina sintetase (GS) promovendo assim, o acúmulo de amônia na célula, um déficit de glutamina, glutamato e aminoácidos, decréscimo da taxa fotossintética, ocorrendo paralisação do desenvolvimento da planta, clorose e consequente morte da mesma (ROMAM, 2007).

Segundo Dill (2005), o uso de biologia molecular na transformação de plantas possibilitou a transferência do gene insensível ao glyphosate para as culturas, permitindo assim, a utilização do herbicida nas mesmas. O milho RR possui o gene CP4, que produz a proteína CP4EPSPs (enolpiruvilchiquimato-3-fosfatossintase) a qual é insensível ao glyphosate. O milho LL possui o gene *pat*, o qual produz a enzima PAT (fosfinotricina-N-acetiltransferase) que degrada o glufosinate, conferindo resistência ao herbicida (BORÉM, 2005).

Pesquisas foram realizadas com a cultura da soja transgênica resistente a herbicidas em relação ao efeito destes produtos no desenvolvimento e nutrição mineral da cultura. Entretanto, há contradição nos resultados obtidos. Alguns autores evidenciam efeito negativo do glyphosate sobre a nutrição mineral (BELLALLOUI et al., 2009; BOTT et al., 2008; ZOBIOLE et al., 2010a, 2011), enquanto outros estudos não apresentaram estes efeitos (ANDRADE; ROSOLEM, 2011; BAILEY et al., 2002; EBELHAR et al., 2006; ROSOLEM et al., 2010; entre outros). Em pesquisa realizada com girassol transgênico resistente a glyphosate, foi observada redução na assimilação e na translocação de manganês e ferro (EKER et al., 2006). Duke et al. (2012a) realizaram estudos comparando condições controladas e condições de campo, avaliando plantas expostas e sem exposição a glyphosate, e concluíram que não há alteração na nutrição mineral de folhas e sementes de soja RR, mas não estudaram milho transgênico. Em relação ao glufosinate, poucos estudos foram feitos para elucidar a relação entre aplicação destes herbicidas e a nutrição da planta resistente.

Apesar de não encontrar efeitos significativos sobre a nutrição mineral de soja RR exposta a glyphosate, e concluírem que os resultados adversos encontrados na literatura devem ter ocorrido em função das condições de

crescimento das plantas, Duke et al. (2012b) apontaram três possíveis mecanismos pelos quais pode ocorrer redução na assimilação e/ou translocação dos nutrientes. O primeiro mecanismo é a própria fitotoxicidade do herbicida, causando intoxicação das plantas expostas ao produto, o que acarreta diversas alterações fisiológicas, incluindo efeitos secundários sobre a assimilação e a translocação de nutrientes, exatamente o que acontece com plantas susceptíveis; porém, como plantas transgênicas são até 50% mais resistentes ao glyphosate (NANDULA et al., 2007), os efeitos não são significativos. O segundo mecanismo é a quelatização de minerais catiônicos pelo glyphosate (ácido fraco), como o manganês, por exemplo (estudos indicam menores teores desse nutriente em plantas transgênicas); no entanto, os autores não acreditam na substancial quelatização de minerais pelo herbicida, reduzindo a assimilação de nutrientes do solo. O terceiro é o provável efeito tóxico do glyphosate exsudado na rizosfera sobre microrganismos do solo, particularmente fungos, que auxiliam na assimilação de nutrientes pelas plantas.

A adoção dos organismos geneticamente modificados traz à tona algumas preocupações na utilização de herbicidas nas culturas transgênicas resistentes a estes produtos. Essas preocupações são referentes aos efeitos do glyphosate e glufosinate sobre o desenvolvimento das plantas, a nutrição mineral, a produtividade das culturas e a qualidade do produto final. Para a cultura da soja transgênica resistente a herbicidas já foram realizados alguns estudos relacionados ao efeito de glyphosate no crescimento e na nutrição mineral da cultura, porém não foram encontradas referências para o glufosinate. Além disso, os resultados encontrados sobre os efeitos do glyphosate na cultura são controversos (DUKE et al., 2012a). Já para a cultura do milho não foram encontrados estudos científicos sobre os efeitos do glyphosate nem do glufosinate em milho resistente aos mesmos. Deste modo, é de extrema relevância realizar estudos sobre os efeitos destes dois produtos no crescimento e na nutrição mineral da cultura do milho, visando assim garantir a segurança no uso dos mesmos, sem que afetem a produtividade da cultura.

A nutrição mineral é um importante fator a ser estudado, visto que os nutrientes possuem funções específicas nas plantas, e a falta destes elementos pode afetar o desenvolvimento da cultura, a qualidade do produto colhido e a produtividade. Segundo Faquin (2005), as funções exercidas pelos nutrientes nas plantas são: estruturais, constituintes de enzimas e ativadores enzimáticos, ou seja, fazem parte de todo o metabolismo. As exigências nutricionais de uma cultura são proporcionais à quantidade de nutrientes que ela extrai em seu ciclo (COELHO; FRANÇA, 1995). O total de nutrientes extraídos é influenciado pela produtividade alcançada pela cultura, e pelo teor de nutrientes concentrados nos grãos e demais estruturas das plantas (POLLMER et al., 1979). Na cultura do milho, a maior demanda nutricional é por nitrogênio (FERNANDES et al., 2005), em sequência o potássio, fósforo, cálcio, magnésio e ferro (VASCONCELLOS et al., 1998), já a demanda por micronutrientes é bem reduzida (COELHO; FRANÇA, 1995).

O objetivo com este trabalho foi analisar os efeitos causados pelos herbicidas glyphosate e glufosinate sobre o crescimento e a nutrição mineral de plantas de milho transgênico com resistência a esses dois herbicidas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 DESCRIÇÃO DO EXPERIMENTO

Em casa de vegetação foi implantado um experimento para analisar a influência de glyphosate e glufosinate no crescimento, desenvolvimento e nutrição mineral de plantas de milho resistente a esses herbicidas. O experimento foi conduzido em Lages (SC), 27°47'30" de latitude Sul e 50°18'12" de longitude Oeste, altitude de 920m. A temperatura dentro da casa de vegetação oscilou entre 18°C e 35°C nas noites amenas e dias quentes da safra 2015/2016. A semeadura foi realizada no dia 11 de novembro de 2015, com emergência (100%) no dia 16 de novembro de 2015.

O híbrido de milho utilizado foi P30F53YHR, resistente a glyphosate e glufosinate, e indicado para produção de grãos. As plantas foram cultivadas em vasos de plástico de 7 litros, na densidade de uma planta por vaso, utilizando como substrato derivado de solo com as seguintes características químicas e físicas: pH em H₂O=5,4; SMP: 5,6; MO=2,83%; P=11,8mg dm⁻³; K=100mg dm⁻³; Ca=6,1cmol_c dm⁻³; Mg=3,1cmol_c dm⁻³; S=2,31cmol_c dm⁻³; H+Al=6,9cmol_c dm⁻³; Al=0cmol_c dm⁻³; CTCpH7=16,6cmol_c dm⁻³; V(%)=58; Cu=2,71mg dm⁻³; Fe=44mg dm⁻³; Zn=3,2mg dm⁻³; Mn=12,2mg dm⁻³; Argila=35%; textura média. Correção da acidez do solo foi efetuada de acordo com indicações da Comissão de Química e Fertilidade do Solo - RS/SC (2004), adicionando cerca de 2,7kg de calcário dolomítico (PRNT 100%) a 1 m³ de substrato.

A adubação foi realizada com adição de 10g de fertilizante NPK 5-20-10 na semeadura e 5g de ureia (45% de N) por vaso, quando as plantas atingiram o estágio de 5 folhas completas. A manutenção hídrica do solo foi feita com irrigação direta no vaso da planta, uma ou até duas vezes por dia, de acordo com a necessidade de umidade no solo (observação visual).

As aplicações dos herbicidas foram realizadas com pulverizador costal pressurizado a CO₂, equipado de barra de pulverização contendo quatro pontas tipo leque TeeJet 80.02 VS, á pressão de 200 kPa, e calibrado para volume de calda de 200 L ha⁻¹. Para as aplicações de glyphosate utilizou-se a formulação comercial Roundup Ready® (Monsanto, Brasil), contendo 64,8%

(m/v) de ingrediente ativo Sal de Isopropilamina de Glyphosate e 48% do equivalente ácido de N-(fosfonometil)glicina (glyphosate). Para as aplicações de glufosinate utilizou-se o produto comercial Finale (Bayer S.A., Brasil), com 20% de ingrediente ativo glufosinate-sal de amônio (ammonium-4 [hydroxy(methyl)phosphinoyl]-DL-homoalaninate).

As aplicações dos herbicidas seguiram as recomendações dos respectivos fabricantes e realizadas da seguinte maneira: (T1) manutenção de testemunha sem aplicação de herbicida; (T2) aplicação única de glyphosate a 980 g e.a. ha⁻¹, aos 21 dias após a emergência (DAE); (T3) aplicação única de glufosinate a 600 g i.a. ha⁻¹, aos 21 DAE; (T4) aplicação sequencial de glyphosate a 520 + 980 g e.a. ha⁻¹, aos 14 e 28 DAE, respectivamente; (T5) aplicação sequencial de glufosinate a 300 + 300 g i.a. ha⁻¹, aos 14 e 28 DAE, respectivamente; e (T6) aplicação sequencial de glyphosate (980 g e.a. ha⁻¹) e glufosinate (600 g i.a. ha⁻¹), aos 14 e 28 DAE, respectivamente. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com oito repetições.

2.2 AVALIAÇÕES

2.2.1 Avaliações do crescimento e desenvolvimento das plantas

Para obtenção dos dados de crescimento e desenvolvimento de plantas foram realizadas avaliações com intervalos de 7 dias, iniciando aos 21 DAE e estendendo-se até o estágio de pré-florescimento (63 DAE). O crescimento das plantas de milho foi determinado pela avaliação da altura das plantas, utilizando-se de uma régua graduada em milímetros, medindo da base do solo até o ápice da planta. Avaliou-se ainda o número de folhas totalmente expandidas, identificado pela formação do colar na inserção da bainha da folha com o colmo.

2.2.2 Avaliações da massa seca de plantas

No final do período experimental, coincidindo com o aparecimento da inflorescência feminina, além da avaliação de altura e número de folha de planta também foi realizada a pesagem da massa seca da planta com uma balança semi-analítica com precisão de 0,001 g, isso após a secagem do material em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C por uma semana.

2.2.3 Avaliações dos teores de macronutrientes e micronutrientes

Na época da emissão da inflorescência feminina, foram coletados exemplares de folha padrão (folha oposta e abaixo da espiga) das oito repetições existentes, seguindo recomendação de Malavolta et al. (1997). Após a coleta das folhas, as mesmas foram lavadas em sequência proposta por Sarruge e Haag (1974) e secas em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C por uma semana. Após a secagem do material, o mesmo foi moído em micromoinho tipo Willey, malha 20, e acondicionado em sacos de plástico vedados e devidamente identificados para posterior análise nutricional.

O material vegetal foi acondicionado e enviado para a Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), onde foram determinados dos teores de macronutrientes e micronutrientes em tecidos foliares. Após obtenção do extrato nítrico-perclórico, foram determinados os teores de N total, pelo método semimicro Kjeldahl; P por colorimetria; K, por fotometria de chama; Ca, Mg, Cu, Fe, Mn e Zn, por espectrofotometria de absorção atômica; e S, por turbidimetria do sulfato de bário (MALAVOLTA et al., 1997).

2.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

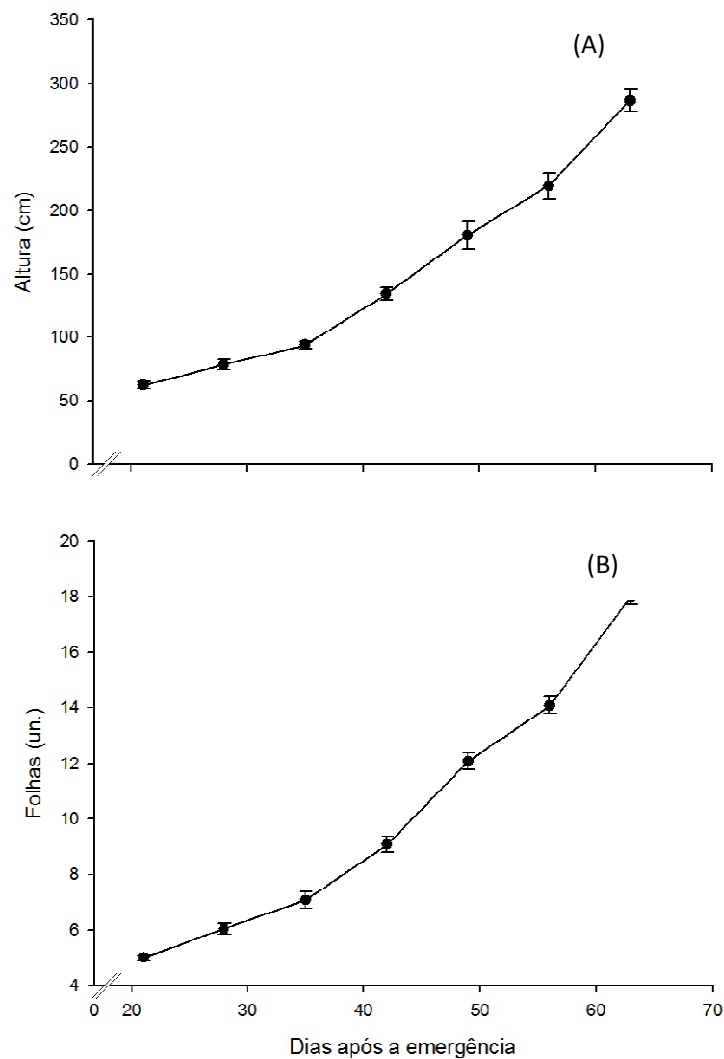
A homogeneidade de variâncias dos dados foi analisada pelo teste de Levene e a distribuição normal dos resíduos foi analisada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Em ambos os testes, houve significância ($P < 0,05$) para número de folhas e teor Zn; além disso, em um dos testes houve significância ($P < 0,05$) para número de folhas e teor de N, P, K e S; sendo que apenas para altura de planta, massa seca e teor de Ca, Mg, Cu, Fe e Mn não houve significância de ambos os testes ($P > 0,05$). Portanto, alguns dados não apresentaram homocedasticidade e/ou os resíduos não apresentavam normalidade. Em função disso, utilizou-se de estatística não paramétrica (teste de Kruskal-Wallis, $P = 0,05$) para analisar o efeito dos tratamentos sobre as variáveis estudadas. As análises estatísticas foram procedidas com o programa computacional estatístico Statistica® (StatSoft, versão 8.0, EUA).

3 RESULTADOS

As variáveis estudadas, altura da planta, número de folhas, massa seca, teor de macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S) e teor de micronutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn), não foram afetadas pelos tratamentos experimentais ($P > 0,05$), mantendo-se similares aos valores relativos à testemunha após aplicação dos herbicidas.

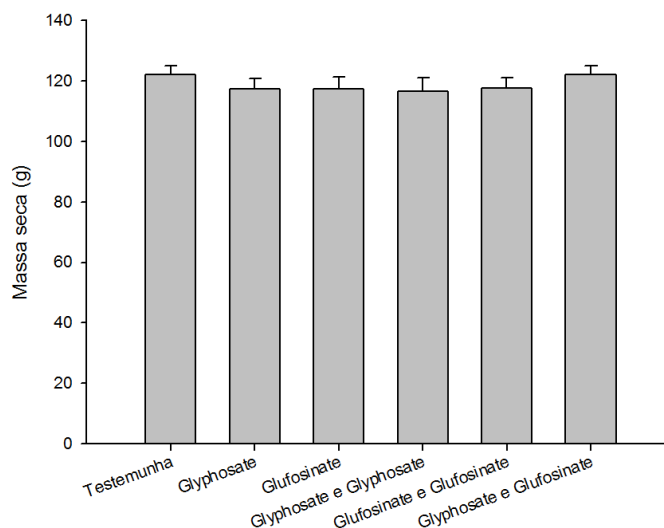
A altura média de plantas e o número de folhas médio de plantas de milho aumentaram entre 21 e 63 DAE, com valores médios variando de 62,3 a 286,5 cm e 5 a 18 unidades, respectivamente, não havendo diferença entre os tratamentos dentro de cada período de avaliação (21, 28, 35, 42, 49, 56 e 63 DAE) (Figura 1). A massa seca acumulada pelas plantas de milho, aos 63 DAE, variou de 116,6 a 122,2 g, não havendo diferença entre os tratamentos (Figura 2).

Figura 1 - Incremento na altura média (A) e no número de folhas médio (B) de milho resistente a glyphosate e glufosinate. Barras verticais indicam a média do erro padrão das médias de oito repetições dos tratamentos testados (testemunha sem aplicação; glyphosate em aplicação única; glufosinate em aplicação única; glyphosate e glyphosate em aplicação sequencial; glufosinate e glufosinate em aplicação sequencial; e glyphosate e glufosinate em aplicação sequencial).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

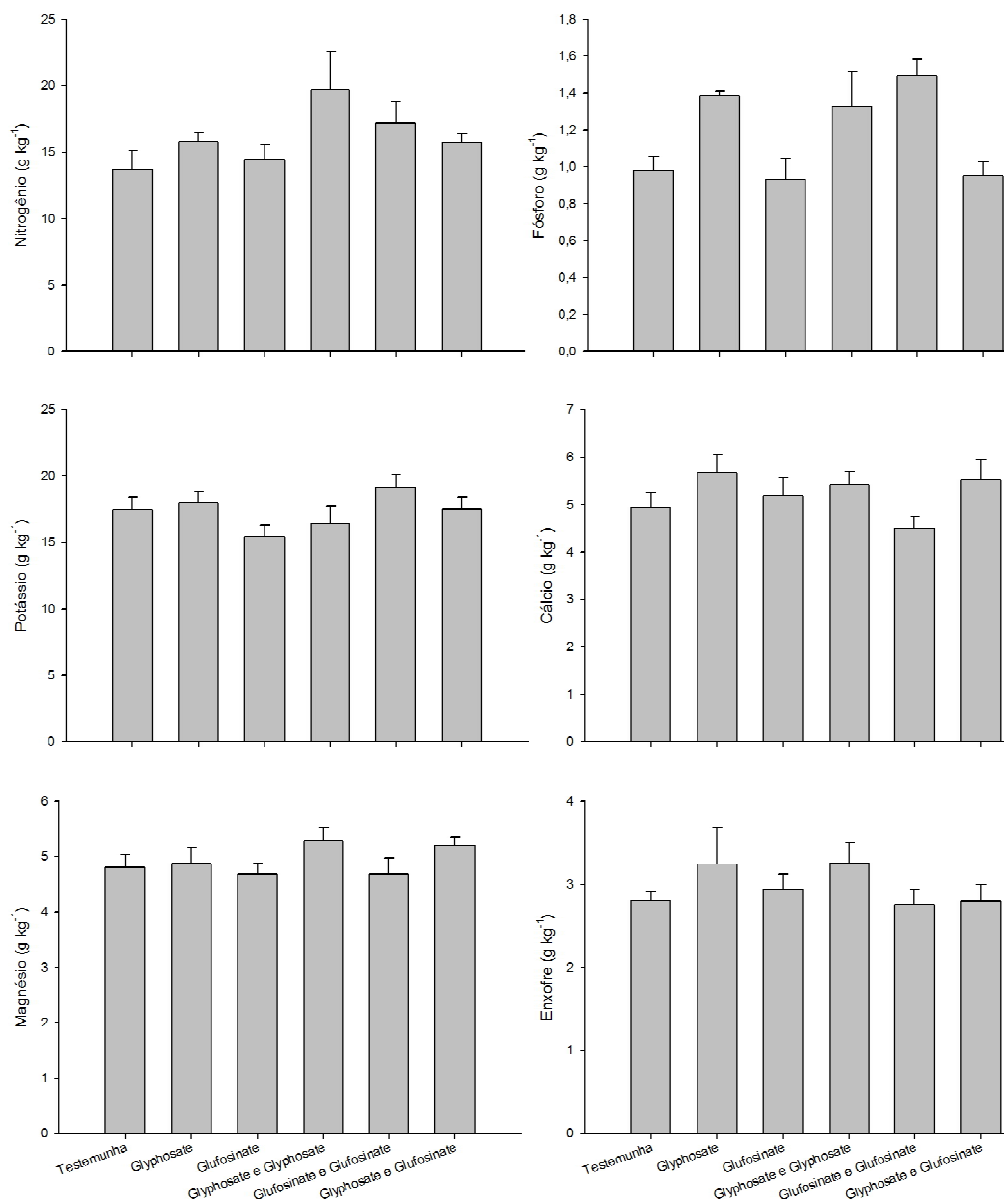
Figura 2 - Massa seca acumulada por plantas de milho resistente a glyphosate e glufosinate submetidas à aplicação única (glyphosate; glufosinate) ou sequencial (glyphosate e glyphosate; glufosinate e glufosinate; glyphosate e glufosinate) dos herbicidas ou não expostas aos herbicidas (testemunha), aos 63 dias após a emergência. Barras verticais indicam a média do erro padrão de oito repetições.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

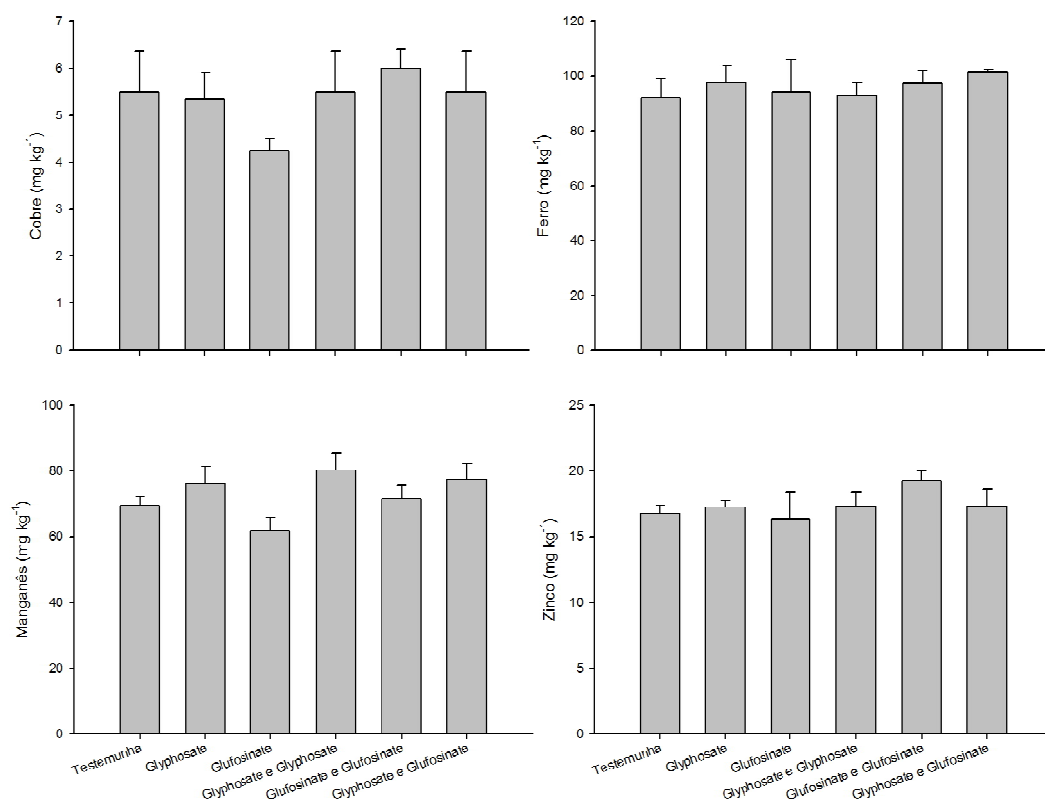
O teor de N foliar nessas plantas variou de 13,7 a 19,7 g kg⁻¹, não havendo diferença significativa entre os tratamentos. O teor de P, de 0,9 a 1,5 g kg⁻¹; o teor de K, de 15,4 a 19,1 g kg⁻¹; o teor de Ca, de 4,5 a 5,7 g kg⁻¹; o teor de Mg, de 4,7 a 5,3 g kg⁻¹; e o teor de S, de 2,8 a 3,3 g kg⁻¹ (Figura 3). O teor de Cu foliar em plantas de milho, aos 63 DAE, variou de 4,2 a 6,0 mg kg⁻¹; o teor de Fe, de 92,0 a 101,5 mg kg⁻¹; o teor de Mn, de 61,8 a 80,3 mg kg⁻¹; e o teor de Zn, de 16,3 a 19,3 mg kg⁻¹ (Figura 4). Para todos os macro e micronutrientes, não houve diferença entre os tratamentos.

Figura 3 - Teor de macronutrientes foliar em plantas de milho resistente a glyphosate e glufosinate submetidas à aplicação única (glyphosate; glufosinate) ou sequencial (glyphosate e glyphosate; glufosinate e glufosinate; glyphosate e glufosinate) dos herbicidas ou não expostas aos herbicidas (testemunha), aos 63 dias após a emergência. Barras verticais indicam o erro padrão da média de quatro repetições.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Figura 4 - Teor de micronutrientes foliar em plantas de milho resistente a glyphosate e glufosinate submetidas à aplicação única (glyphosate; glufosinate) ou sequencial (glyphosate e glyphosate; glufosinate e glufosinate; glyphosate e glufosinate) dos herbicidas ou não expostas aos herbicidas (testemunha), aos 63 dias após a emergência. Barras verticais indicam o erro padrão da média de quatro repetições.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

4 DISCUSSÃO

Quando realizadas as primeiras avaliações aos 21DAE, os tratamentos glyphosate 520+980, glufosinate 300+300, glyphosate 980 +glufosinate 600 já haviam sido expostos a primeira aplicação sequencial dos herbicidas (14 DAE), sendo o tratamento 4 exposto a 520 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate, o tratamento 5 recebeu a primeira dose de 300 g i.a. ha⁻¹ de glufosinate e o tratamento 6 a primeira aplicação com glyphosate (980 g e.a. ha⁻¹). Os valores médios de altura dos tratamentos apontam que não há diferença significativa entre os mesmos, uma vez que o maior valor foi do tratamento glyphosate 980 +glufosinate 600 (já exposto a primeira dose da sequencial) e o menor valor obtido foi o tratamento glufosinate 600 (ainda não exposto ao herbicida).

Aos 28 DAE (2ª avaliação da altura de plantas) já haviam corrido 7 dias da aplicação de dose única dos herbicidas nos tratamentos glyphosate 980 e glufosinate 600, e passados 14 dias após a primeira aplicação sequencial dos herbicidas nos tratamentos glyphosate 520+980, glufosinate 300+300 e glyphosate 980 +glufosinate 600. A 3ª avaliação foi realizada aos 35 DAE quando todas as aplicações de herbicidas já haviam sido realizadas. Passavam-se 21 dias após a primeira aplicação sequencial e 7 dias após a segunda aplicação da sequencial nos tratamentos glyphosate 520+980, glufosinate 300+300 e glyphosate 980 +glufosinate 600. Nos tratamentos de aplicação única (glyphosate 980 e glufosinate 600) já haviam passados 14 dias após a exposição das plantas aos herbicidas. Os resultados obtidos aos 35 DAE continuavam semelhantes aos das avaliações nos 21 e 28 dias após emergência, e não evidenciam diferenças significativas entre os valores de altura de plantas aos 35 DAE. Nessa avaliação, não foram encontrados quais quer indícios de intoxicação do milho por parte dos herbicidas.

Aos 63 DAE as plantas seguiam o mesmo padrão de desenvolvimento das avaliações iniciais. Nesse período todas as plantas apresentavam 18 folhas completas e se notava o início do período de florescimento (estádio VT). Nesse momento foi realizada a última medição de altura de planta, as médias foram 288,98, 280,52, 284,05, 285,23, 284,86 e 286,95 cm para os tratamentos 1, 2, 3, 4, 5 e 6 respectivamente. Quando tratados

estatisticamente os dados não apontam diferenças significativa entre os tratamentos nesse último período de avaliação, tendo 286,5cm de altura média das plantas de milho.

Armél et al. (2003) em um trabalho similar, avaliaram a altura e também a massa seca de um híbrido de milho resistente ao glyphosate; os resultados evidenciam que a aplicação de 1120 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate quando o milho se encontra com 12 a 18 cm de altura, não ocasiona redução na altura de plantas 11 dias após o tratamento com o herbicida. Resultados do mesmo trabalho demonstraram que essa aplicação provoca menos de 4% de injúria nas plantas. Essa injúria caracterizada por lesões esbranquiçadas em forma espiral era visível a partir da primeira semana após aplicação do herbicida e desaparecia após a segunda semana.

Em outro experimento em casa de vegetação, Armél et al. (2008) visualizaram aumento de 5% na altura do milho resistente 11 dias após ser tratado com 350 g i.a. ha⁻¹ de um herbicida a base de glufosinate quando comparado a uma testemunha sem aplicação do herbicida. No final do trabalho a aplicação dos herbicidas não resultou em redução da produtividade final dos híbridos resistentes. Importante ressaltar que a dose utilizada no trabalho citado representa apenas 58% da dose utilizada nesse presente trabalho, esse fato pode ter contribuído para o incremento em altura. O glufosinate atua no metabolismo do nitrogênio, inibindo a glutamina sintetase que catalisa conversão do glutamato em glutamina durante o processo de incorporação da amônia (CARVALHO, 2013), em doses baixas o herbicida pode ter desencadeado processos metabólicos que aumentaram a incorporação de N resultando em maior crescimento da planta.

Em um estudo com milho, Portugal (2013) observou injúrias de 4% aos 7 dias após a aplicação de uma combinação de atrazine (Atrazine Nortox 500) e glyphosate (Roundup), segundo o autor esses sintomas são de intoxicação do herbicida atrazine, uma vez que, o híbrido utilizado (VT PRO 2) possui a tecnologia RR a qual o torna resistente ao glyphosate. Esses sintomas de intoxicação não foram mais observados a partir dos 14 DAA, indicando que o híbrido resistente possui rápida recuperação.

Em um trabalho com soja RR, Correia e Durigan (2007) não observaram diferenças no crescimento inicial quando realizada a aplicação de vários produtos a base de glyphosate. Os mesmos autores citam que as plantas de soja RR tinham boa recuperação e que a aplicação dos herbicidas não resultou em diminuição na produtividade. O efeito tóxico de glyphosate em soja transgênica ainda é bastante discutido e os resultados são controversos uma vez que alguns autores citam que há redução no conteúdo de clorofila, massa dos nódulos e conteúdo de legmoglobina (REDDY; HOAGLAND; ZABLOTOWICZ, 2001) em algumas variedades resistentes.

Blair-Kerth et al. (2001) avaliando a altura de plantas 21 e 56 dias após a aplicação de glufosinate em algodão resistente, concluíram que não há redução na altura das plantas tratadas e que independentemente das taxas de glufosinate aplicadas não houve diminuição dos componentes de rendimento do algodão LL. No entanto os autores informam que as condições em campo não eram constantes, e que no Texas/EUA o clima é semi-árido, o que geram outras hipóteses para explicar os próprios resultados.

Avaliando o crescimento de plantas, Cavalieri et al. (2008) demonstram que a aplicação do herbicida nicosulfuron (seletivo ao milho na dose de 30 g ha⁻¹) em uma variedade de milho convencional (B 761) resulta na diminuição do crescimento da planta aos 7 dias após a aplicação do herbicida, e nessa mesma avaliação o milho apresentava sinais de intoxicação. Segundo os mesmos autores, as plantas se recuperaram e os sinais não foram mais verificados aos 14 dias após a aplicação do herbicida, sugerindo a rápida detoxificação do herbicida pela planta. O milho detoxifica 90% do nicossulfuron (LÓPEZ OVEJERO et al., 2003), dependendo do estágio de desenvolvimento da planta, da dose utilizada e das condições ambientais essa seletividade ao herbicida pode ser alterada (GUBBIGA et al., 1995). Nesse caso, os sinais de intoxicação devem ser provenientes do nicossulfuron.

Albrecht et al. (2012) estudaram um híbrido com as mesmas tecnologias ao aqui estudado, submetendo-o a doses crescentes de glyphosate (0; 720; 1440; 2160; 2880 g e.a. ha⁻¹), observando que, independentemente das doses de glyphosate não houve danos que afetassem significativamente o desenvolvimento da cultura. Seminário

Nacional de Milho Safrinha (2013) não observou diferenças significativas na altura final do híbrido 30F53HRR (Herculex e Roundup Ready) submetido a duas formulações de glyphosate (Sal de Isopropilamina e Sal de Potássio), utilizando doses de 0, 720, 1440, 2160, 2880 g e.a. ha⁻¹, aplicados de forma única e sequencial (dose única/2). Vale ressaltar, que o híbrido é similar ao aqui estudado, porém, doses maiores foram utilizadas.

Portanto a variável altura de planta não foi influenciada significativamente pelos tratamentos. Tanto as aplicações únicas, sequenciais e a testemunha sem exposição aos herbicidas mostraram um padrão de crescimento semelhante desde as primeiras avaliações. Resultados similares aos anteriormente citados

As avaliações do número de folhas demonstraram resultados similares para todos os tratamentos, onde aos 21 DAE as plantas apresentavam 5 folhas completamente desenvolvidas, aos 28 DAE, 6 folhas, aos 35 DAE, 7 folhas e aos 63 DAE todas as repetições apresentavam 18 folhas, quando as plantas atingiram o estágio de florescimento. Pode-se concluir que a aplicação de glyphosate ou glufosinate de forma única ou sequencial não ocasiona diferenças significativas no desenvolvimento da planta de milho resistente aos herbicidas.

Armel et al. (2008) demonstraram que a aplicação de 350 g i.a. ha⁻¹ de glufosinate quando as plantas de milho LL se encontram no estágio de 3 a 4 folhas, não reduz a massa seca acumulada pelas plantas aos 11 dias após a exposição das plantas ao herbicida quando comparada a uma testemunha sem exposição ao herbicida.

Perim et al. (2011), em casa de vegetação, avaliaram o acúmulo de massa seca da parte aérea de plantas de soja RR aos 4 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate (200, 400 e 800 g e.a. ha⁻¹), e comprovaram que não houve diferença independente das doses utilizadas do herbicida; porém, as plantas foram cultivadas em substrato com solução nutritiva completa de Hoagland (1950). Andrade e Rosolen (2011) também não encontraram diferenças na massa seca acumulada por plantas de soja submetidas ao glyphosate (720 g e.a. ha⁻¹).

Em um trabalho em casa de vegetação, Reddy et al. (2011) aplicaram 450 e 1350 g i.a. ha⁻¹ de glufosinate em soja resistente ao herbicida quando

as plantas estavam no estágio V3 a V4 e não encontraram diferenças quanto a biomassa da planta inteira, biomassa dos nódulos da fixação simbiótica, atividade da nitrogenase e respiração das raízes aos 3 e 12 dias após aplicação.

Ainda sobre soja e glyphosate, Serra et al. (2011) constataram efeito negativo na produção de massa seca da parte aérea das plantas expostas a doses crescentes que vão de 648 a 2592 g i.a. ha⁻¹. Sintomas de intoxicação foram observados (20 DAA), sendo consequência do estresse fisiológico que as plantas passaram quando aplicado o glyphosate. Esses sintomas de injúrias (amarelecimento das folhas novas) se intensificavam à medida que aumentavam as doses de glyphosate, porém esses sintomas não eram mais visíveis decorridos 14 dias da aplicação. Nesse mesmo trabalho o autor constatou a depressão dos níveis de massa seca dos nódulos responsáveis pela fixação simbiótica da soja, que possivelmente pode ter acarretado em menor acúmulo de massa seca de parte aérea da planta exposta ao herbicida.

Embora alguns dados da literatura demonstrem que há diferença na massa seca acumulada pelas plantas em soja, Armel et al. (2003) estudaram a biomassa acumulada do milho não encontrando diferenças, mesmos resultados encontrados nesse presente trabalho. As plantas de soja são altamente dependentes da fixação simbiótica para incorporação de N (principal nutriente no crescimento e acumulação de massa), e alguns autores já citados aqui demonstraram que há ação do glyphosate na enzima EPSPs contida nas bactérias fixadoras de N, o que pode explicar a redução na massa seca em soja e a não redução de massa seca em milho, já que o milho não é dependente exclusivo de simbiose.

O nitrogênio, dentre os nutrientes essenciais é o maior limitante no crescimento da planta, que por sua vez interfere diretamente no potencial produtivo da planta. No entanto para culturas transgênicas (soja, milho e algodão RR) há relatos de que atividade da enzima nitrato redutase é afetada com a aplicação de glyphosate e que a assimilação de N pela enzima glutamina sintetase é afetada com aplicação de glufosinate.

Segundo Malavolta et al. (1997), os teores de N foliar das plantas de milho estão abaixo da faixa recomendada ($27,5 - 32,5 \text{ g kg}^{-1}$), mas vale ressaltar que a adubação realizada na execução do presente trabalho não visava alta produção e sim apenas a manutenção da cultura, e que as plantas estavam em vasos de 7 litros o que pode ter restringido a absorção do nutriente pela planta. O próprio autor cita que a acumulação do nutriente pode ser facilmente afetada por variáveis como clima, solo e cultivar utilizada, pois o nitrogênio é um elemento altamente móvel e assim passivo a essas variações ambientais. Apesar dos níveis de N foliar estarem abaixo da faixa adequada, as análises estatísticas mostraram que não houve diferença entre os tratamentos, o qual é o objetivo do trabalho.

Em um estudo com milho resistente, Reddy et al. (2010) demonstraram que a aplicação sequencial de glyphosate ($1260 \text{ e } 1260 \text{ g e.a. ha}^{-1}$) em 3 e 6 semanas após o plantio reduziu a atividade da enzima Nitrato Redutase em até 34%. As avaliações, segundo o autor foram realizadas 3 dias após a primeira aplicação sequencial, e 3, 16 e 32 dias após a última aplicação sequencial. Quando a resistência ao glyphosate era associada a resistência ao glufosinate (glyphosate-glufosinate resistente) a redução da atividade da enzima foi de 8% no mesmo período. Apesar da redução na atividade da enzima na planta ser afetada com a aplicação do herbicida, não houve efeito significativo no conteúdo de nitrogênio foliar das plantas no mesmo período, indicando que a necessidade fisiológica da folha foi suprida.

Reddy et al. (2011) aplicando glufosinate ($450 \text{ e } 1.350 \text{ g i.a. ha}^{-1}$) em soja resistente, descobriram que as aplicações reduziram o teor de N foliar no estágio V5, esse era mais afetado com o aumento na dose de glufosinate. De acordo com o autor, nos estádios V7 e R4 não houve diferença significativa do teor de N foliar, atestando que a fixação simbiótica desenvolveu seu papel nutrindo suficientemente as folhas com nitrogênio

Utilizando o híbrido de milho 30F53RR, Carvalho et al. (2015) concluiu que a aplicação de glyphosate aos 21 DAE tem relação direta com a adubação fosfatada para a variável acúmulo de massa seca aos 60 DAE, nas quais doses baixas do fertilizante refletiam em menor acúmulo de massa seca das plantas quando comparadas a doses maiores do fertilizante fosfatado. O mesmo autor sugere que em plantas sob adubação mais alta em fósforo o

efeito tóxico do glyphosate é minimizado. Neste mesmo trabalho, quando não utilizadas doses de fertilizante fosfatado, a massa seca total de plantas expostas à dose de 1440 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate foi menor quando comparado a dose de 720 g e.a. ha⁻¹. Esses resultados indicam que conforme aumentam as doses de glyphosate e diminui a adubação fosfatada as plantas reduzem o acúmulo de massa seca.

Fleck et al. (2001) avaliaram a porcentagem de nitrogênio 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 na nutrição deste nutriente. Em plantas de milho convencional a inibição da glutamina sintetase (enzima chave na assimilação de N) pela aplicação de glufosinate acarreta na acumulação de NH₃ influenciando negativamente o metabolismo de N. Já em plantas de milho resistente ao herbicida, há presença da enzima PAT que degrada o glufosinate de amônio, não havendo acúmulo de NH₃ dentro da célula.

Zobiolle et al. (2010b) constataram que aplicação de glyphosate em soja resistente ao herbicida, ocasiona redução da massa dos nódulos responsáveis pela simbiose, devido a presença da enzima EPSPs nas bactérias noduladoras. O Glyphosate inibindo essa enzima acaba atuando na simbiose e reduzindo a assimilação do nutriente e posterior incorporação do mesmo pela planta. Sabe-se que em milho a fixação simbiótica é quase nula e sua nutrição com nitrogênio ocorre grande parte por fluxo de massa, então efeitos dos herbicidas em bactérias no solo são quase nulos para a absorção de N pelas plantas de milho.

Em outro estudo com soja RR, Serra et al. (2011) observaram que a eficiência de absorção do nitrogênio aumentou com o aumento nas dosagens até 2592 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate. No mesmo estudo foi constatado que não há efeito significativo na eficiência de translocação do nutriente na planta de soja resistente ao herbicida. Foram observados sintomas de intoxicação aumentando a dosagem do herbicida, sendo que sintomas de injúria gerados nas plantas são dependentes das doses de glyphosate utilizadas (ZABLOTOWICZ; REDDY, 2007).

Em um estudo com milho, Portugal (2013) observou injúrias de 4% aos 7 dias após a aplicação de uma combinação de atrazine (Atrazine Nortox 500) e glyphosate (Roundup), segundo o autor esses sintomas são de intoxicação do herbicida atrazine, uma vez que, o híbrido utilizado (VT PRO 2) possui a tecnologia RR a qual o torna resistente ao glyphosate. Esses sintomas de intoxicação não foram mais observados a partir dos 14 DAA, indicando que o híbrido resistente possui rápida recuperação.

Correia e Santos (2013), aplicaram glyphosate (720, 1200 e sequencial das doses 960 e 720 g e.a. ha⁻¹) no momento em que as plantas se encontravam com 4 a 5 folhas completas, não observando redução no teor foliar de N, P, K, Ca, Mg, S, B, Mn e Zn aos 39 dias pós a aplicação do herbicida em um híbrido de milho resistente ao herbicida (DKB390 RR). Os mesmos autores comentam que as injúrias a partir da aplicação do glyphosate eram nulas, mas na avaliação da produtividade as plantas submetidas as maiores doses do herbicidas tiveram redução de até 8% e sugere maiores estudos para entender a resposta fisiológica das plantas resistentes ao glyphosate.

Similarmente aos estudos de Reddy et al. (2010) e Correia e Santos (2013), supõem-se que as plantas de milho aos 63 DAE estavam totalmente recuperadas apesar da redução na atividade da enzima posterior aplicação do herbicida, e essa redução não teve efeito significativo no conteúdo de nitrogênio foliar das plantas no final do período de estudo.

Em soja há evidencias que a aplicação do herbicida glyphosate atua diretamente na fixação simbiótica sua principal fonte de absorção de nitrogênio, já em milho os resultados não mostram diferenças nos níveis de N foliar devido a alta mobilidade do nutriente e a grande quantidade absorvida do mesmo pela planta. Quanto as aplicações de glufosinate e glyphosate reduzirem a atividade da enzima nitrato redutase, é possível que, essa redução seja momentânea e que o milho recupera-se até atingir os níveis adequados de N foliar no período de pré florescimento.

Gott et al. (2014) em um estudo sobre os índices diagnósticos para interpretação de análise foliar do milho, sugere a faixa adequada do nível de P em tecido foliar no estágio de pré florescimento de 3,3 a 3,8 g. kg⁻¹.

Confrontando com os dados obtidos nesse trabalho, os teores de P foliar estão abaixo da faixa adequada, a explicação para esse fato é de que adubação fosfatada foi realizada de modo a apenas suprir suas necessidades fisiológicas, e que as plantas tiveram grande limitação no crescimento radicular por serem cultivadas em vasos de 7 litros, e a maior parte do fósforo absorvido é por interceptação radicular e difusão. Também vale ressaltar que os híbridos de milho utilizados atualmente possuem diferentes necessidades em P, tal fato pode explicar a diferença entre os números.

Os sintomas da deficiência de fósforo em plantas de milho são facilmente visualizados através da coloração arroxeada na ponta e borda do limbo foliar. Esse sintoma típico de deficiência não foi observado durante o monitoramento da pesquisa.

Os teores de K foliar variaram de 15,4 a 19,1 g kg⁻¹ no presente trabalho. Segundo Malavolta et al. (1997), valores entre 17,5 e 22,5 g kg⁻¹ são considerados adequados para análise de tecido foliares de milho. Ou seja, as plantas de milho atingiram os níveis adequados e o teor de K não foi afetado pelos tratamentos com e sem aplicação de herbicidas. Vale ressaltar que nenhuma planta de milho apresentou sintomas de deficiência de K, o qual é caracterizado pela clorose nas pontas e margens das folhas mais velhas e colmos com internódios mais curtos.

Zobiole et al. (2011) citam que houve redução no acúmulo de macronutrientes em função do aumento nas doses de glyphosate aplicado quando a soja RR se encontrava nos estádios V2 e V6, tendo maior redução quando aplicada no estágio de 6 nós completos. Os autores correlacionam o menor acúmulo de nutrientes com a diminuição do teor de clorofila, que também era afetada diretamente pelo aumento nas doses de glyphosate apresentando clorose nas folhas uma semana após o tratamento. Ainda destacam que os sintomas cloróticos podem estar relacionados à diminuição das taxas fotossintéticas como resultado do dano direto do glyphosate à clorofila ou à imobilização de Mg e Mn (devido a formação de complexos catiônicos com o glyphosate) necessários para a formação de clorofila e fotossíntese, respectivamente.

Perim et al. (2011), aplicando doses crescentes de glyphosate em soja RR (1,5 a 800 g e.a. ha⁻¹) não constataram mudanças no teor de P foliar. A

conclusão dos autores é que as possíveis deficiências apresentadas pela literatura seriam resultados de menores concentrações de P na solução do solo, uma vez que seu trabalho foi para estudar especificamente a interação do fósforo com o herbicida. Cakmak et al. (2009) também não visualizaram diferenças significativas quanto ao teor de P, K, Cu e Zn em soja transgênica tratada com glyphosate.

Segundo Cakmak et al. (2009), a aplicação de glyphosate (doses crescentes até 864 g e.a. ha⁻¹) em soja resistente aos 13 dias após a emergência, ocasiona redução no conteúdo foliar de Ca e Mg aos 21 DAE. Isso indica, segundo os autores, que a presença de glyphosate nos tecidos foliares acarreta na formação de complexos ou precipitações de Ca-glyphosate e Mg-glyphosate que são insolúveis ou pouco solúveis. Como o glyphosate atua principalmente nos meristemas da planta, há a possibilidade de ocorrer imobilização desses nutrientes ainda nas raízes, o que dificultaria o transporte de Ca e Mg das raízes para a parte aérea. Zobiolle et al. (2010b) também defendem que a aplicação de glyphosate em soja RR altera os valores de Ca e Mg foliar, sendo esses os mais afetados dentre todos macro e micronutrientes avaliados na cultura.

A alta concentração de Ca e Mg no tecido de algumas plantas daninhas de folha larga é o principal fator de resistência ao glyphosate (HALL et al., 2000). Quando há formação de complexos de Ca e Mg com o glyphosate esse acaba inibindo a ação do herbicida, e conseqüentemente diminuindo a quantidade do herbicida que chega ao sítio de ação. Quando há Ca e Mg na calda de aplicação (água dura), esses também formam precipitados junto ao glyphosate diminuindo a eficácia de controle das plantas daninhas.

Duke et al. (2012b) aplicando 860 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate em dose única e 1720 g em sequencial (50% + 50%), em plantas de soja 3 semanas após o plantio (SAP); 3 e 6 SAP respectivamente, observaram que não houve efeito sobre os teores foliares de Ca, Mg, Mn, Zn, Fe, Cu, ou Ni avaliados as 6, 9, e 12 SAP. Ainda indicam que apesar do alto potencial quelante do glyphosate, há produtos naturais produzidos pela planta como citratos e aminoácidos que também são grandes queladores de íons metálicos e

questionam se o glyphosate conseguiria realmente competir de tal maneira a reduzir a captação desses nutrientes no solo.

Park et al. (2013) afirmam que os níveis de P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn e Na no grão de arroz não são afetados significativamente pela aplicação de 108 g i.a. ha⁻¹ de glufosinate, quando aplicado 3 meses após o transplante do arroz resistente ao herbicida. Segundo os autores, as concentrações dos nutrientes no grão são equivalentes não excedendo mais que 20% de diferença comparando a sua isolinha não transgênica. Resultados similares foram encontrados por Cromwell et al. (2005), onde comparando cultivares resistentes com suas isolinhas não resistentes ao glufosinate não evidenciou mudanças no teor de Ca e P do grão de arroz utilizado na nutrição de suínos e ainda cita que não há alterações nos valores nutricionais do arroz transgênico.

Os teores de Enxofre foliar não foram afetados pelos tratamentos, indicando que a nutrição do híbrido de milho foi completamente satisfatória para o nutriente. Malavolta et al. (1997) sugerem valores ótimos de 1,5 a 2,0 g kg⁻¹ de S no tecido foliar de milho. O nutriente é dependente dos teores de matéria orgânica do solo, sendo que em solos com baixo teor de MO pode apresentar deficiência de S (RHEINHEIMER, 2005). Além disso, a composição do fertilizante utilizado na pré-semeadura possui 4,9% de S, sendo mais uma fonte para a nutrição do nutriente.

Zobiolo (2011) avaliou o estado nutricional de plantas de soja RR no estágio R1, submetidas a aplicação de glyphosate (1200 g e.a. ha⁻¹) no estágio V4. Os resultados apontam que houve redução no conteúdo de todos os micronutrientes (Zn, Mn, Fe, Cu e B) quando comparado a mesma variedade sem aplicação do herbicida. Segundo o autor, essa cultivar considerada de ciclo precoce não teve tempo suficiente para a detoxificação do glyphosate ou de um de seus metabólitos o ácido aminometilfosfônico (AMPA) o qual pode aumentar o efeito quelante do glyphosate em soja.

Realizando estudos sobre Índices diagnósticos para interpretação de análise foliar do milho, Gott et al. (2014) sugerem uma faixa dos teores de nutrientes em milho que divide em 3 classes: deficitária, adequada e excessiva. Para os micronutrientes estudados apenas os valores de Zn (18,0-34,1 mg kg⁻¹) estão na faixa adequada sugerida pelo autor, os valores de Cu

(9,1 -14,1 mg kg⁻¹), Fe (122,5-219,7 mg kg⁻¹) são considerados deficientes enquanto os valores de Mn (17,5-49,1 mg kg⁻¹) são considerados excessivos. Vale ressaltar que os valores obtidos são de condições a campo no alto vale do Paraíba em Minas Gerais, e os híbridos utilizados foram diversos, incluindo o P30F53, uma isolinha convencional do P30F53YHR utilizado em nosso estudo, porém, sem a transgenia resistente aos herbicidas glyphosate e glufosinate.

Alvarez et al. (1999) também realizaram um estudo para determinar valores de referência para a interpretação dos resultados de análise de tecidos de milho, de acordo com suas referências os valores ótimos de Cu (6-20 mg kg⁻¹), Fe (20-250 mg kg⁻¹), Mn (20-150 mg kg⁻¹) e Zn (20-70 mg kg⁻¹) estão dentro do padrão obtido em nosso trabalho. Os dados obtidos pelo autor são aplicáveis ao Estado de Minas Gerais, mas podem ser utilizados como referência para outros estados, uma vez que o estado tem média de produtividade próxima aos maiores produtores do país.

Valores de pH em água acima de 6,0, saturação por bases maior que 50% e o uso de calcário agrícola são fatores que diminuem a disponibilidade de micronutrientes catiônicos, resultado da conversão desses minerais a formas insolúveis, a alta adsorção aos colóides inorgânicos e a formação de complexos com a matéria orgânica do solo principalmente para Cu e Zn (RESENDE, 2005). Dessa mesma forma, as plantas de milho podem ter sido afetadas pelas condições do solo utilizado, uma vez que o pH em água se encontrava em 6,1 e a saturação de bases em 58% podem ter dificultado a absorção desses nutrientes pelas plantas de milho.

Stefanello et al. (2011) trabalhando com aplicações em soja RR no estado do Mato Grosso do Sul, com o mesmo herbicida utilizado nesse trabalho nas doses de 1200 g e.a. ha⁻¹ (única) e 720 + 480 g e.a. ha⁻¹ (sequencial), não notaram diferenças significativas no conteúdo foliar de Fe, Cu, Mn e Zn. Para o micronutriente Mn, o autor cita que a disponibilidade é altamente dependente das condições de pH, CTC e matéria orgânica do solo, nas quais em condições de pH, CTC e %MO baixos, o micronutriente ficará menos retido no solo resultando em maior disponibilidade, que conseqüentemente pode aumentar os teores de Mn na planta. Tal efeito não foi observado nas plantas de milho resistentes submetidos a herbicidas.

Submetendo a cultivar de soja Valiosa RR a doses de até 720 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate nos estádios V3 e V4, Andrade e Rosolen (2011) comprovaram não haver diferenças no teor de Mn foliar quando comparado a uma cultivar convencional considerada isogênica. Além disso, mesmo sem aplicação do herbicida, o acúmulo de Mn da cultivar transgênica não diferiu da convencional, atestando que não houve efeito da inclusão do gene da resistência. Estudando as respostas da mesma cultivar de soja Valiosa RR, Perozini (2016) não encontrou mudanças no teor dos nutrientes foliares, com aplicação única (1440 g e.a. ha⁻¹ no estágio V3) ou sequencial (720 + 720 g e.a. ha⁻¹ nos estádios V3 e V7, respectivamente) do herbicida glyphosate. O autor sugere que a concentração foliar é altamente dependente da concentração dos nutrientes no solo, e das viáveis climáticas para a absorção dos mesmos.

Ridley et al. (2011) comparando a composição mineral de sementes de soja convencional (MON810) com sua isolinha resistente ao glyphosate (NK603), não observaram mudanças na nutrição de P, K, Ca, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn após a exposição das plantas a 1900 g ha⁻¹, seus resultados estão dentro do nível de tolerância de 99% da cultivar convencional não resistente ao herbicida. Bott et al. (2008) descobriram que o glyphosate reduziu Mn e Zn em tecidos vegetativos de soja RR quando aplicado a 900 e 1800 g e.a. ha⁻¹, entretanto os níveis de Fe não tiveram diferenças significativas. Apesar da redução no conteúdo foliar de Mn e Zn, os valores não declinaram abaixo do limite crítico de deficiência dos nutrientes nas folhas segundo o autor, suprimindo as necessidades fisiológicas da planta.

Merotto Jr et al. (2015) não observaram influência da aplicação de glyphosate na nutrição de Mn e Fe em duas cultivares de soja resistentes ao herbicida. Em avaliação 96h após aplicação de 1440 g e.a. ha⁻¹, isolado e juntamente com a adubação complementar de Mn e Fe via aplicação foliar, atestaram não haver efeito negativo do glyphosate e nenhum efeito positivo da adubação foliar no teor dos nutrientes na folha. Segundo os mesmos, a alta disponibilidade de Mn no solo utilizado e capacidade dos genótipos em acumular ferro em ferritina (proteína de armazenamento de ferro em plantas) como fatores positivos a nutrição dos elementos.

Philips et al. (2005) compararam a composição nutricional de forragens de milho resistente ao glufosinate com uma variedade considerada sua isolinha não transgênica, apontando que não há diferença nos valores nutricionais de todos os macro e micro nutrientes após a aplicação de 600 g i.a. ha⁻¹ de glufosinate no híbrido resistente. O autor aponta que não houve alterações nas propriedades nutricionais do milho resistente, e que não foram detectados indícios de qualquer componente da transgenia (tDNA e gene) no leite e derivados produzidos pelas vacas alimentadas com a silagem do mesmo.

Em soja ainda há muitas controvérsias entre os pesquisadores, alguns evidenciam efeito negativo do glyphosate na nutrição de Fe (CAKMAK et al., 2009; ZOBIOLE et al., 2010a), enquanto outros não encontraram esse efeito negativo (BOTT et al., 2008; DUKE et al., 2012b; MEROTTO JR et al., 2015; PEROZINI, 2016; RIDLEY et al., 2011; STEFANELLO et al., 2011). Para o micronutriente Mn o mesmo acontece, alguns autores citam a diminuição dos níveis na planta (BOTT et al., 2008; CAKMAK et al., 2009; ZOBIOLE et al., 2010; ZOBIOLE, 2011) e outros não encontraram efeito da aplicação de glyphosate sobre a nutrição do micronutriente (ANDRADE; ROSOLEN, 2011; DUKE et al., 2012b; MEROTTO JR et al., 2015; PEROZINI, 2016; RIDLEY et al., 2011; STEFANELLO et al., 2011).

É importante ressaltar que os estudos sobre nutrição de soja com aplicação de glyphosate ou glufosinate são facilmente encontrados na literatura. Na cultura do milho encontram-se trabalhos sobre a influência dos herbicidas na planta (crescimento, acúmulo de massa, atuação de enzimas, etc.), mas poucos especificamente sobre a nutrição mineral de híbridos resistentes submetidos a aplicações de glyphosate e glufosinate na mesma safra. Diante aos fatos acima relatados, os estudos sobre crescimento e nutrição de plantas transgênicas resistente a herbicidas devem continuar até que haja um consenso entre os pesquisadores da área.

5 CONCLUSÃO

A aplicação única ou sequencial de glyphosate e glufosinate, assim como a aplicação sequencial de glufosinate após glyphosate, no início do ciclo da cultura, não afeta o crescimento inicial tampouco à nutrição mineral de plantas de milho híbrido P30F53YHR resistentes a esses dois herbicidas. Portanto, as plantas de milho resistentes a glyphosate e glufosinate mantêm seu potencial de crescimento e sua alocação de nutrientes mesmo após a aplicação desses herbicidas, podendo, assim, expressar seu potencial produtivo.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBRECHT, A. J. P. et al. Efeito da aplicação de glyphosate sob o desenvolvimento da cultura de milho RR. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 29, 2012, Águas de Lindóia. **Resumos**, Campinas: IAC/ABMS, 2012. p. 1132-1137.
- ALVAREZ, V. H. V.; CARVALHO, J. G. de; SOUZA, R. B. Diagnose Foliar. In: RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ V., V. H. **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5. Aproximação**. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. p. 143-167.
- ANDRADE, G. J. M.; ROSOLEM, C. A. Uptake of manganese in RR soybean under glifosate application. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 961-968, maio/jun. 2011.
- ARMEL, G. R. et al. Mesotriona sozinho e em misturas com glifosato no milho resistentes ao glifosato (*Zeamays*). **Weed Technology**. [S.l.], v. 17, n. 4, p. 680-685, out./dez. 2003.
- ARMEL, G. R. et al. Mesotrione and glufosinate in glufosinate-resistant Corn. **Weed Technology**. [S.l.], v. 22, n. 4, p. 591-596, out./dez. 2008.
- BAILEY, W. A. et al. Glyphosate interactions with manganese. **Weed Technology**. [S.l.], v. 16, n. 4, p. 792-799, out. 2002.
- BELLALOU, N. et al. Effects of glyphosate application on seed iron and root ferric (III) reductase in soybean cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. [S.l.], v. 57, n. 20, p. 9569-9574, out. 2009.
- BLAIR-KERTH, L. K. et al. Tolerance of transformed cotton to glufosinate. **Weed Science**. [S.l.], v. 49, n. 3, p. 375-380, jun. 2001.

BOREM, A. Variedades transgênicas e meio ambiente. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**. [S.l.], v. 34, 2004. Disponível em: <http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio34/variedades_34.pdf>. Acesso em 21 de maio. 2016.

BOTT, S. et al. Glyphosate-induced impairment of plant growth and micronutrient status in glyphosate-resistant soybean (*Glycine max* L.). **Plant and Soil**. [S.l.], v. 312, n. 1, p. 185-194, nov. 2008.

CAKMAK, I. et al. Glyphosate reduced seed and leaf concentrations of calcium, manganese, magnesium, and iron in non-glyphosate resistant soybean. **European Journal of Agronomy**. [S.l.], v. 31, n. 3, p. 114–119, out. 2009.

CARVALHO, L. B. et al. Resposta diferencial das culturas de milho RR e soja RR a exposição a glyphosate e adubação fosfatada. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 33, n. 4, p. 751-758, out./dez. 2015.

CARVALHO, L. B. **Herbicidas**. Lages: Editado pelo autor, v. 1, 2013. 62 p.

CAVALIERI, S. D. et al. Tolerance of corn hybrids to nicosulfuron. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 26, n. 1, p. 203-214, jan./mar. 2008.

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 - RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. 10. Ed. Porto Alegre: Núcleo Regional Sul – Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2004. 400 p.

CORREIA, N. M.; DOS SANTOS, E. A. Teores foliares de macro e micronutrientes em milho tolerante ao glyphosate submetido à herbicidas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, suplemento 1, p. 3165-3172, nov./dez. 2013.

CORREIA, N. M.; DURIGAN, J. C. Seletividade de diferentes herbicidas à base de glyphosate a soja RR. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 25, n. 2, p. 375-379, abr./jun. 2007.

CROMWELL, G. L. et al. Glufosinate herbicide-tolerant (Liberty Link) rice vs. conventional rice in diets for growing-finishing swine. **Journal of Animal Science**. [S.l.], v. 83, n. 5, p. 1068-1074, maio 2005.

DILL, G. M. Glyphosate-resistant crops: history, status and future. **Pest Management Science**. [S.l.], v. 61, n. 3, p. 219-224, mar. 2005.

DUKE S. O. et al. Glyphosate effects on plant mineral nutrition, crop rhizosphere microbiota, and plant disease in glyphosate-resistant crops. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. [S.l.], v. 60, n. 42, p. 10375-10397, out. 2012a.

DUKE, S. O. et al. Effects of glyphosate on the mineral content of glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. [S.l.], v. 60, n. 27, p. 6764–6771, jul. 2012b.

EBELHAR, S. A.; VARSA, E. C.; HART, C. D. Soil pH and manganese effects on yield of Roundup Ready® soybeans. **Illinois Fertilization Conference Proceedings**, p. 54-65, jan. 2006.

EKER, S. et al. Foliar-applied glyphosate substantially reduced uptake and transport of iron and manganese in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. [S.l.], v. 54, n. 26, p. 10019-10025, dez. 2006.

FAQUIN, V. **Nutrição Mineral de Plantas**. 2005. 186 p. Curso de Pós-Graduação “Lato Sensu” (Especialização em solos e meio ambiente)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

FERNANDES, F. C. S. et al. Doses, eficiência e uso de nitrogênio por seis cultivares de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, [S.l.], v. 4, n. 2, p. 195-204, jun. 2005.

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

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.

GREEN, J. M. Evolution of glyphosate-resistant crop technology. **Weed Science**. [S.l.], v. 57, n. 1, p. 108-117, fev. 2009.

GUBBIGA, N. G.; WORSHAM, A. D.; COBLE, H. D. Effect of nicosulfuron on johnsongrass (*Sorghum halepense*) control and corn (*Zea mays*) performance. **Weed Technology**. [S.l.], v. 9, n. 3, p. 574-581, set. 1995.

HALL, G. J.; HART, C. A.; JONES, C. A. Plants as sources of cations antagonistic to glyphosate activity. **Pest Manage Science**, [S.l.], v. 56, n. 4, p. 351-358. abr. 2000.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. J. **The water culture method of growing plants without soil**. Berkeley: University of California, 1950. 31 p. (Circular, 347).

LÓPEZ OVEJERO, R. F. et al. Manejo de plantas daninhas na cultura do milho. In: FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. (Eds.). **Milho: Estratégias de manejo para alta produtividade**. Piracicaba: ESALQ/USP/LPV, 2003. p. 47-79.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. de. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319 p.

MEROTTO JR., A.; WAGNER, J.; MENEGUZI, C. Efeitos do herbicida glifosato e da aplicação foliar de micronutrientes em soja transgênica. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 31, n. 2, p. 499-508, mar./abril. 2015.

NANDULA, V. K. et al. Glyphosate-resistant and -susceptible soybean (*Glycine max*) and canola (*Brassica napus*) dose response and metabolism relationships with glyphosate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. [S.l.], v. 55, n. 9, p. 3540-3545, maio. 2007.

PARK, S. Y. et al. Comparison of the nutritional compositions of insect-resistant and glufosinate-tolerant rice and conventional rice. **Journal of Applied Biological Chemistry**. [S.l.], v. 56, n. 1, p. 5-9, mar. 2013.

PERIM, L.; PRANDO, M. B.; ROSOLEM, C. A. Cinética de absorção de fósforo em soja transgênica após a aplicação de Glyphosate. **Revista Brasileira de Herbicidas**. [S.l.], v. 10, n. 2, p. 143-150, maio/ago. 2011.

PEROZINI, A. C. **Glyphosate and manganese in culture of soybean: physiology and plant nutrition, agronomic features and economic analysis**. 2016. 69 p. Tese de doutorado (Doutorado em Agronomia)- Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Ilha Solteira, 2016.

PHIPPS, R. H. et al. Effect of corn silage from an herbicide-tolerant genetically modified variety on milk production and absence of transgenic DNA in milk. **Journal of Dairy Science**. [S.l.], v. 88, n. 8, p. 2870-2878. ago. 2005.

POLLMER, W. G. et al. Genetic control of nitrogen uptake and translocation in maize. **Crop Science**. [S.l.], v. 19, n. 1, p. 82-86, jan/fev. 1979.

PORTUGAL, Leandro Vilela. **Fitotoxicidade de herbicidas pós-emergentes em híbridos de milho**. 2013. 53 p. Dissertação (Mestrado Profissional em Sistemas de Produção na Agropecuária) - Universidade José do Rosário Vellano, Alfenas, 2013.

REDDY, K. N. et al. Glufosinate effects on nitrogen nutrition, growth, yield, and seed composition in glufosinate-resistant and glufosinate-sensitive soybean. **International Journal of Agronomy**. [S.l.], v. 2011, 2011. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/ija/2011/109280/>>. Acesso em: 15 nov. 2016.

REDDY, K. N.; BELLALLOUI, N.; ZABLOTOWICZ, R. M. Glyphosate effect on shikimate, nitrate reductase activity, yield, and seed composition in corn. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. [S.l.], v. 58, n. 6, p. 3646-3650, mar. 2010.

REDDY, K. N.; HOAGLAND, R. E.; ZABLOTOWICZ, R. M. Effect of glyphosate on growth, chlorophyll, and nodulation in glyphosate-resistant and susceptible soybean (*Glycine max*) varieties. **Journal of New Seeds**, Binghamton, v. 2, n. 3, p. 37-52, out. 2001.

RESENDE, A. V. **Micronutrientes na agricultura brasileira**: disponibilidade, utilização e perspectivas. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2005. 36 p. (Série Estudos e Documentos, 64).

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. et al. Evaluation of compositional equivalence for multitrait biotechnology crops. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. [S.l.], v. 59, n. 11, p. 5865-5876. jun. 2011.

ROMAM, E. S. et al. **Como funcionam os herbicidas**: da biologia à aplicação. 21. ed. Passo Fundo: Gráfica Editora Berthier, 2007.

ROSOLEM, C. A. et al. Manganese uptake and redistribution in soybean as affected by glyphosate. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, n. 6, p. 1915-1922, dez. 2010.

SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1974. 56 p.

SEMINÁRIO NACIONAL DE MILHO SAFRINHA, 12., 2013, Dourados. **Anais**. Brasília: Embrapa, 2013.

SERRA, A. P. et al. Glyphosate influence on nitrogen, manganese, iron, copper, and zinc nutritional efficiency in glyphosate resistant soybean. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 1, p. 77-84, jan. 2011.

STEFANELLO, F. F. et al. Efeito de glyphosate e manganês na nutrição e produtividade da soja transgênica. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 3, p. 1007-1014, jul/set. 2011.

VASCONCELLOS, C. A.; VIANA, M. C. M.; FERREIRA, J. J. Acúmulo de matéria seca e de nutrientes em milho cultivado no período de inverno-primavera. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 11, p. 1835-1845, nov. 1998.

ZABLOTOWICZ, R. M., & REDDY, K. N. Nitrogenase activity, nitrogen content, and yield responses to glyphosate in glyphosate-resistant soybean. **Crop Protection**. [S.l.], v. 26, n. 3, p. 370-376, mar. 2007.

ZOBIOLE, L. H. S. et al. Glyphosate affects chlorophyll, nodulation and nutrient accumulation of “second generation” glyphosate-resistant soybean (*Glycine max* L.). **Pesticide Biochemistry and Physiology**. [S.l.], v. 99, n. 1, p. 53-60, jan. 2011.

ZOBIOLE, L. H. S. et al. Glyphosate affects seed composition in glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. [S.l.], v. 58, n. 7, p. 4517-4522, abr. 2010a.

ZOBIOLE, L. H. S. et al. Nutrient accumulation and photosynthesis in glyphosate-resistant soybeans is reduced under glyphosate use. **Journal of Plant Nutrition**. [S.l.], v. 33, n. 12, p. 1860-1873, out. 2010b.

ZOBIOLE, L. H. S. **Glyphosate afeta parâmetros fisiológicos e nutricionais na soja RR e RR2**. 2011. 131 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2011.